

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年12月29日(29.12.2022)



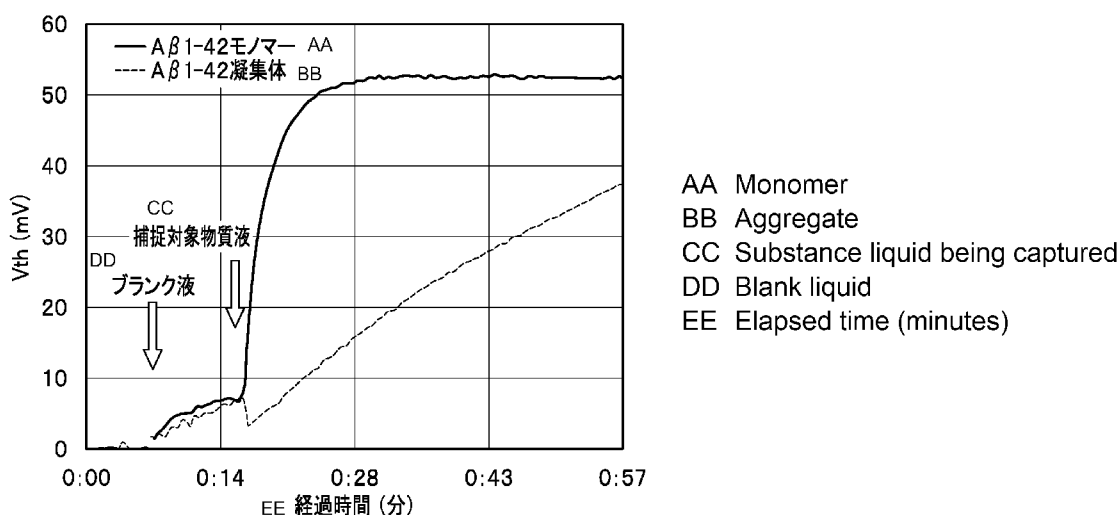
(10) 国際公開番号
WO 2022/270606 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 33/543 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01)
G01N 21/41 (2006.01) *G01N 27/414* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2022/025204
- (22) 国際出願日: 2022年6月23日(23.06.2022)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2021-106124 2021年6月25日(25.06.2021) JP
PCT/JP2022/011374 2022年3月14日(14.03.2022) JP
- (71) 出願人: コニカミノルタ株式会社 (KONICA MINOLTA, INC.) [JP/JP]; 〒1007015 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 岡本 健(OKAMOTO Ken); 〒1007015 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号コニカミノルタ株式会社内 Tokyo (JP). 末松 孝敏(SUEMATSU Takatoshi); 〒1007015 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号コニカミノルタ株式会社内 Tokyo (JP). 小野田 航(ONODA Wataru); 〒1007015 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号コニカミノルタ株式会社内 Tokyo (JP). 巽 敦郎(TATSUMI Atsuro); 〒1007015 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号コニカミノルタ株式会社内 Tokyo (JP). 浅井 裕一郎

(54) Title: ANALYSIS SYSTEM, TRAINED MODEL GENERATING DEVICE, AND DISCRIMINATING SYSTEM, AND ANALYSIS METHOD, TRAINED MODEL GENERATING METHOD, AND DISCRIMINATION METHOD

(54) 発明の名称: 解析システム、学習済みモデル生成装置および判別システムならびに解析方法、学習済みモデル生成方法および判別方法

[図16]



(57) Abstract: Provided are an analysis system, a trained model generating device, and a discriminating system, and an analysis method, a trained model generating method, and a discrimination method for quantifying at least one of an aggregation state and a surface state with high sensitivity. An analysis system (1) according to the present invention includes: an acquiring means (2) for acquiring, by means of an electrical or optical detection method, a signal change



WO 2022/270606 A1

(ASAI Yuichiro); 〒1007015 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号コニカミノルタ株式会社内 Tokyo (JP). 古澤直子(FURUSAWA Naoko); 〒1007015 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号コニカミノルタ株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人磯野国際特許商標事務所(ISONO INTERNATIONAL PATENT OFFICE, P.C.); 〒1020082 東京都千代田区一番町2-1 一番町東急ビル Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告(条約第21条(3))

over time due to an interaction between a substance being captured and a capture substance; and an analyzing means (3) for analyzing at least one of the aggregation state and the surface state of the substance being captured, from the signal change over time acquired by the acquiring means (2).

(57) 要約: 凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を感度良く定量化する解析システム、学習済みモデル生成装置および判別システムならびに解析方法、学習済みモデル生成方法および判別方法を提供する。本発明に係る解析システム(1)は、電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する取得手段(2)と、前記取得手段(2)で取得した経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する解析手段(3)と、を有する。

明 細 書

発明の名称：

解析システム、学習済みモデル生成装置および判別システムならびに解析方法、学習済みモデル生成方法および判別方法

技術分野

[0001] 本発明は、解析システム、学習済みモデル生成装置および判別システムならびに解析方法、学習済みモデル生成方法および判別方法に関する。

背景技術

[0002] (SDGs 解決に向けて)

SDGs (Sustainable Development Goals (持続可能な開発目標)) 解決に向けて企業活動を行うことが企業の持続成長性を維持していくために、必要不可欠になっている。本発明では、SDGs の 17 課題の内、主に 3 : すべての人に健康と福祉を、および、9 : 産業と技術革新の基盤をつくろうをターゲットとし、社会課題の解決に向け、人の健康と福祉への貢献、および強靱なインフラ構築に取り組む。

[0003] (SDGs 3 : すべての人に健康と福祉を)

SDGs 3 の課題に対し、人の健康と福祉に取り組み、健康とは、病気でないとか、弱っていないということではなく、肉体的にも、精神的にもそして社会的にも、すべてが満たされた状態にあることをいうことが世界保健機関憲章前文に定義されている。そのためには、認知症、感染症の抑制／治療、および医薬品の開発／品質管理に対し貢献していくことが必要となっている。

[0004] (SDGs 9 : 産業と技術革新の基盤をつくろう)

SDGs 9 の課題に対し、経済発展と人間の福祉を支援するために、地域・越境インフラを含む質が高く信頼でき、持続可能かつ強靱なインフラを開発することが求められている。強靱なインフラとして、本発明では医薬用途から精密工業品に至る領域にて、状態の可視化、品質管理、薬効評価に貢献

する方法を提案する。

[0005] (DX)

一方、ドイツで提唱された Industry 4.0 (第4次産業革命) の理念を包含し、AIやロボットを新たに使うことを手段と捉え、様々なモノやコトがつながりを持つ Connected Industries によってもたらされる新しい超スマート社会 “Society 5.0” の実現が重要である。そのためには、見えていない世界を可視化する、および速やかに次の解を得るためにサイバー空間を有効活用していく必要がある。その手法として機械学習を用いていくことにより、DX (デジタルトランスフォーメーション: デジタルの手段を用いて変革) を推進し、それにより実現に導いていくことが重要となる。

[0006] (本発明の分野)

SDGs 3、9の解決に向け、本発明者らはナノ材料に着目した。ナノ材料における凝集状態および表面状態が、その材料の機能および品質へ影響することが知られている。ナノ材料としては、例えば、生体分子 (ペプチド、タンパク質、抗体など)、有機化合物、ナノ粒子などが挙げられ、多岐にわたる。ナノ材料は、工業分野から化粧/医療分野といった広い領域で使用されているとともに、重要なキー材料となっている。

[0007] ナノ材料として例示したタンパク質の一つにアミロイドβ (Aβ) がある。Aβは、アルツハイマー型認知症の進行に関わるタンパク質の1種である。Aβの測定や評価には、凝集状態および表面状態の管理も重要とされている。また、精密工業品向けの金属・無機ナノ粒子はシングルナノメートル (nm) オーダーの粒径制御が重要であることはもちろんのこと、機能に大きく影響するため凝集状態および表面状態の管理も重要とされている。

[0008] 従来、これらの凝集状態や表面状態を測定したり評価したりする手法として、非特許文献1に挙げられているように、複数の手法があることが知られている。なお、この非特許文献1には、凝集体の検出には、例えば、ゲルろ過クロマトグラフィによる分析、ThT fluorescenceによる分

析、分光光度計による分析、動的光散乱 (Dynamic Light Scattering : D L S) による分析、示差走査熱量測定 (Differential Scanning Calorimetry : D S C) による分析、顕微鏡による分析などの複数の手法がある旨記載されている。また、この非特許文献 1 には、バイオ医薬生産現場の品質管理にこれらの手法を用いるには、定量性や簡便性などに課題が残っている旨記載されている。

[0009] さらに、従来、これらの凝集状態や表面状態を測定したり評価したりする手法として、特許文献 1 に記載の技術が提案されている。具体的に、特許文献 1 には、診断目的で、差異荷電粒子移動度分析方法を用いて、生物学的サンプルからリポ蛋白質、例えば、HDL、LDL、Lp(a)、IDLおよびVLDLを調製するための装置および方法が提案されている。さらに、この特許文献 1 には、前記方法により調製したり蛋白質のサイズ分布を差異荷電粒子移動度により分析する方法が記載されている。

[0010] なお、タンパク質などの有機化合物やナノ粒子などのナノマテリアルを検出する手法として、質量分析法、サイズ排除クロマトグラフィ (Size Exclusion Chromatography : SEC)、簡易評価法、ウエスタンブロットティング法、ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) 法、表面プラズモン励起増強蛍光分光 (Surface Plasmon-field enhanced Fluorescence Spectroscopy : SPFS) 法などが知られている。

先行技術文献

特許文献

[0011] 特許文献1：特表2010-529463号公報

非特許文献

[0012] 非特許文献1：吉野哲也著、「モノクローナル抗体の凝集状態の多様な方法による評価」、群馬大学大学院博士論文 ([URL] <https://gair.media.gunma-u.ac.jp/dspace/bitstream/10087/6652/1/Ph.D%20E-429.pdf> [検索日 2021年3月19日])

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0013] 前記したように、非特許文献1に記載されているいずれの手法にも、バイオ医薬生産現場の品質管理にそれらを用いるには、定量性や簡便性などに課題が残っている。

また、特許文献1に記載の技術は、粒子移動度により測定するものであるが、ある程度の分布サイズを見ることはできるものの、精度は十分ではなかった。

[0014] また、質量分析法には、前処理／検出過程にて凝集状態が解け、モノマーと凝集体の区別がつかないという欠点がある。サイズ排除クロマトグラフィ、動的光散乱法、簡易評価法には、低濃度帯では検出が不可能であるという欠点がある。また、動的光散乱法には、シングルnmオーダー以下の検出能が低いという欠点もある。ウエスタンブロットティング法、ELISA法、SPFS法には、複数の凝集状態に対応した捕捉物質が各々必要であり、全ての凝集体に対応する捕捉物質は準備が困難であるという欠点がある。なお、ナノ粒子などのナノマテリアルに対しては、特に、シングルnmオーダー以下および高感度に検出する手段がなく、粒径および表面状態を同時に検出できる手段もないという欠点がある。

[0015] 従って、健康状態への影響および抗体医薬品の品質に対し、バイオマーカーのサイズ変化（凝集）が影響していることが知られているが、高感度にて凝集分布を定量的に判別する手段がない。また、ナノマテリアルに対しても、粒径・表面状態の制御により機能が大きく変わると言われているが、シングルnm以下のサイズや高感度に検出したい材料に対し、検出する手段がないか、または限定されている。

[0016] 本発明の課題は、凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を感度良く定量化する解析システム、学習済みモデル生成装置および判別システムならびに解析方法、学習済みモデル生成方法および判別方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

- [0017] 本発明者らは前記課題を解決するため鋭意研究した結果、電気または光学による検出法によって、捕捉対象物質と捕捉物質の相互作用による経時的なシグナル変化を取得することにより、複数の凝集情報および表面情報を1つの反応場で判別できることを見出し、本発明を完成するに至った。
- [0018] すなわち、本発明に係る上記課題は、以下の手段により解決される。
1. 電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する取得手段と、前記取得手段で取得した経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する解析手段と、を有する解析システム。
- [0019] 2. 電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する取得手段と、前記取得手段で取得した経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する解析手段と、前記解析手段によって得られた解析結果を複数用いて機械学習を行い、学習済みモデルを生成する機械学習手段と、を有する学習済みモデル生成装置。
- [0020] 3. 前記2に記載の学習済みモデル生成装置で生成した前記学習済みモデルを用いて、取得した未知の経時的なシグナル変化を判別して、前記未知の経時的なシグナル変化を有する捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方の判別結果を出力する判別手段を有する判別システム。
- [0021] 4. 電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する取得工程と、前記取得工程で取得した経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する解析工程と、を有する解析方法。
- [0022] 5. 電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する取得工程と、前記取得工程で取得した経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する解析工程と、前記解析工程によって得

られた解析結果を複数用いて機械学習を行い、学習済みモデルを生成する機械学習工程と、を有する学習済みモデル生成方法。

- [0023] 6. 前記5に記載の学習済みモデル生成方法で生成した前記学習済みモデルを用いて、取得した未知の経時的なシグナル変化を判別して、前記未知の経時的なシグナル変化を有する捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方の判別結果を出力する判別工程を有する判別方法。

発明の効果

- [0024] 本発明によれば、凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を感度良く定量化する解析システム、学習済みモデル生成装置および判別システムならびに解析方法、学習済みモデル生成方法および判別方法を提供できる。

図面の簡単な説明

- [0025] [図1]本発明の一実施形態に係る解析システムの構成を示す概略図である。
- [図2A]電気検出シグナルによる検出例を説明する説明図である。
- [図2B]SPFSシグナルによる検出例を説明する説明図である。
- [図3A]電気検出シグナルによって得られた捕捉対象物質の各濃度の経時的な結合率の変化に対応したしきい値電圧 V_{th} の変化を示すグラフ（左のグラフ）と、それから算出された高さ $V_{th_{max}}$ （最大結合率）および捕捉対象物質濃度から K_d を算出できることを示している（右のグラフ）。
- [図3B]電気検出シグナルによって得られた捕捉対象物質の経時的な結合率の変化に対応したしきい値電圧 V_{th} の変化を示すグラフ（左のグラフ）と、それから算出された速度定数および捕捉対象物質濃度から k_{on} と k_{off} とを算出できることを示している（右のグラフ）。
- [図4A] K_d 一定時に、凝集サイズによって k_{on} 、 k_{off} が遅くなり、結合率が一定とした際の時間変化の一例を示すグラフである。
- [図4B]図4Aに示す結果から得られる K_d 、 k_{on} 、 k_{off} を示す表である。
- [図5]アレイ化した複数の反応場（捕捉物質）を有する様子を説明する概念図である。
- [図6]電気検出シグナルを経時的に観測し、評価する装置構成の一例を示す概

略図である。

[図7]アルツハイマー型認知症における年齢とバイオマーカーの変化の關係の一例を説明するグラフである。

[図8]連続フロー方式のSPR装置の構成を説明する概略図である。

[図9]トランジスタ型バイオセンサの一例を示す概略図である。

[図10]トランジスタ型バイオセンサの他の一例を示す概略図である。

[図11]本発明の一実施形態に係る学習済みモデル生成装置の構成を説明する概略図である。

[図12]本発明の一実施形態に係る判別システムの構成を説明する概略図である。

[図13]本発明の一実施形態に係る解析方法を説明するフローチャートである。

[図14]本発明の一実施形態に係る学習済みモデル生成方法を説明するフローチャートである。

[図15]本発明の一実施形態に係る判別方法を説明するフローチャートである。

[図16]低凝集試料 ($A\beta 1-42$ モノマー) および高凝集試料 ($A\beta 1-42$ 凝集体) のしきい値電圧 V_{th} の経時変化を示すグラフである。

[図17]種々濃度を異ならせた低凝集試料 ($A\beta 1-42$ モノマー) および高凝集試料 ($A\beta 1-42$ 凝集体) のしきい値電圧 V_{th} の経時変化を示すグラフである。

[図18]しきい値電圧 V_{th} の経時変化データを主成分分析により次元圧縮したものを説明変数とし、低凝集試料であったか高凝集試料であったかを目的変数とし、機械学習モデルであるSVM (サポートベクトルマシン) の学習と分類予測とを行った結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0026] 前述したように、ナノ材料における凝集状態および表面状態が、その材料の機能および品質へ影響することが知られている。

本発明は、ナノ材料における凝集分布および表面状態を感度良く定量化するシステムを提供するものである。具体的には、電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質の相互作用による経時的なシグナル変化を取得することにより、複数の凝集情報および表面情報を1つの反応場で判別することを実現する。

[0027] 以下、適宜図面を参照して本発明とその構成要素および本発明を実施するための形態・態様について詳細な説明をする。なお、以下に本発明を実施するための形態について詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0028] <解析システム>

はじめに、本発明の一実施形態に係る解析システムについて簡単に説明する。

図1は、本発明の一実施形態に係る解析システム1の構成を示す概略図である。

図1に示すように、解析システム1は、取得手段2と、解析手段3とを有する。この解析システム1は、後述する学習済みモデル生成装置1A（図11）および判別システム1B（図12）で用いられる。

[0029] （取得手段）

取得手段2は、電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する。本明細書において、「経時的」とは、経過する時間順であることをいい、その時間順は連続的なものであってもよいし、断続的なもの（間欠）であってもよい。

このような取得手段2としては、例えば、表面プラズモン共鳴（Surface Plasmon Resonance：SPR）装置や電界効果トランジスタ（Field Effect Transistor：FET）などを用いたトランジスタ型バイオセンサなどが挙げられる。なお、SPR装置およびトランジスタ型バイオセンサについては後述する。また、このような取得手段2としてはこれらの他にも、例えば、蛍光シグナル・吸収シグナルを利用した競合法などが挙げられる。

[0030] (取得手段の一態様)

ここで、取得手段2の一態様について説明する。

図2Aは、電気検出シグナルによる検出例を説明する説明図である。図2Bは、SPFSシグナルによる検出例を説明する説明図である。

図2Aに示すように、SPR装置やトランジスタ型バイオセンサによって得られる電気検出シグナルは、捕捉対象物質添加後のシグナルの経時変化を検出することができる。なお、この経時変化は、前記した経時的と同様に時間順であればよく、連続的な検出とそれによる検出シグナルであってもよいし、断続的な検出とそれによる検出シグナルであってもよい。この電気検出シグナルは、複数の捕捉対象物質（化合物A+B+C）の混合シグナルを分離・定量し、判別することができる。つまり、1反応場（1シグナル）に対し、複数の化合物の混合シグナルを得て、複数の化合物の情報を得ることができる。なお、図2Bに示すように、SPFSシグナル（蛍光強度）では、1反応場（1シグナル）に対し、1つの化合物しか定量できない。従って、前記した電気検出シグナルは、後述するように、複数の化合物の混合シグナルを機械学習で判別するにあたって、SPFSシグナルよりも好適であるといえる。

[0031] (電気検出シグナルと捕捉物質)

電気検出シグナルについてさらに説明する。

1反応場（1シグナル）に対し、複数の化合物の混合シグナルを経時的に得ることのできる電気検出シグナルによれば、その経時変化から、図3Aおよび図3Bに示すように、 K_d （解離定数（単位：M））、 k_{on} （結合速度定数（単位： $M^{-1}s^{-1}$ ））、 k_{off} （解離速度定数（単位： s^{-1} ））を算出できる。なお、図3Aは、電気検出シグナルによって得られた捕捉対象物質の各濃度の経時的な結合率の変化に対応したしきい値電圧 V_{th} の変化を示すグラフ（左のグラフ）と、それから算出された高さ $V_{th_{max}}$ （最大結合率）および捕捉対象物質濃度から K_d を算出できることを示している（右のグラフ）。また、図3Bは、電気検出シグナルによって得られた捕捉対象物質の経時的

な結合率の変化に対応したしきい値電圧 V_{th} の変化を示すグラフ（左のグラフ）と、それから算出された速度定数および捕捉対象物質濃度から k_{on} と k_{off} とを算出できることを示している（右のグラフ）。図3Bの右のグラフでは、傾きが k_{on} で切片が k_{off} の一次式となる。

[0032] なお、凝集サイズによって、捕捉物質と捕捉対象物質の相互作用に関わる物理パラメータおよび結合量が変わることにより、電気検出シグナル（高さ、速度）が変わる。図4Aは、解離定数 K_d 一定時に、凝集サイズ小、中、大（ケースA、B、C）によって k_{on} 、 k_{off} が遅くなり、結合率が一定とした際の時間変化の一例を示すグラフである。図4Bは、図4Aに示す結果から得られる K_d 、 k_{on} 、 k_{off} を示す表である。図4Aのグラフおよび図4Bの表に示すように、凝集物のサイズが大きくなると、 k_{on} （遅く）、 k_{off} （遅く）の変化は少なくとも起こり、シグナル変化が起こる。また、 $V_{th_{max}}$ も変わる。

[0033] さらに、1つの捕捉物質と凝集体混合物の反応において、各凝集体に対応する電気検出シグナルが混在したシグナル（混在シグナル）が取得できる。その混在シグナルから、高さ（結合率（ V_{th} の変化量））および速度（結合速度定数（ k_{on} ）、解離速度定数（ k_{off} ））の成分を分離することができる。そして、分離した成分（シグナル変化）から凝集サイズの成分予測を機械学習によって予測させることができる。その一例として、図5に示すように、アレイ化した第1の反応場では図4Aを参照して説明したように、凝集サイズを見分けるための捕捉物質 r_1 を設定する。そして、図5に示すように、アレイ化した第2、3、4の反応場には、別サイズ帯に感応する捕捉物質 r_2 、 r_3 、電荷量変化を検出する捕捉物質 r_4 などのように、捕捉物質の種類（前記捕捉物質とは相互作用する凝集体サイズ帯が異なる）を変えてそれぞれに結果が得られるようにし（複数状態の検出）、それらを併用してもよい。そして、その結果を用いて機械学習が行われる。なお、凝集時の電荷の偏り、向きなどの因子があり、捕捉対象物質混合時は複合的な平衡反応が起こり、複雑なシグナルとなる可能性があるが、その変化ポイントを見極

め、機械学習で判別していく。このようにすることにより、より広く細かく精度良く、凝集分布および表面状態の情報を得ることができる。なお、図5は、アレイ化した複数の反応場（捕捉物質）を有する様子を説明する概念図である。

[0034] 取得手段2としては、凝集体に対するシグナル情報量を多く取得でき、サイズ毎の結合率、結合速度情報が取得できる観点から、電気信号による計測装置、例えば、前記したように、FETなどを用いたトランジスタ型バイオセンサやSPR装置などが好ましい。これらはともに、シグナルの変化を経時的に追うことができる。また、取得手段2としては、温度依存性を取り、意図的に速度変化を起こし、情報量を増やしていく手法を採用することも有効である。

[0035] （電気検出シグナルの評価法）

電気検出シグナルの評価法の一例について説明する。例えば、FETを用いた電気検出手段（トランジスタ型バイオセンサ）を用い、ゲート部に捕捉物質を形成し、捕捉対象物質添加時に捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用が起こる部位を形成する。このようにすれば、ゲート部の電荷変化に伴い、半導体パラメータアナライザが ΔV_{th} （初期値とのしきい値電圧 V_{th} の差異）の変化を経時的に追うことができ、捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用の変化を経時的に観測し、評価することができる。図6は、電気検出シグナルを経時的に観測し、評価する装置構成の一例を示す概略図である。図6に示す例では、ゲート部を延長ゲートとし、Au電極上に捕捉物質を形成している。そして、図6に示す例では、所定の測定溶液が収容された容器内にAu電極と参照電極とを配置して当該測定溶液にそれらを接触させている。そして、当該測定溶液に捕捉対象物質を添加すると、前記したように、半導体パラメータアナライザが ΔV_{th} の変化を経時的に追うことができる。半導体パラメータアナライザでの測定は、ドレイン・ソース間電圧（電圧 V_{ds} ）固定、ゲート・ソース間電圧（電圧 V_{gs} ）可変で行うことができる。

[0036] (捕捉対象物質の領域)

捕捉対象物質の属する領域としては、医療用途から工業用途に亘る、凝集状態と表面状態が材料の機能・品質・生体浸透性・病気の進行度に影響する領域が挙げられる。医療用途で言えば、 $A\beta$ ペプチド（タンパク質）、抗体、抗体付きビーズ、蛍光ナノ粒子（PID（Phosphor Integrated Dot）粒子）、ポリエチレングリコール（PEG）付きリポソームなどが捕捉対象物質となり得る。また、工業用途で言えば、金属ナノ粒子、カーボンナノチューブ、磁性流体、ナノシリカ（封止フィラーなど）、結晶質ジルコニアなどが捕捉対象物質となり得る。これらの中でも、 $A\beta$ ペプチド（タンパク質）、抗体、金属ナノ粒子、カーボンナノチューブ、磁性流体、ナノシリカ（封止フィラーなど）、結晶質ジルコニアなどは、シングルnmオーダーから10nmオーダーの大きさであり、本実施形態において好適な捕捉対象物質となり得る。

[0037] (アルツハイマー型認知症への貢献)

有望視されている捕捉対象物質の一例として $A\beta$ が挙げられる。 $A\beta$ の凝集が進み、凝集体の蓄積が脳内で起こり、その後、軽度認知障害、認知症が起こると報告されている。従来 $A\beta$ の検出には、陽電子放出断層撮影法（Positron Emission Tomography；PET）を使用したり、脳髄液を採取して検査したりすることが多い。しかし、PETは費用が高い点で患者負担が大きく、脳髄液採取による検査は、脳髄液の採取にあたって腰椎穿刺による侵襲がある点で患者負担が大きい。また、血中に流れてくる成分（ $A\beta$ ）は分解が起こる（ $A\beta$ オリゴマーは可溶性であり、血中に溶解していることが示唆されている）ため、特定成分を定量化するだけでは判定は難しい。現在、免疫沈降－質量分析法（IP－MS）、軽度認知障害（Mild Cognitive Impairment：MCI）スクリーニング検査、SimoaTM（single-molecule array）による解析など様々な方法について検討が重ねられているが、血中の $A\beta$ などで認知症の進行度を判定できるレベルには至っていない。

[0038] なお、アルツハイマー型認知症に関して、PETにおける捕捉対象物質は

Aβ凝集物（フィブリル／繊維）である。IP-MSにおける捕捉対象物質は血中のAβ1-42とAPP699-711またはAβ1-40との比である。MC1スクリーニング検査における捕捉対象物質は、血中のAβクリアランスに関わる3種のタンパク質（C3、ApoA1、TTR）である。Simoa™による解析における捕捉対象物質は血中のp-tauである。各捕捉対象物質の血中における検出濃度は、表1に記載のとおりである。なお、表1中の「-」は検出濃度について特筆すべき事項がないことを示している。

[0039] [表1]

対象物	ADでの変動	患者	検出濃度	出典元
Aβ凝集物	増加	AD患者	-	脳内に蓄積
Aβ1-42	増加	初期患者	2.9-5.6pM (血中)	Alzheimers Res Ther 文献
	減少	AD患者	<110pM (脳脊髄液)	老年期認知症研究会誌 p39-45, Vol21 No.4 2017
p-tau	増加	AD患者	fMオーダー	AMED HP (SIMOA 装置)
C3	減少	正常者	7.2nM	ELISA キット有り
ApoA1		正常者	29-64nM	ELISA キット有り
TTR		正常者	14-21nM	ELISA キット有り

AD:アルツハイマー型認知症

[0040] IP-MSおよびSimoa™による解析はいずれもPET同様、費用が高い点で患者負担が大きい。また、前記したように、IP-MSおよびMC1スクリーニング検査は、血中のAβなどで認知症の進行度を判定できるレベルには至っていない（精度が十分とは言えない）。

[0041] 従って、脳脊髄液および血中でのAβ凝集分布を高感度で可視化できれば、認知症の進行度の判定および薬効評価に利用できると考えられる。本実施形態に係る解析システムは、電気または光学による検出法によって、捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する。電気または光学による検出法として、前記したように、SPR装置やトランジスタ型バイオセンサなどを用いるため、極めて低濃度な範囲（例えば、10fM~100μM）の捕捉対象物質を検出できる（凝集分布を高感度に検出できる）。従って、電気または光学による検出法を用いることにより血中のAβを濃縮せずに評価でき得る。

[0042] A β タンパク質のモノマーは数個凝集してオリゴマーとなり、さらに凝集してプレフィブリルとなり、さらに凝集してA β フィブリルとなる。コンゴレッドはA β フィブリルに特異的に結合して染色する。従って、本実施形態における電気または光学による検出法でもこれを利用することにより極めて低濃度な範囲であってもA β の凝集状態を検出できる。また、このことから、A β モノマーやA β オリゴマーに選択性のある低分子化合物が開発・探索されれば、A β モノマーやA β オリゴマーも極めて低濃度な範囲で検出できるようになる。そうすれば、これらを組み合わせて検出・検証・解析することで判定精度をより高めることが可能となる。さらに、A β の蓄積を判定するとともに、他の関連バイオマーカー（C3、ApoA1、TTRなど）を組み合わせて検出・検証・解析することで判定精度をさらに高めることも可能である。これらのことから、本実施形態に係る解析システム1、学習済みモデル生成装置1A、判別システム1Bは、アルツハイマー型認知症の検査や治療に貢献できる。なお、現在、治療薬は進行を遅らせる薬しかなく、認知症の治療において、早期診断／治療を行うことが重要である。また、現在、治験での捕捉対象物質は全てA β である。

[0043] ここで、図7は、アルツハイマー型認知症における年齢とバイオマーカーの変化の関係の一例を説明するグラフである。図7に示すように、本提案（本実施形態に係る解析システム1、学習済みモデル生成装置1A、判別システム1B）は、低濃度の捕捉対象物質を検出し、解析し、判別できる。そのため、本提案は、脳萎縮や記憶障害を引き起こす前段階およびMCIでの利用が可能となる。例えば、本提案は、PET、IP-MS、MCIスクリーニング検査、Simoa™による解析よりもさらに早い段階から早期診断、早期介入（進行度判定、薬効評価）に利用できる。また、現在、早期段階の症状悪化の抑制を目的とする、A β を捕捉対象物質とした治療薬開発が進められているが、これにも本提案を利用できる。

[0044] （ナノマテリアルの凝集制御／リアルタイム監視）

様々な工業／医療製品にナノマテリアルが利用されている。製品の品質確

保、反応機構の可視化に対しても、液そのものの凝集状態を制御することは重要である。そこで、動的光散乱法を中心とした手法により、粒度分布が計測されている。動的光散乱法やその他の手法での課題は、シングルnmオーダーサイズ以下の検出が困難であること、捕捉対象物質濃度が、mM~Mの高濃度帯でのみ評価ができることである。また、表面状態はゼータ電位、粒径は別手段で測定するため、評価の簡便性にも課題があった。

[0045] 本提案は、シングルnmオーダーサイズ以下のナノマテリアル、および捕捉対象物質濃度がmM未満の低濃度帯においても、凝集状態・分布を評価できることを特長とする。また、捕捉対象物質と捕捉物質の間の相互作用による検出信号を取得するため、表面状態の観測も可能となる。

医療用途では、表面状態・粒径分布を含め、品質管理が重要となる。そのため、ナノマテリアルを利用する分野は本提案を活用する有望な分野の一つであると考えられる。ドラッグデリバリーシステムや創傷治療向けなどのナノ粒子は、粒子径だけでなく、結晶性・分子状態、ステルス性（修飾基を含めた表面状態）を含めた表面状態・粒径分布の検出を行うことが望ましい。また、精密工業品向けの樹脂フィラーの品質管理や、金属触媒・ナノゼオライトといった粒子径によって機能（流動性、吸着力、触媒性）が変わり、かつ小さいナノサイズが高機能化に必要となるものについても同様に表面状態・粒径分布の検出が望ましい。なお、捕捉物質がナノマテリアルである場合、これを捕捉するための設計思想として、1) 修飾基との相互作用、2) サイズ捕捉空間（サイズ別）、3) 金属との相互作用が挙げられる。

[0046] 捕捉物質がナノマテリアルである場合の一例として、RoHS規制対象の高温鉛はんだ代替材、より具体的にはダイボンド材が挙げられる。そして、そのようなダイボンド材の材料として銀ナノ粒子が有力な候補となっている。銀ナノ粒子を材料に用いたダイボンド材には焼成温度の低温化や接合特性の向上が求められている。銀ナノ粒子の粒径が小さいほど、面積当たりの表面エネルギーが増大し、融点降下が起こる。そのため、焼成温度の低温化が図られる。これらを実現するために、銀ナノ粒子を材料に用いたダイボンド

材には、小粒径（2 nm以下）、粒径分布幅（0.5 nm以下）が求められている。しかし、現評価手法では粒子のサイズの評価に十分に応えられていない。後述する解析手段3では、粒径分布を観測するとともに、表面状態・結晶性・修飾鎖の情報をシグナル情報から取得することができる。また、後述する解析手段3では、シグナルの高さ、速度、シグナル挙動を対応内容別に特徴を判定し、各内容を区別した情報を取得することができる。従って、本提案では、低濃度帯の検出が可能な電気または光学による検出法によって、捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得したり、解析したり、判別したりするため、こういった領域での評価に適する。

[0047]（抗体医薬品の品質検査への貢献）

高濃度（50～100 mg/mL）液であればDLS、SECなどでも評価できるが、定量性および簡便性に課題があることが知られている。しかし、本提案では、低濃度帯の検出が可能な電気または光学による検出法によって、捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得したり、解析したり、判別したりするため、定量性と簡便性とを併せ持つ評価法を提供できる。

[0048]（取得手段の一例：表面プラズモン共鳴（SPR）装置）

取得手段2の一例として、前記したようにSPR装置が挙げられる。SPR装置は従来公知の一般的なもの、例えば、連続フロー方式のものを使用できる。図8は、連続フロー方式のSPR装置80の構成を説明する概略図である。図8に示すように、このSPR装置80は、捕捉物質81が固定された金属薄膜82（例えば、金薄膜）およびこの金属薄膜82と接して設けられるガラス基板83を有するセンサチップ84と、このセンサチップ84の捕捉物質81に捕捉対象物質85（アナライト）を接触・結合させるための送液システム86と、金属薄膜82の捕捉物質81が固定されている面の反対側の面に向けて所定の角度でレーザ光を照射する光源87と、光源87から照射されて前記反対側の面で反射したレーザ光を受光して検出する光学検

出器 88 とを有している。

[0049] (金属薄膜)

金属薄膜 82 は、一般的な SPR 装置に用いられるセンサチップを構成する金属薄膜と同様の金属を用いることができる。すなわち、金属薄膜 82 は、金、銀、アルミニウム、銅および白金からなる群から選ばれる少なくとも 1 種の金属からなることが好ましく、その中でも金からなることがより好ましい。これらの金属については、その合金の形態であってもよく、金属を積層したものであってもよい。

[0050] 金属薄膜 82 は、誘電体部材 (図示せず) の主面上に形成されていることが好ましい。誘電体部材の主面上に金属薄膜 82 を形成する方法としては、通常行われている方法を用いることができる。そのような方法としては、例えば、電子ビーム加熱真空蒸着法、抵抗加熱真空蒸着法、マグネトロンスパッタ法、プラズマ支援スパッタ法、イオンアシスト蒸着法、イオンプレーティング法などの真空成膜法によって、誘電体部材の主面上に金属薄膜 82 を成膜することができる。誘電体部材は、SPR 装置 80 に用いられるセンサチップ 84 として一般的に用いられる任意の材料、例えば、 SiO_2 、 ZrO_2 、 Si_xN_y で形成することができる。

[0051] 金属薄膜 82 の厚さとしては、金であれば 5 ~ 500 nm、銀であれば 5 ~ 500 nm、アルミニウムであれば 5 ~ 500 nm、銅であれば 5 ~ 500 nm、白金であれば 5 ~ 500 nm、これらの合金または積層したものであれば 5 ~ 500 nm が好ましい。電場増強効果の観点からは、金であれば 20 ~ 70 nm、銀であれば 20 ~ 70 nm、アルミニウムであれば 10 ~ 50 nm、銅であれば 20 ~ 70 nm、白金であれば 20 ~ 70 nm、これらの合金または積層したものは 10 ~ 70 nm がより好ましい。金属薄膜 82 の厚さが上記範囲内であると、表面プラズモンが発生し易いので好適である。

[0052] (センサ部)

センサチップ 84 はセンサ部 (図示せず) を有している。センサ部は、セ

ンサチップ84の金属薄膜82上の一部の領域に設けられており、この領域に捕捉物質81が固定されている。この場合、センサ部は複数個設けられていてもよく、それぞれのセンサ部には異なる捕捉物質81が固定されていてもよい。

[0053] 捕捉物質81は、捕捉対象物質85を特異的に捕捉する物質である。捕捉物質81としては、例えば、A β タンパク質などの抗原に対する抗体、基質・補酵素に対する酵素、ホルモンに対するレセプタ、抗体に対するプロテインA、プロテインG、ビオチンに対するアビジン類、カルシウムに対するカルモジュリン、糖に対するレクチンなどが挙げられる。また、捕捉対象物質85が核酸である場合、それと特異的に結合する配列を有する核酸を捕捉物質81として使用可能である。また、捕捉対象物質85がナノマテリアルである場合、金属イオンキレート剤、クラウンエーテル、およびイオノフォア群などを捕捉物質81として使用可能である。

捕捉対象物質85としては、例えば、タンパク質、脂質、糖、核酸、その他の種々の物質が挙げられるが、本実施形態の場合、具体的な一例としてA β タンパク質やナノマテリアルが挙げられる。

[0054] 捕捉物質81を金属薄膜82上に固定する方法としては、通常行われている方法を用いることができる。そのような方法としては、例えば、金属薄膜82の表面に特定の結合を生じる修飾基を導入し、捕捉物質81にこの修飾基に対応した反応基を導入し、これらの修飾基と反応基とを結合させることにより、捕捉物質81を金属薄膜82上に固定することができる。

[0055] 具体的には、例えば、末端にアミノ基を有するシランカップリング剤で金属薄膜82の表面を処理してアミノ基で修飾し、続いてNHS（N-ヒドロキシコハク酸イミド）-PEG4-ビオチンで処理して上記アミノ基にビオチンを結合させ、このビオチンにアビジンを反応させた後に、ビオチン化した捕捉物質81（例えば、抗体）を反応させる。このようにすることにより、金属薄膜82上に捕捉物質81を固定することができる。また、末端にカルボキシル基を有するシランカップリング剤で金属薄膜82の表面を処理し

てカルボキシル基で修飾し、続いてEDC (1-Ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl]carbodiimide hydrochloride) およびNHSで処理してそのカルボキシル基を活性エステル化した後に、アミノ基を有する捕捉物質81 (例えば、抗体) を反応させる。このようにすることによっても、金属薄膜82上に捕捉物質81を固定することができる。

[0056] また、必要に応じて、金属薄膜82の表面にSAM (Self-Assembled Monolayer : 自己組織化単分子膜) を形成させ、捕捉物質81を金属薄膜82上に固定してもよい。SAMは、捕捉物質81を金属薄膜82上に固定する際の土台としての役割を有する。

このSAMが含む単分子としては、例えば、炭素原子数4~20程度のカルボキシアリカンチオール (例えば、(株) 同仁化学研究所、シグマ アルドリッチ ジャパン (株) などから入手可能)、特に好ましくは10-カルボキシー1-デカンチオールが用いられる。炭素原子数4~20のカルボキシアリカンチオールは、それを用いて形成されたSAMの光学的な影響が少ない、すなわち透明性が高く、屈折率が低く、膜厚が薄いなどの性質を有していることから好適である。

[0057] SAMの形成方法としては、特に限定されるものではないが、浸漬法、インクジェット法、ディスペンサ、アプリケータ、ノズルジェット、直接滴下 (ピペット、定量秤量機、) などの従来公知の方法を用いることができる。具体例として、10-カルボキシー1-デカンチオール ((株) 同仁化学研究所製) を含むエタノール溶液に金属薄膜82を浸漬する方法などが挙げられる。10-カルボキシー1-デカンチオールが有するチオール基が、金属と結合し固定化され、金属薄膜82の表面上で自己組織化し、SAMを形成する。形成したSAM上へ捕捉物質81を固定する方法も特に限定されず、従来公知の方法を用いることができ、例えば、上記のEDCおよびNHSで処理する方法を用いることができる。

[0058] SAMが溶解または分散する溶媒は特に制限はなく、下記の溶媒を用いる

ことができる。そのような溶媒としては、例えば、クロロホルム、四塩化炭素、ジクロロメタン、1, 2-ジクロロエタン、ジクロロベンゼン、ジクロロヘキサノンなどのハロゲン系溶媒、アセトン、メチルエチルケトン、ジエチルケトン、メチルイソブチルケトン、n-プロピルメチルケトン、シクロヘキサノンなどのケトン系溶媒、ベンゼン、トルエン、キシレン、メシチレン、シクロヘキシルベンゼンなどの芳香族系溶媒、シクロヘキサン、デカリン、ドデカンなどの脂肪族系溶媒、酢酸エチル、酢酸n-プロピル、酢酸n-ブチル、プロピオン酸メチル、プロピオン酸エチル、 γ -ブチロラクトン、炭酸ジエチルなどのエステル系溶媒、テトラヒドロフラン、ジオキサンなどのエーテル系溶媒、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミドなどのアミド系溶媒、メタノール、エタノール、1-ブタノール、エチレングリコールなどのアルコール系溶媒、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル系溶媒、ジメチルスルホキシド、水、各種緩衝液、またはこれらの混合溶媒などが挙げられる。

[0059] これらの溶媒の沸点としては、迅速に溶媒を乾燥させる観点から乾燥処理の温度未満の沸点が好ましく、具体的には60~200℃の範囲内が好ましく、さらに好ましくは、80~180℃の範囲内である。

溶媒は、SAMの形成方法に合わせて粘度や表面張力を調整するため、上記の溶媒を組み合わせて使用してもよい。

[0060] SAM溶液（SAM形成用の単分子を含んでいる溶媒）は、塗布範囲を制御する目的や、塗布後の表面張力勾配に伴う液流動（例えば、コーヒーリングと呼ばれる現象を引き起こす液流動）を抑制する目的に応じて、界面活性剤を含有することができる。

界面活性剤としては、溶媒に含まれる水分の影響、レベリング性、基板（金属薄膜82）への濡れ性などの観点から、例えば、アニオン性またはノニオン性の界面活性剤などが挙げられる。具体的には、含フッ素系活性剤などや、国際公開第08/146681号、特開平2-41308号公報などに挙げられた界面活性剤を用いることができる。

[0061] SAMに用いる溶媒は、SAMが溶媒に均一に溶解される溶液でも、材料が固形分として溶媒に分散される分散液でもよい。分散方法としては、超音波、高剪断力分散やメディア分散などの分散方法により分散することができる。

SAM溶液の粘度は、溶解度または分散性により、適宜選択することが可能で、具体的には、例えば、 $0.3 \sim 100 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ の範囲内で選択することができる。

本実施形態では、SAM溶液を金属薄膜82上に形成した後、上述した溶媒を除去する乾燥工程を有することができる。乾燥工程の温度は特に制限されないが、金属薄膜82などの基材が損傷しない程度の温度で乾燥処理することが好ましい。乾燥温度は、SAM溶液の組成などによって異なるため一概には言えないが、例えば、 80°C 以上の温度とすることができ、上限は 200°C 程度までは可能な領域と考えられる。乾燥時間は、用いる溶媒などの材料に応じて適切な時間（例えば、 80°C で30分間など）にすることが好ましい。このような条件とすることにより、乾燥を迅速に行うことができる。

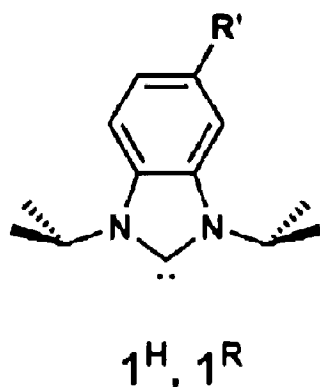
[0062] また、カルベン配位子が強固に金に結合することが知られている (Renee W. Y. Man et.al., J. Am. Chem. Soc. 2018, 140, 1576-1579)。そのため、カルベン配位子を用いると、その結合安定性によって金属薄膜82（好ましくは金薄膜）への捕捉物質81（例えば、抗体）の結合密度が向上し、それによって感度アップが期待される。カルベン配位子を金属薄膜82に結合させ、上記と同様に捕捉物質81（例えば、標識抗体）を結合すると、金属薄膜82-カルベン配位子-捕捉物質81という構成とすることができる。また、カルベン配位子の配位座は1座配位子より2座配位子、3座配位子の方が金属薄膜82との結合が強くなり、安定性が高まる方向に進行する。1座配位子よりも2座配位子、3座配位子、それ以上の配位子の方が、1座配位子に対し、安定性と感度アップにより好ましい。

また、カルベン以外にも、ケイ素の誘導体のシリレン、ゲルマニウム類縁

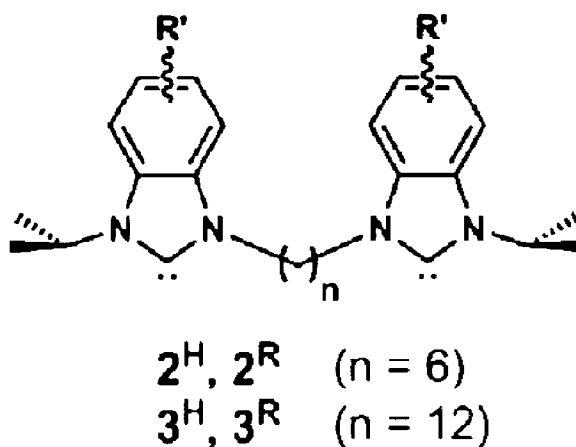
体のゲルミレンなどを用いることができる。また、配位飽和から二電子少ない化学種としてはニトレンがあり、本実施形態では当該ニトレンを用いることもできる。なお、カルベン配位子の一例を下記式(1)、(2)に示す。式(1)、(2)において、R'は捕捉物質81を示している。

[0063] [化1]

式(1)



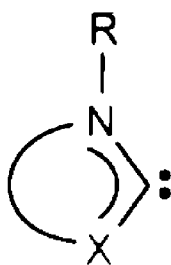
式(2)



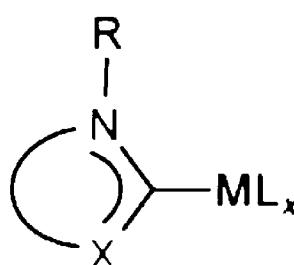
[0064] なお、式(1)、(2)で示すカルベン配位子は、下記式(3)、(4)のように、Xに位置する元素はN以外でもよい。Xに位置する元素としては、例えば、二配位の炭素が挙げられるが、これに限定されない。このような化合物であっても、カルベン配位子と同様の作用が期待できる。なお、式(3)、(4)におけるRは水素、アルキル基またはアリール基を示している。Mは金属を示している。L_xは配位子を示しており、当該L_x中のXは配位子の数を示している。

[0065] [化2]

式(3)



式(4)



[0066] なお、式(1)～(4)に示すカルベン配位子において、環状構造部分は

5員環であってもよいし、6員環であってもよい。5員環としては、例えば、アゾール、イミダゾール、ピロール、チオフェン、フラン、ピラゾール、オキサゾール、イソオキサゾール、チアゾール、トリアゾール、ペントゾールなどが挙げられる。6員環としては、例えば、ピリジン、ピリミジン、ピリダジン、トリアジン、テトラジン、ペントジン、ヘキサジンなどが挙げられる。以上に説明したカルベン配位子などは、いずれも金属薄膜82の表面（好ましくは、金薄膜の表面）と結合することができる。

[0067] 金属薄膜82上に捕捉物質81が固定された領域、すなわちセンサ部の形状および面積は特に限定されるものではないが、入射光（平行光）はプリズムを通してチップ表面全体に照射され、反射した光はフォトダイオード（PD）や電荷結合素子（CCD）検出器などで検出される。相互作用した部分だけが明るく変化したシグナル、または画像として観察される。特に、センサ部で励起され測定時のS/Nを向上させるためには、センサ部の形状は、励起光が照射される領域と同じ形状であることが好ましい。

[0068] （標識剤）

標識剤は、捕捉対象物質85と特異的に結合する物質と、所定の励起光を照射することで反射率変動、或いは蛍光を発することのできる蛍光体とを含む複合体である。例えば、捕捉対象物質85が抗原（例えば、A β タンパク質）である場合は、それと特異的に結合する抗体と反射率変動する複合体、或いは蛍光体との複合体（標識化二次抗体）を標識剤として用いることができる。このような標識剤は、公知の手法によって作製することができ、特定の捕捉対象物質85に対する標識剤は市販もされている。

[0069] 本実施形態におけるSPR測定法は、公知のSPR測定法における標識剤と同様のものであればよい。蛍光シグナル変化で用いる際には、公知の各種の蛍光体を用いることができる。代表的な蛍光体としては例えば下記の蛍光物質が挙げられる。

蛍光物質としては、ローダミン系色素分子、スクアリリウム系色素分子、シアニン系色素分子、芳香環系色素分子、オキサジン系色素分子、カルボピ

ロニン系色素分子、ピロメセン系色素分子などを用いることができる。また、蛍光物質としては、Alexa Fluor（登録商標、インビトロジェン社製）系色素分子、BODIPY（登録商標、インビトロジェン社製）系色素分子、Cy（登録商標、GEヘルスケア社製）系色素分子、DY系色素分子（登録商標、DYOMICS社製）、HiLyte（登録商標、アナスペック社製）系色素分子、DyLight（登録商標、サーモサイエンティフィック社製）系色素分子、ATTO（登録商標、ATTO-TEC社製）系色素分子、MFP（登録商標、Mobitec社製）系色素分子などを用いることができる。なお、このような色素分子の総称は、化合物中の主要な構造（骨格）または登録商標に基づき命名されており、それぞれに属する蛍光物質の範囲は当業者であれば過度の試行錯誤を要することなく適切に把握できる。また、蛍光物質は、上記のものに限られない。例えば、Eu、Tbなどの希土類錯体系の蛍光色素も、本実施形態で用いられる蛍光色素となり得る。希土類錯体は、一般的に励起波長（30～340 nm程度）と発光波長（Eu錯体で65 nm付近、Tb錯体で545 nm付近）との波長差が大きく、蛍光寿命が数百マイクロ秒以上と長い特徴がある。市販されている希土類錯体系の蛍光色素の一例としては、ATBTA-Eu³⁺が挙げられる。

[0070]（捕捉物質の金属薄膜への塗布および付着）

捕捉物質81の金属薄膜82への塗布および固定は次のようにして行うことができる。例えば、インクジェット法、アプリケータ、ノズルジェット、直接滴下（ピペット、定量秤量機）などにより、同一種の捕捉物質81（例えば、抗体）を金属薄膜82上の所定の塗布区画（図示せず）ごとに塗布することができる。塗布後、通常は、洗浄を繰り返し行い、捕捉物質81を付着させるが、捕捉物質81毎に1液で固相させる方法が望ましい。

[0071]（取得手段の他の一例：トランジスタ型バイオセンサ）

前述したように、本実施形態における高感度検出の方法としてトランジスタ型バイオセンサを用いた検出方法も好適に適用できる。図9は、トランジスタ型バイオセンサの一例を示す概略図である。

図9に示すように、トランジスタ型バイオセンサ90は、絶縁膜91の上に設けられた金属薄膜92上に後述のセンサ部93が設けられた構造を有する。センサ部93で起こる反応により生じるしきい値電圧、ドレイン電流値または電荷移動度の変化が、トランジスタ部94を介して計測されることにより、簡便かつ高感度に捕捉対象物質の検出が可能となる。センサ部93は、SPR装置80で説明したセンサ部と同様の構成とすることができる。すなわち、センサ部93は、その表面に捕捉物質95を固定した構成とすることができる。

[0072] 本実施形態で用いることのできるトランジスタ部94は、公知のトランジスタ構造により構成することができる。トランジスタ部94は、無機トランジスタであってもよいし、有機トランジスタであってもよい。また、トランジスタ部94は、トップゲート構造であってもよいし、ボトムコンタクト構造であってもよい。図9では、トランジスタ部94の一例として、ボトムコンタクト構造を図示している。

図9に示すボトムコンタクト構造のトランジスタ部94は、基板94a上に形成されたゲート電極94bと、基板94a上のゲート電極94bを覆うようにして形成されたゲート絶縁膜94cと、ゲート絶縁膜94c上に別個に形成されたソース電極94dおよびドレイン電極94eと、ゲート絶縁膜94c上のソース電極94dおよびドレイン電極94eを覆うようにして形成された半導体層94fと、半導体層94f上に形成された前記絶縁膜91とを有する。

[0073] トランジスタ部94は、耐久性の観点からは無機トランジスタを好適に用いることができる。無機トランジスタとしては、市販のトランジスタを使用してもよい。

また、小型で簡易的の観点からは薄膜トランジスタ (Thin Film Transistor: TFT) が好適に用いられる。この場合、基板94aとしては、ガラス、セラミックス、金属などの無機材料を適用することができる。また、基板94aとしては、樹脂、紙などの有機材料などを適用することができる。これ

らの有機材料の基板 94 a とすると、フレキシブル性が備わる。

有機 T F T の場合は、基板 94 a としては、例えば、ポリエチレンナフタレート、ポリエチレンテレフタレート、ポリエチレン、ポリイミド、ポリパラキシリレン（パリレン（登録商標））などの樹脂、紙などを用いることができる。

[0074] ゲート電極 94 b の構成材料としては、例えば、アルミニウム、銀、金、銅、チタン、ITO (Indium Tin Oxide)、PEDOT:PSS（ポリ（3,4-エチレンジオキシチオフェン）（PEDOT）とポリスチレンスルホン酸（PSS）から成る複合物の略称）などを用いることができる。

ゲート絶縁膜 94 c の構成材料としては、例えば、シリカ、アルミナ、自己組織化単分子膜（SAM）、ポリスチレン、ポリビニルフェノール、ポリビニルアルコール、ポリメチルメタクリレート、ポリジメチルシロキサン、ポリシルセスキオキサン、イオン液体、ポリテトラフルオロエチレン（テフロン（登録商標）AF、サイトップ（登録商標））などを用いることができる。

ソース電極 94 d およびドレイン電極 94 e の構成材料としては、例えば、金、銀、銅、白金、アルミニウム、PEDOT:PSS などを用いることができる。

[0075] 有機 T F T の場合、半導体層 94 f の構成材料としては、P 型の場合は、ペンタセン、ジナフトチエノチオフェン、ベンゾチエノベンゾチオフェン（C_n-BTBT）、TIPSペンタセン（6,13-ビス〔（トリイソプロピルシリル）エチニル〕ペンタセン）、TES-ADT（〔5,11-ビス（トリエチルシリルエチニル）アントラジチオフェン〕）、ルブレン、P3HT（ポリ（3-ヘキシルチオフェン））、PBTTT（例えば、ポリ〔2,5-ビス（3-ヘキサデシルチオフェン-2-イル）チエノ〔3,2-b〕チオフェン〕）などを用いることができる。N 型の場合は、フラーレンなどを用いることができる。

[0076] また、T F T の作製方法は、蒸着法、スパッタリング法などのドライプロ

セスでもよく、スピコート、バーコート、スプレーコートなどによる塗布でもよく、スクリーン印刷、グラビアオフセット印刷、凸版反転印刷、インクジェット印刷などの各種印刷機による印刷でもよい。印刷によれば、より効率的に低コストで作製することができる。

[0077] (トランジスタ型バイオセンサの他の一例)

トランジスタ型バイオセンサの他の一例について説明する。図10は、トランジスタ型バイオセンサの他の一例を示す概略図である。

図10に示すように、他の一例に係るトランジスタ型バイオセンサ100は、トランジスタ部110と検出部120とで構成されている点で、これらが一体化されて構成されているトランジスタ型バイオセンサ90(図9)と相違している。他の一例に係るトランジスタ型バイオセンサ100については、トランジスタ型バイオセンサ90との相違点を中心に説明する。

[0078] トランジスタ部110は、基板111上に形成されたゲート電極112と、ゲート電極112を覆うようにして形成されたゲート絶縁膜113と、ゲート絶縁膜113上に別個に形成されたソース電極114およびドレイン電極115と、ゲート絶縁膜113上のソース電極114およびドレイン電極115を覆うようにして形成された半導体層116と、基板111上においてゲート絶縁膜113および半導体層116の周囲を覆う撥液性バンク117と、半導体層116および撥液性バンク117の上部に形成された封止膜118とを有する。

また、検出部120は、基板121上に形成された金属薄膜122と、金属薄膜122上に形成されたセンサ部123と、センサ部123上に形成された捕捉物質124と、捕捉物質124の上部において捕捉物質124と直接接触しないように設けられた参照電極125とを有する。捕捉物質124と参照電極125との間に液滴試料126が供給される。

トランジスタ部110と検出部120とは、トランジスタ部110のゲート電極112と検出部120の金属薄膜122とにより電氣的に接続されており、検出部120で検出したシグナル変化を経時的に取得できる。

[0079] 撥液性バンク 117 の構成材料としては、例えば、ポリテトラフルオロエチレン、ポリフッ化ビニリデン、ポリフッ化ビニルなどのフッ素樹脂を用いることができる。撥液性バンク 117 は、任意のディスペンサ装置を用いて形成することができる。

また、封止膜 118 の構成材料としては、例えば、ポリテトラフルオロエチレン、ポリパラキシリレンなどが挙げられる。

[0080] 参照電極 125 は、例えば、銀／塩化銀電極、カーボン電極、物理蒸着（PVD、例えばスパッタリング）または化学蒸着（CVD）によって成膜した金属電極などとするすることができる。特に、銀／塩化銀電極やカーボン電極は、各種印刷方式により形成することができ、任意に配置することが容易であり、好ましい。また、参照電極 125 はセンサ部 123 の液と同じ液内に存在することが好ましく、図 10 に示すように、センサ部 123 近傍に配置されることが好ましい。

[0081] （金属薄膜、センサ部、捕捉物質の金属薄膜への塗布）

トランジスタ型バイオセンサ 90、100 における金属薄膜 92、122 は、SPR 装置 80 の金属薄膜 82 と同様とすることができる。

トランジスタ型バイオセンサ 90、100 におけるセンサ部 93、123 は、SPR 装置 80 のセンサ部と同様とすることができる。

捕捉物質 95、124 の金属薄膜 92、122 への塗布も、SPR 装置 80 と同様とすることができる。

[0082] （電気検出）

トランジスタ型バイオセンサからの電気シグナルの検出は、市販品を例示すると、アイスフエトコム社製 ISFET-F20 や浜松ホトニクス社製イオンイメージセンサなどのセンサで行うことができる。

[0083] （解析手段）

図 1 に戻って解析手段 3 について説明する。

解析手段 3 は、前記した取得手段 2 で取得した経時的なシグナル変化から捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する

。また、前述したように、解析手段3では、粒径分布を観測するとともに、表面状態・結晶性・修飾鎖の情報をシグナル情報から取得することができる。また、解析手段3では、シグナルの高さ、速度、シグナル挙動を対応内容別に特徴を判定し、各内容を区別した情報を取得することができる。解析手段3で解析して得られた情報は、後述する学習済みモデル生成装置1Aの機械学習手段4で用いることができる。

[0084] 解析手段3としては、図示しないキーボードやマウスなどの入力手段、モニタやプリンタなどの出力手段、プログラムやデータなどを記憶するハードディスクドライブ（HDD）、ソリッドステートドライブ（SSD）、リードオンリーメモリ（ROM）などの記憶手段、プログラムの実行や計算処理などを行う中央処理装置（CPU）を備えた一般的なコンピュータ（汎用コンピュータ）を用いることができる。つまり、一般的なコンピュータの記憶手段に解析を行うための任意のプログラムをインストールし、これを実行させることで、解析手段3として使用することができる。

[0085] <学習済みモデル生成装置>

次に、図11を参照して、本発明の一実施形態に係る学習済みモデル生成装置について説明する。図11は、本発明の一実施形態に係る学習済みモデル生成装置1Aの構成を説明する概略図である。

図11に示すように、学習済みモデル生成装置1Aは、取得手段2と、解析手段3と、機械学習手段4とを有する。

なお、学習済みモデル生成装置1Aの取得手段2および解析手段3は、前述した解析システム1の取得手段2および解析手段3とそれぞれ同様であるので、それらについての説明は省略し、機械学習手段4について説明する。

[0086] （機械学習手段）

機械学習手段4は、解析手段3によって得られた解析結果を複数用いて機械学習を行い、学習済みモデル（予測モデル）を生成する。機械学習手段4も解析システム1の解析手段3と同様に、図示しないキーボードやマウスなどの入力手段、モニタやプリンタなどの出力手段、プログラムやデータなど

を記憶するHDD、SSD、ROMなどの記憶手段、プログラムの実行や計算処理などを行うCPUを備えた一般的なコンピュータ（汎用コンピュータ）を用いることができる。つまり、一般的なコンピュータの記憶手段に機械学習を行うための任意のプログラムをインストールし、これを実行させることで、機械学習手段4として使用することができる。

[0087]（機械学習による予測モデルの構築）

取得手段2から得られる複数のシグナルの特徴から、例えば、捕捉対象物質の凝集サイズごとに、その凝集量について、それぞれ予測モデルを構築する。これら複数の予測モデルの結果を組み合わせることで、捕捉対象物質の凝集サイズと凝集量の分布を予測することができる。例えば、横軸が凝集サイズ、縦軸が凝集量の分布図（イメージ図）を作成することができる。前記したこれらの予測モデルは、捕捉対象物質の凝集サイズおよび凝集量が予め判明している試験データについて、取得手段2から得られる複数のシグナルの特徴を説明変数とし、捕捉対象物質の凝集サイズごとの凝集量を目的変数とする機械学習をそれぞれ行うことで構築される。

[0088] 本実施形態に適用する機械学習は、教師あり学習であってもよいし、教師なし学習であってもよい。なお、教師あり学習とは、正解ラベルのついた学習データから「入力と出力の関係」を学習する学習方法をいう。教師なし学習とは、正解ラベルのない学習データから「データ群の構造」を学習する学習方法をいう。

また、機械学習は、強化学習、深層学習または深層強化学習であってもよい。なお、強化学習とは、試行錯誤をすることで「最適な行動系列」を学習する学習方法をいう。深層学習とは、大量のデータから、データに含まれる特徴を段階的により深く（深層で）学習する学習方法をいう。深層強化学習とは、強化学習と深層学習を組み合わせた学習方法をいう。

[0089] 機械学習は、一般的な解析手法（アルゴリズム）を適用できる。機械学習は、例えば、線形回帰（重回帰分析、部分最小二乗（PLS）回帰、LASSO回帰、Ridge回帰、主成分回帰（PCR）など）、ランダムフォレ

スト、決定木、サポートベクターマシン（SVM）、サポートベクター回帰（SVR）、（ディープ）ニューラルネットワーク、判別分析などにより選択される解析手法により構築された予測モデルを適用可能である。

[0090] 説明変数としては、取得手段2から得られる各シグナルの特徴を表す数値、およびそれらから計算された数値を用いることができる。説明変数としては、例えば、各シグナルの立ち上がりの傾き、最大値、シグナルが立ち上がるまでの時間、解離定数（ K_d ）、結合速度定数（ k_{on} ）、解離速度定数（ k_{off} ）などが挙げられる。

[0091] なお、上記実施形態は、本発明を実施するにあたっての具体化の一例を示したものに過ぎず、上記実施形態によって本発明の技術的範囲が限定的に解釈されてはならない。本提案はその要旨、またはその主要な特徴から逸脱することなく、様々な形で実施することができる。上記実施形態では、捕捉対象物質の凝集サイズごとの凝集量を目的変数としていたが、目的変数はこれらには限定されない。目的変数は、例えば、捕捉対象物質の凝集の表面構造、凝集の様式、電荷量、相互作用の大きさなどとしてもよい。また、説明変数についても、シグナルの特徴、およびそれらから計算される値だけに限定されない。説明変数は、例えば、各センサの捕捉物質の名称や、センサの製造時期（製造日）などとしてもよい。

[0092] <判別システム>

次に、図12を参照して、本発明の一実施形態に係る判別システムについて説明する。図12は、本発明の一実施形態に係る判別システム1Bの構成を説明する概略図である。

図12に示すように、判別システム1Bは、前述した学習済みモデル生成装置1Aを用いるとともに、判別手段5を有する。なお、判別システム1Bにおける学習済みモデル生成装置1Aについては既に説明しているので、その説明は省略し、判別手段5について説明する。

なお、前述した解析システム1および学習済みモデル生成装置1Aは、作成した学習済みモデル（プログラム）を用意し、これを未知の経時的なシグ

ナル変化の判別を有するユーザ（利用者）に使用させる提供者が用いるものである。

判別システム 1 B の判別手段 5 は、提供者が用意した学習済みモデルを使用して、未知の経時的なシグナル変化の判別を行いたい利用者が用いるものである。

[0093] （判別手段）

判別手段 5 は、前述した学習済みモデル生成装置 1 A で生成した学習済みモデルを用いて、取得した未知の経時的なシグナル変化を判別して、前記した未知の経時的なシグナル変化を有する捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方の判別結果を出力する。なお、未知の経時的なシグナル変化は、前述した取得手段 2 で取得したものであってもよいし、他の取得手段（他の測定機器（S P R 装置）など）で取得したものであってもよい。判別結果としては、例えば、判別対象となる捕捉対象物質がどのような凝集状態および／もしくは表面状態であるか、または、どのような凝集状態および／もしくは表面状態となるかを予測・想定した結果を挙げることができる。予測した結果は、機械学習で適用した解析手法によって異なるが、例えば、分類、回帰、クラスタリング、異常検出（外れ値検出）などの判別結果として得ることができる。例えば、判別手段 5 では、未知の経時的なシグナル変化（例えば、高さ、傾き、速度などの変化）を入力すると、学習済みモデルを用いて、凝集分布の答え（予測した結果（判別結果））を得ることができる。

[0094] 判別手段 5 も解析システム 1 の解析手段 3 や機械学習手段 4 と同様に、図示しないキーボードやマウスなどの入力手段、モニタやプリンタなどの出力手段、プログラムやデータなどを記憶する H D D、S S D、R O M などの記憶手段、プログラムの実行や計算処理などを行う C P U を備えた一般的なコンピュータ（汎用コンピュータ）を用いることができる。つまり、一般的なコンピュータの記憶手段に判別手段 5 を行うための任意のプログラムをインストールし、これを実行させることで、判別手段 5 として使用することができる。

きる。

[0095] <解析方法、学習済みモデル生成方法および判別方法>

次に、適宜図面を参照して本発明の一実施形態に係る解析方法、学習済みモデル生成方法および判別方法について説明する。

[0096] (解析方法)

図13は、本発明の一実施形態に係る解析方法を説明するフローチャートである。

図13に示すように、解析方法は、取得工程S1と、解析工程S2とを有する。

取得工程S1は、電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する工程である。

解析工程S2は、取得工程S1で取得した経時的なシグナル変化から捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する工程である。

なお、取得工程S1は前述した取得手段2で行うことができ、解析工程S2は前述した解析手段3で行うことができる。

[0097] (学習済みモデル生成方法)

図14は、本発明の一実施形態に係る学習済みモデル生成方法を説明するフローチャートである。

図14に示すように、学習済みモデル生成方法は、取得工程S1と、解析工程S2と、機械学習工程S3とを有する。なお、学習済みモデル生成方法の取得工程S1および解析工程S2はそれぞれ、前記した解析方法の取得工程S1および解析工程S2と同様であるので、これらの説明は省略し、機械学習工程S3について説明する。

[0098] 機械学習工程S3は、解析工程S2によって得られた解析結果を複数用いて機械学習を行い、学習済みモデルを生成する工程である。

なお、機械学習工程S3は、前述した機械学習手段4で行うことができる。

[0099] (判別方法)

図15は、本発明の一実施形態に係る判別方法を説明するフローチャートである。

本実施形態に係る判別方法は、図14を参照して説明した学習済みモデル生成方法で生成した学習済みモデルを用いて、取得した未知の経時的なシグナル変化を判別して、その未知の経時的なシグナル変化を有する捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方の判別結果を出力する判別工程S4を有する。この判別工程S4は、前記判別結果を得たい利用者が、未知の経時的なシグナル変化を学習済みモデルに入力してその判別結果を得るものである。なお、判別方法における取得工程S1、解析工程S2および機械学習工程S3は、作成した学習済みモデル（プログラム）を前記利用者に使用させる提供者が行うものである。本実施形態に係る判別方法は、図15に示すように、全体としては、取得工程S1、解析工程S2および機械学習工程S3の順に行われるとともに、これらは判別工程S4が行われる前に実施される。

[0100] なお、判別方法の取得工程S1、解析工程S2および機械学習工程S3はそれぞれ、学習済みモデル生成方法の取得工程S1、解析工程S2および機械学習工程S3と同様であるので、これらの説明は省略する。

判別工程S4は、前述した判別手段5で行うことができる。

[0101] 以上に説明した本実施形態に係る解析システム、学習済みモデル生成装置および判別システムならびに解析方法、学習済みモデル生成方法および判別方法は、前述した取得手段・取得工程および解析手段・解析工程を有している。従って、これらはいずれも、電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得し、その経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析できる。従って、これらはいずれも、凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を感度良く定量化できる。

実施例

[0102] [実施例1] 電気による検出：A β 1-42

(A β 1-42凝集体作製)

A β 1-42 (全合成ペプチド；ペプチド研究所製) の乾燥物をジメチルスルホキシド (DMSO) で1 mMとなるように溶解し、リン酸緩衝液で希釈して、低凝集試料を調製した。

また、DMSOに溶解したA β 1-42を10分間超音波処理し、リン酸緩衝液にて希釈した後に37°Cで24時間静置した試料を高凝集試料とした。

[0103] (延長ゲートの作製)

基材となるポリエチレンナフタレート (PEN) フィルムの表面に、蒸着装置 (エイエルエステクノロジー社製) を用い、Auをパターン蒸着した。蒸着したAu膜の膜厚は100 nmとした。Auのパターンは反応部と延長部を用意し、反応部は以降記載の反応場を作製するために6 mm \times 6 mmの正方形とした。

Au膜の反応部を、濃度1 mM 10-カルボキシー-1-デカンチオール (同仁化学研究所社) を含むヘキサン溶液に37°C、2時間浸漬し、SAM膜を形成した。その後、SAM膜はエタノールと超純水で洗浄した。

[0104] SAM膜を形成した反応部に濃度5 mM Sulfo-NHS (N-hydroxysulfosuccinimide、Thermo Scientific社製)、濃度40 mM N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド (東京化成工業社製)、濃度0.5 M NaCl (関東化学社製) を含む100 mM MES buffer (同仁化学研究所) を30 μ l滴下し、37°C、15分静置した。

[0105] 反応後、滴下した液を除去したのち、濃度0.5 mg/mlストレプトアビジン (ナカライテスク社製) を含む炭酸buffer (15 mM Na₂CO₃ (関東化学社製)、35 mM NaHCO₃ (関東化学社製)) を50 μ l滴下し、37°C、2時間静置した。

滴下した液を除去したのち、濃度1 M 2-アミノエタノールを含むD-

PBS buffer（富士フィルム和光純薬社製）を $20\mu\text{l}$ 滴下し、 37°C 、15分静置した。

[0106] 濃度 $0.05\text{wt}\%$ Tween 20（関東化学社製）と濃度 $0.1\text{wt}\%$ BSA（富士フィルム和光純薬社製）を含むD-PBS bufferを $20\mu\text{l}$ 滴下し、 37°C 、15分静置した。

滴下した液を除去したのち、超純水で洗浄を行い、高分子アミロイド β オリゴマーELISAキットワコーVer. 2（富士フィルム和光純薬社製）に含まれるビオチン結合抗体（BAN50）溶液を3倍希釈した溶液を $20\mu\text{l}$ 滴下し、 37°C 、30分静置した。

滴下した液を除去したのち、濃度 $0.1\text{wt}\%$ BSA、濃度 $5\text{wt}\%$ ジメチルスルホキシド（DMSO）を含むD-PBS bufferで洗浄した。

[0107]（滴定）

マイクロチューブに $700\mu\text{l}$ の濃度 $0.1\text{wt}\%$ BSA、濃度 $5\text{wt}\%$ ジメチルスルホキシド（DMSO）を含むD-PBS bufferを準備し、延長ゲートのSAM膜と参照電極Ag/AgCl（RE-1、BAS社製）をセットした。

[0108] 先に参照して説明した図6に示すように、FET（2SK241、東芝社製）および半導体パラメータアナライザ（キーサイトテクノロジー社製）を接続した。

安定化のため、セットしてから2時間ブランク液（初期buffer（D-PBS buffer））を滴下した（図16では、ブランク液滴下開始から2時間になる少し前から測定を開始（0:00）し、0:07ぐらいまでブランク液を滴下している様子を示している）。

次いで、セットしてから2時間経過後にD-PBSで希釈した濃度 $50\mu\text{M}$ 低凝集試料（捕捉対象物質液）を $100\mu\text{l}$ 滴下した（図16では、0:15ぐらいのタイミングで当該試料を滴下した）。

そして、ドレインソース間電圧 V_{ds} を1Vで固定し、ゲートソース

間電圧 V_{gs} を -1.5 V から 1.5 V の間で変化させ、ドレインソース間電流 I_{ds} の変化を測定し、約 40 分の間 (図 16 では、0 : 57 まで)、30 秒おきに、しきい値電圧 V_{th} の経時変化を測定した。すなわち、しきい値電圧 V_{th} は、30 秒おきに間欠測定を行った。

さらに、前記と同様にして、高凝集試料 (濃度 $50\text{ }\mu\text{M}$) についても滴定操作を行った。その結果を図 16 に示す。図 16 は、低凝集試料 ($A\beta 1-42$ モノマー) および高凝集試料 ($A\beta 1-42$ 凝集体) のしきい値電圧 V_{th} の経時変化を示すグラフである。

[0109] (結果)

図 16 に示すように、低凝集試料 ($A\beta 1-42$ モノマー) と高凝集試料 ($A\beta 1-42$ 凝集体) とでは、FET の電気による検出で測定される経時的なシグナル変化に違いがあることが確認・解析された。FET でこのような違いが確認・解析されたことから、光学による検出、例えば、SPR 装置でも同様に低凝集試料 ($A\beta 1-42$ モノマー) と高凝集試料 ($A\beta 1-42$ 凝集体) とで違う経時的なシグナル変化が取得され、解析することができる。

[0110] [実施例 2] 電気による検出：ナノ材料

(延長ゲートの作製)

基材となる PEN フィルムの表面に、蒸着装置 (エイエルエステクノロジー社製) を用い、Au をパターン蒸着した。蒸着した Au 膜の膜厚は 100 nm とした。Au のパターンは反応部と延長部を用意し、反応部は以降記載の反応場を作製するために $6\text{ mm} \times 6\text{ mm}$ の正方形とした。

Au 膜の反応部を、濃度 0.1 mM Biotin-SAM Formation Reagent (同仁化学研究所社) を含むエタノール溶液に 37°C 、2 時間浸漬し、Biotin 結合 SAM 膜を形成した。その後、DPBS buffer で洗浄した。

[0111] (滴定)

マイクロチューブに $700\text{ }\mu\text{l}$ の濃度 $0.1\text{ wt}\%$ BSA、濃度 2 wt

%グリセロールを含むD-PBS bufferを準備し、延長ゲートのSAM膜と参照電極Ag/AgCl (RE-1、BAS社製) をセットした。

そして、前述同様、先に参照して説明した図6に示すように、FET (2SK241、東芝社製)、半導体パラメータアナライザ (キーサイトテクノロジー社製) を接続した。

安定化のため、セットしてから2時間ブランク液 (初期buffer (D-PBS buffer)) を滴下した。

次いで、セットしてから2時間経過後にStreptavidin, Gold Colloidal Particle 5nm (OD=3、コスモバイオ社製) (ターゲット液) を70 μ l滴下した。

そして、ドレインソース間電圧V_{ds}を1Vで固定し、ゲートソース間電圧V_{gs}を-1.5Vから1.5Vの間で変化させ、ドレインソース間電流I_{ds}の変化を測定し、約40分の間、30秒おきに、しきい値電圧V_{th}の経時変化を測定した。

さらに、Streptavidin, Gold Colloidal Particle 15nmおよび60nm (OD=3、コスモバイオ社製) についても同様の滴定操作を行った。

[0112] (結果)

FETの電気による検出により、ナノ材料に対しても、粒子径に応じた、経時的なシグナル変化を取得できることが確認されるとともに、それらのシグナル変化に違いがあることが確認・解析された。また、5nm、15nm、60nm Streptavidin, Gold Colloidal ParticleのODから粒子濃度を調整し、同様の検討を行い、それぞれのシグナル変化について違いが検出された。

[0113] [実施例3] 機械学習モデルおよび分類予測: A β 1-42

実施例3では、種々濃度を異ならせた以外は実施例1と同様にして、低凝集試料 (A β 1-42モノマー) および高凝集試料 (A β 1-42凝集体) を調製し、滴定を行って、FETの電気による検出で測定される経時的なシ

グナル変化を得た。その結果を図17に示す。図17は、種々濃度を異ならせた低凝集試料（ $A\beta 1-42$ モノマー）および高凝集試料（ $A\beta 1-42$ 凝集体）のしきい値電圧 V_{th} の経時変化を示すグラフである。なお、図17は、捕捉対象物質液を滴下した後の測定結果を掲載している。

[0114] 図17に示すように、実施例3においても、低凝集試料（ $A\beta 1-42$ モノマー）と高凝集試料（ $A\beta 1-42$ 凝集体）とでは、FETの電気による検出で測定される経時的なシグナル変化に違いがあることが確認できた。

そして、実施例3におけるこれらの測定結果を用いて、しきい値電圧 V_{th} の経時変化データを主成分分析により次元圧縮したものを説明変数とし、低凝集試料であったか高凝集試料であったかを目的変数として、機械学習モデルであるSVM（サポートベクトルマシン）の学習と分類予測とを行った。その結果を図18に示す。図18は、しきい値電圧 V_{th} の経時変化データを主成分分析により次元圧縮したものを説明変数とし、低凝集試料であったか高凝集試料であったかを目的変数とし、機械学習モデルであるSVMの学習と分類予測とを行った結果を示すグラフである。図18に示すように、機械学習モデル（学習済みモデル）を生成し、それを用いて低凝集試料と高凝集試料とを分類（判別）することができた。

[0115] 実施例3においても、FETでこのような違いが確認・解析されたことから、光学による検出、例えば、SPR装置でも同様に低凝集試料（ $A\beta 1-42$ モノマー）と高凝集試料（ $A\beta 1-42$ 凝集体）とで違う経時的なシグナル変化が取得され、解析することができる。また、機械学習における説明変数には、しきい値電圧 V_{th} の他にも、例えば k_{on} 、 k_{off} 、ドレインソース間電圧 V_{ds} 、用いた試薬の量や性質を表す数値や文字列、FETの性質を表す数値や文字列、あるいはそれらを加工した数値などを用いることができる。また、機械学習における目的変数には、低凝集試料であったか高凝集試料であったかのような質的変数だけでなく、例えば各凝集状態にある試料の量や比率などの量的変数を用いることができる。機械学習のモデルについても、SVMの他にも例えばロジスティック回帰、判別分析のような分類

モデルを用いることができる。また、機械学習のモデルは、線形回帰、PLS回帰（偏最小二乗回帰）、Lasso回帰（least absolute shrinkage and selection operator回帰）などの予測モデルを用いることができる。さらに、機械学習のモデルは、決定木、ランダムフォレスト、ディープニューラルネットワークなどを用いることができる。

[0116] [考察]

実施例1、実施例2および実施例3の結果から、A β タンパク質フラグメント（A β 1-42）やStreptavidin, Gold Colloidal Particle 5nm、15nm、60nmのような微小かつ低濃度な対象物（捕捉物質）であっても電気または光学による検出法で経時的なシグナル変化を取得し、解析できることが確認された。そして、その経時的なシグナル変化は、対象物の状態、例えば、モノマーや凝集体などの状態によって違っていることが確認された。

そして、対象物およびその状態によって種々異なる経時的なシグナル変化のデータを多数集め、コンピュータ等で機械学習を行うことにより、学習済みモデルを作成できることが確認された（前記したように、例えばSVMの学習と分類予測とを行うことができた）。さらに、作成した学習済みモデルを用いて、取得された未知の継続的なシグナル変化（データ）に対して、分類、回帰、クラスタリング、異常検出（外れ値検出）などの分析（判別）を行えることが確認された。

符号の説明

- [0117]
- | | |
|-----|-------------|
| 1 | 解析システム |
| 1 A | 学習済みモデル生成装置 |
| 1 B | 判別システム |
| 2 | 取得手段 |
| 3 | 解析手段 |
| 4 | 機械学習手段 |
| 5 | 判別手段 |

- S 1 取得工程
- S 2 解析工程
- S 3 機械学習工程
- S 4 判別工程

請求の範囲

- [請求項1] 電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する取得手段と、
前記取得手段で取得した経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する解析手段と、
を有する解析システム。
- [請求項2] 電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する取得手段と、
前記取得手段で取得した経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する解析手段と、
前記解析手段によって得られた解析結果を複数用いて機械学習を行い、学習済みモデルを生成する機械学習手段と、
を有する学習済みモデル生成装置。
- [請求項3] 請求項2に記載の学習済みモデル生成装置で生成した前記学習済みモデルを用いて、取得した未知の経時的なシグナル変化を判別して、前記未知の経時的なシグナル変化を有する捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方の判別結果を出力する判別手段を有する判別システム。
- [請求項4] 電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する取得工程と、
前記取得工程で取得した経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する解析工程と、
を有する解析方法。
- [請求項5] 電気または光学による検出法によって捕捉対象物質と捕捉物質との相互作用による経時的なシグナル変化を取得する取得工程と、

前記取得工程で取得した経時的なシグナル変化から前記捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方を解析する解析工程と、

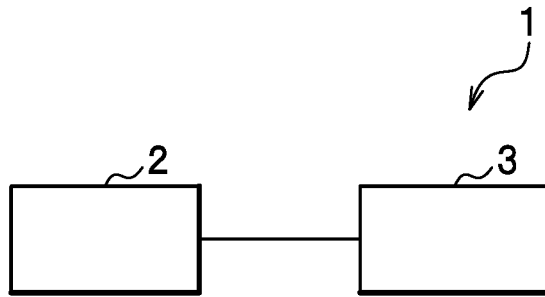
前記解析工程によって得られた解析結果を複数用いて機械学習を行い、学習済みモデルを生成する機械学習工程と、

を有する学習済みモデル生成方法。

[請求項6]

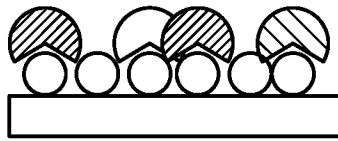
請求項5に記載の学習済みモデル生成方法で生成した前記学習済みモデルを用いて、取得した未知の経時的なシグナル変化を判別して、前記未知の経時的なシグナル変化を有する捕捉対象物質の凝集状態および表面状態のうちの少なくとも一方の判別結果を出力する判別工程を有する判別方法。

[図1]

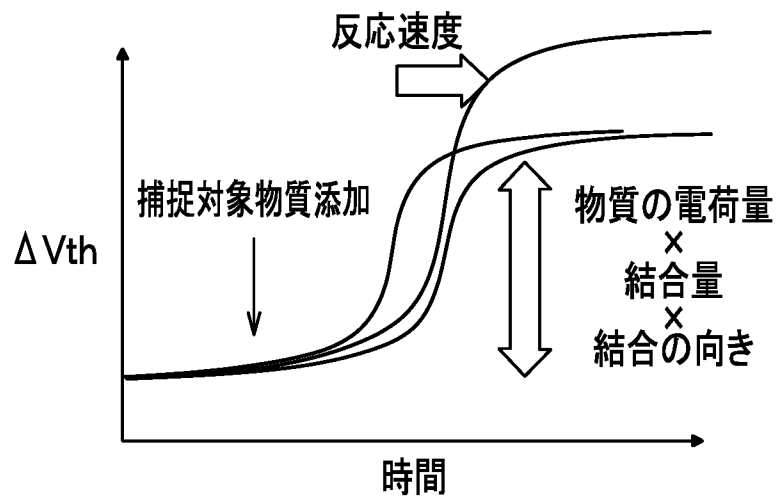


[図2A]

電気検出シグナル



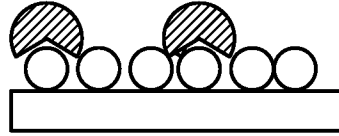
捕捉対象物質:化合物A+B+C
混合シグナル



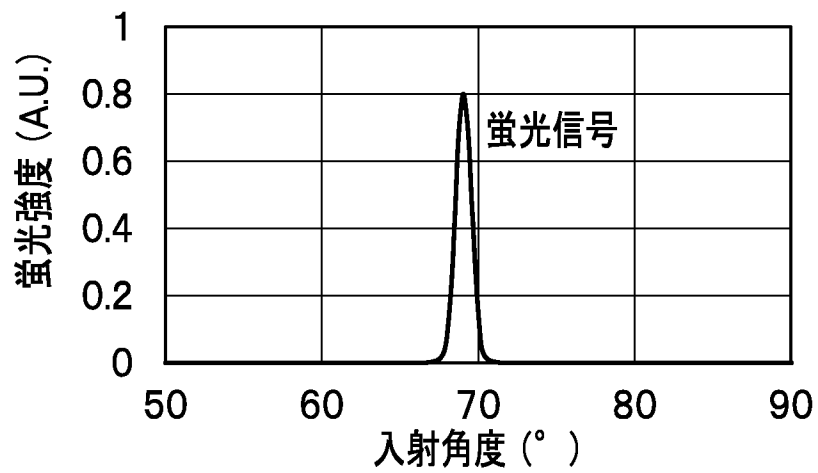
1反応場に対し、
複数の化合物の混合シグナルを
機械学習で判別

[図2B]

SPFSシグナル(蛍光強度)

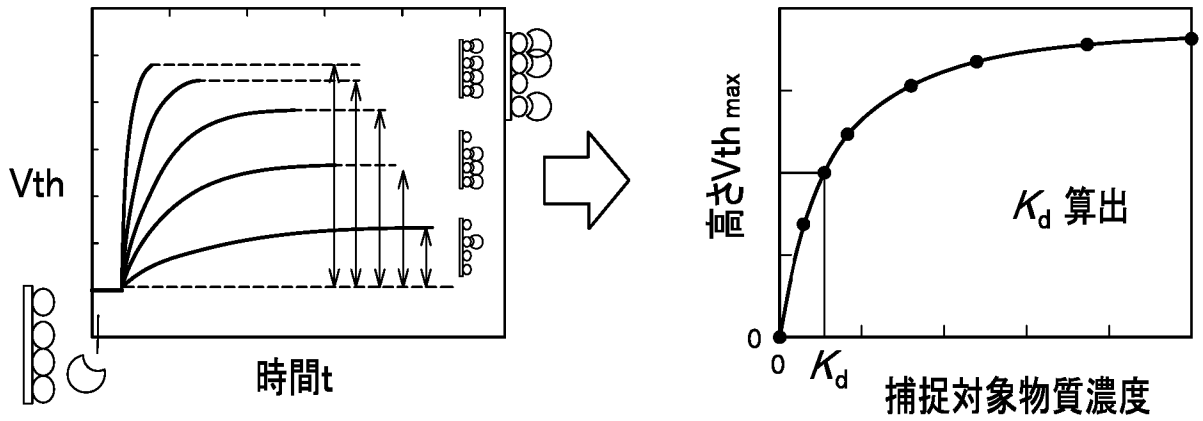


捕捉対象物質:化合物A

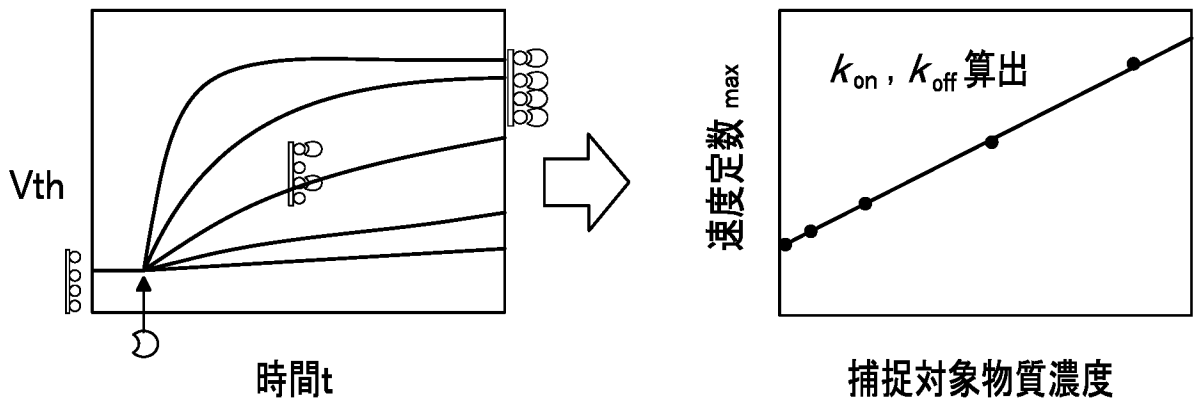


1反応場に対し、
1つの化合物のみ定量可

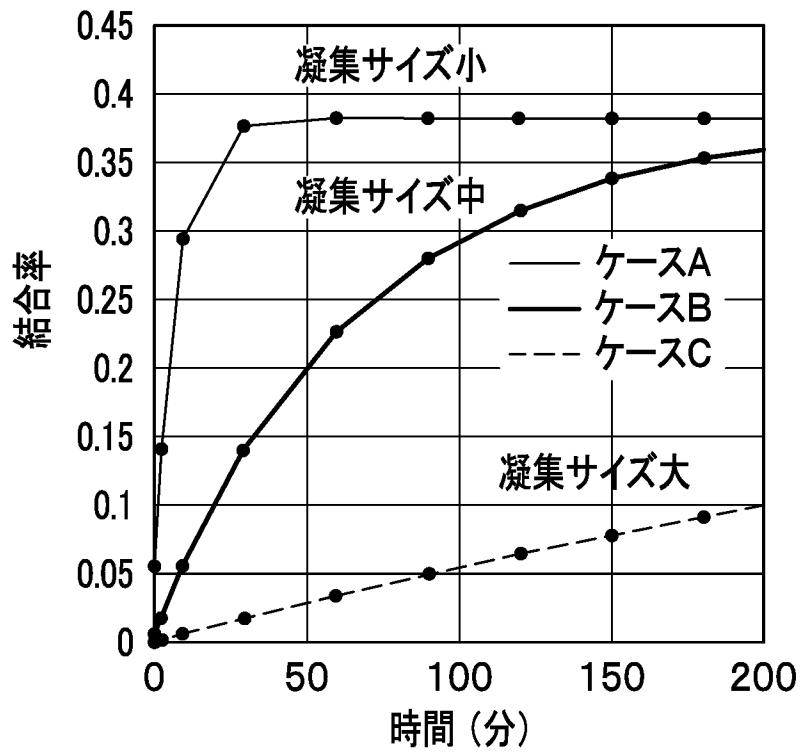
[図3A]

各濃度の $V_{th\max}$ を測定

[図3B]

 V_{th} 時間変化

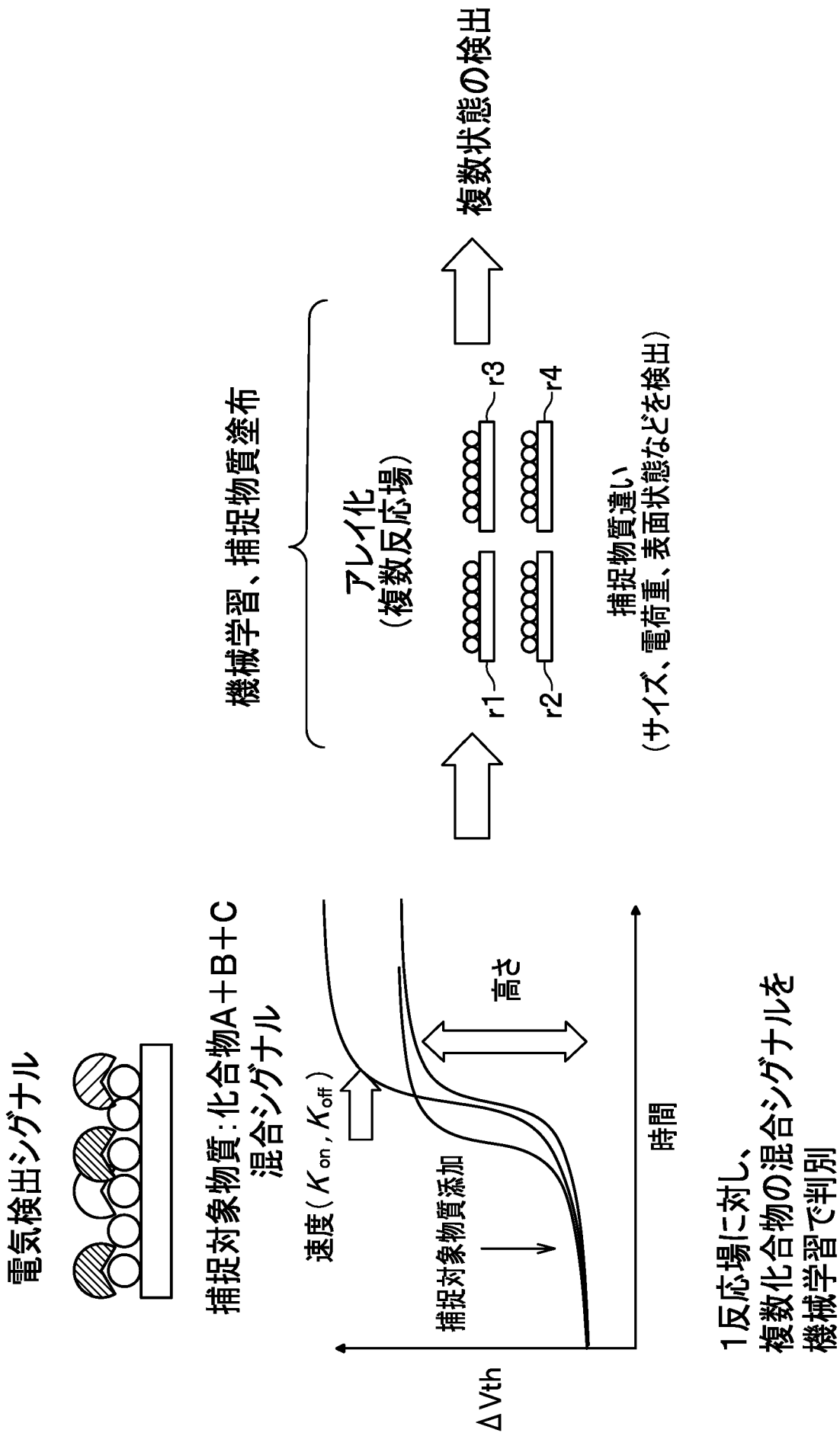
[図4A]



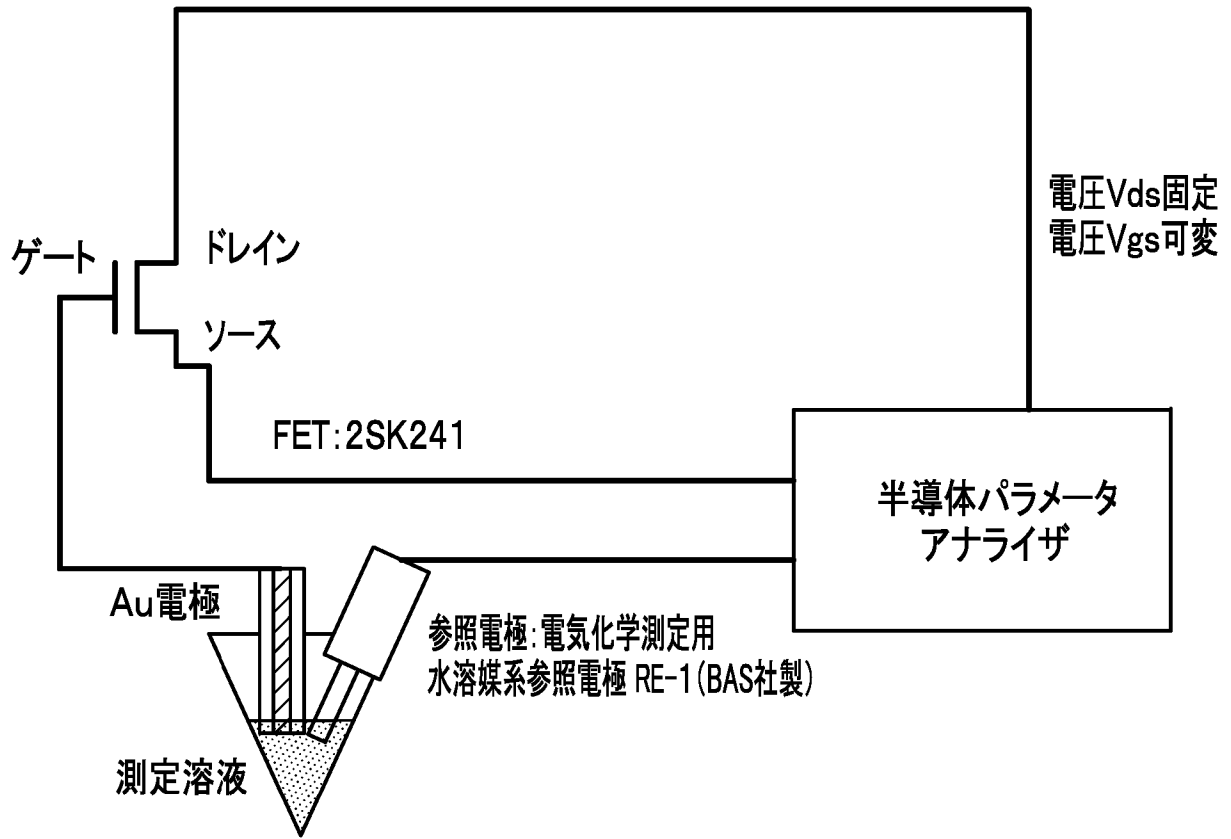
[図4B]

ケース	K_d	k_{on}	k_{off}
	M	$M^{-1}s^{-1}$	s^{-1}
A	1.0E-09	1.0E+06	1.0E-03
B	1.0E-09	1.0E+05	1.0E-04
C	1.0E-09	1.0E+04	1.0E-05

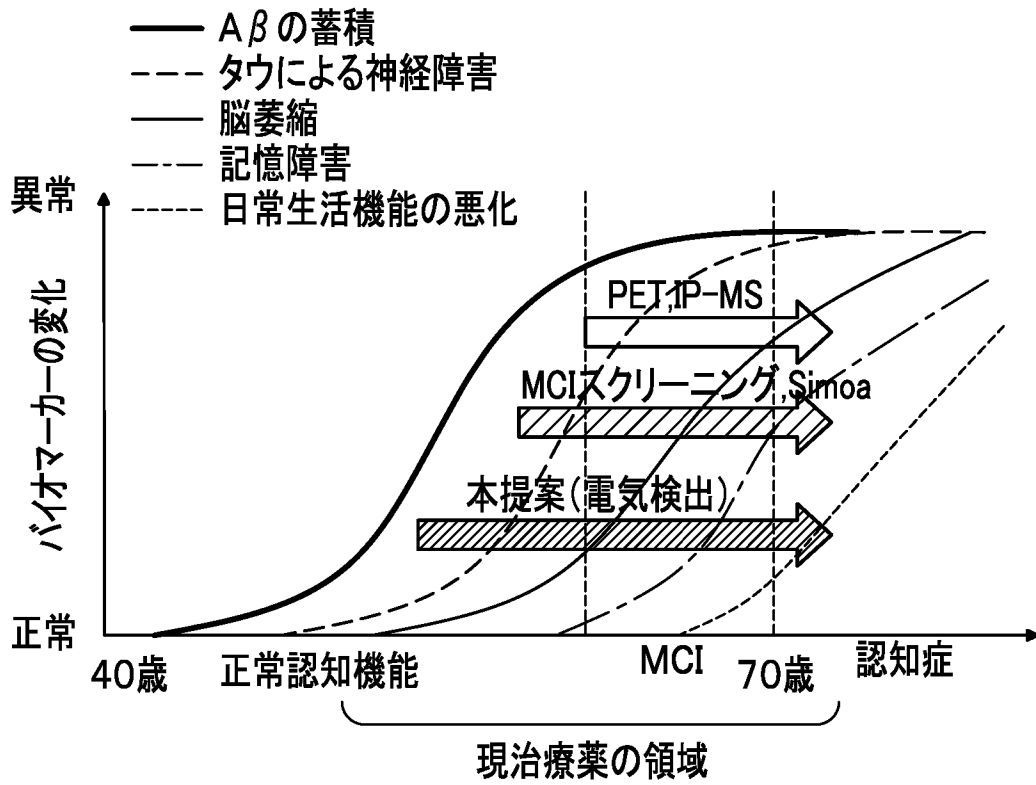
[図5]



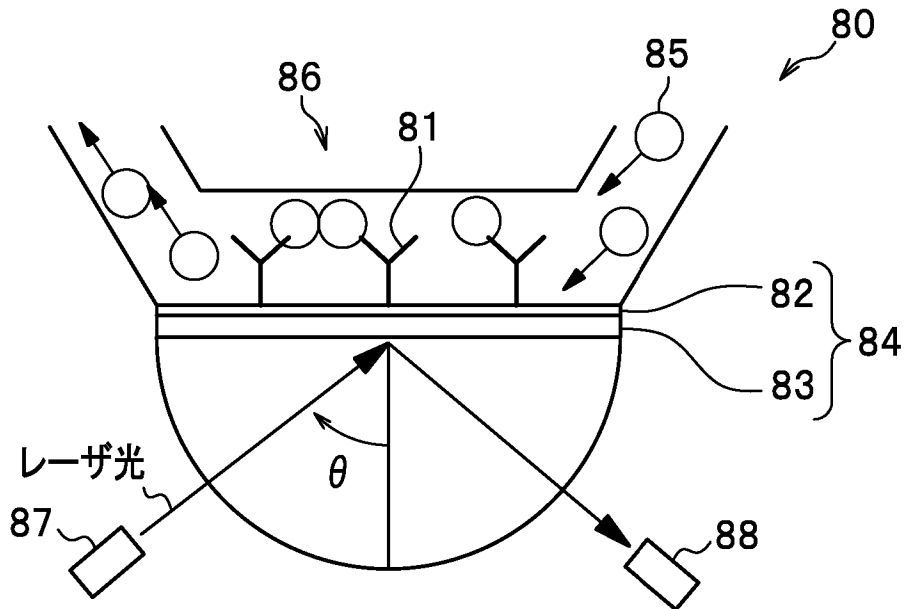
[図6]



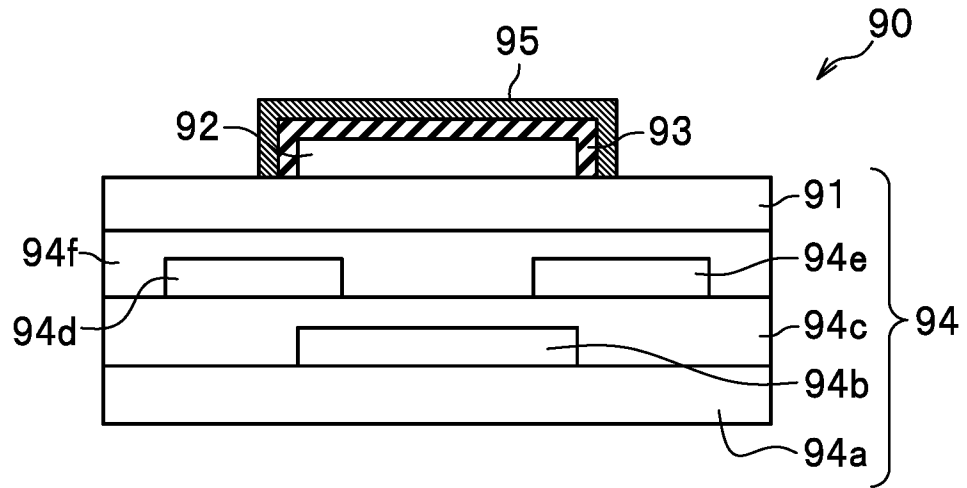
[図7]



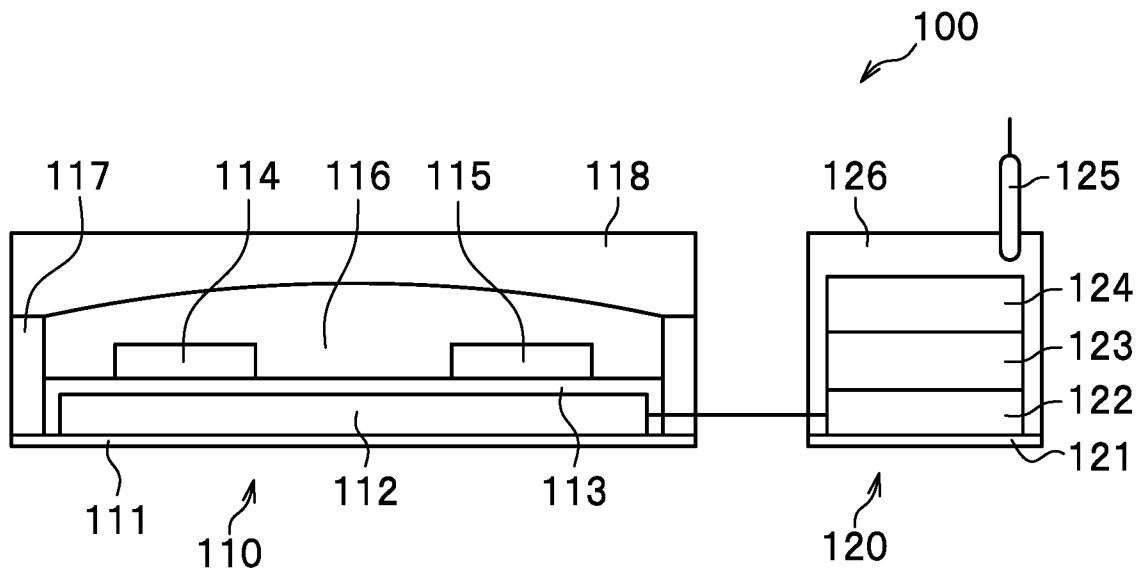
[図8]



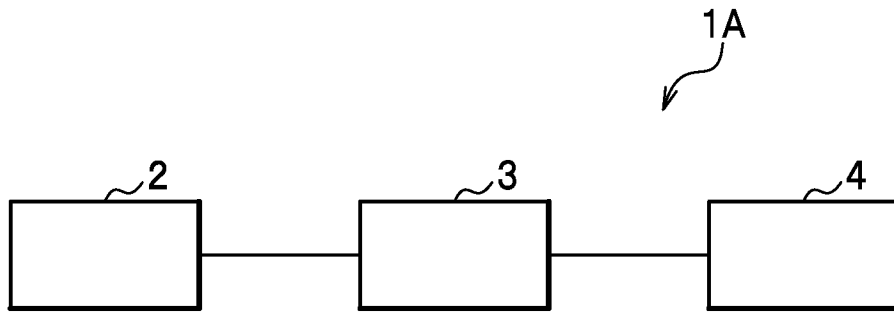
[図9]



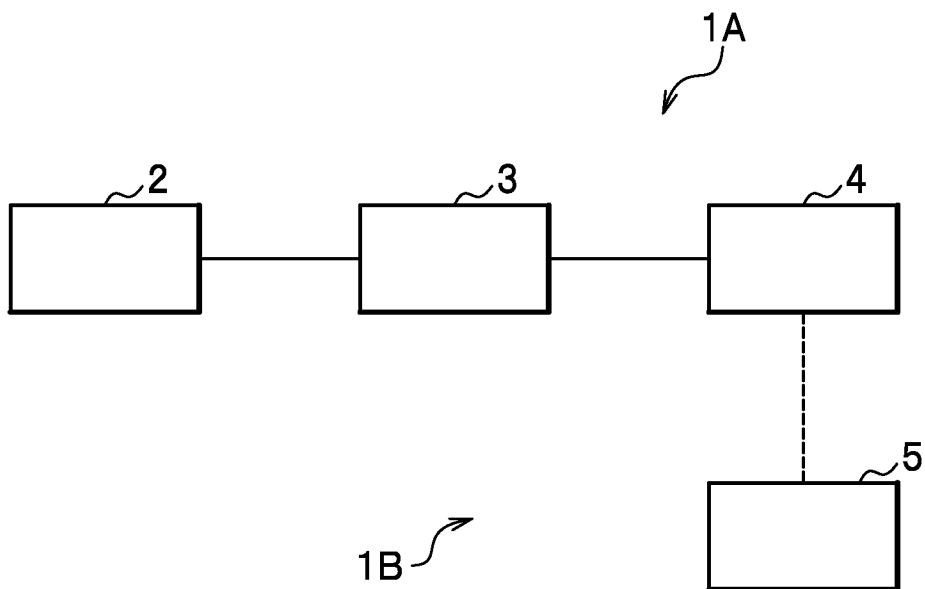
[図10]



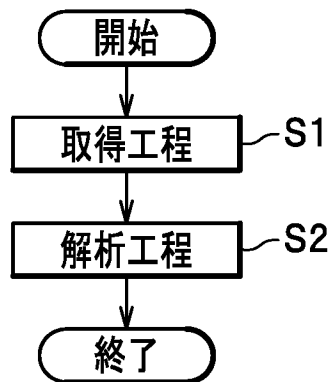
[図11]



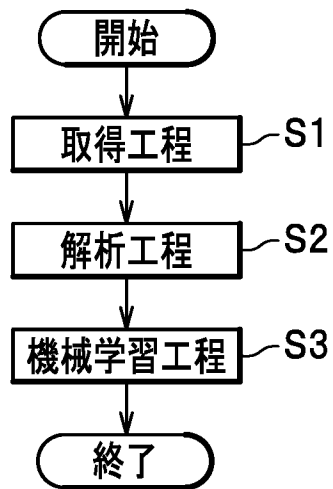
[図12]



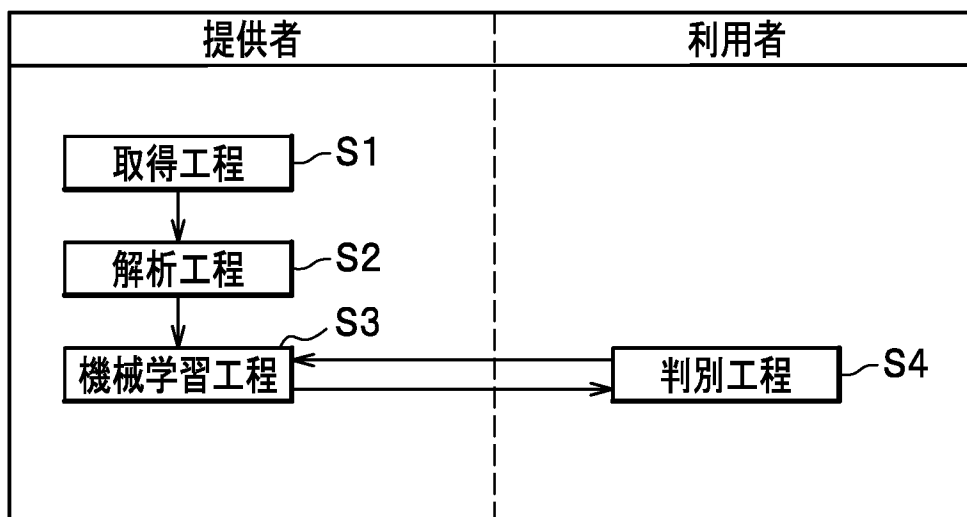
[図13]



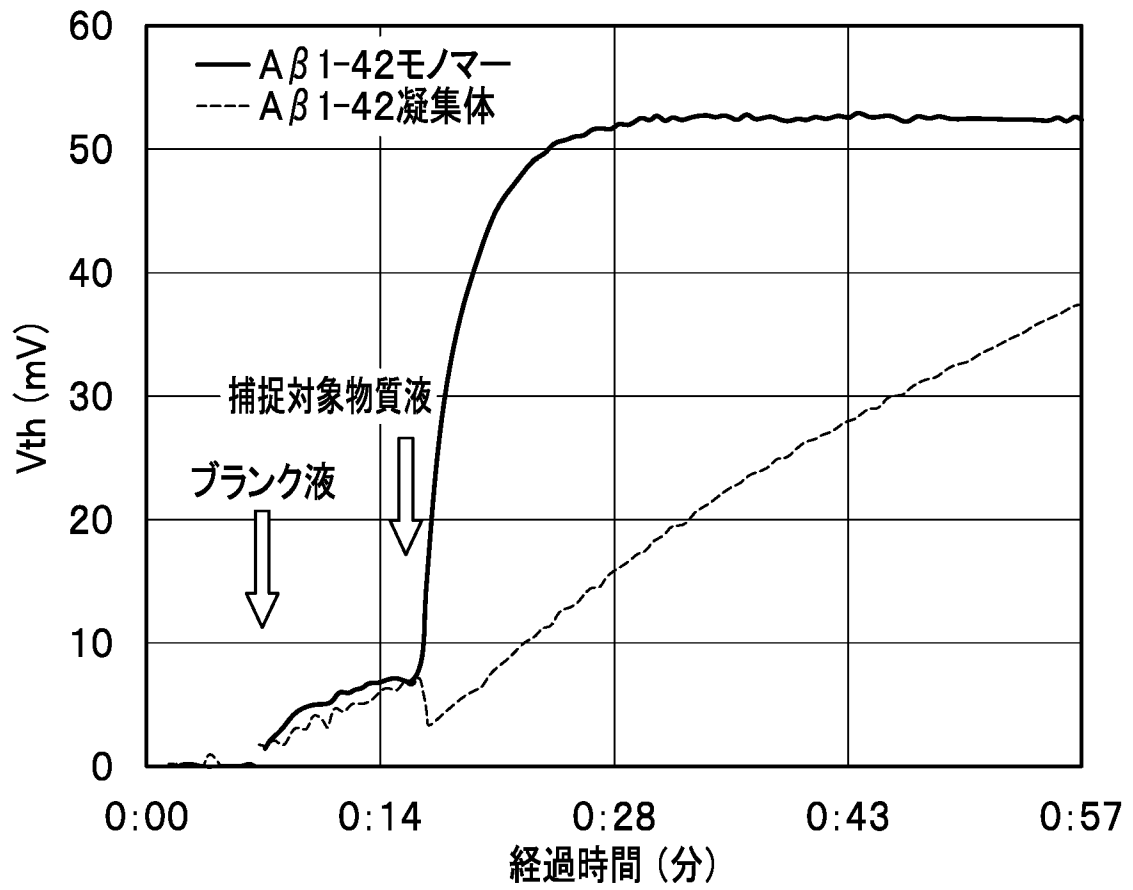
[図14]



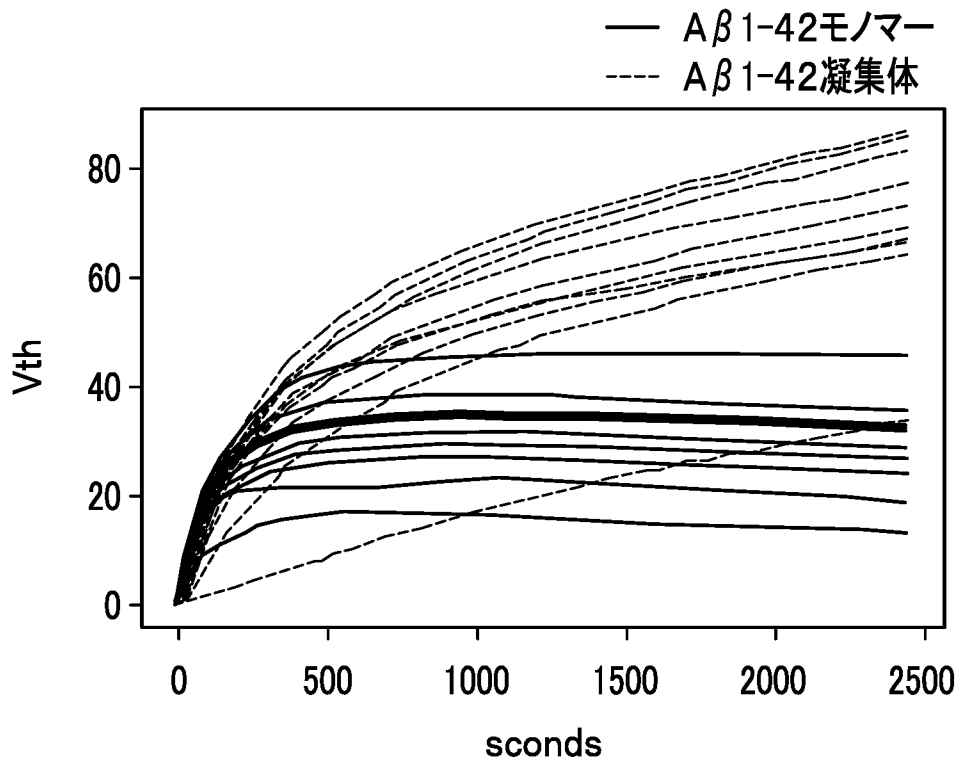
[図15]



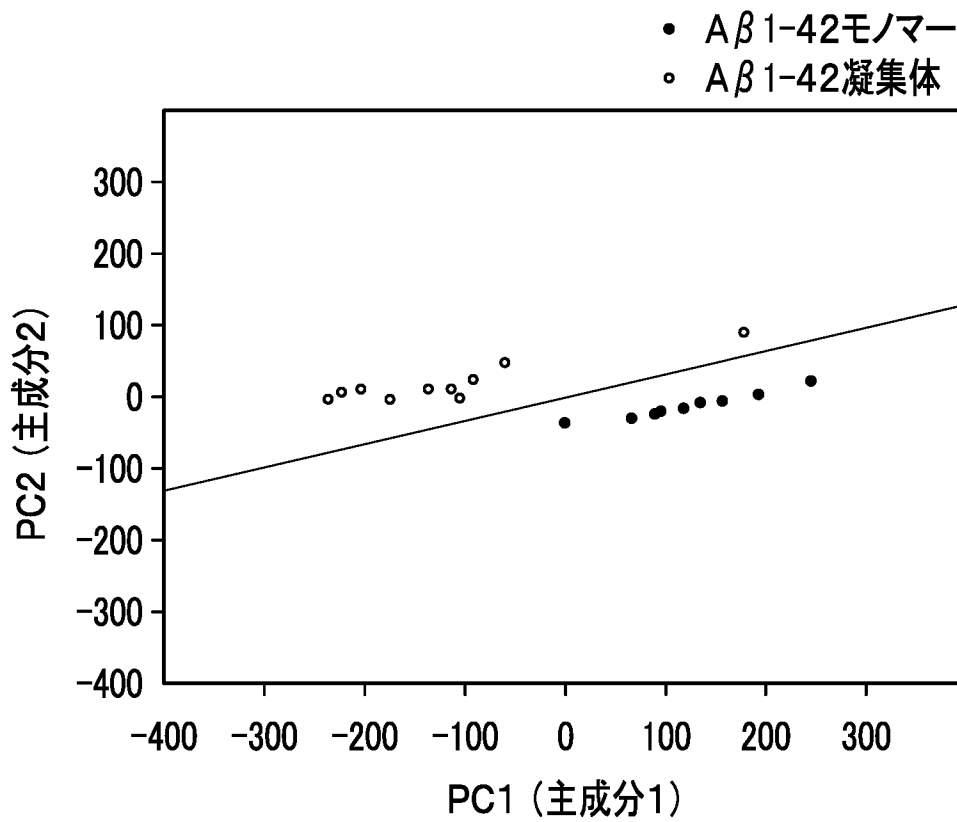
[図16]



[図17]



[図18]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/025204

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>G01N 33/543</i> (2006.01)i; <i>G01N 21/41</i> (2006.01)i; <i>G01N 21/64</i> (2006.01)i; <i>G01N 27/414</i> (2006.01)i FI: G01N27/414 301N; G01N33/543 593; G01N21/64 G; G01N21/41 101		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N33/543; G01N21/41; G01N21/64; G01N27/414		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022 Registered utility model specifications of Japan 1996-2022 Published registered utility model applications of Japan 1994-2022		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2013-518280 A (GE HEALTHCARE BIO-SCIENCES AB) 20 May 2013 (2013-05-20) claims, paragraphs [0022]-[0034], [0046]-[0047], fig. 1	1, 4
Y		2-3, 5-6
X	WO 2020/141463 A2 (PIXCELL MEDICAL TECHNOLOGIES LTD.) 09 July 2020 (2020-07-09) claims, specification, p. 48, line 29 to p. 49, line 13, fig. 16-17	1, 4
Y		2-3, 5-6
X	US 2016/0327500 A1 (MAXIM INTEGRATED PRODUCTS, INC.) 10 November 2016 (2016-11-10) claims, paragraph [0021], fig. 2a, 2b	1, 4
Y		2-3, 5-6
X	US 2010/0087011 A1 (COOPER, M.) 08 April 2010 (2010-04-08) claims, fig. 4-5	1, 4
Y		2-3, 5-6
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 August 2022		Date of mailing of the international search report 06 September 2022
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/025204

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2019-215314 A (UNIV EHIME) 19 December 2019 (2019-12-19) claims 8-9	2-3, 5-6
Y	JP 2021-504075 A (RETISPEC INC.) 15 February 2021 (2021-02-15) claims 11-16	2-3, 5-6
Y	WO 2016/139335 A1 (UNIVERSIT LIBRE DE BRUXELLES) 09 September 2016 (2016-09-09) claims	2-3, 5-6
Y	WO 2020/047177 A1 (ESSENLIX CORPORATION) 05 March 2020 (2020-03-05) pp. 26-27	2-3, 5-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2022/025204

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	2013-518280	A	20 May 2013	US 2012/0295369 A1 claims, paragraphs [0025]- [0038], [0050]-[0051], fig. 1 WO 2011/093782 A1	
WO	2020/141463	A2	09 July 2020	JP 2022-516556 A claims, paragraphs [0146]- [0147], fig. 16-17 US 2022/0074845 A1 CN 113302492 A	
US	2016/0327500	A1	10 November 2016	DE 102016116264 A	
US	2010/0087011	A1	08 April 2010	WO 2008/114003 A1	
JP	2019-215314	A	19 December 2019	(Family: none)	
JP	2021-504075	A	15 February 2021	WO 2019/100169 A1 claims 11-16 US 2020/0323480 A1 CN 111565624 A	
WO	2016/139335	A1	09 September 2016	(Family: none)	
WO	2020/047177	A1	05 March 2020	JP 2021-535395 A paragraphs [0151]-[0153] US 2021/0270722 A1 CN 113227755 A	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） G01N 33/543(2006.01)i; G01N 21/41(2006.01)i; G01N 21/64(2006.01)i; G01N 27/414(2006.01)i FI: G01N27/414 301N; G01N33/543 593; G01N21/64 G; G01N21/41 101		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） G01N33/543; G01N21/41; G01N21/64; G01N27/414 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922 - 1996年 日本国公開実用新案公報 1971 - 2022年 日本国実用新案登録公報 1996 - 2022年 日本国登録実用新案公報 1994 - 2022年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2013-518280 A (ジーイー・ヘルスケア・バイオサイエンス・アクチボラグ) 20.05.2013 (2013 - 05 - 20) [特許請求の範囲], [0022]-[0034], [0046]-[0047], [図1]	1, 4
Y		2-3, 5-6
X	WO 2020/141463 A2 (PIXCELL MEDICAL TECHNOLOGIES LTD.) 09.07.2020 (2020 - 07 - 09) [特許請求の範囲], 明細書48頁29行-49頁13行, 図16-図17	1, 4
Y		2-3, 5-6
X	US 2016/0327500 A1 (MAXIM INTEGRATED PRODUCTS, INC.) 10.11.2016 (2016 - 11 - 10) [特許請求の範囲], [0021], 図2a, 図2b	1, 4
Y		2-3, 5-6
X	US 2010/0087011 A1 (COOPER, M.) 08.04.2010 (2010 - 04 - 08) [特許請求の範囲], [図4]-[図5]	1, 4
Y		2-3, 5-6
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 22.08.2022	国際調査報告の発送日 06.09.2022	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 大瀧 真理 2J 9812 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2019-215314 A (国立大学法人愛媛大学) 19.12.2019 (2019 - 12 - 19) [請求項8]-[請求項9]	2-3, 5-6
Y	JP 2021-504075 A (レティスペック インコーポレイテッド) 15.02.2021 (2021 - 02 - 15) [請求項11]-[請求項16]	2-3, 5-6
Y	WO 2016/139335 A1 (UNIVERSIT LIBRE DE BRUXELLES) 09.09.2016 (2016 - 09 - 09) [特許請求の範囲]	2-3, 5-6
Y	WO 2020/047177 A1 (ESSENLIX CORPORATION) 05.03.2020 (2020 - 03 - 05) 26頁-27頁	2-3, 5-6

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2022/025204

引用文献			公表日	パテントファミリー文献		公表日
JP	2013-518280	A	20.05.2013	US	2012/0295369 A1	
					[特許請求の範囲], [0025]-[0038], [0050]-[0051], [図1]	
				WO	2011/093782 A1	
WO	2020/141463	A2	09.07.2020	JP	2022-516556 A	
					[特許請求の範囲], [0146]-[0147], [図16]-[図17]	
				US	2022/0074845 A1	
				CN	113302492 A	
US	2016/0327500	A1	10.11.2016	DE	102016116264 A	
US	2010/0087011	A1	08.04.2010	WO	2008/114003 A1	
JP	2019-215314	A	19.12.2019	(ファミリーなし)		
JP	2021-504075	A	15.02.2021	WO	2019/100169 A1	
					[請求項11]-[請求項16]	
				US	2020/0323480 A1	
				CN	111565624 A	
WO	2016/139335	A1	09.09.2016	(ファミリーなし)		
WO	2020/047177	A1	05.03.2020	JP	2021-535395 A	
					[0151]-[0153]	
				US	2021/0270722 A1	
				CN	113227755 A	