

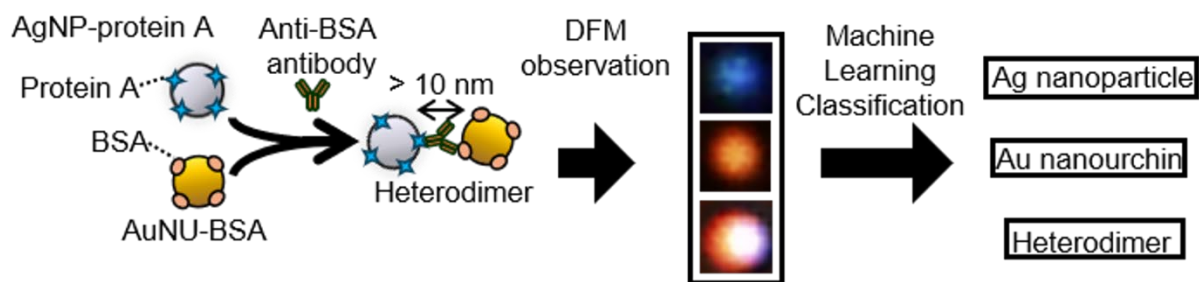
令和 8 年 8 月 3 日
愛 媛 大 学
理 化 学 研 究 所

機械学習でナノ粒子の「色」を見分け、タンパク質を高精度に検出 ～色の異なる 2 種類の金属ナノ粒子と暗視野顕微鏡を組み合わせ、 従来法では難しかった抗体タンパク質などの大きな分子の検出を実現～

愛媛大学大学院理工学研究科の座古保教授（理化学研究所光量子工学研究センター 客員主管研究員）らの研究グループは、理化学研究所光量子工学研究センターの田中拓男チームディレクター、開拓研究本部（研究当時）の前田瑞夫主任研究員（研究当時、現開拓研究所 特別顧問）との共同研究により、異なる 2 種の金属ナノ粒子の暗視野観察結果を機械学習により分類して標的分子を検出する新たな手法の開発に成功しました。

座古教授らは、暗視野顕微鏡を用いて、金属ナノ粒子凝集を単一粒子レベルの輝点として観察し、輝点の明るさ（輝度）や色変化を解析することによる高感度分子検出法を開発してきました。しかし、タンパク質のような大きな分子を検出する場合、金属ナノ粒子同士の距離が離れるため、従来法では凝集の変化を十分に見分けることが困難でした。

本研究では、色が異なる 2 種類の金属ナノ粒子を組み合わせ、暗視野顕微鏡で観察した散乱光の色を機械学習で解析する新しい検出法を開発しました。これにより、標的分子によって形成されるナノ粒子のペア（ヘテロ二量体）を高精度に識別し、タンパク質を高感度に検出できることを実証しました。さらに、非特異的な凝集やごみなどのノイズも識別できるため、高精度なバイオセンシング技術として、疾患マーカーや抗体検査など幅広い応用が期待されます。



本研究に関する論文は、英国王立化学会（RSC）の学術雑誌「*RSC Advances*」に掲載され、オンライン版で公開されました（2026年 7 月 31 日（日本時間））。

本件に関する問い合わせ先

愛媛大学理学部化学コース

教授 座古 保

TEL:089-927-9577

Mail:zako.tamotsu.us@ehime-u.ac.jp

※送付資料 5 枚（本紙を含む）

異種金属ナノ粒子複合体の暗視野観察を利用した機械学習に基づく分子検出

【概要】

疾病バイオマーカーや病原体由来分子などの標的分子を迅速かつ高感度に検出する技術は、疾病の早期診断など、健康管理を支える重要な基盤技術です。そのため、簡便で高感度なバイオセンサーの開発が世界中で進められています。暗視野顕微鏡観察下において、金ナノ粒子の輝点色は分散状態では緑色を、凝集状態では橙色を示します。金ナノ粒子表面に抗体や DNA などの認識分子を固定化すると、それらが特異的に結合する標的分子が存在した場合にのみ、金ナノ粒子同士が凝集します。研究グループは、この標的分子の存在下でのみ生じる金ナノ粒子の輝点色変化を利用して、DNA など様々な分子の検出を行ってきました。

しかし、タンパク質など標的分子のサイズが大きな場合、金ナノ粒子の凝集体形成に伴う輝点色変化が少ないため、検出できないという問題がありました。

本研究では、輝点色の異なる 2 種類の金属ナノ粒子が標的分子存在下でのみ形成する複合体を暗視野観察により検出する手法を新たに開発しました。その結果、複合体の輝点色は各ナノ粒子の輝点色の混合色として観察されました。この輝点色変化を機械学習により分類・解析すると、3 nM 以上の標的分子の検出に成功しました。本研究の成果は、タンパク質やウイルスなどサイズの大きな標的分子を検出できる技術、ひいては疾病診断や感染症検査などへの応用が期待されます。

【詳細】

金ナノ粒子などの金属ナノ粒子が標的分子依存的に示す凝集現象を利用したバイオセンサーが注目されています。特に金ナノ粒子の溶液色は、分散状態では赤色ですが、凝集状態では青色に変化するため、比色（ひしょく）分子センサーとして長年研究されてきました。しかし、溶液色変化のための凝集形成には多くの標的分子が必要であるため、検出感度が低いという課題がありました。

そこで、研究グループは、暗視野顕微鏡を用いて金ナノ粒子凝集を一分子レベルで観察・解析することで、極微量の凝集体を検出し、高感度分子検出可能な手法を開発してきました。上記の溶液色変化とは異なり、暗視野顕微鏡観察下では、金ナノ粒子は分散状態では緑色の輝点として、凝集状態では明るい橙色の輝点と変化します。特に暗視野顕微鏡は、金ナノ粒子の分散・凝集に伴う散乱光変化を単一粒子レベルで観察することができるため、溶液全体の色変化を測定する比色法と比較して、微小な光学変化をとらえることができるため、標的分子を高感度に検出できます。

しかしながら、サイズの大きな標的分子が凝集体を形成した場合、暗視野観察下での輝点の輝度および色変化が小さく、標的分子の検出が困難でした。そこで本研究では、輝点色の異なる金属ナノ粒子を用いて標的分子由来の複合体を形成させ、その輝点色変化を暗視野顕微鏡で観察することにより、標的分子の検出を行いました（図1）。異なる輝点色を持つ金属ナノ粒子を用いることで、標的分子によって形成された複合体の輝点色は各金属ナノ粒子輝点色の混合色として観察されることが想定されます。その輝点色変化を機械学習により分類することで、複合体の形成を評価し、標的分子検出を可能としました。

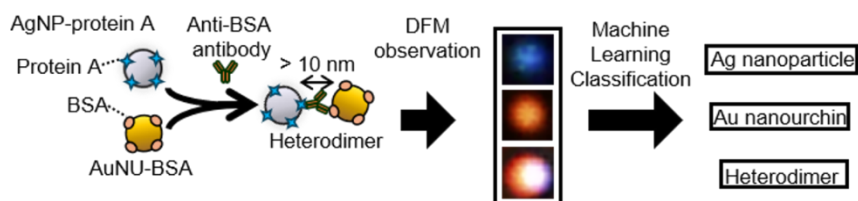


図1 2種の異なる金属ナノ粒子の暗視野観察輝点の機械学習に基づく標的分子検出

本研究では、抗 BSA 抗体を標的モデル分子として、抗 BSA 抗体に結合する ProteinA および BSA を、それぞれ銀ナノ粒子および金ナノアーチン（通常金ナノ粒子とは異なり、突起を有するナノ粒子）に固定化しました。暗視野顕微鏡観察下で、銀ナノ粒子は青色の輝点、金ナノアーチンは橙色の輝点として観察されます。実際に、抗 BSA 抗体を介したこれらの異種金属ナノ粒子複合体はそれぞれの金属ナノ粒子の輝点色が混ざった混合色として観察されました（図2）。暗視野顕微鏡の各輝点から色情報、輝点強度、輝点面積を抽出し、教師データを基に機械学習により分類すると、標的分子濃度依存的に複合体の割合が増加し、検出感度は $0.5 \mu\text{g/mL}$ (3 nM (1 nM (ナノモラー) は 1 リットル中に 10 億分の 1 モルの物質が溶けている状態)) と算出されました（図3）。重要なことに、機械学習を用いることで、ナノ粒子由来の輝点と、非特異的凝集や不純物由来のノイズを区別することが可能となりました（図2）。このことは、不純物を多く含む実サンプルへの応用が可能なることを示しています。

本研究により、異種金属ナノ粒子の暗視野観察顕微鏡輝点のデータを機械学習を用いて分類することで、タンパク質などの大きなサイズの分子を高感度検出可能であることが示されました。今後、タンパク質以外にも、ウイルスなどの大きな標的分子を検出できる技術への応用が期待されます。

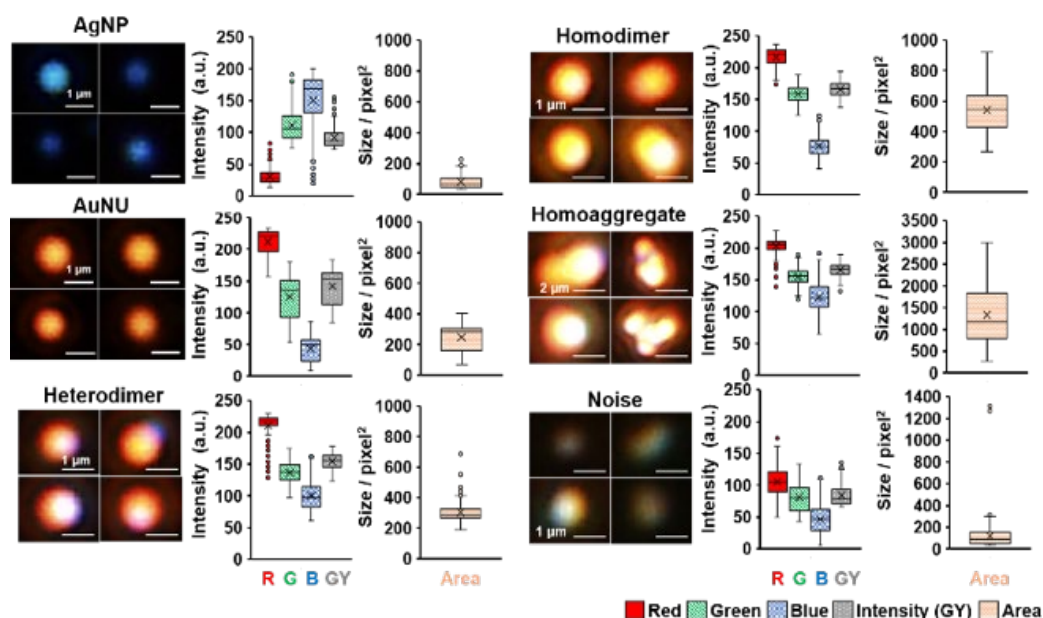


図2 各輝点の暗視野像、及び色、輝点強度、輝点面積の分布

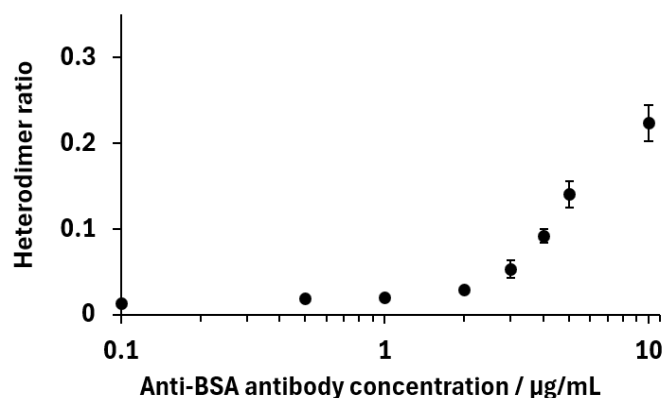


図3 機械学習による輝点分類に基づく複合体割合を用いた標的分子検出

【用語解説】

・金属ナノ粒子光学特性

金属ナノ粒子に光を照射すると、粒子表面の自由電子が光と共鳴して集団振動を起こす。この現象を表面プラズモン共鳴と呼び、粒子のサイズ、形状などに依存した特徴的な散乱光を示す。

・暗視野顕微鏡

試料から散乱される光のみを検出することで、通常の光学顕微鏡では観察が困難な微小な粒子を可視化する手法である。金属ナノ粒子では、局在表面プラズモン共鳴に由来する散乱光を利用することで、粒子ごとの光学特性を評価できる。

・機械学習を用いた分類法

機械学習を用いた分類法とは、あらかじめ作成された分類のための教科書ともいえる教師データからパターンを学習し、未知のデータをグループごとに分類する手法である。本研究ではナノ粒子の輝点色情報、輝点強度、輝点面積に基づく分類を行った。

【研究体制と支援について】

本研究は、愛媛大学理学部を中心に、工学部、東ソー株式会社、理化学研究所との共同研究として行われました。また、研究の実施にあたっては、日本学術振興会(JSPS)科学研究費助成事業、愛媛大学リサーチユニット「先端ナノ・バイオ分析研究ユニット」、理化学研究所「相分離マテリアル」の支援を受けました。

【論文タイトルと著者】

掲載誌：*RSC Advances*

DOI：10.1039/d6ra03733j

題名：Machine learning-based molecular detection using dark-field observation of two different nanoparticles

著者：Yuki Yano, Gen Hirao, Ryosuke Izumi, Yu Muto, Misato Yasuoka, Tsuyoshi Asahi, Takuo Tanaka, Mizuo Maeda and Tamotsu Zako

責任著者：座古保(愛媛大学)

【本件に関するお問い合わせ先】

愛媛大学理学部化学コース

教授 座古 保(ざこ たもつ)

Mail: zako.tamotsu.us@ehime-u.ac.jp

理化学研究所

光量子工学研究センター メタフォニクス研究チーム

チームディレクター 田中 拓男(たなか たくお)

Mail: t-tanaka@riken.jp

開拓研究所

特別顧問 前田 瑞夫(まえだ みずお)

Mail:mizuo@riken.jp

【報道に関するお問い合わせ先】

愛媛大学 総務部 広報課

Mail: koho@stu.ehime-u.ac.jp

理化学研究所 広報部 報道担当

Mail:ex-press@ml.riken.jp