

論文内容の要旨

博士論文題目

Development of lens-free dual-color fluorescence imaging device for
Förster Resonance Energy Transfer (FRET) Imaging
(FRET イメージング用レンズフリー 2 色蛍光イメージングデバイスの開発)

氏 名 Hee Wan-Shen

(論文内容の要旨)

本論文の研究は、小型イメージセンサによるレンズを用いない Förster Resonance Energy Transfer (FRET) 蛍光観察およびイメージセンサシステム無線化を目的としている。FRET は、近接した蛍光発色団間における蛍光を介さないエネルギー過程である。特に 1 分子 FRET では、対象となる酵素等の分子の構造変化を蛍光色の変化として検出することが可能であり、生体内等における分子活性の評価に利用されている。本研究では、レンズを用いない小型イメージセンサでの FRET イメージングを実現するため、励起光除去フィルタ層と 2 色の蛍光を識別するためのカラーフィルタ層を有する構成を提案した。

レンズレス系では、観察対象で励起光が散乱されるため、干渉フィルタだけでは、高い励起光除去性能が得られない。また、対象とする FRET 蛍光励起光としては、435 nm の青紫波長帯が用いられ、吸収フィルタからの自家蛍光が強くなる傾向にある。この問題を解決するため、励起光除去フィルタには、干渉フィルタと吸収フィルタを組み合わせることによって、 10^{-6} 程度の低い励起光透過率を達成した。また、カラーフィルタには、対象とする蛍光波長に対する色素を選定し、レーザーを用いたパターンニングによって $15\mu\text{m}$ 画素による 2 フィルタパターンの作製を行った。これにより、シアン及び黄緑色の 2 色の蛍光色を識別するフィルタ構成を確立した。試作したイメージセンサを用いて、蛍光ビーズの蛍光観察を行い、1 色励起による 2 色蛍光観察が可能であることを示した。また、FRET 蛍光プローブを導入した細胞の観察を行い、薬剤刺激後に分子構造変化に伴う FRET 効率の変化を示唆する信号が取得された。

イメージセンサの無線化においては、マイクロコントローラと Bluetooth 無線モジュールを用いて、プロトタイプを試作し無線伝送を実現することに成功した。マイクロコントローラ内の信号処理により、伝送データ量を削減し、必要な信号を伝送できる可能性を示した。

以上のように，本研究成果によりレンズを用いない小型イメージセンサシステムにより FRET 測定可能となった．また，無線伝送システムの構築することで自由行動する小動物体内の長期間イメージングの可能性が示された．今後，本技術を発展させることにより，生体内の分子機能発現機構の可視化への応用が期待される．

(論文審査結果の要旨)

本論文は、小型イメージセンサによるレンズを用いない Förster Resonance Energy Transfer (FRET) 蛍光観察およびイメージセンサシステム無線化を目的としている。FRET は、近接した蛍光発色団間における蛍光を介さないエネルギー過程である。特に 1 分子 FRET では、対象となる酵素等の分子の構造変化を蛍光色の変化として検出することが可能であり、生体内等における分子活性の評価に利用されている。本研究では、レンズを用いない小型イメージセンサでの FRET イメージングを実現するため、励起光除去フィルタ層と 2 色の蛍光を識別するためのカラーフィルタ層を有する構成を提案した。

レンズレス系では、観察対象で励起光が散乱されるため、干渉フィルタだけでは、高い励起光除去性能が得られない。また、対象とする FRET 蛍光励起光としては、435 nm の青紫波長帯が用いられ、吸収フィルタからの自家蛍光が強くなる傾向にある。この問題を解決するため、励起光除去フィルタには、干渉フィルタと吸収フィルタを組み合わせることによって、 10^{-6} 程度の低い励起光透過率を達成した。また、カラーフィルタには、対象とする蛍光波長に対する色素を選定し、レーザーを用いたパターンニングによって 15 μm 画素による 2 フィルタパターンの作製を行った。これにより、シアン及び黄緑色の 2 色の蛍光色を識別するフィルタ構成を確立した。試作したイメージセンサを用いて、蛍光ビーズの蛍光観察を行い、1 色励起による 2 色蛍光観察が可能であることを示した。また、FRET 蛍光プローブを導入した細胞の観察を行い、薬剤刺激後に分子構造変化に伴う FRET 効率の変化を示唆する信号が取得された。

イメージセンサの無線化においては、マイクロコントローラと Bluetooth 無線モジュールを用いて、プロトタイプを試作し無線伝送を実現することに成功した。マイクロコントローラ内の信号処理により、伝送データ量を削減し、必要な信号を伝送できる可能性を示した。

以上のように、本研究により FRET 測定を可能とするレンズを用いない小型イメージセンサシステムを実現することに成功した。また、無線伝送システムの構築することで自由行動する小動物体内の長期間イメージングの可能性を示すことができた。今後、本技術を発展させることにより、生体内の分子機能発現機構の可視化への応用が期待される。その成果は、学術的に新しい知見を見出していると判断され、審査委員一同は、本論文が博士（工学）の学位論文として価値あるものと認めた。