

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-521550

(P2006-521550A)

(43) 公表日 平成18年9月21日(2006.9.21)

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)
GO 1 N 27/02 (2006.01)		GO 1 N 27/02 D		2 G O 6 O
GO 6 F 17/30 (2006.01)		GO 6 F 17/30 1 7 O F		4 B O 2 9
GO 1 N 37/00 (2006.01)		GO 6 F 17/30 2 1 O D		4 B O 6 3
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)		GO 1 N 37/00 1 O 2		5 B O 7 5
C 1 2 M 1/00 (2006.01)		C 1 2 Q 1/02		
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 23 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願2006-505994 (P2006-505994)
 (86) (22) 出願日 平成16年3月23日 (2004.3.23)
 (85) 翻訳文提出日 平成17年11月28日 (2005.11.28)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2004/001228
 (87) 国際公開番号 W02004/088536
 (87) 国際公開日 平成16年10月14日 (2004.10.14)
 (31) 優先権主張番号 0307352.5
 (32) 優先日 平成15年3月29日 (2003.3.29)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 501297550
 キネティック リミテッド
 イギリス ロンドン エスタブリッシュ 1 イ
 ー 6 ピーディー バッキンガム ゲート
 8 5
 (74) 代理人 100082005
 弁理士 熊倉 禎男
 (74) 代理人 100067013
 弁理士 大塚 文昭
 (74) 代理人 100086771
 弁理士 西島 孝喜
 (74) 代理人 100109070
 弁理士 須田 洋之

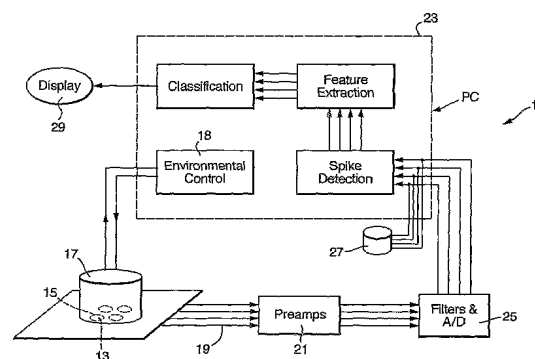
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 化合物を分析するための方法及びシステム

(57) 【要約】

【課題】化合物、特に、ヘルスケア、医薬品、化粧品、及び環境部門に用いられる化学化合物の分析に関する技術を提供する。

【解決手段】細胞ネットワークの物理的応答を用いる化合物の分析を説明する。一般的に細胞ネットワークの電気的特性がモニタされるが、蛍光のような他の特性をモニタすることもできる。いずれにしても、分析は、信号処理技術を利用して、既知の応答のライブラリに対して評価することができる特徴の組を導出する。この技術は、未知の化合物の検出及び識別と既知の化合物の濃度の検出の両方に適用することができる。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

電気活性細胞ネットワークの電気出力から得られる特徴の数に等しい次元数を有し、各成分が化合物の該電気活性細胞ネットワークへの付加から生じる該特徴の変化を表すベクトル量を判断する段階と、

所定のクラスター分析法に従って前記ベクトルを分類する段階と、

を含むことを特徴とする化合物分析方法。

【請求項 2】

前記ベクトルの分類が統計的信頼度の所定の尺度による前記化合物の識別を可能にするような既知の化合物を特徴付ける特徴のライブラリを準備する段階を含むことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

複数の電極が配置された生体適合性基板により設けられた微小電極アレイ、
を含み、

前記電極は、前記基板上で使用時に使い捨て可能な電気活性細胞ネットワークのものに実質的に対応する該基板上の配列と、該電極に連結されたマルチチャンネル増幅器と、該電気活性細胞ネットワークの電気出力から得られる特徴の数に等しい次元数を有し、各成分が該特徴の変化を表すベクトル量を各活性チャンネルに対して判断する、該増幅器に作動的に接続された分析装置とを有する、

ことを特徴とする化合物分析システム。

20

【請求項 4】

プロセッサ及びメモリ、
を含み、

前記プロセッサは、使用時に該プロセッサに接続されたる微小電極アレイから得られる信号に応答して、該微小電極アレイの電気出力から得られる特徴の数に等しい次元数を有し、各成分が該特徴の変化を表すベクトル量を判断するように作動可能であり、

前記メモリは、前記ベクトルの分類が統計的信頼度の所定の尺度による前記アレイ上に使用時に堆積する化合物の識別を可能にするように、既知の化合物を特徴付けする特徴のライブラリを収容する、

ことを特徴とする化合物分析装置。

30

【請求項 5】

前記アレイから得られる信号が保持されるような記憶装置を含むことを特徴とする請求項 4 に記載の装置。

【請求項 6】

微小電極アレイのための受容器、
を含み、

前記受容器は、該受容器に収容された時の前記アレイから電気信号を受信するためのコネクタを有し、

前記信号を増幅するための増幅器と、

前記信号に応答して、前記微小電極アレイの電気出力から得られる特徴の数に等しい次元数を有し、各成分が該特徴の変化を表すベクトル量を判断するように作動可能なプロセッサと、

40

を更に含むことを特徴とする、化合物検出のためのセンサ。

【請求項 7】

メモリを更に含み、

前記メモリは、前記ベクトルの分類が前記アレイ上に使用時に堆積する化合物の識別を可能にするような既知の化合物を特徴付けする特徴のライブラリを収容する、

ことを特徴とする請求項 6 に記載のセンサ。

【請求項 8】

前記メモリは、センサと一体化していることを特徴とする請求項 6 又は請求項 7 に記載

50

のセンサ。

【請求項 9】

複数の電極を配置した生体適合性基板、
を含み、
前記電極は、使用時に分析装置への電気接続性をもたらすコネクタに連結され、
前記コネクタに連結されて使用時に前記分析装置によりアクセス可能なメモリ、
を更に含む、
ことを特徴とする、化合物分析に用いるための微小電極アレイ。

【請求項 10】

化合物分析装置に用いるためのコンピュータ可読媒体内のコンピュータプログラム製品 10
であって、

微小電極アレイの電気出力から得られる特徴の数に等しい次元数を有し、各成分が該特徴の変化を表すベクトル量を判断し、
既知の化合物を特徴付ける特徴のライブラリを収容したメモリにアクセスし、
前記アレイ上に使用時に堆積する化合物を識別するために前記ベクトルを分類する、
ことを特徴とする製品。

【請求項 11】

前記化合物の前記識別に適用可能な統計的信頼度のレベルを判断することを特徴とする
請求項 10 に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項 12】

20

実質的に添付図面の図 1 を参照して上述したような化合物分析システム。

【請求項 13】

実質的に添付図面の図 4 を参照して上述したような、化合物検出のためのセンサ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、化合物、特に、網羅的ではないがヘルスケア、医薬品、化粧品、及び環境部門に用いられる化学化合物の分析に関する。

【背景技術】

【0002】

30

より有効な製薬化合物を判断して、恩典をもたらす可能性のある化学化合物を識別して単離することに益々多くの時間、労力、及びリソースが注がれる現状になっている。従来的には、その手法は、化合物によるターゲットとの相互作用が疾病を治療する変化をもたらすことができると考えられる酵素又は受容体のような、生化学的経路内の分子ターゲットを選択することであった。一般的に、相互作用は、経路を阻害又は活性化する化合物の形態を取るであろう。一度に常に多くのターゲットが調査されることになることは明らかである。有用な可能性がある化合物に対するターゲットを評価するために、典型的にはクローニング処理を通して、試験用のターゲットのサンプルを生成することが必要である。次に、不適切な化合物を除去して潜在的に価値がある化合物を識別するために、これらの化合物に対する一連の試験でターゲットがスクリーニングされる。場合によっては、潜在的に価値のある化合物の設計を示唆する分子ターゲットに関する十分な生物構造的情報があることがある。それでも、ほとんどの場合に、ロボット技術を用いて何十万の化合物が一般的にスクリーニングされる。一般的に、ターゲットの初期選択から候補化合物の識別までの全工程には数年掛かる可能性がある。

40

【0003】

この最初のスクリーニング相で潜在的に価値があると識別された状態で、適切な活性を示す化合物には、ターゲットに対する可能性及び選択性のレベルを判断するために更にスクリーニングが行われる。これらのデータから、手掛かりが識別されることになる。

潜在的な候補化合物が識別された状態で、それは、次に、臨床的及び非臨床的研究の両方の様々な研究の必要性を満たすための更なるスクリーニングを含む更なる開発が行われ 50

る。化合物の生物学的影響は、可能な限り安全性試験に動物を用いることを避けて評価されることになる。すなわち、培養液中の細胞は、このような調査の基礎になるものに対する魅力的な代替物である。このような評価は次第に自動化されてきており、ほとんどの場合に従来の検定技術が用いられるが、自動化技術を用いる初期の試みもいくつか為されている。

【0004】

化合物に応答する細胞培養液の分析に用いられてきたこのような技術の1つは、米国特許第6,377,057号に詳述されたものであり、これは、細胞電位に誘起された変化のスペクトル密度サインに従って生物学的作用物質を分類するための技術及び装置を説明している。この特許では、それが教示する手法が細胞電位を測定する従来の試みを超えることを意図していることが示唆されている。このような初期の試みでは、経験を積んだ神経科学者によって解釈されるのにより適する結果が生成されることが示唆される。実際に、このようなツールは、1970年台初め以来、心臓内科医のような研究者及び熟練した施術者に利用可能であったが、この特許に開示された発明は、より一般的に用いられることを意図していることが示唆されている。従って、この特許は、細胞応答のパワースペクトル密度(PSD)の解釈に基づく比較的精緻でない分析機構を開示するものである。すなわち、この特許は、この技術が未知の化合物を識別して化合物の特性を判断することができることを教示しているが、このような誘発された膜電位又は活動電位の純粋にスペクトル密度変化に基づく分析は、分析の複雑さを低減する目的で得られる結果の価値を制限すると考えられる。

10

20

【0005】

【特許文献1】米国特許第6,377,057号

【発明の開示】

【0006】

本発明の第1の態様によれば、化合物分析方法が提供され、本方法は、電気活性細胞ネットワークの電気出力から得られる特徴の数に等しい次元数を有するベクトル量を判断する段階を含み、このベクトルの各成分は、化合物を上述の電気活性細胞ネットワークに適用し、所定のクラスター分析法によりこのベクトルを分類することからもたらされる上述の特徴の変化を表している。

細胞活性は、刺激される時に変化する場合がある。信号の変化を分析し、所定の挙動特徴のライブラリに比較することにより、刺激の特徴付けを行い、及び/又は細胞ネットワークに対する影響を数量化することができる。ソナー信号処理に現在用いられるものに基づく処理アルゴリズムを用いて、信号の特徴は、細胞構造内で起こる分子的イベントに関連させることができる。このような特徴は、電氣的、化学的、又は蛍光性の性質とすることができ、適切な変換器を設けることが必要である。

30

【0007】

本発明の別の態様によれば、化合物分析システムが提供され、このシステムは、複数の電極が置かれた生体適合性基板により設けられた微小電極アレイを含み、この電極は、基板上での使用時に使い捨て可能な電気活性細胞ネットワークのものに実質的に対応する基板上の配列と、電極に連結されたマルチチャンネル増幅器と、上述の電気活性細胞ネットワークの電気出力から得られる特徴の数に等しい次元数を有し、各成分がこの特徴の変化を表すベクトル量を各活性チャンネルに対して判断するために上述の増幅器に作動的に連結された分析装置とを有する。

40

便利な態様においては、このシステムは、薬物に対する血液/尿サンプルの試験に用いることができるものである。特定の用途は、運動選手の能力向上薬又は患者の遵守に対する試験とすることができる。

【0008】

化合物のシステムへの送出は、灌流システムの制御下に置くことができる。このような灌流システムを用いることにより、薬物のような化合物の正確な送出が行われることを更に確信することができる。灌流システムにより、薬物の正確かつ変化する可能性がある投

50

与を既知の時間に送出することができる。更に、灌流システムは、薬物が制御された円滑な送出で正確な温度で添加されることを保証することができる。

すなわち、このシステムは、外部刺激に露出された時の細胞構造の挙動的变化を識別して数量化することができるという点で医薬品市場の必要性に対して特に適するものである。便利な態様においては、後処理活動には、所定の応答ライブラリと比較して刺激物を識別すること、又は単純に出力して反応が許容範囲に含まれるか否かを判断することを含むことができる。

【 0 0 0 9 】

本発明の更に別の態様によれば、プロセッサ及びメモリを含む化合物分析装置が提供され、プロセッサは、使用時にそれに連結された微小電極アレイから得られる信号に
10 応答して、この微小電極アレイの電気出力から得られる特徴の数に等しい次元数を有し、各成分がこの特徴の変化を表すベクトル量を判断するように作動可能であり、メモリは、統計的信頼度の所定の尺度に従って上述のベクトルの分類が使用時に上述のアレイ上に堆積する化合物の識別を可能にするように既知の化合物を特徴付けする特徴ライブラリを収容している。

微小電極アレイから得られる信号は、性質は電氣的であるが、電氣的活動だけでなく、使用時にアレイ上に堆積する細胞ネットワークの物理的特性の他の変化からも発生する場合がある。明らかに、アレイ上又はその近くの変換器がモニタされている特性を表す電気信号を提供することができるという要件が存在する。

【 0 0 1 0 】

本発明の更に別の態様によれば、化合物検出のためのセンサが提供され、センサは、微小電極アレイに対する受容器を含み、この受容器は、受容器に収容された時のこのアレイから電気信号を受信するためのコネクタを有し、センサは、この信号を増幅するための増幅器と、この信号に応答して、微小電極アレイの電気出力から得られる特徴の数に等しい次元数を有し、各成分がこの特徴の変化を表すベクトル量を判断するように作動可能な
20 プロセッサとを更に含む。

このようなセンサは、網羅的ではないが、水質分析、環境モニタリング、及び、例えば、医薬品、化粧品、及び食料品等の生産における工程制御のような様々な用途に適するようにパッケージ化することができる。

【 0 0 1 1 】

一般的に、アレイからのベースライン測定値の組が記録された状態で、細胞挙動のあらゆる変化を識別して数量化することができる。このような変化は、刺激物に露出することにより誘発することができる。以下に詳述する本発明の実施形態では、刺激物は、化学化合物の形態を取ると考えられる。

任意的に、自動灌流システムは、円滑で制御された方法で薬物化合物の細胞ネットワークへの送出を容易にすることができる。

ここで本発明を更に完全に理解するために、そのいくつかの実施形態を例示的に添付図面を参照して説明する。

【 発明を実施するための最良の形態 】

【 0 0 1 2 】

図面、特に図 1 を参照すると、細胞ネットワークが存在する部位に M E A 3 (図 2 参照) が設けられた分析システム 1 が示されている。細胞ネットワークの性質は、以下の特定の例、すなわち、複数の心筋細胞で作られるネットワークに関して説明する。しかし、細胞ネットワークのこの特定の例は純粋に例示的であり、細胞ネットワークへの言及は何れも本明細書に挙げた例 5 を純粋に意味するように解釈すべきでないことを当業者は最初に認めるであろう。

【 0 0 1 3 】

M E A 3 には、各々がトレース 9 によりエッジコネクタ 1 1 に連結された複数の電極 7 が表面に装着された生体適合性基板 5 が含まれる。M E A 3 は、壁 1 5 の底部に形成された受容器 1 3 に挿入可能である。受容器 1 3 は、エッジコネクタ 1 1 に接触するように設
30 40 50

けられる。壁 15 は密封的に封入され、化合物が内部で分析される環境又はチャンバ 17 を形成する。チャンバ自体は、リボンコネクタ 19 を通じて増幅器ユニット 21 の入力に連結される。エッジコネクタ 11 及び受容器 13 を組み合わせると、異なる化合物を分析するための M E A 3 の挿入及び除去が容易になる。図 2 は、等距離電極で作られる正方形アレイを示すが、例えば、非均質な電極ピッチ及びレイアウトを有する代替的アレイレイアウトも考えられている。電極 7 が M E A 3 上に配列される場合は、ネットワークの信号細胞から電気活動を検出することができるべきであるという要件に対して、特定のレイアウトの使用が予測される。明らかに、M E A 3 のパッキング又は形状係数は、それを壁 15 内の受容器 13 から正確かつ容易に挿入及び除去することができるようなものであるべきである。

10

【0014】

各電極 7 の出力は、上述のケーブル相互接続 19 を通じて増幅器ユニット 21 に渡され、そこで出力が増幅される。増幅器ユニット 21 は、各チャンネルに対して利得をほぼ 1000 にすることができるマルチチャンネル装置である。一般的に、M E A 3 の各電極 7 をチャンネルにマップすることができるように十分なチャンネルが利用可能である。M E A 3 の構成に応じて、十分にデータを収集するためにそれよりも多いか又は少ないチャンネルが必要となることもある。増幅器ユニット 21 自体は、P C ベースのデータ取得システム 23 に連結される。P C システム 23 は、P C I バスを通じて中央演算処理装置に連結された「アナログ/デジタル」変換カード 25 を組み込んでいる。カード 25 は、増幅器 21 アナログ出力を取得システム 23 に接合するのに必要な外部接続となる。カード 25 は、50 キロヘルツ/チャンネルまでの増幅器ユニット 21 からの増幅チャンネルデータをサンプリングすることができる。中央演算処理装置は、デジタルデータを分析するのに必要なソフトウェア及び/又はファームウェアにより与えられる指示を実行する。データは、イベントが M E A 3 に起こった時に実時間で分析することができ、又はハードディスクのような記憶装置 27 から後に取り出すことができる。前者の場合には、記憶装置 27 を用いてデータを後の反復分析又は更なる分析のために依然として記憶することができる。実時間で処理する機能は、オフライン分析と対照的に、ある程度はデータを生成する速度及びシステム 23 の記憶容量に依存することになる。M E A 3 上に配置された細胞ネットワークの性質により、サンプリング速度が決まる。従って、ソフトウェア及び/又はファームウェアには、プロセッサ速度及び記憶容量のあらゆる制限を考慮し、システム 23 が特定の細胞ネットワークに最適なサンプリング速度で作動することができる論理が設けられる。従って、心筋細胞から成る細胞ネットワークの場合には、活動は、100 m S 窓に亘って比較的ゆっくり起こる可能性があるが、神経の場合には、活動は、ほぼ 15 ~ 25 m S という遥かに短い窓に存在することができる。前者の場合、システム 23 には、関連制御信号が「アナログ/デジタル変換器」25 に供給されると、神経ネットワークからのデータで細部を同等の解像度にするのに必要なサンプリング速度よりも比較的ゆっくりとしたサンプリング速度を使用することができる。P C システム 23 には、結果を示すための V D U 29 及びプリンタが備えられる。

20

30

【0015】

使用時には、特に図 3 を参照すると、再び 1000 程度の数字が各アナログチャンネルに適用され、これは、以下に説明する例、すなわち、心筋細胞の細胞ネットワークでは、前置増幅値がほぼ 100 マイクロボルト ~ 2 ミリボルトである。この段階で、M E A 3 上の電極 7 からの出力はアナログ信号である。デジタル信号処理を行えるようにするには、信号をデジタル化する必要があることは明らかである。アナログ信号をサンプリングする速度は、M E A 3 上に置かれた細胞ネットワークの電気活動での関連の全ての特徴がデジタル信号処理ユニットに確実に利用可能であるほど十分に大きいものを選択すべきである。第 1 の段階として、信号が増幅され (31)、各電極 7 からのアナログ信号は、この場合はローパスフィルタリングにより望まない高周波成分を除去して調整される (33)。各チャンネルの濾過したアナログ信号は、50 k H z 程の大きさとする速度でサンプリングし (35)、実際の速度 37 は、M E A 3 上に配置された細胞ネットワー

40

50

クの性質によって決まる(39)。心筋細胞ネットワークの場合には、有効なサンプリング速度は、10kHzであることが見出されている。

【0016】

心筋細胞の細胞ネットワークの例においてサンプリング速度を10kHzに選択することにより、過剰にデータを収集することなく十分な解像度が達成される。1分よりも長い期間の長期記録のために、心筋細胞からの電気活動の一連の「切り抜き」としてデータを記憶することができる。「切り抜き」として記憶された各細胞のイベントは、ベースラインよりも大きいノイズの少なくとも2つの二乗平均平方根値の閾値レベル(通常正の値)を設定する(41)ことにより判断される。各イベントに対して、閾値レベルを超した時点(43)で時刻印を記録する。また、閾値レベルに交差する15ミリ秒前及び85ミリ秒後の電極生データを記憶する。データは、「.mcd」フィルフォーマット(60秒記録に対してほぼ10Mb/電極)のハードディスクのファイルに記憶する。

10

【0017】

ハードディスクに記憶されたデータは、細胞ネットワーク内で起こり、一般的に活動電位又はスパイクの形態である電気活動の変化を表している。以下に更に説明するように、この変化は、化合物が細胞ネットワークに導入される時にスパイクの形状及びその時間的及び空間的パターンに起こる。細胞ネットワークからの電気活動データは、電極アレイのモデルに時間的及び空間的情報を課すことによりソフトウェアで分析される。従って、組織サンプルに亘る電気活動の局所的及び全体的特性の両方を識別して数量化することができる。局所的特性の例は、個々の電極で検出された活動電位のピーク高さ、振幅、又は脱分極時間である。全体的特性の例は、拍動周波数及び培養物に亘る活動電位の伝播速度である。これらの様々な特質は、特徴と呼ばれる。次に、このデジタルデータに特徴抽出47処理を行うことができる。

20

【0018】

本実施形態の変形では、データがデータファイルに記憶される前に、特徴自体を用いてデータストレージに対する要件を低減することができる。従って、スパイクは、最初に閾値検出装置を用いて識別し、カタログ化して記憶し、残りのデータは無視することができる。スパイクの時間的長さは、一般的にスパイク間の時間分離よりも遥かに短いために、この手順で必要な記憶容量は小さいものである。

分析システム23により識別可能な非網羅的な特徴の組を以下に列挙する。

30

【0019】

特徴の例

「平均スパイク率」- チャンネルに観察されるスパイクの数を記録した長さで割ったもの。平均スパイク率の特徴は、実験の全過程に亘ってではなく、毎分又は数分毎に更新することができる。

「スパイク率変動性」- 全てのチャンネルに亘って平均した連続スパイク間の時間差から計算する。

「スパイク速度」- MEA板に亘るスパイクパルスの伝播速度。単一平面パルス波が一定速度で伝播すると仮定し、データに最小自乗法当て嵌めを用いて各選択チャンネルに到達するスパイク時間から各パルスに対して計算する。

40

「到達角度」- スパイクパルスの伝播の方向。

【0020】

「ピークレベルの増加」- 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したスパイクプロファイルの最大レベルの対照データと試験データの間の相対的増加。

「トラフレベルの増加」- 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したスパイクプロファイルの最小レベルの対照データと試験データの間の相対的増加。

「ピークからトラフまでのレベルの増加」- 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したスパイクプロファイルの範囲の相対的増加。

「絶対ピークレベルの増加」- 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したスパイクプロファイルの最大絶対レベルの相対的増加。

50

【 0 0 2 1 】

「 1 0 % からの立ち上がり時間の増加」 - スパイクが、全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した最大値の 1 0 % レベルから開始して最大レベルを達成するまで時間の相対的増加。

「 2 0 % からの立ち上がり時間の増加」 - スパイクが、全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した最大値の 2 0 % レベルから開始して最大レベルを達成するまで時間の相対的増加。

「 1 0 % までの回復時間の増加」 - スパイクが、全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した最小値から開始して最小値の 1 0 % まで回復するための時間の相対的増加。

「 2 0 % までの回復時間の増加」 - スパイクが、全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した最小値から開始して最小値の 2 0 % まで回復するための時間の相対的増加。

【 0 0 2 2 】

「 ピークからトラフまでの時間の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したスパイクプロファイルの最大レベルと最小レベルの間の時間の相対的増加。

「 絶対プロファイル面積の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した絶対値プロファイル下の面積の相対的増加。

「 プロファイル立ち上がり面積の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した開始時と最大値の間のプロファイル下の面積の相対的増加。

「 プロファイル回復面積の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した最小値と終了時の間のプロファイル下の面積の相対的増加。

「 絶対プロファイル回復面積の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した最小値と終了時の間の絶対値プロファイル下の面積の相対的増加。

【 0 0 2 3 】

「 プロファイル相関係数の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した対照プロファイルと試験スパイクプロファイルの間の正規化された相互相関係数。

「 プロファイル分散の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したスパイクプロファイルの分散の相対的増加。

「 プロファイル歪度の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したスパイクプロファイルの歪度の相対的増加。

「 プロファイル尖度の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したスパイクプロファイルの尖度の相対的増加。

【 0 0 2 4 】

「 ウェーブレット変換の最大値の増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した、例えばここで及び以下で 2 次の「 D a u b e c h i e s 」ウェーブレットを用いたスパイクプロファイルのウェーブレット変換のスケール及び時間遅延に亘る最大値の相対的増加。

「 ウェーブレット変換の分散の増加」 - スケール及び時間遅延に亘って合計し、全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したスパイクプロファイルのウェーブレット変換値の分散の相対的増加。

「 ウェーブレット相互相関係数」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均した対照プロファイルと試験スパイクプロファイルのウェーブレット変換の間のスケール及び時間遅延の正規化相互相関係数。

【 0 0 2 5 】

「 ウェーブレット変換の変換係数の増加」 - 対照データのウェーブレット変換の自己相関及び試験データのウェーブレット変換の自己相関の積の平方根による代わりに対照データのウェーブレット変換の自己相関により正規化されることを除き、ウェーブレット相互

10

20

30

40

50

相関係数と同様のもの。

「プロフィールエントロピーの増加」 - 全てのスパイク及び全ての選択したチャンネルに亘って平均したそのヒストグラムから判断されるようなスパイクプロフィールのエントロピーの相対的増加。

【 0 0 2 6 】

分析のための基礎を形成するのに特に有効であると考えられている別の特徴の組が以下に詳述され、かつ図面の図 6 として表の形で繰り返されている。この特徴の組は、薬物が投与された時の心拍プロフィールの様々な変化を数値的に説明するものである。

「瞬間スパイク率」 - 全ての選択したチャンネルに亘って平均した瞬間スパイク率の対照データと試験データの間の相対的増加。

10

「瞬間スパイク率変動性」 - 瞬間スパイク率の時間的変動性の対照データと試験データの間の相対的増加。

「スパイク速度」 - 各選択した各チャンネルに記録されたスパイク時間到達からの各パルスに対して計算した M E A 板を横切るスパイクパルスの伝播速度の対照データと試験データの間の相対的増加。

「スパイク速度変動性」 - スパイク速度の時間的変動性の対照データと試験データの間の相対的増加。

【 0 0 2 7 】

「ピークレベル」 - 各選択したチャンネルの全てのスパイクのプロフィールを平均することにより得られた平均スパイクプロフィールの最大値の対照データと試験データの間の相対的増加。

20

「トラフレベル」 - 各選択したチャンネルの全てのスパイクのプロフィールを平均することにより得られる平均スパイクプロフィールの最小値の対照データと試験データの間の相対的増加。

「ピークからトラフまでのレベル」 - 各選択したチャンネルの全てのスパイクのプロフィールを平均することにより得られる平均スパイクプロフィールの最大値と最小値の間の差の対照データと試験データの間の相対的増加。

「絶対ピークレベル」 - 各選択したチャンネルの全てのスパイクのプロフィールを平均することにより得られる絶対平均スパイクプロフィールの最大値の対照データと試験データの間の相対的増加。

30

【 0 0 2 8 】

「10%までの立ち上がり時間」 - 平均スパイクが最大値の10%のレベルから開始して最大レベルに到達するための時間の対照データと試験データの間の増加。

「20%までの立ち上がり時間」 - 平均スパイクが最大値の20%のレベルから開始してその最大レベルに到達するための時間の対照データと試験データの間の増加。

「10%までの回復時間」 - 平均スパイクがその最小レベルの10%まで回復するための時間の対照データと試験データの間の増加。

「20%までの回復時間」 - 平均スパイクがその最小レベルの20%まで回復するための時間の対照データと試験データの間の増加。

【 0 0 2 9 】

40

「ピークからトラフまでの時間」 - 平均スパイクプロフィールの最大レベルと最小レベルの間の時間の対照データと試験データの間の増加。

「QT時間」 - 平均スパイクプロフィール下の絶対面積の3%と97%累積点の間の時間の対照データと試験データの間の増加。

「プロフィール遅延率」 - 平均プロフィールの尾部の遅延率の対照データと試験データの間の増加。

「絶対プロフィール面積」 - 平均プロフィールの絶対値下での面積の対照データと試験データの間の相対的増加。

「プロフィール立ち上がり面積」 - 開始時と最大値の間の平均プロフィールの下での面積の対照データと試験データの間の相対的増加。

50

【 0 0 3 0 】

「絶対プロフィール回復面積」 - 最小値と終端部の間の平均プロフィールの絶対値下での面積の対照データと試験データの間の相対的増加。

「プロフィール回転モーメント」 - 平均プロフィールの時間的回転モーメントの対照データと試験データの間の相対的増加。

「絶対プロフィール重心」 - 絶対平均プロフィールの重心の対照データと試験データの間の相対的増加。

「絶対プロフィール旋回半径」 - 重心の周りに測定した絶対平均プロフィールの旋回半径の対照データと試験データの間の相対的増加。

「振幅分散」 - 平均スパイクプロフィールの分散の対照データと試験データの間の相対的増加。 10

【 0 0 3 1 】

「最大スペクトル値」 - 平均スパイクプロフィールのパワースペクトルの最大値の対照データと試験データの間の相対的増加。

「最大スペクトル値の周波数」 - 平均スパイクプロフィールのパワースペクトルの最大値の周波数の対照データと試験データの間の相対的増加。

「周波数帯域 1 での振幅分散」 - 周波数帯域 0 ~ 2 5 0 H z の全分散により正規化した平均スパイクプロフィールの分散の対照データと試験データの間の相対的増加。

【 0 0 3 2 】

「周波数帯域 2 での振幅分散」 - 周波数帯域 2 5 0 ~ 5 0 0 H z の全分散により正規化した平均スパイクプロフィールの分散の対照データと試験データの間の相対的増加。 20

「周波数帯域 3 での振幅分散」 - 周波数帯域 5 0 0 ~ 7 5 0 H z の全分散により正規化した平均スパイクプロフィールの分散の対照データと試験データの間の相対的増加。

「周波数帯域 4 での振幅分散」 - 周波数帯域 7 5 0 ~ 1 0 0 0 H z の全分散により正規化した平均スパイクプロフィールの分散の対照データと試験データの間の相対的増加。

「帯域 2 / 帯域 1 での振幅分散」 - 平均スパイクプロフィールのスペクトルの帯域 2 及び帯域 1 の分散比の対照データと試験データの間の相対的増加。

「帯域 3 / 帯域 2 での振幅分散」 - 平均スパイクプロフィールのスペクトルの帯域 3 及び帯域 2 の分散比の対照データと試験データの間の相対的増加。

【 0 0 3 3 】

「振幅相関係数」 - 平均対照プロフィールと平均試験スパイクプロフィールの間の正規化相互相関。 30

「振幅歪度（正規化）」 - 平均スパイクプロフィールの全分散に関して正規化した歪度の対照データと試験データの間の相対的増加。

「振幅尖度（正規化）」 - 平均スパイクプロフィールの全分散に関して正規化した尖度の対照データと試験データの間の相対的増加。

「プロフィールのエントロピー」 - そのヒストグラムから判断した平均スパイクプロフィールのエントロピーの対照データと試験データの間の相対的増加。

「絶対プロフィールのエントロピー」 - そのヒストグラムから判断した絶対平均スパイクプロフィールのエントロピーの対照データと試験データの間の相対的増加。 40

【 0 0 3 4 】

「最大ウェーブレット変換係数」 - ここで及び以下で 2 次の「D a u b e c h i e s」ウェーブレットを用いることによる平均スパイクプロフィールのウェーブレット変換のスケール及び時間遅延に亘る最大値の対照データと試験データの間の相対的増加。

「ウェーブレット変換係数のスケール変更」 - ここで及び以下で 2 次の「D a u b e c h i e s」ウェーブレットを用いることによる平均スパイクプロフィールのウェーブレット変換のスケール及び時間遅延に亘る最大値のスケールの対照データと試験データの間の相対的増加。

【 0 0 3 5 】

「ウェーブレット変換の分散」 - スケール及び時間遅延に亘って合計した平均スパイク 50

プロフィールのウェーブレット変換値の分散の対照データと試験データの間の相対的増加。

「ウェーブレット変換の変換係数」 - 対照データのウェーブレット変換の自己相関により正規化されたウェーブレット相互相関係数。

「ウェーブレット変換リッジ値の分散」 - 各スケールでの最大値を取ることににより得られる平均スパイクプロフィールのウェーブレット変換値のベクトルの分散の対照データと試験データの間の相対的増加。

「ウェーブレット変換の変換係数のリッジ値」 - 対照データの対応するベクトルの自己相関により正規化した、上に定義した最大ベクトルのウェーブレット相互相関係数。

【0036】

10

上の全ての特徴が振幅依存というわけではないことに注意すべきである。従って、細胞ネットワークの回復率に依存する特徴を用いて検出及び分類に役立てることができる。更に、上の特徴は、細胞ネットワークの電気活性にこれよりも大きい又は小さい範囲で存在することも又はそうでないことも可能であるが、蛍光活性及び/又は発光活性に関するネットワークの化学的挙動から同様の特徴を識別することができると考えられる。

【0037】

図7は、以下の例に示す活動を行うことで生じると考えられるような異なる化合物アセチルコリン(I)、カフェイン(II)、ピナシディール(III)、サルブタモール(IV)、及び薬物C(V)の組に対するマトリックスフォーマットでの特徴の組の分析の結果を例示するものである。列の下に数字100は、特徴の組のそれぞれの特徴を示し、箱の陰影のレベルは、反応の性質を示している。対照(VI)から得た結果は別々に示している。

20

【0038】

図8は、特徴の組の結果を図7の化合物に対して三次元空間のベクトル量としてプロットした結果を示しており、結果のクラスター化は、それぞれの参照数字により、識別された化合物の各々に対して明らかである。

化合物を分析するのに必要な活動のシーケンスを以下に詳述する。これらの活動は、PCベースのシステム23を用いて行われる信号処理活動と共に、MEA上への細胞ネットワークの堆積物及び試験される化合物に関して取られる物理的処理の組合せである。最初に、細胞ネットワークを培養してMEA3上に堆積させる。この点に関して必要な心筋細胞を用いる段階の実施例は以下の通りである。

30

【実施例】

【0039】

(a) ラット胎児(E15~E18)又は新生児から心臓組織を単離する。

(b) 円刃刀を用いて心臓組織を細分化し、低温(4℃)Ca²⁺/Mg²⁺非含有「Hanks」平衡塩溶液(HBSS)に入れる。

(c) 組織を新しいHBSSで(3回)洗い、0.05% - トリプシンのHBSS液で置換する。

(d) 37℃で10分培養し、上清を捨てる。

(e) 新しいデオキシリボヌクレアーゼ11型溶液(10,000単位/ml)を2分間加える。

40

(f) 新しいトリプシンを加え、37℃で8分間培養する。

(g) 上清を除去し、36% FCS、0.5% インシュリン/トランスフェリン/セレナイト、6mMのL-グルタミン、及び2% ペニシリン/ストレプトマイシン(200mM原液)を含有する「HAMS F10」に入れる。

(h) 懸濁液から細胞を収集し(1500rpm、5分)、10% FCS、0.5% インシュリン/トランスフェリン/セレナイト、6mMのL-グルタミン、及び2% ペニシリン/ストレプトマイシン(200mM原液)を含有する「HAMS F10」に再懸濁する。

(i) 段階(e)~(h)を5~8回繰り返す。

50

(j) 処理した組織培養フラスコ内に貯めた細胞懸濁液を2時間37 で培養することにより異なる接着を行う。

(k) 最終的な細胞懸濁液を計数し、50 K / 板、100 μ l 容量でフィブロネクチン処理MEA板上に播種する。

細胞懸濁液は、各電極7がそれぞれの細胞に接触するようにMEA3上に堆積させる。

【0040】

細胞ネットワークがMEA3上に配置された状態で、ベースライン測定値の組を記録することができるように壁15の受容器13内にMEA3を挿入する。従って、上述の機器及び方法を用いて、電極7からのアナログ出力が増幅され(31)、濾過され(33)、記憶される(45)。このベースライン評価段階を通して及びその後の化合物の分析中には、細胞培養条件を実質的に維持することが望ましい。従って、MEAを取り囲む細胞培養チャンバ17に配置したセンサを用いて環境をモニタする。センサ出力は、PCベースのデータ取得システム23上で実行されるソフトウェアモジュール18によりモニタするか、又は独立にモニタすることができる。いずれにしても、センサから受け取られる信号を用いて、環境制御を調節する。モニタされる可能性があるパラメータには、培養媒体の温度、pH、及び溶解酸素濃度を含むことができる。

10

【0041】

ベースライン測定値の記録処理は、電極7に対応する各データチャンネルに対して実行される。所定の記録(一般的に100秒の長さ)に対して、いわゆる健全チャンネルの組は、最も頻繁に起こる非ゼロの数のスパイクを有するチャンネルの組を識別することにより次のように識別される。

20

分析される化合物を次にMEA3を覆う細胞ネットワークに導入する。これは、ベースライン評価に用いられるMEA3上のネットワークに直接付加することができ、又は培養したネットワークの更に別の同等のサンプルを別のMEA3上に調製して壁15の受容器13の所定位置に挿入することもできる。ここでもまた、所定の記録に対して(一般的に継続時間が100秒、しかし、これよりも長い又は短い期間も選択することができる)、最も頻繁に起こる非ゼロの数のスパイクを有するチャンネルの組を識別することによりいわゆる健全チャンネルの組を選択する。次に、各組、すなわち化合物存在下でのベースライン測定値及びそれに続く測定値の健全チャンネルを比較し、更に、両方の組に共通のチャンネルを識別する。これらの共通のチャンネルは、次に、特徴を抽出して特徴の組を形成する。

30

【0042】

その後の検出及び分類の段階に有用なように、特徴は、データから容易に抽出可能であり、かつ数値的に定量化可能であるべきである。様々な処理アルゴリズムを用いて、この要件を満たす特徴を抽出する。できるだけ多くのデータの情報内容を含むように、できるだけ多くのこのような特徴が組に含まれる。組に重複する特徴が存在しても許容される。更に、処理のできるだけ遅い時点で平均することにより、特徴の感受性が向上することが見出されている。また、測定した特徴の有意性は、全選択チャンネルに亘って測定した特徴の標準偏差を計算することにより推定することができる。

【0043】

特徴の組は、次に、特徴の数に等しい次元のベクトル量としてみることができ、各成分は、ベースラインと続く測定値の間の差に等しい問題の特徴に対する数的変化を表すものである。検出及び分類は、応答ベクトルに対する操作を実行することに帰することになる。検出処理は、上述の通りである。分類処理は、標準クラスター分類を用いることにより達成され、これによって、変数、例えば、成分の範囲に亘る類似性の基準に関して場合分けするのに用いることができる数学的クラスター化及び区分化技術が理解される。多くのクラスター化アルゴリズムが利用可能であり、これらは、類似性(又は非類似性)を測定するのに用いられる方法及び距離が測定されるポイントに関して異なっている。従って、クラスター化アルゴリズムは客観的であるが、アルゴリズムの選択には主観的な余地がある。最も一般的なクラスター化アルゴリズムは、多元集塊性であり、すなわち、1つより

40

50

も多い変数に基づく小さなクラスターを融合することにより、一連の次第に大きくなるクラスターが形成される。この階層的手法は、分析されることになる大きなデータの組を考えると、コンピュータベースの分析に特に適切である。しかし、あまり計算集中的でなく、従ってより速い手法は、非階層的k平均又は反復性再配置アルゴリズムである。各ケースは、最初にkクラスターの1つに配置され、その後、クラスター内のケース間の差が最小になるならばクラスター間で移動される。PC取得システムの計算機能に応じて、かつ実時間分析に対するあらゆる要件により、上述の処理の1つを使用することができる。

【0044】

上述の実施形態に加えて、異なるMEA3配列を有する更に別の変形も考えられており、そのうちのいくつかは以下の通りである。

(1)「単一ウェル、複数チャンバ環境測定」- 同時測定及び培養環境の制御を含むためのチャンバ装置に組み込まれたセンサを有する(制御された灌流、温度、pHセンサ)

(2)「単一ウェル、複数チャンバ環境測定、複数細胞生理機能測定」- 細胞内カルシウムレベル、乳酸生成などのような他の細胞機能の測定を可能にする一体型センサを備えた(1)のようなもの。

(3)「マルチウェル、マルチチャンネルシステム」- 単一ウェルフォーマットの代わりに、96ウェルを形成し、各ウェルの複数の微小電極からデータを読み取る。

(4)「マルチウェル、マルチパラメータシステム」- 薬物スクリーニング装置を生成する(1)及び(3)の組合せ。薬物の制御した送出及び完全自動化データ捕捉及び分析が可能で完全に制御されたマルチウェル検定システム。

(5)「マルチウェル、マルチパラメータシステム、複数細胞生理機能測定」- 多くの異なる検定で多くの細胞機能の統括的分析を可能にする(2)及び(3)の組合せ。

【0045】

本発明の更に別の実施形態によれば、環境毒のような化合物を検出するためのセンサが提供される。図4は、脅威に曝されている種、又は毒素への応答が例えばヒトのような他の種に外挿することができる種から得られる細胞の培養物により細胞ネットワークが提供されるセンサの概略図を示すものである。例えば、細胞ネットワークには、ホタテ貝心臓細胞を含むことができる。

センサ101には、各々MEA103を収容することができる複数のチャンバ117が含まれる。灌流システム118により、試験するサンプル、例えば河川水から得た試験サンプルを各MEA103に送出することができる。MEA103は、使用時には細胞ネットワークに接触するように配列された複数の電極107を有するという点で第1の実施形態に関して上述したようなものである。電極107からの電気信号出力は、相互接続119を通じて増幅器ユニット121に渡され、そこで出力が増幅される。増幅器ユニット121は、ほぼ1000の利得を各チャンネルに与えることができるマルチチャンネル装置である。一般的に、MEA103の各電極107をチャンネルにマップさせるのに十分なチャンネルが利用可能である。MEA103の構成によっては、満足にデータを収集するためにこれよりも多いか又は少ないチャンネルが必要なこともある。増幅器ユニット自体は、PCベースのデータ取得システム123に接続される。PCシステム123には、PCIバスを通じて中央演算処理装置126に連結された「アナログ/デジタル」変換カード125が組み込まれる。カード125により、増幅器121のアナログ出力を取得システム123に接続するのに必要な外部連結が得られる。カード125は、50キロヘルツ/チャンネルまで増幅器ユニット121から増幅チャンネルデータをサンプリングすることができる。実際の速度は、細胞ネットワークの性質及び関連の特徴を識別するのに必要な解像度を参照して判断される。中央演算処理装置126は、デジタルデータを分析するのに必要なソフトウェア及び/又はファームウェアにより与えられる指令を実行する。データは、MEA103にイベントが起こる時に実時間で分析することができ、ハードディスクのような記憶装置127から読み取ることができる。前者の場合には、記憶装置127を用いて、依然としてデータをアーカイブに保管することができる。実時間で進行させ

10

20

30

40

50

ることができるか又は逆にオフライン分析することができる機能は、ある程度はデータが生成される速度及びシステム 1 2 3 の記憶容量によって決まることになる。

【 0 0 4 6 】

ソフトウェア及び / 又はファームウェアには、脅威に曝されている特定の細胞ネットワークに対する特定の 1 つ又は複数の毒への応答を実験的に又は他の方法で得たものに対応する特徴の組のライブラリ 1 2 8 が含まれる。従って、センサ 1 0 1 は、一般的に、所定の組の特徴の組に関して識別及び好ましくは分類機能を行うことが要求され、すなわち、センサ 1 0 1 は、脅威に曝されている種に毒の作用がある可能性があるものだけで、サンプルに存在する全ての化合物を識別する必要はない。検査している特定の種により、特徴の組の異なるライブラリをセンサ 1 0 1 に読み取ることができる。便利な態様においては、センサ 1 0 1 は、使用者が活動しようとする種に特定のソフトウェアを備えている。このようなソフトウェアには、ソフトウェアに一体化された部分として又はユーザにより可読のソフトウェアモジュールとしてのライブラリが含まれることになる。例えば、貝に毒が蓄積されることは次第に大きな問題となっている。ヒトの神経系へのその深刻な影響のために、2 つの毒が特に重要である。これらは、記憶喪失性貝毒 (A S P) 及び麻痺性貝毒 (P S P) の毒である。これらの毒を大量に摂取すれば死に至る可能性がある。

10

【 0 0 4 7 】

A S P 毒をセンサ 1 0 1 の利用の例として取り上げると、A S P に主に関わる毒素は、ドウモイ酸であることが公知である。従って、センサ 1 0 1 を用いて特定の毒素が存在するか否かを検出する前に、その後センサで用いるようにライブラリ 1 2 8 に含むための特徴の組を用意することが必要である。このような特徴の組又はベクトルの作成は、第 1 の実施形態で説明したシステムを用いて実行することができる。上述のように、A S P の場合は、主な毒素はドウモイ酸である。従って、マウスの皮質神経細胞のネットワークを M E A に付加する。次に、上述のように、ウェル 1 1 5 内に M E A を入れ、化合物、この場合はドウモイ酸を付加したことに対するネットワークの電氣的応答を電極 1 0 7 で抽出して増幅し、活性チャンネルを識別して関連データを捕捉する。次に、これも上述のようにこのデータを分析し、ドウモイ酸の場合には、ドウモイ酸を示す特に有用な特徴の 1 つが「平均スパイク率 (M S R) 」であることが見出されている。図 5 は、1 0 0 n M 濃度のドウモイ酸に太線 T で示されるデータの開始から 1 0 分間露出した時のラット皮質神経培養物からの平均スパイク率を示すグラフである。次に、特徴のソフトウェアライブラリに含めるために、この反応をパラメータ化してファイルに記憶する。

20

30

【 0 0 4 8 】

次に、センサ 1 0 1 を用いて、貝サンプルに A S P が存在するか否かを判断する。センサ 1 0 1 は、特定の種により認められる特定の毒への応答を示す特徴の組又はベクトルのライブラリのための記憶装置を組み込んでいる。ライブラリは、ハードディスク又は他の記憶媒体 1 2 7 に保持されるようにセンサにダウンロードすることができ、ネットワーク接続を通じてデータベースにアクセス可能である。1 つの特定的な変形では、ライブラリは、M E A 1 0 3 自体に形成された集積回路に記憶される。すなわち、カラーコーディング又は他の表示により、研究中の特定の種に利用可能な特徴の組又はベクトルの必須の予め記憶されたライブラリを有する適切な M E A 1 0 3 が選択される。集積回路には、カードエッジコネクタへの適切な接続部が設けられ、ウェル 1 1 5 の受容器に取り付けられた時にセンサによるライブラリへのアクセスを可能にする。

40

【 0 0 4 9 】

受容器 1 1 3 へ取り付ける前又は後の何れかに、ラットからの皮質神経細胞物質の細胞ネットワークを M E A 1 0 3 上に堆積させる。M E A 1 0 3 をセンサ 1 0 1 のウェル 1 1 5 内の受容器 1 1 3 に入れて、M E A 1 0 3 上に貝サンプルを載せる。化合物 (この場合は貝サンプル) の付加に対するネットワークの電氣的応答を電極 1 0 7 で抽出して増幅し、活性チャンネルを識別して関連データを捕捉する。次に、このデータを M S R 特徴に関して A S P に得られるものを含む特徴の組のライブラリに対して分析する。統計的信頼性の所定の限度内でライブラリ応答との一致が見つかれば、正の結果にフラグが立てられ、

50

センサ 101 により、視覚的、聴覚的、又はその組合せとすることができる適切な警告指示が出される。ここでもまた特定の統計的信頼度を用いてこのような応答が識別されない場合には、このような警告は出されず、サンプルに毒がないように見えるという信頼度のレベルの指示だけである。特定の毒が存在するか否かに強く相関することが見出されている更に別の特徴が存在する場合があることは明らかである。このような特徴の組は、未知の化合物の分析に用いることができ、1 以上の一致があればセンサに警告指示を生成させるのに十分とすることができる。

【0050】

本発明の更に別の実施形態では、PC システム 23 は、測定ツールとして用いることができる。すなわち、システム 23 を用いて、既知の化合物の物理的及び / 又は化学的特性を評価することができる。例えば、システム 23 の特定の化合物に対する応答は、その化合物の濃度に依存する場合があることが認識されている。所定のレベルの統計的信頼度で特定の濃度レベルを示す特徴又は特徴の組のライブラリを確立することにより、特定の既知の化合物の濃度を識別することができる。更に、測定ツールは、最初は未知である化合物をその物理的 / 化学的特性に関して識別しかつ詳細に説明することができるように、識別及び分類機能と一体化することができることが認められるであろう。

10

【0051】

ユーザが本発明の方法及び装置を用いて分析した結果に有することができる統計的信頼度に対して、いくつかの因子が影響を及ぼすことになることを当業者は認識するであろう。このような因子が有する影響の数量化は、特定の分析の結果に適用される統計的信頼度のレベルに組み込むことができる。このような影響を最小限にするために、対照に対して正規化した特徴を用いる手段を取ることができる。代替的に、有意な応答を生成する最小濃度を用いることもできるであろう。更に、システムの応答は、各細胞のその最も近い電極に対する近接性に依存する場合がある。これは、脈拍速度のような絶対振幅に無関係な特徴を用いることを必要とすることになる。

20

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図 1】本発明の一態様による分析システムの線図である。

【図 2】図 1 のシステムの一部を形成する微小電極アレイ (MEA) の平面図である。

【図 3】本発明の更に別の態様による分析の方法を示す流れ図である。

30

【図 4】本発明の更に別の態様によるセンサの線図である。

【図 5】図 4 のセンサの化合物出力に対する応答を示すグラフである。

【図 6】本発明と共に用いるために選択した特徴の組を示す表である。

【図 7】例えば本発明による化合物である特徴の組に亘る応答の組を示すマトリックスである。

【図 8】図 7 の応答に基づくベクトル図である。

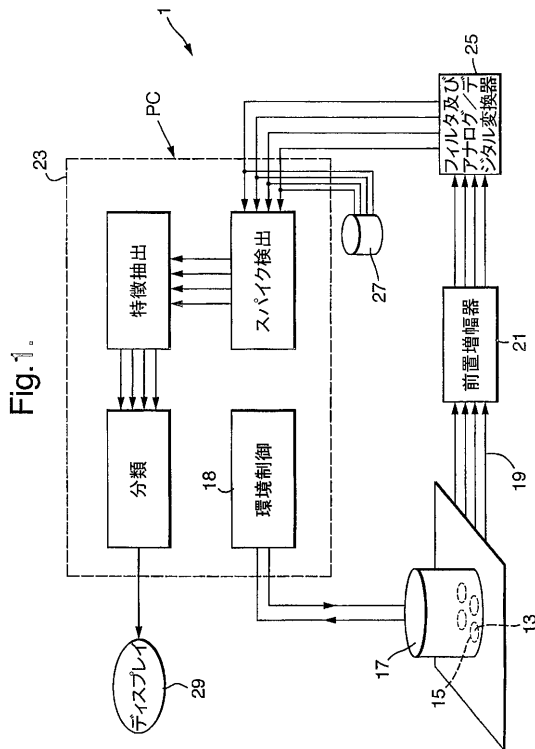
【符号の説明】

【0053】

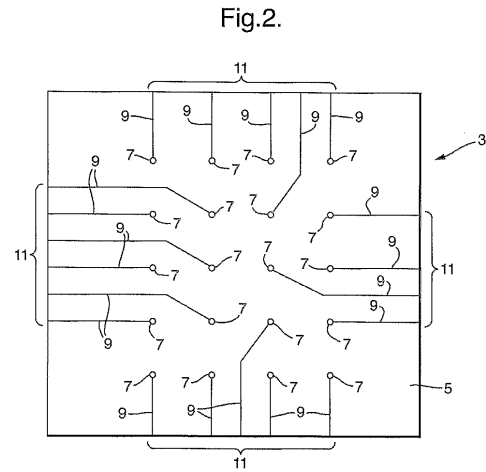
- 13 受容器
- 17 チャンバ
- 19 リボンコネクタ
- 21 増幅器ユニット
- 23 PC ベースのデータ取得システム
- 27 記憶装置

40

【 図 1 】

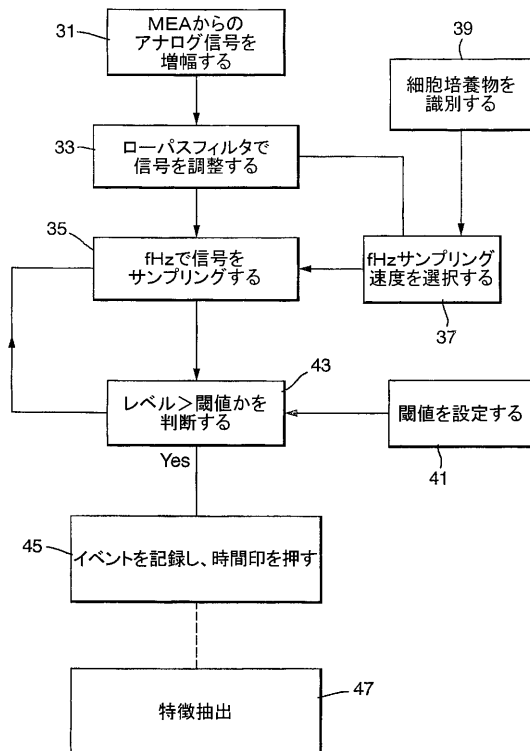


【 図 2 】

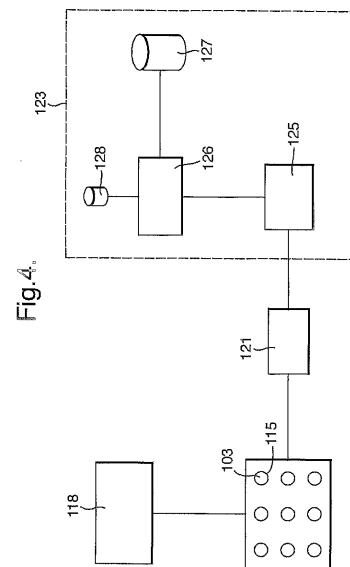


【 図 3 】

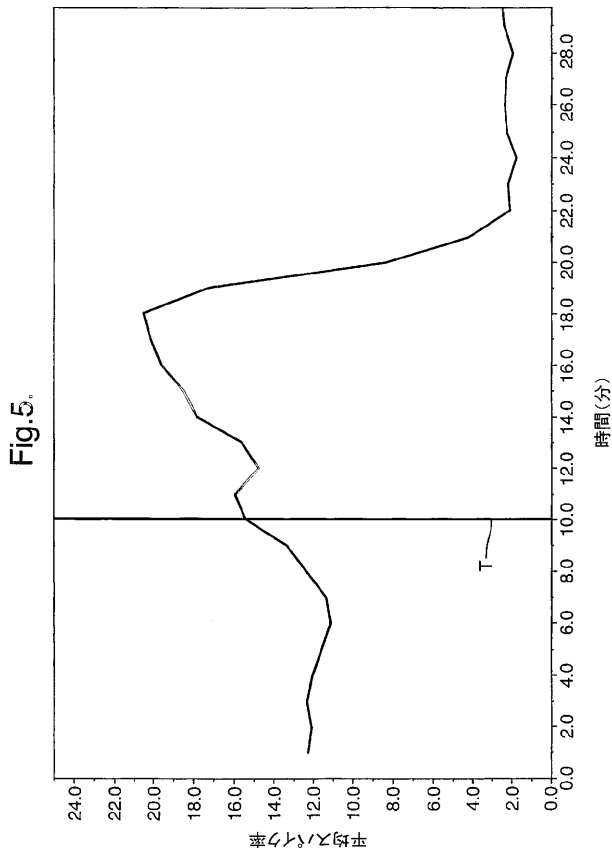
Fig.3.



【 図 4 】



【 図 5 】

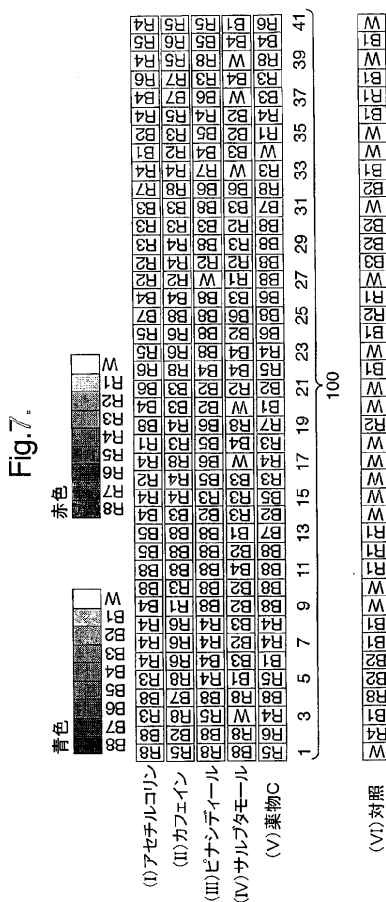


【 図 6 】

Fig.6.

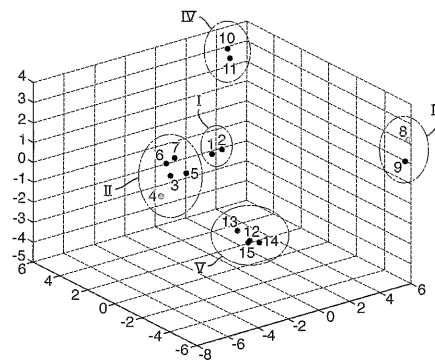
プログラム	特徴番号	名称	説明	t-検定のタイプ
spike_rate	1	lsr	瞬間スパイク率	不對
spike_rate	2	lsrv	瞬間スパイク率変動性	不對
spike_speed	3	ss	スパイク速度	不對
spike_speed	4	ssv	スパイク速度変動性	不對
max_min	5	maxv	ピークレベル	對
max_min	6	minv	トラフレベル	對
max_min	7	rangev	ピークからトラフまでのレベル	對
max_min	8	maxmodv	絶対ピークレベル	對
rise_times	9	rise10_time	ピークの10%からの立ち上がり時間	對
rise_times	10	rise20_time	ピークの20%からの立ち上がり時間	對
rise_times	11	recov10_time	ピークの10%からの回復時間	對
rise_times	12	recov20_time	ピークの20%からの回復時間	對
rise_times	13	diffv	ピークからトラフまでの時間	對
rise_times	14	qt	絶対プロフィール面積の3%及び97%からの時間	對
rise_times	15	dec_mpt	プロフィール尾部の減衰速度	對
spike_area	16	mean_abs	絶対プロフィール面積	對
spike_area	17	mean_rise	プロフィール立ち上がり面積	對
spike_area	18	mean_abs_recov	絶対プロフィール回復面積	對
moments	19	mom	プロフィールの回転モーメント	對
moments	20	cog	絶対プロフィールの重心	對
moments	21	rog	絶対プロフィールの旋回半径	對
spectrum	22	varv	振幅分散	對
spectrum	23	maxspec	最大パワースペクトル値	對
spectrum	24	locmaxspec	最大パワースペクトル値の周波数	對
spectrum	25	spec1	帯域1での振幅分散(正規化)	對
spectrum	26	spec2	帯域2での振幅分散(正規化)	對
spectrum	27	spec3	帯域3での振幅分散(正規化)	對
spectrum	28	spec4	帯域4での振幅分散(正規化)	對
spectrum	29	spec2re1	帯域1に対する帯域2の振幅分散	對
spectrum	30	swpec3re2	帯域2に対する帯域3の振幅分散	對
spike_hos	31	ccv	振幅相関係数	片側
spike_hos	32	skew	振幅歪度(正規化)	對
spike_hos	33	kurt	振幅尖度(正規化)	對
entropy	34	ent	プロフィールのエントロピー	對
entropy	35	enta	絶対プロフィールのエントロピー	對
wavelets	36	wmaxv	最大ウェーブレット変換係数	對
wavelets	37	scale_maxmaxv	ウェーブレット変換係数のスケール	對
wavelets	38	wvv	ウェーブレット変換の分散	對
wavelets	39	wtrfv	ウェーブレット変換の変換係数	不對
wavelets	40	wvmv	ウェーブレット変換リッジ値の分散	對
wavelets	41	wtrfmv	ウェーブレット変換リッジ値変換係数	不對

【 図 7 】



【 図 8 】

Fig.8.



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. nat. Application No.
PCT/GB2004/001228

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G06F17/30

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)

IPC 7 G06F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 772 983 A (GRANT ALAN J ET AL) 30 June 1998 (1998-06-30) column 2, line 66 - column 4, line 63 column 9, line 19 - line 65 abstract	1,2
X	US 2002/165674 A1 (BONDARENKO ANDREY ET AL) 7 November 2002 (2002-11-07) paragraph [0002] - paragraph [0007] paragraph [0034] paragraph [0042] paragraph [0045] paragraph [0047] paragraph [0060] paragraph [0062] ----- -/-	1,2

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in 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 document 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.

"B" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 August 2004

Date of mailing of the international search report

12. 11 2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5816 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

DE CASTRO PALOMARES

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte nat Application No
PL 1 / GB2004/001228

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2001/049689 A1 (MENTZER STEVEN) 6 December 2001 (2001-12-06) paragraph [0010] - paragraph [0015] paragraph [0041] - paragraph [0042] paragraph [0074] - paragraph [0086] paragraph [0144] paragraph [0184] - paragraph [0186] -----	1,2
A	WO 00/25255 A (R2 TECHNOLOGY INC) 4 May 2000 (2000-05-04) the whole document -----	1,2
A	WO 00/65484 A (ARENA PHARMACEUTICALS INC ; HURST JOHN R (US); HUTTON SCOTT G (US)) 2 November 2000 (2000-11-02) the whole document -----	1,2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national application No.
PCT/GB2004/001228

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 2

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ GB2004/ 001228

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1,2

compound analysis method and apparatus

2. claims: 3-13

Sensor and microelectrode array for compound detection

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No.
PCT/JP2004/001228

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5772983	A	30-06-1998	WO 9714444 A1	24-04-1997
US 2002165674	A1	07-11-2002	US 6453241 B1	17-09-2002
			AU 776429 B2	09-09-2004
			AU 2208000 A	31-07-2000
			CA 2356655 A1	06-07-2000
			EP 1141406 A1	10-10-2001
			JP 2002533700 T	08-10-2002
			WO 0039338 A1	06-07-2000
US 2001049689	A1	06-12-2001	AU 9050501 A	11-12-2001
			CA 2403874 A1	06-12-2001
			EP 1285365 A1	26-02-2003
			WO 0193113 A1	06-12-2001
WO 0025255	A	04-05-2000	US 6075879 A	13-06-2000
			AU 1452800 A	15-05-2000
			EP 1131778 A1	12-09-2001
			WO 0025255 A1	04-05-2000
WO 0065484	A	02-11-2000	US 6721754 B1	13-04-2004
			AU 4500000 A	10-11-2000
			CA 2370064 A1	02-11-2000
			EP 1323068 A2	02-07-2003
			JP 2003527649 T	16-09-2003
			MX PA01010906 A	18-09-2002
			WO 0065484 A2	02-11-2000
			US 2004153250 A1	05-08-2004

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
C 1 2 M	1/34	(2006.01)	C 1 2 M 1/00	A
			C 1 2 M 1/34	A

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ヒール リチャード ディー エイ
イギリス ディーティー 2 8 エックスジェイ ドーセット ドーチェスター ウィンフリス ニューバラ ウィンフリス テクノロジー センター キネティック リミテッド ルーム エイ 2
2 / 1 4 0

(72)発明者 パーソンズ アラン ティー
イギリス ディーティー 2 8 エックスジェイ ドーセット ドーチェスター ウィンフリス ニューバラ ウィンフリス テクノロジー センター キネティック リミテッド ルーム エイ 2
2 / 4 2

F ターム(参考) 2G060 AA15 AE40 AF15 AG10
4B029 AA08 AA21 BB11 CC02 CC08 FA15
4B063 QA01 QA05 QA18 QQ08 QR69 QR77 QR84 QS24 QS36 QS39
QX05
5B075 NR12 UU18