

審査の結果の要旨

氏名 菅 哲 朗

本論文は「細胞内局所イオン計測のための近接場励起光源アレイ」と題し、5章からなっている。本論文では細胞内のイオン濃度変化を局所的に計測することを目的として、サブミクロンサイズの開口を多数備えた基板(以下、サブミクロン開口基板)を用いた方法を提案している。各サブミクロン開口は蛍光色素の近接場励起光源として機能する。この基板の上に培養などの方法を用いて細胞を直接配置することにより、神経細胞内におけるイオン濃度変化の多点同時計測を行っている。

第1章は「序論」であり、研究の背景と目的、論文の構成について述べている。

第2章「開口の設計と製作」では、サブミクロン開口から放出される励起光の広がりに関して、計算による見積もりを行い、開口製作のための設計指針を得ている。その結果を参考にして、実際に開口の製作を行っている。具体的にはフーリエ光学の手法を用いて、開口のサイズと近接場光発生との関係について計算を行い、開口サイズの必要寸法を求めている。さらに、開口近傍における光強度分布を見積もるために Finite Difference Time Domain 法を用いた光学シミュレーションを行っている。これらの結果、開口のサイズは励起光に使用する波長 ($\lambda = 488 \text{ nm}$) よりも微細にする必要があること、また開口近傍に光強度を局在化するためには、金属膜厚を十分に厚くすることが必要であることが判明している。具体的な数値として、金属膜として Au と Cr の金属膜を用いた場合、それぞれ 50 nm 程度の膜厚が必要であるという設計指針を得ている。実際のサブミクロン開口の製作には、電子線直描法とリフトオフ法を用いている。直径 100 nm の開口アレイを、膜厚がそれぞれ 100 nm, 60 nm である Cr/Au 金属膜上に製作しており、サイズと遮光性の両面において、近接場光源として機能することが可能な開口を製作している。

第3章「励起領域サイズの評価」では、サブミクロン開口から放出される光の開口近傍における光強度分布を実験的に評価している。プローブ要素としてピエゾ抵抗カンチレバー先端に蛍光ビーズを接着したものを利用し、このプローブで開口表面を走査して光強度分布を計測する方法を提案している。評価に使用した開口のサイズは 300 nm x 300 nm であり、蛍光ビーズの直径は 500 nm のものを使用している。プローブ・基板間の距離検出のために、カンチレバーの歪を検知することによる蛍光ビーズと基板の接触検出方法を用いている。表面検出精度の評価を行うために、プローブをサブミクロン開口基板に対して垂直方向に降下させ、そのときのカンチレバー出力値変化を検出している。その結果から、開口表面の検出を 5 nm 程度の精度で行えることが判明している。これは、近接場光検出において十分な表面検出精度を持つといえる。このプローブを用いて、プローブ・基板間距離を変えた複数の平面で開口基板表面の走査を行ったところ、距離が 1 μm 程度の領域では励起光の検出強度が極めて小さく、距離が 230 nm 程度の近接領域に至って検出強度が明確なピークを持つことが確認されている。最も開口表面に近接した距離として、34 nm の位置での走査を行っており、近接場光の存在する領域範囲における走査を実現できるといえる。これらの計測結果を用いて開口表面から垂直方向の光強度分布の局所性を評価したところ、光強度が開口からの距離に対して指数関数的に減衰する傾向が得られている。さらに、そのときの減衰距離は 500 nm 程度であることが判明している。この結果は、開口から垂直方向に関して、蛍光励起領域がサブミクロン領域に局所化可能であることを示している。また、プローブ・基板間距離が 34 nm の位置における走査平面データの光強度プロファイルの半値幅を評価し、光強度場が開口を中心とした直径 700 nm 程度の領域に局所化されていることが判明している。これらの結果は、製作したサブミクロン開口によって、サブミクロン領域に蛍光励起領域を局所化可能であることを示している。

第4章「神経細胞蛍光計測実験」では、第2章で製作したサブミクロン開口を用いて神経細胞の応答計測を行い、サブミクロン開口基板の神経細胞蛍光計測への適用可能性を評価している。実験には開口のサイズが 200 nm x 200 nm、開口の間隔が 2 μm のサブミクロン開口基板を使用している。計測対象の神経細胞として、カイコガサナギの脳細胞を使用している。基板上に配置した細胞とオーバーラップした開口から発生した蛍光の計測を行ったところ、高濃度カリウムイオン刺激に同期した蛍光応答を計測することに成功している。この結果から、サブミクロン開口基板による、多点同時計測が実現可能であるということが出来る。

第5章「結論」では、本研究で得られた成果とその結論を述べ、考察を加えている。

以上のように、サブミクロン開口近傍の光強度分布を計測することにより、開口近傍における光強度場の局所性についての評価をおこなっている。これにより、蛍光励起領域をサブミクロンサイズに局所化可能であることが示唆されている。さらにデバイスの神経細胞計測への適用可能性を評価するために、実際に神経細胞の蛍光計測を行うことで、多点同時神経応答計測の実現可能性を示したといえる。本論文では工学的な手法を用いて実現したデバイスを用いて、生物学的な神経計測の有効な手法を提案できたといえ、知能機械情報学の発展に貢献したものである。

よって本論文は博士(情報理工学)の学位請求論文として合格と認められる。