

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4406287号  
(P4406287)

(45) 発行日 平成22年1月27日(2010.1.27)

(24) 登録日 平成21年11月13日(2009.11.13)

(51) Int.Cl.

F 1

GO 1 N	33/543	(2006.01)	GO 1 N	33/543	5 9 5
GO 1 N	21/27	(2006.01)	GO 1 N	21/27	C
GO 1 N	33/53	(2006.01)	GO 1 N	33/53	Z
GO 6 F	17/30	(2006.01)	GO 6 F	17/30	1 7 O F
			GO 6 F	17/30	2 1 O D

請求項の数 24 (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-578928 (P2003-578928)
(86) (22) 出願日	平成15年3月26日 (2003.3.26)
(65) 公表番号	特表2005-521054 (P2005-521054A)
(43) 公表日	平成17年7月14日 (2005.7.14)
(86) 國際出願番号	PCT/SE2003/000500
(87) 國際公開番号	W02003/081245
(87) 國際公開日	平成15年10月2日 (2003.10.2)
審査請求日	平成18年2月24日 (2006.2.24)
(31) 優先権主張番号	0200949-6
(32) 優先日	平成14年3月27日 (2002.3.27)
(33) 優先権主張国	スウェーデン(SE)
(31) 優先権主張番号	60/367,806
(32) 優先日	平成14年3月27日 (2002.3.27)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	508173565 ジーイー・ヘルスケア・バイオーサイエン シーズ・アーベー スウェーデン国 S E - 7 5 1 8 4 ウブサ ラ・ビエルクガータン 3 0
(74) 代理人	100127926 弁理士 結田 純次
(74) 代理人	100105290 弁理士 三輪 昭次
(74) 代理人	100140132 弁理士 竹林 則幸
(74) 代理人	100091731 弁理士 高木 千嘉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 応答曲線の質の制御を包含する、分子結合相互作用の検出のための方法、システムおよびコンピュータプログラム

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

1つまたはそれ以上の検知表面領域での分子相互作用が検出され、そして各々の相互作用の経時的推移を表す応答曲線が個別に作出される、分子相互作用の解析方法であって、得られる一組の応答曲線が、

a) 応答曲線に関して少なくとも1つの質関連パラメータを選定し、そして、各々のパラメータに関して少なくとも1つの質記述子を規定し、

b) その組に属する各々の応答曲線に関して、該質記述子について値を算出し、

c) 各々の応答曲線において、該質記述子についての値に基づき、その組のすべての応答曲線との関連で応答曲線の質を示す質類別を算出し、

d) 逸脱した質類別を有する応答曲線を選定し、そして

e) 選定された応答曲線を、1つまたは複数の応答曲線を捨てるべきか否かを決定する妥当性確認の手順に付する

段階を包含する質評価手順に付される上記の解析方法。

## 【請求項 2】

応答曲線がもはや捨てられなくなるまで段階 c) から e) を反復させる請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

請求項 1 の段階 b) が、さらに各々の応答曲線に関する質記述子の値を質記述子ベクトルに転換することを包含する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

10

20

**【請求項 4】**

質記述子マトリックスが質記述子ベクトルからつくられる請求項 3 に記載の方法。

**【請求項 5】**

記述子の値が正規化される請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6】**

請求項 1 の段階 c ) で質分類を算出するのに、各々の質記述子ベクトルについて、該ベクトルと、応答曲線の組における残りの質記述子ベクトルとの差を決定することが含まれる請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 7】**

ベクトル間の差の決定が、各々の質記述子ベクトルから残りの群としての質記述子ベクトルへの距離の統計的尺度の決定を包含する請求項 6 に記載の方法。 10

**【請求項 8】**

算出された差から差ベクトルがつくられる請求項 6 または 7 に記載の方法。

**【請求項 9】**

請求項 1 の段階 d ) が、算出された差の順序で応答曲線に関する質記述子ベクトルを仕分けし、そして最大の差を有する応答曲線に対応する予め決定した数の応答曲線を選定することを包含する請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 10】**

請求項 1 の段階 c ) での質類別の算出が、センサーグラムを類似する質の群に類別することを包含する請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。 20

**【請求項 11】**

質類別がニューラルネットワークによって行われる請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 12】**

質類別がエキスパートシステムによって行われる請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 13】**

請求項 1 の段階 e ) での妥当性確認手順が、選択された応答曲線を目で検査することを包含する請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 14】**

請求項 1 の段階 e ) での妥当性確認手順が、センサーグラムの質類別の根拠となった質記述子を決定することを包含する請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。 30

**【請求項 15】**

請求項 1 の段階 e ) での妥当性確認手順が、選定されたセンサーグラムのクラスターに関係しうるセンサーグラムの作出における 1 つまたはそれ以上の時間を同定することを包含する請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 16】**

質記述子が基礎とする 1 つまたはそれ以上の質関連パラメータが、奇異な曲線形状、測定間のキャリーオーバー、参照表面への結合、およびゼロより小さい解離値の少なくとも 1 つを含む請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。 40

**【請求項 17】**

奇異な曲線形状が勾配のある基準線、スパイク、振動および飛躍から選択される請求項 16 に記載の方法。

**【請求項 18】**

請求項 1 の段階 c ) ~ e ) が少なくとも 1 つの異なる記述子を用いて反復される請求項 2 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 19】**

請求項 1 の段階 c ) ~ e ) が異なる質類別法により反復される請求項 2 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 20】**

50

バイオセンサーが使用される請求項 1 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 1】

バイオセンサーが表面プラズマ共鳴をベースとする請求項 20 に記載の方法。

【請求項 2 2】

( i ) 少なくとも 1 つの検知表面、少なくとも 1 つの検知表面での分子相互作用を検出するための検出手段、および各々の相互作用の経時的推移を表す反応曲線を作出するための手段を包含するセンサーデバイス、および

( ii ) 請求項 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つに規定されるように請求項 1 における段階 a ) ~ e ) を実施するためのデータ処理手段

を含む、分子結合相互作用を検出するための解析システム。

10

【請求項 2 3】

コンピュータ上でプログラムを実行させる時に請求項 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つの質評価手順を実施するためのプログラムコード手段を包含するコンピュータプログラム。

【請求項 2 4】

コンピュータ上でプログラムを実行させる時に請求項 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つの質評価手順を実施するための、コンピュータで読める媒体上に保存されたプログラムコード手段を包含するコンピュータプログラム製品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

20

本発明は検知表面での分子結合相互作用を解析する方法、そして一層特定的に分子相互作用を記述する得られるデータの質の制御に関する。本発明はこのような質制御を含む解析システムならびにこの方法を実施するコンピュータプログラムおよびこのプログラムを収納するコンピュータで読める媒体に関する。

【背景技術】

【0002】

分子例えば生体分子の間の相互作用を実時間でモニターすることができる解析センサーシステムへの関心が増している。このシステムはしばしば光学バイオセンサーに基礎を置きまた相互作用解析センサーまたはバイオ特異的相互作用解析センサーと通常称される。このようなバイオセンサーシステムの代表は Biacore AB (スウェーデンの Up psala ) から発売の Biacore (登録商標) 計測器であり、これは試料中の分子と検知表面上で固定化された分子構造との間の相互作用を検出するために表面プラズモン共鳴 (SPR) を用いる。 Biacore (登録商標) システムを用いることにより、標識付けをせずにまたしばしば関与する物質を精製することなく、試料中の特定の分子の存在および濃度のみならず、例えば分子相互作用に関する結合速度定数および解離速度定数のような追加的な相互作用パラメータもまた実時間で測定することが可能である。この Biacore (登録商標) システムは生命科学の研究ならびに新薬開発医薬品産業および食品分析で現在使用されている。

30

【0003】

Biacore (登録商標) および類似のバイオセンサーからの典型的な出力は、分子相互作用の経時的な推移を記述するグラフまたは曲線である。通常コンピュータースクリーン上に表示されるこの曲線はしばしば『センサーグラム』と称される。

40

【0004】

バイオセンサー計測器の操作者が、作出されたセンサーグラムの質を手動で評価しそして質が受け入れできないセンサーグラムをすべて捨てることがこれまで容易に可能であったが、現在のシステムは実施される解析での処理量および情報密度が常に増加する傾向のため、操作者にますます重い負荷が加わる。従って、特に多数の組のセンサーグラムが作出される場合、バイオセンサーシステムでの質の評価を容易にする手段が必要である。

【0005】

上記に述べた種類のバイオセンサーシステムの操作を、特に多数の組の検出曲線につい

50

てその曲線の質を類別するために、データ処理の手段を提供することにより、改善することが本発明の目的である。このような質の類別は、検討される曲線の大部分と異なりそのためには悪い質の可能性のある曲線を同定するために特に使用することができる。

#### 【0006】

従って1つの局面で本発明は、1つまたはそれ以上の検知表面領域での分子特に生体分子の相互作用が検出されそして各々の相互作用の経時的推移を表すそれぞれの応答曲線が作出される解析方法を提供する。本発明によると、得られる一組の応答曲線は、

a) 応答曲線に関して少なくとも1つの質関連パラメータを選定し、そして、異なる各々のパラメータに関して少なくとも1つの質記述子を規定し、

b) その組に属する各々の応答曲線に関して、異なる質記述子について値を算出し、

c) 異なる質記述子についての値に基づき、その組のすべての応答曲線との関連で応答曲線の質を示す質の類別を各々の応答曲線に対して算出し、

d) 逸脱した質類別を有する応答曲線を選定し、そして

e) 選定された応答曲線を、1つまたはそれ以上の応答曲線を捨てるべきか否かを決定する妥当性確認の手順に付する

段階を包含する質評価手順に付される。

#### 【0007】

別な局面で本発明は、分子相互作用を検討するための解析システムを提供し、このシステムは質に関して応答曲線を類別するためのデータ処理手段を包含する。

#### 【0008】

さらに別な局面で本発明は、プログラムコード手段を含むコンピュータプログラム製品を提供する。

#### 【0009】

さらに別な局面で本発明は、本方法を実施するためのコンピュータで読める媒体上に保存されたプログラムコード手段を包含するコンピュータプログラム製品を提供する。

#### 【0010】

上述したように本発明は特にバイオセンサーを基礎におく解析的センサーの方法に関し、この方法では分子相互作用が検討され、そしてしばしばセンサーグラムと称される検出曲線の形で結果が、相互作用の推移にしたがって、実時間で示される。

#### 【0011】

バイオセンサーは様々な検出方法を基礎におく。このような方法には、圧電、光学、熱-光学および表面音波(SAW)装置方法のような質量検出法、ならびに電位差測定、電気伝導度測定、電流測定および電気容量測定の方法のような電気化学法が典型的に含まれるが、これらに限定されない。光学検出法に関して代表的な方法には、内部反射法および外部反射法の双方を含む反射-光学法のような質量表面濃度を検出する方法、分解された角度、波長または位相を検出する方法、例えば偏光解析法および減衰波分光測定法(EWS)があり、後者には表面プラズモン共鳴(SPR)分光測定法、Brewster角屈折率測定法、臨界角屈折率測定法、漏れ全反射(FTR)、減衰波偏光解析法、散乱全内部反射(STIR)、光波誘導用検出器、減衰波をベースとする画像形成、例えば臨界角分解画像形成、Brewster角分解画像形成、SPR角分解画像形成などがある。さらに例えば減衰性蛍光発光(TIRF)および熒光発光をベースとする測光法ならびに導波干渉計が用いられてよい。

#### 【0012】

現在最も普通に使用される検出原理は、表面プラズモン共鳴(SPR)分光測定である。SPRをベースとする典型的なタイプのバイオセンサーはBIA CORE(登録商標)(以下『BIA CORE計測器』と称する)の商標名の下でBia core AB(Uppsala、スウェーデン)によって発売されている。このバイオセンサーでは、表面と結合したリガンドと関心のあるアライトとの間の『実時間』の結合相互作用解析を行うためにSPRをベースとする質量検知技術が利用される。

#### 【0013】

10

20

30

40

50

B I A C O R E 計測器には、発光ダイオード ( L E D ) 、薄い金フィルムで被覆されたガラス板を含むセンサーチップ、センサーチップ上に液体流を供給する一体化された液体カートリッジ、および光検出体アレイが含まれる。 L E D から来る光はガラス / 金の界面で内部全反射されそして光検出体アレイによって検出される。ある入射角 ( 『 S P R 角 』 ) で、表面プラズモン波が金の層に形成され、これが反射光での強度低下または『 ディップ ( d i p ) 』として検出される。一層特定的に、そして当業者によって認識されているように、 B I A C O R E 計測器と関わりのある S P R の現象は、プリズムおよびガラス板を経由して薄い金属フィルムに入射する単色の p - 偏光の、ガラス板の裏面上の金属フィルムにおける、プラズモンと称される導電性電子の振動への共鳴性結合に基づく。この振動は表面から液体流中に 1 波長 ( ~ 1  $\mu$  m ) 程度の距離まで延びる減衰場を発生する。共鳴が起きる時、光エネルギーは、金属フィルム中の電子の集団的励起を通じて金属表面へと失われ、そして反射光の強度は明確に決まる入射角、 S P R 角において減少し、この角度は金属表面の近傍における減衰場の到達範囲内で屈折率に依存する。

#### 【 0 0 1 4 】

上記したように、 S P R 角は金層に近接する媒体の屈折率に依存する。 B I A C O R E 計測器においては、典型的にデキストランが金表面に結合し、検体と結合するリガンドはデキストラン層の表面に結合している。関心のある検体は液体カートリッジを通過してセンサーの表面に向けて溶液の形で注入される。金フィルムの近傍での屈折率は ( i ) 溶液の屈折率 ( 一定である ) 、および ( ii ) 表面に結合する物質の量に依存し、結合したリガンドおよびアナライトの間の結合相互作用は S P R 角の変化の関数としてモニターすることができる。

#### 【 0 0 1 5 】

B I A C O R E 計測器の技術面および S P R 現象についてに詳細な論議は、米国特許第 5,313,264 号に見ることができる。バイオセンサー検知表面のための基質コーティングに関する一層詳細な情報は、例えば米国特許第 5,242,828 号および第 5,436,161 号に与えられている。加えて、 B I A C O R E 計測器と関連して使用されるバイオセンサーチップの技術面に関する詳細な論議は、米国特許第 5,492,840 号中に見いだされる。上述した米国特許の全開示は参考によって本記載に組み入れられる。

#### 【発明の開示】

##### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【 0 0 1 6 】

B I A C O R E 計測器からの典型的な出力は『センサーグラム』であり、これは時間の関数としての応答 ( 『共鳴単位』または『 R U 』として測定される ) のプロットである。 1,000 R U の増加はセンサー表面上の質量増加約 1 n g / mm<sup>2</sup> に相当する。アナライトを含有する試料がセンサー表面と接触する際、センサー表面に結合したリガンドは『会合』と称される段階においてアナライトと相互作用する。この段階は、試料がセンサー表面と最初に接触される際に R U の増加によってセンサーグラム上に表示される。逆に試料の流れが例えば緩衝流によって置き換えられるとき『解離』が通常起きる。この段階は、アナライトが表面結合リガンドから解離する際の経時的な R U の低下によってセンサーグラム上に示される。

#### 【 0 0 1 7 】

B I A C O R E 計測器に関する代表的なセンサーグラムは図 1 に示され、これは試料中のアナライトと相互作用する固定化されたリガンド ( 例えば抗体 ) を有する検知表面を示す。 y - 軸は応答を示し ( ここでは共鳴単位 ( R U ) で ) そして x - 軸は時間を示す ( ここでは秒で ) 。最初、緩衝液が検知表面上を通過し、センサーグラム上で『ベースライン応答』を与える。試料の注入中、アナライトの結合 ( つまり会合 ) のために、共鳴信号が平坦化する定常状態の条件まで信号が増大するのが認められる。試料注入終了時に、試料は緩衝液の連続流と置き換えられ、また信号の減少は表面からのアナライトの解離または放出を反映する。結合 / 解離曲線の勾配は、相互作用カイネティクスに関する貴重な情報を与え、また共鳴信号の高さは表面濃度を表す ( つまり、相互作用からくる応答は表面上

10

20

30

40

50

の質量濃度の変化に相関する)。

【0018】

他の検出原理をベースとするバイオセンサーシステムによって得られる検出曲線、またはセンサーグラムは同様な外見を有するであろう。

【0019】

得られるセンサーグラムはときには、様々な理由で受け入れできない質を有し、従って、捨てざるを得ない。図2は受け入れできる2つのセンサーグラムと受け入れできない2つのセンサーグラムの例を示す。左の2つの曲線はともに受け入れ可能である。他方、上右の曲線はあまりにも不安定であり、また下右の曲線は空気-ピーク(液体流中の空気泡)のため変形している。今日、センサーグラムの質の制御は、解析すべき曲線の重複プロットを作成しそして曲線中の奇異な箇所を目視で探索することで使用者によって通常なさられる。

【0020】

しかしながらバイオセンサーシステムにおける現在の傾向は、多数の組のセンサーグラムを比較的短時間で作出することができるハイスループットシステムに向けての開発にある。すでに中程度まで増加している処理量により、使用者がすべてのセンサーグラムをその質について1つづつ吟味するのは実用的でないであろうことは容易に分かる。

【課題を解決するための手段】

【0021】

本発明によるとき、この問題は使用者がセンサーグラムの質を評価するのを少なくとも実質的に援助するためのセンサーグラムのデータ処理を提供することにより克服される。多数の組のセンサーグラムが検討されそして質に関して類別される場合に応用できる、例えば奇異な質を有する、つまりセンサーグラムの組のほとんどの質とは異なる質を有する曲線を同定するためのアルゴリズムが案出されている。奇異であるセンサーグラムの質はしかしながら、質が劣悪なことを必ずしも意味せず、従って『奇異な』センサーグラムは妥当性確認手順に付せられ、そこでセンサーグラムを受け入れるか捨てられるかが決定される。妥当性確認手順は、少なくとも1つの決定支援の採用を包含する。このような決定支援の1つは、センサーグラムの目による(視覚的な)検査である。他の決定支援には、なぜセンサーグラムが奇異と類別されたかの理由に関する情報が含まれる。さらに別な決定支援には、奇異なセンサーグラムの『時間クラスター』、つまりそのセンサーグラムが作出された1つまたはそれ以上の特定の時間に関連する多くのセンサーグラムに関する情報が含まれる。これらの決定支援の1つまたはそれ以上を採用することにより、操作者(使用者)は受け入れできないセンサーグラムを手動で取り除く。妥当性確認手順には、手動による操作に置き換わる『決定アルゴリズム』の形の自動化された決定支援もまた含まれてよい。次いで、残りのセンサーグラムのデータ処理の手順および同定された奇異なセンサーグラムの使用者による検査は、受け入れできないセンサーグラムがもはや同定されなくなるまで反復的方法によって繰り返される。

【0022】

アルゴリズムの1つの態様に関するフローチャートを図3に示す。このアルゴリズムは多数の組のセンサーグラムのほとんどと異なる質を有する曲線、いわゆる『アウトライア-』を取り除くよう設計されており、また(i)多数の質記述子によってセンサーグラムを表現、(ii)アウトライア-を発見するために質類別法を記述子に適用し、そして(iii)アウトライア-を取り除く段階を基本的に包含する。半監視的反復法が用いられる。

【0023】

本方法は、例えばBIA CORE計測器のようなバイオセンサーシステムで多数の試験サイクルを実施することにより得た通常約100を越える、例えば約1000~約4000の範囲にある多数の組のセンサーグラムを用いて出発する。

【0024】

第1段階はセンサーグラムの質を決定するために使用するセンサーグラムの特徴(曲線パラメータ)を選定することである。このような特徴の例は、少しを挙げるなら、ベース

10

20

30

40

50

ラインの勾配、エアスパイク (spike)、および測定間のキャリーオーバーである。例えば 3 つから 5 つの異なる特徴のような少数の特徴だけを用いることができるであろうが、少なくとも 10 または 15 の異なる特徴を用いるのが通常好ましい。センサーグラムの選定した特徴にはそれぞれ、例えば数値またはベクトルであってよい『質記述子』とここで称する値が与えられる。

【0025】

各々のセンサーグラムの記述子は次いで記述子の値のベクトルへと転換される。このようにして、それぞれのセンサーグラムは異なる質パラメータを表す 1 組の記述子の値へと圧縮 (reduced) される。従ってこの時センサーグラムの代わりに、センサーグラムについて関心のある特性のみを記述するベクトルの形の少数の数字が存在する。組に属するすべてのセンサーグラムに関する記述子ベクトルは記述子マトリックスの形で収集される。10

【0026】

次に、通常は方程式である質の計量が記述子マトリックスに適用され、各々のセンサーグラムと組の中の残りのセンサーグラムとの間の質の差が推定される。これによって、記述子マトリックスが差ベクトル (差を含む) および妥当性確認マトリックス (各々の記述子の差への寄与に関する推定値を含む) に変換される。

【0027】

次に差ベクトルは差の大きさに関して仕分けされ、仕分けされた差ベクトルおよび妥当性確認マトリックスを得る。

【0028】

予め決定した数の差の最大値、例えば 50 または 100 個の最大値が抽出され、切り詰められた (truncated) 差ベクトルおよび妥当性確認マトリックスが得られ、これが使用者に示される。大きい差のあるセンサーグラムは質記述子に関するアウトライアーアであることが理解される。20

【0029】

通常、使用者はどのセンサーグラムが不十分な質をもつかを決定するために対応するセンサーグラム (または所望ならその一部分だけ) を検査し、そしてそれをアウトライアーアとして取り除く (手動で)。上述したようにそして下記に一層詳細に述べられるように、使用者は他の種類の決定支援も利用できるであろう。取り除いたアウトライアーアは取り除いた曲線のログの形で収集され、そして残りのセンサーグラム (つまりすべてのセンサーグラムから取り除いたアウトライアーアを減らしたもの) が新規な記述子マトリックス (もとの記述子マトリックスに置き代わる) の形で表される。アウトライアーアの探索は、質計量方程式を再度適用しそして上述したように最大の差を表す例えば 50 の新規なセンサーグラムの表示へと進む。質計量方程式を再度適用する理由は、計量には参照としてセンサーグラムの全部の組が用いられてよく、しかもこの組が変更されていることである。この過程は、使用者が彼に示されるセンサーグラムのうちに受け入れできないまたは悪いセンサーグラムを見つけることができなくなるまで反復され、最終的な結果はアウトライアーアのない多数の組のセンサーグラムである。30

【0030】

フローチャートに示されるように、探索を反復する時に記述子を変更することができる。40

【0031】

本発明の基本的な特質は曲線の質的特長およびこれの記述子の選定である。一般に適用可能である質的特長またはパラメータは、ベースライン勾配、スパイク (例えば試料注入中のエアスパイク)、振動および飛躍のような奇異な曲線形状である。他の典型的な質パラメータには、測定間のキャリーオーバー、参照表面領域への結合、およびマイナス値 (ゼロ以下) までの解離が含まれる。各々の特定の状況にとって好適な質パラメータは当業者によって容易に選定されることができる。

【0032】

各々の質パラメータは 1 つまたはそれ以上の記述子に対応し、1 つの記述子は、入力と50

しての 1 つまたはそれ以上のセンサーグラムを用い、出力として例えば数値を生成する数式またはアルゴリズムである。例えば、仮に記述子の 1 つがベースラインの振動であるなら、ベースライン記述子が値 10 を有するセンサーグラムは、記述子が値 5 を有する場合のセンサーグラムに比べて一層振動するベースラインを有する。センサーグラムにおける測定間のキャリーオーバーを計測する記述子は、その最も簡単な形では、相対的応答（緩衝液注入終了時のベースライン水準に対する応答）のみである。記述子表（マトリックス）の例は下記の表 1 に示す。

表 1

サイクル	ベースライン勾配	キャリーオーバー	エアスパイク	
1	2.0	4.5	0.185	10
2	0.1	4.8	0.036	
3	2.0	4.5	0.272	
4	1.1	4.8	0.082	
5	2.3	4.4	0.036	

## 【0033】

他の種類の記述子は図 4 および 5 を参照して記述される。上記に言及した図 2 は受け入れできないセンサーグラムのいくつかの例を示すが、追加的な例を図 4 に示す。この図は 5 つの受け入れできる（良好な）センサーグラムと 4 つの受け入れできない（劣悪な）センサーグラムとの重複するプロットを示す。後者について、A および B は解離に際する外乱により影響され、C は結合の間に不連続があり、そして D はゼロより少ない解離水準を有する。

## 【0034】

図 5 はより長期の変動を除去する一方、短期の変動は留保するフィルターをそれぞれのセンサーグラムに適用した後の図 4 のセンサーグラムを例示する。図 5 に見るように、得られる曲線に関するゼロからの最大偏差は B および C で明らかに最大である。この値を基本的記述子として利用すると、B および C が組の残りとは異なるものとして検出することができる。

## 【0035】

本発明の別な 1 つの基礎的特徴は、質類別法を適用することによるセンサーグラムの質に関する類別である。各々のセンサーグラムは記述子ベクトルによって表され、また記述子ベクトルは記述子マトリックス中に集められる。質によってセンサーグラムを類別するために、センサーグラムが相互にいかに類似するかが決定される。上記の図 3 に関して述べたように質類別法には例えば質の計量、通常方程式の使用が含まれる。別な類別法には、センサーグラムを類似の質を有する群に類別するクラスターアルゴリズム例えば KNN クラスターアルゴリズム；ニューラルネットワークまたはエキスパートシステムの使用が含まれる。これらの質類別法はすべて、それ自体当業者によく知られている。

## 【0036】

例えば質計量方程式を使用するとき、各ベクトルは空間内の点とみることができ、従つてセンサーグラムの類似性は各点の間の距離によって表されることができる。

## 【0037】

記述子ベクトル間の距離を計るために、当該する各ベクトルの、群とみなす他のすべてのベクトルからの距離を計るのに統計的方法を使用することができる。これによって、各ベクトルは、記述子ベクトルが他のすべてのベクトルと如何に類似するかを記述する単一の値に圧縮される。このとき、大体同じ値を有するセンサーグラムは記述子および統計的方法に関して質的にほぼ等しい。使用できる統計的方法には、それ自体当業者によく知られた方法が含まれる。いくつかの特定の典型的な方法を以下に簡潔に述べる。

## 【0038】

『Mahalanobis 距離』は 2 点間のユークリッド距離の一般化である。距離が一定である領域は、平均値の近くに中心がある楕円である。記述子に相関がなくまた分散がすべての方向で 1 に等しいとき、領域は球でありまた Mahalanobis 距離はユ

10

20

30

40

50

一クリッド距離と等しい。この方法そのものには、共分散マトリックスの逆マトリックスによる記述子の正規化が含まれる。

【0039】

『Manhattan 距離』は記述子ベクトルを合計する。

【0040】

『主成分 1 vs 2』は記述子マトリックスのためにスコアベクトル 1 および 2 を戻す。上記に述べた他の方法と対照的にこの方法はランク付けを何ら与えない。

【0041】

質類別には、記述子の値を比較可能にするための再基準化または『正規化』が含まれる。典型的な正規化方法は『平均中心』法であり、これは記述子の値の平均値をゼロに設定する。正規化手順の他の例は『平均中心および単位分散』（記述子の平均値をゼロにそして分散を 1 に設定する）、および『単位分散』（分散を 1 に設定する）である。 10

【0042】

上述したように、アウトライアーチ出手順の再反復の間で記述子を変更することができる（図 3 参照）。しかしながら、正規化および / または質類別の方法は各再反復の前に変更されてよいことに留意すべきである。

【0043】

やはりすでに上述したように、奇異であると類別されたセンサーグラムの妥当性確認をする時、使用者は少なくとも 1 つの『決定支援』を利用する。従って、通常使用者は類別の結果に関する視覚的なプロットを得、またこれに基づいて、取り除きが可能であることの妥当性が確認されたセンサーグラムを表示する。しかしながら使用者は代替的または追加的に、どの特定の 1 つまたはそれ以上の記述子がセンサーグラムの特定の類別を惹起したかに関する情報を得ることができる。使用者はやはり代替的または追加的に、ある組の多くの奇異なセンサーグラムがそれに対して相關されうるセンサーグラムの作出の際の時間（『時間クラスター』）に関する情報を得る。しかし別に、妥当性確認手順全体は使用者の援助なしに決定アルゴリズムによって実施されることができる。 20

【0044】

上記した質評価手順は、この諸段階を実行するソフトウェアを運用するコンピュータシステムの形で実施するように容易に改変される。本発明はその質評価手順を実用するのに適合したコンピュータプログラム、特にキャリアー上またはキャリアー中にコンピュータプログラムに拡張もする。キャリアーはプログラムを担持できる任意の実体またはデバイスであってよい。 30

【0045】

本発明を実施するのに好適な任意のコンピュータ言語が使用されうるが、MATLAB<sup>TM</sup> モジュールファイル (The MathWorks, Inc., Natick, MA, U.S.A.) 一式を使用するのが目下のところは好ましい。

【0046】

本発明を以下の非限定的な実施例によってさらに説明する。

【実施例】

【0047】

11 のセンサーグラム（以下 R U 1 ~ 11 と称する）を BIACORE（登録商標）3000 (Biacore AB, Uppsala, スウェーデン) で得た試験データから抽出した。これらのセンサーグラムを使用して、Windows（登録商標）NT 4.0 を装備したパソコンを用い、MATLAB 5.3.1.29215a (R11.1) (The MathWorks, Inc., Natick, MA, U.S.A.) 中の図 3 に概説されている単純な態様のアルゴリズムを首尾よく実行した。記述子として (i) マイナスの解離（『neg d2』）、(ii) 飛躍のある結合領域（『ass jmp media n』）および (iii) 飛躍のある解離領域（『diss jmp media n』）を使用した。使用した計量は記述子と記述子マトリックスの平均値との差のノルムであった。プログラムおよびセンサーグラム（数値）を以下に示す。 40 50

```

【 0 0 4 8 】
% プログラムの開始
function example
% センサーグラムのロード
[ t , RU ] = getRU;
% 記述子の数値の取得 :
negd2 = desc_negd2(t, RU, 200) ; % 200秒でのd2の定義
assjmpmedian = desc_jmpmedian(t, RU, 10, 100) ; % 結合領域を10～100秒に定義
dissjmpmedian = desc_jmpmedian(t, RU, 130, 180) ; % 解離領域を130～180秒に定義

```

10

```

% 記述子マトリックスの作成
descr_matrix = [negd2(:) assjmpmedian(:) dissjmpmedian(:)] ;
```

```

% プロットの準備
figh = figure ; clf, hold on
for j = 1 : size(RU, 1)
    1hblue(j) = plot(t, RU(j, :), 'b');
end
```

```

% 第1のラウンドにおいて、すべてのセンサーグラムを含める
include = logical(ones (size (RU, 1), 1));
```

20

```

% 5回の反復を実施（これは使用者により規定すべきである）
for j = 1 : 5
```

```

% 含めたセンサーグラムに関する記述子数値の平均値
descr_matrix_mean = meandescr_matrix (include, :));
for k = 1 : size(RU, 1)
```

```

% 単純な計量を適用：1つのセンサーグラムに関する記述子と記述子マトリックスの
平均との差のノルム
```

30

```

if include(k)
    descrdist(k) = norm ( descr_matrix(k, :) - descr_matrix_mean) ;
else
    % 既に排除したセンサーグラム
    descrdist(k) = 0 ;
end
end
```

```

% 最も逸脱したセンサーグラムの同定
[tmp, max_index] = min(descrdist);
```

40

```

% 最も逸脱したセンサーグラムを赤色でプロット
1h = plot(t, RU (max_index, :), 'r');
title('worst curve in red')
pause(3)
```

```

% 最も逸脱したセンサーグラムを以降の計算からそしてプロットから取り除く
include(max_index) = logical(0);
delete(1h)
```

50

```

delete(1hblue(max index));
title('removing worst curve and recalculate metric')
pause(1)
end
cla
title('Exiting demo... ')
pause(1)
delete(figh)

% Local functions
function negd2 = desc_negd2(t, RU, d2)
% negd2 = desc_negd2(t, RU, d2) マイナスの解離値に関する記述子
% t : 時間ベクトル
% RU : センサーグラムマトリックス、1列あたり1つのセンサーグラム
% d2 : d2を報告する点を規定する時間

[tmp, d2_index] = min(abs(t - d2));
if d2_index == length(t)
    d2_index = length(t) - 1;
end
for j = 1 : size(RU, 1)
    negd2(j) = mean(RU(j, d2_index - 1 : d2_index + 1));
    if negd2(j) > 0
        negd2(j) = negd2(j) / 1000;
    else
        negd2(j) = - negd2(j);
    end
end
function jmpmedian = desc_jmpmedian(t, RU, start, stop)
% jmpmedian = desc_jmpmedian(t, RU, start, stop) 飛躍のあるセンサーグラムに関する記述子
% t : 時間ベクトル
% RU : センサーグラムマトリックス、1列あたり1つのセンサーグラム
% 開始 : 飛躍を同定すべき区間の開始を規定する時間
% 終了 : 飛躍を同定すべき区間の終了を規定する時間
% 本例で使用されるセンサーグラム

[tmp, start_index] = min(abs(t - start));
[tmp, stop_index] = min(abs(t - stop));

for j = 1 : size(RU, 1) % 全てのセンサーグラムについて
    1 = 1;
    for k = start_index + 1 : stop_index - 1
        tmp(1) = RU(j, k) - median(RU(j, k - 1 : k + 1));
        1 = 1 + 1;
    end
    tmp = sort(abs(tmp));
    jmpmedian(j) = sum(tmp(end - 2 : end)) / 3;
end

```

end

function[t, RU] = getRU

% 本例で使用されるセンサーグラム

【表1】

```

t=[ -20  -18  -16  -14  -12  -10  -8   -6   -4   -2   ...
0      2      4      6      8      10     12     14     16     18     ...
20     22     24     26     28     30     32     34     36     38     ...
40     42     44     46     48     50     52     54     56     58     ...
60     62     64     66     68     70     72     74     76     78     ...
80     82     84     86     88     90     92     94     96     98     ...
100    102    104    106    108    110    112    114    116    118    ...
120    122    124    126    128    130    132    134    136    138    ...
140    142    144    146    148    150    152    154    156    158    ...
160    162    164    166    168    170    172    174    176    178    ...
180    182    184    186    188    190    192    194    196    198    ...
200    202    204    206    208    210    212    214    216    218    ...
220];
RU(1,:)=[ -0.08 0.00  -0.13 -0.11 0.00  -0.15 -0.14 -0.01 -0.09 - ...
2.73 1.78 -27.55...
-7.29 1.57 2.89 3.73 4.20 3.95 4.54 4.73 5.18 5.08 5.48
5.59 5.82...
6.02 6.27 6.42 6.34 6.58 6.77 6.71 6.70 6.52 6.92 6.84
6.75 7.10...
7.19 7.33 7.24 7.27 7.33 7.51 7.50 7.66 7.67 7.55 7.88 20
7.72 7.77...
8.00 8.18 8.45 8.26 8.25 8.25 8.25 8.37 8.40 8.63 8.61
8.74 8.39...
8.42 8.71 8.71 8.63 8.68 8.84 10.17 20.90 11.63 7.14 6.20
5.94 5.39...
5.09 5.02 4.92 4.59 4.66 4.71 4.37 4.26 4.27 4.22 4.14
4.08 4.06...
3.92 3.87 3.72 3.62 3.66 3.73 3.65 3.60 3.46 3.52 3.45
3.48 3.37...
3.34 3.14 3.05 3.22 3.06 3.09 2.93 3.03 2.90 2.73 3.02
2.96 2.93...
2.68 2.69 2.84 2.73 2.64 ];
RU(2,:)=[ -0.06 0.11 0.07 0.19 -0.01 0.20 0.06 -0.08 0.24 0.09 ...
-4.11 1.74...
-5.48 2.55 4.03 4.46 4.98 4.57 4.92 5.42 5.65 6.01 6.40
6.79 6.71...
6.54 6.86 6.85 7.20 6.98 7.28 7.33 7.30 7.45 7.51 7.45
7.69 7.79...
8.14 7.97 8.41 8.30 8.42 8.51 8.72 8.60 8.88 8.87 8.57
8.70 8.67...
9.05 9.31 9.47 9.36 9.39 9.74 9.28 9.05 9.16 9.10 8.99
9.10 9.24...
9.37 9.18 9.44 9.39 9.28 9.49 10.51 7.89 10.48 6.79 6.27
5.79 5.33...
5.19 5.06 5.08 4.94 4.77 4.61 4.74 4.94 4.74 4.73 4.39
4.33 4.56...
4.49 4.36 4.66 4.37 4.68 4.31 4.35 4.16 3.92 4.14 4.15 40
4.04 4.06...
4.10 3.85 3.91 3.77 3.81 3.81 3.70 3.72 3.94 3.90 3.70
3.95 3.62...
3.35 3.32 3.34 3.32 3.50 ];
RU(3,:)=[ 0.06 0.08 -0.01 0.10 -0.03 -0.10 -0.24 -0.09 0.08 ...
0.88 1.88 -0.93...
19.98 9.72 8.96 9.53 10.17 10.66 11.21 11.52 12.19 12.76
13.37 13.63 14.00...
14.37 14.59 15.03 15.37 15.59 15.73 16.05 16.28 16.45 16.77
16.92 17.39 17.39...

```



【表3】

24.05	24.02	24.21	24.03	24.30	24.17	24.36	24.50	24.53	24.62	
24.83	24.51	24.52...								
24.60	24.85	24.85	24.68	24.65	24.56	25.68	22.94	11.59	17.61	
17.79	17.55	17.37...								
17.14	17.03	16.61	16.37	16.38	16.00	15.79	15.83	15.57	15.40	
15.27	15.10	15.01...								
14.72	14.56	14.50	14.43	14.49	14.35	14.10	13.93	13.89	13.81	
13.65	13.60	13.47...								
13.48	13.31	13.25	13.29	13.21	13.03	12.98	13.00	12.92	12.77	
12.62	12.57	12.66...								
12.56	12.56	12.46	12.40	12.07	1;					10
RU(7,:)=[										
0.06	0.03	0.17	0.15	0.05	0.15	0.04	0.11	0.00	0.21	-
0.06	-4.46	1.71...								
	-1.57	19.16	30.89	40.91	49.48	56.82	63.32	69.11	74.23	78.98
	83.22	86.66	89.90...							
	92.68	95.39	97.63	100.02		101.82		103.31		104.68
	106.24		107.34		108.43...					
	109.52		110.48		111.52		112.21		112.96	
	113.69		114.46		114.94		115.50...			
	115.83		116.32		116.35		116.91		117.28	
	117.77		118.05		118.37		118.99...			
	119.37		119.48		119.24		119.43		119.35	
	119.55		119.48		119.81		120.04...			
	120.15		120.06		120.40		120.49		120.50	20
	120.54		110.69		97.19	149.78...				
	147.83		154.35		148.98		148.45		148.33	
	147.61		145.04		141.08		139.11...			
	138.51		138.55		138.36		137.15		135.17	
	134.42		135.22		134.41		132.57...			
	129.90		124.93		123.63		122.95		122.48	
	122.07		121.61		120.86		120.59...			
	120.22		119.60		119.36		118.87		118.48	
	118.20		117.72		117.32		116.97...			
	116.61		115.96		115.89		115.71		115.20	
	114.90		114.57		114.47		114.01...			
	113.78		113.36		112.91		112.67		112.54	1;
RU(8,:)=[										
4.19	-0.15	0.01	0.14	-0.06	-0.33	-0.11	-0.11	-0.05	0.06	-
4.19	2.10	-7.52...								30
	1.46	3.43	4.21	4.22	4.65	5.01	5.29	5.55	5.93	6.10
	6.35	6.75...								6.24
	7.10	7.43	7.90	7.94	7.98	8.38	8.60	9.23	9.78	10.17
	10.81	11.09	11.39...							
	11.98	12.24	12.54	12.85	12.99	13.60	13.80	14.14	14.55	14.88
	15.13	15.55	16.11...							
	16.57	16.88	16.86	17.00	17.43	17.52	17.36	17.71	17.91	18.41
	18.40	18.95	19.50...							
	19.94	20.18	20.79	20.87	21.14	21.62	23.35	34.38	24.68	22.95
	22.75	22.50	22.30...							
	22.23	22.00	22.14	22.01	21.73	21.84	21.42	21.49	21.63	21.60
	21.46	21.42	21.40...							
	21.25	21.25	21.41	21.31	21.23	21.21	20.85	20.79	20.82	20.85
	20.73	20.83	20.57...							
	20.32	20.43	20.41	20.58	20.44	20.44	20.33	20.16	20.23	20.20
	20.32	20.24	20.17...							
	20.17	19.94	19.89	19.68	19.69	1;				
RU(9,:)=[										
	-0.10	0.02	0.20	0.28	0.15	0.25	0.21	0.01	0.03	0.26
	-3.95	3.38...								
	9.31	9.22	10.93	12.99	15.43	17.57	20.22	21.79	23.74	25.67
	27.47	29.03	30.89...							

【表4】

32.67 34.19 36.07 37.68 39.25 40.91 42.60 44.30 45.88 47.20	
48.75 50.11 51.39...	
52.63 53.78 54.97 56.26 57.28 58.69 59.71 61.02 61.77 62.71	
63.80 64.97 65.74...	
66.63 67.21 67.94 68.81 69.40 70.21 71.25 71.99 72.80 73.35	
74.05 74.96 75.74...	
76.48 77.06 77.72 78.46 78.84 79.56 81.21 77.98 79.72 79.44	
79.45 79.28 78.97...	
78.66 78.14 77.82 77.53 77.23 76.94 76.89 76.65 76.55 76.04	
76.02 75.87 75.62...	
75.40 75.33 74.77 74.87 74.81 74.46 74.27 74.06 73.87 73.88	10
73.44 73.46 73.26...	
73.12 72.84 72.80 72.38 72.35 72.22 72.26 71.96 71.70 71.62	
71.49 71.31 70.94...	
70.82 70.73 70.56 70.11 70.19 ];	
RU(10,:)=[ 0.06 0.05 0.29 0.21 0.14 0.05 -0.05 -0.02 -0.08 -	
4.39 1.27 -10.02...	
4.29 15.49 22.44 28.56 34.04 38.49 42.82 47.43 51.14 55.06	
58.25 61.46 64.65...	
67.19 69.92 72.15 74.49 76.78 78.42 80.43 82.20 83.79 85.73	
87.16 88.63 89.85...	
91.22 92.20 93.22 94.30 95.14 96.01 96.98 98.13 98.91 99.65	
100.28 100.88...	
101.36 102.19 103.02 103.37 103.77	20
104.17 104.60 104.98 105.53...	
105.87 106.12 105.15 105.24 105.43	
105.70 105.66 106.07 106.16...	
106.33 107.40 108.21 110.54 107.78	
106.26 105.59 105.03 104.48...	
103.88 103.21 102.71 102.03 101.59	
101.32 101.01 100.73 100.22...	
99.65 99.10 98.75 100.51 97.67 97.46 97.15 96.73 96.45	
96.02 95.59 95.50 95.28...	
94.79 94.80 94.31 94.14 93.63 93.34 93.12 92.86 92.53 92.22	
92.21 91.63 91.51...	
91.27 91.07 90.97 90.54 90.49 90.25 89.91 89.86 89.34 ];	
RU(11,:)=[ -0.02 -0.03 0.05 0.20 0.18 0.14 -0.03 0.16 0.18 -	
1.75 1.86 4.45...	30
10.01 7.47 8.13 9.06 10.36 11.77 12.74 13.57 14.93 15.91	
16.70 17.66 18.66...	
19.53 20.42 21.40 22.13 23.41 24.34 25.08 26.15 27.21 28.00	
28.79 29.74 30.71...	
31.66 32.00 33.08 34.09 34.91 35.65 36.53 37.56 38.20 38.92	
39.52 40.06 40.97...	
41.40 42.17 42.63 43.46 44.14 44.65 45.28 45.78 46.19 47.23	
47.87 48.35 49.07...	
49.77 50.04 50.53 51.05 51.69 52.31 54.11 60.77 50.17 51.08	
51.18 50.80 50.53...	
50.27 50.12 50.01 49.76 49.58 49.54 49.44 49.22 48.78 48.80	
48.84 48.71 48.67...	
48.38 48.35 48.27 48.14 47.84 47.88 47.59 47.43 47.15 47.07	40
46.97 47.04 46.77...	
46.82 46.50 46.29 46.13 45.87 46.21 46.01 45.92 45.82 45.65	
45.61 45.30 45.42...	
45.31 45.02 45.03 44.96 44.88 ];	

%プログラム完了

## 【0049】

本発明は上記に述べたその特定の態様に限定されず、むしろ本発明の範囲は添付されている特許請求の範囲によって確定されることを理解すべきである。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0050】

【図1】試料と標的分子との間の相互作用を示すセンサーグラムである。

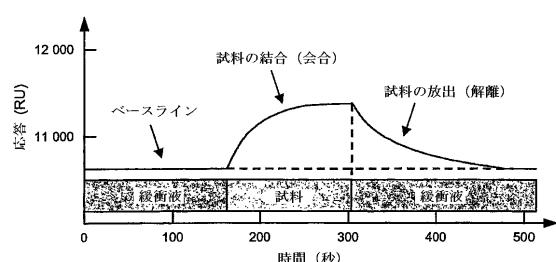
【図2】受け入れできる2つのセンサーグラム（左）および受け入れできない2つのセンサーグラム（右）である。

【図3】本発明の典型的な段階を示すフロー・チャートである。

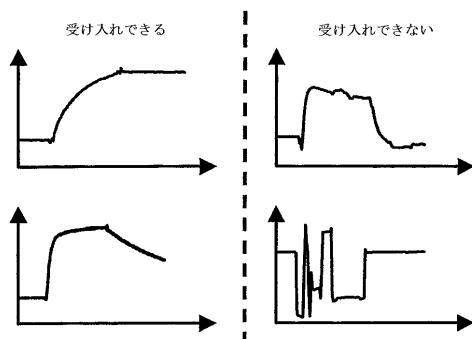
【図4】5つの良好なセンサーグラムならびにA、B、CおよびDで示される搅乱のある4つの劣悪なセンサーグラムの重複プロットである。

【図5】長期の変化がフィルターで除去されているが、BおよびCでの短期の変動は留保されているセンサーグラムの例示である。

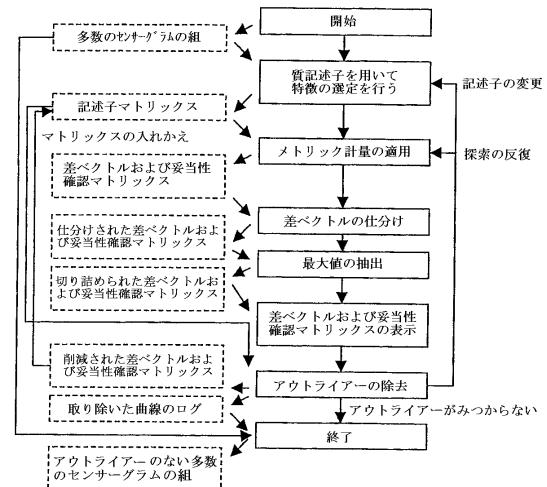
【図1】



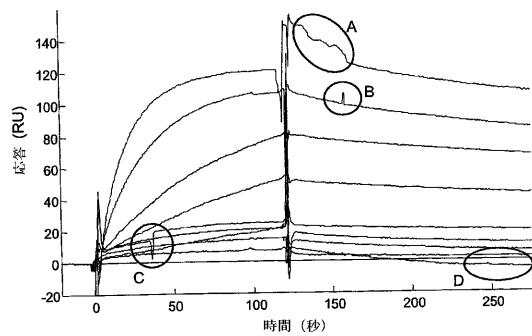
【図2】



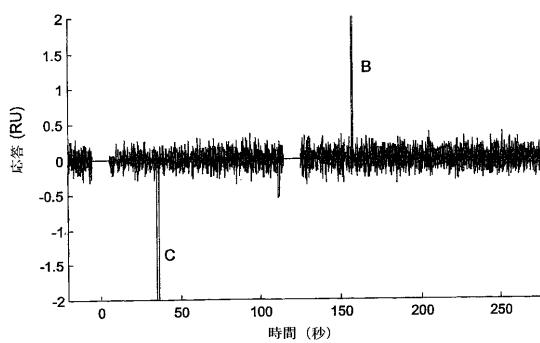
【図3】



【図4】



【図5】



---

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
G 0 6 F 17/30 2 2 0 Z

(72)発明者 カール・アンダーシヨン  
スウェーデン国S - 7 5 6 4 3 ウプサラ・ウレローケシュヴェーゲン 6 2  
(72)発明者 ペーテル・ボルイ  
スウェーデン国S - 7 5 4 4 7 ウプサラ・フレンコルスガーテン 3 . 1 t r

審査官 福田 裕司

(56)参考文献 特開昭55-119012(JP, A)  
特開2001-041881(JP, A)  
特開2002-055102(JP, A)  
特表2002-502045(JP, A)  
米国特許第06350369(US, B1)  
特表2002-511581(JP, A)  
特開平05-035769(JP, A)  
特開昭50-034287(JP, A)  
特開2001-178463(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/543  
G01N 21/27  
G01N 33/53  
G06F 17/30