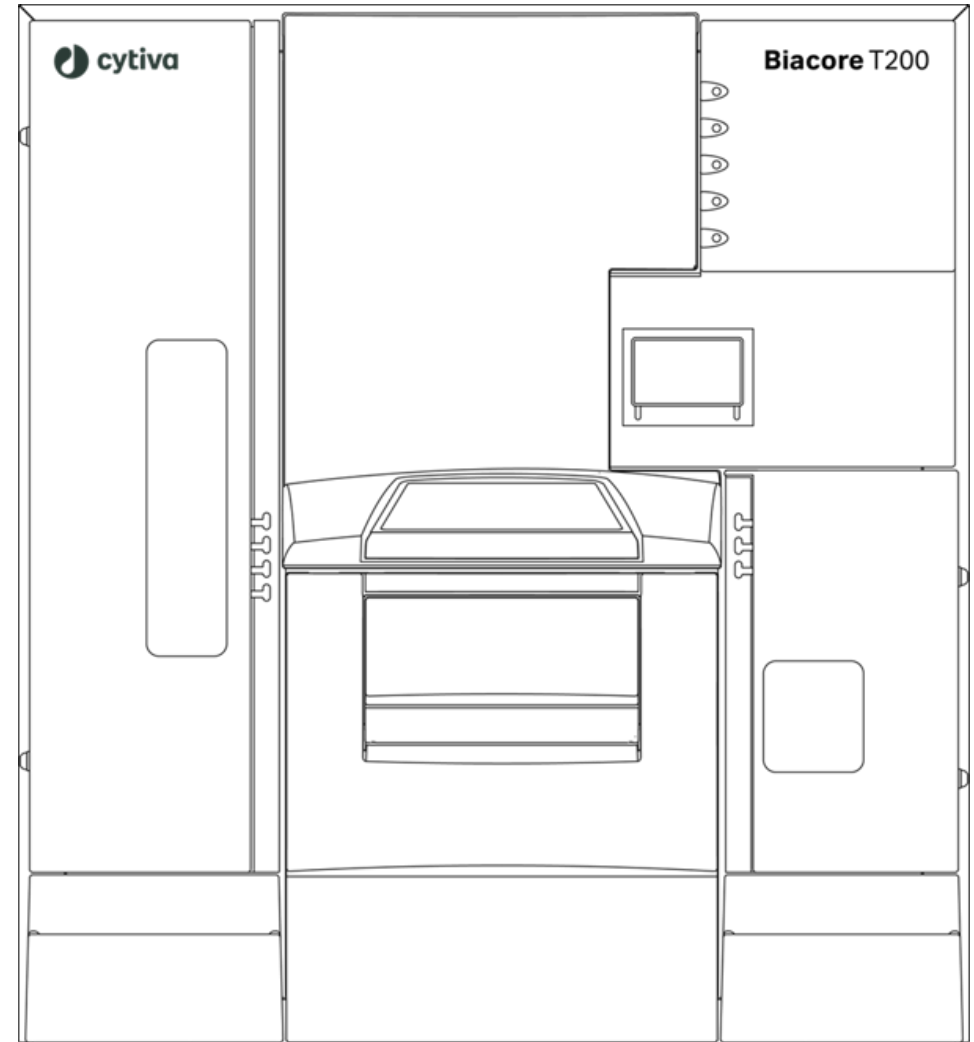




# 絶対に役に立つ！ Biacore T200

Prepared for Masami Koinuma

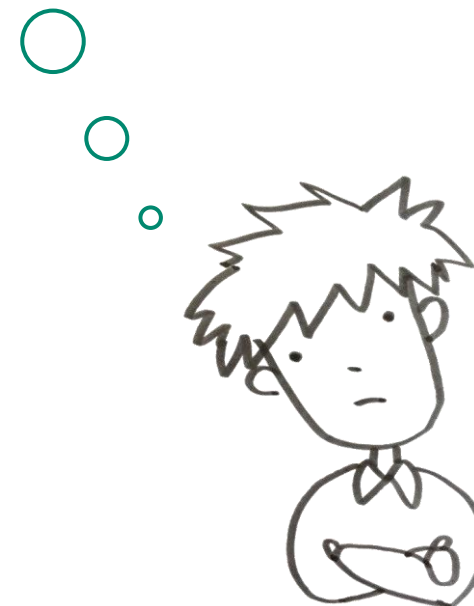
April 19, 2021



# Agenda

1. 分子間相互作用測定は必須？
2. Biacore (T200) はどんなもの？  
代表的な実施例は？
3. 使用感は？
4. まとめとご案内

この装置はいったい何なのか？  
自分の研究にとって必要なのか？  
使用感はどんな感じか？



# 1

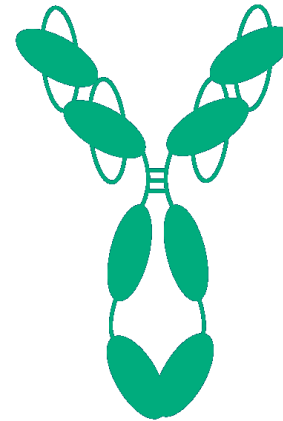
分子間相互作用測定は必須？

# 分子間相互作用測定を行う装置、Biacore

1990年から利用され続けている... 特に医薬の分野で！

## Humiraの創製に関わる

- 米 Abbott が創製した関節リウマチ治療薬
- 世界 80ヶ国 37 万人の患者に投与
- 抗 TNF $\alpha$  抗体... TNF $\alpha$  と結合することで関節の細胞との結合を抑制し、炎症や破壊を抑える
- 1990 年に Abbott は初めて Biacore を購入
- 2013 年医薬品事業部の新薬部門を分社化し AbbVie を設立、この年に Humira 承認取得
- 2019 年世界で最も売れた医薬品 (268億ドル)



# 2

**Biacore (T200) とはどんなもの？  
代表的な実施例は？**

# Biacore T200



## アプリケーション

- 特異的結合の検出（スクリーニング）
- 濃度測定
- 反応速度論的解析
- アフィニティー解析
- 熱力学的反応解析
- 結合部位解析（エピトープマッピング）
- 薬物動態（抗薬物抗体の検出）
- バイオ医薬品の同等性試験・確認試験。出荷試験

## サンプル

- タンパク質、ペプチド
- 核酸
- 脂質（リポソーム）
- 糖
- 低分子化合物
- （細胞）
- ウイルス、AAV



# ビアコアの測定方法

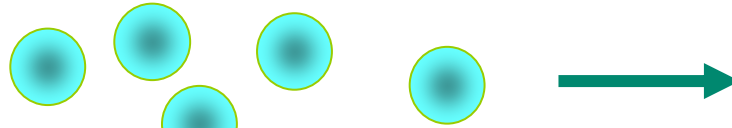
標準的な使用量

タンパク質の場合、  
1 固定化あたり 2~5  $\mu\text{g}$ 程度  
数十ug/mlを 100  $\mu\text{l}$ 程度

アナライト

標準的な使用量

$K_D$  [M]前後を 1 回あたり  
100  $\mu\text{l}$  程度添加



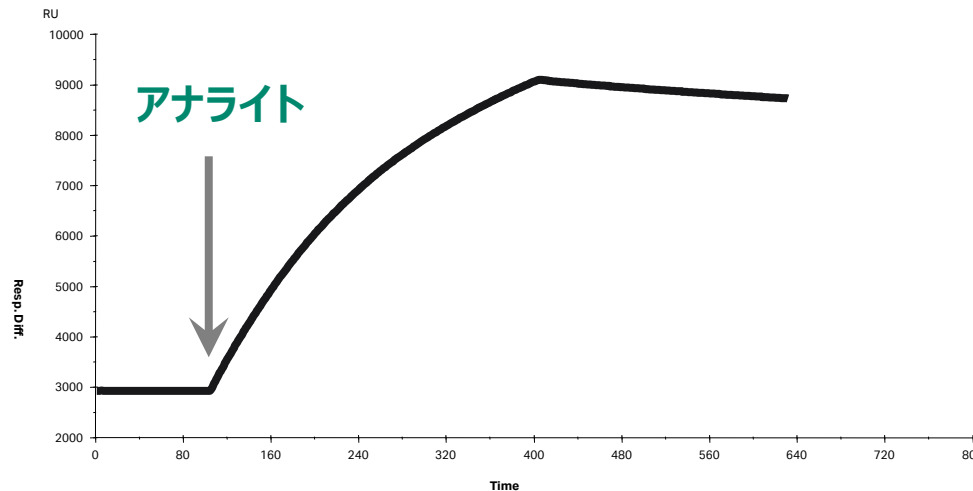
リガンド

Sensor Chip

センサーグラム

Resonance Unit (RU)

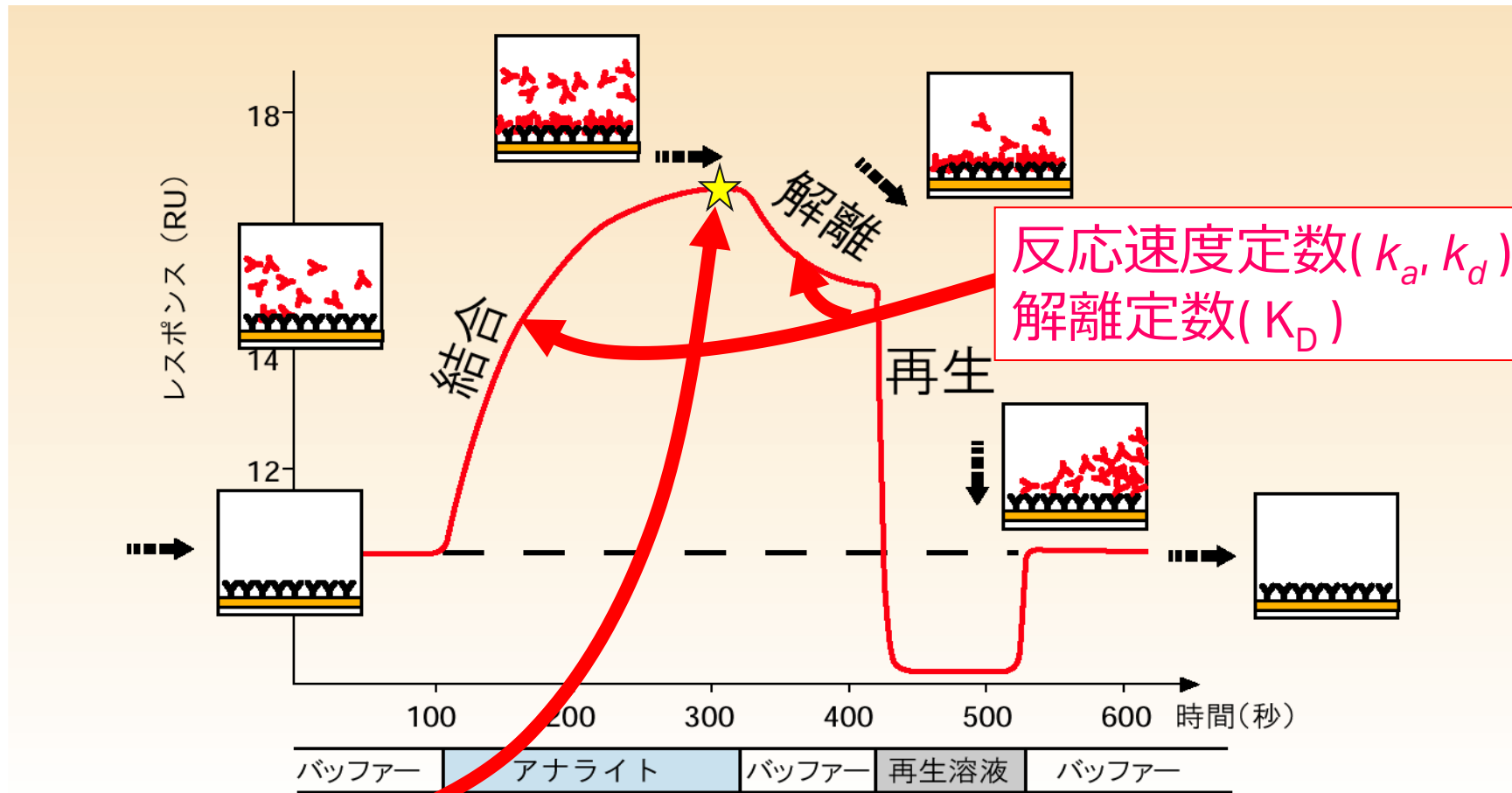
密度



ノンラベル  
リアルタイム

時間

# センサーグラムから得られる情報



特異的結合の評価

濃度測定

Y ; リガンド  
Y ; アナライト

# 分子間相互作用測定 技術区分

Yes or No

$K_D$

$\Delta G$ 、 $\Delta H$ 、 $-T\Delta S$

$k_a(k_{on})$ 、 $k_d(k_{off})$

Biacore

特異性  
結合の有無

Affinity解析  
結合の強さ

Thermodynamic解析  
結合の様式

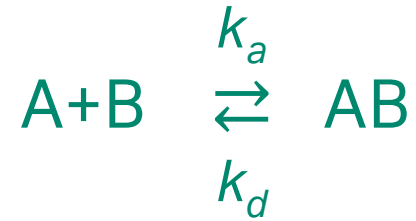
Kinetics解析  
結合/解離の速さ

ITC  
(カロリメーター)

ELISA / RIA  
FCS、超遠心分析

Y2H、免疫沈降  
ウエスタンブロット

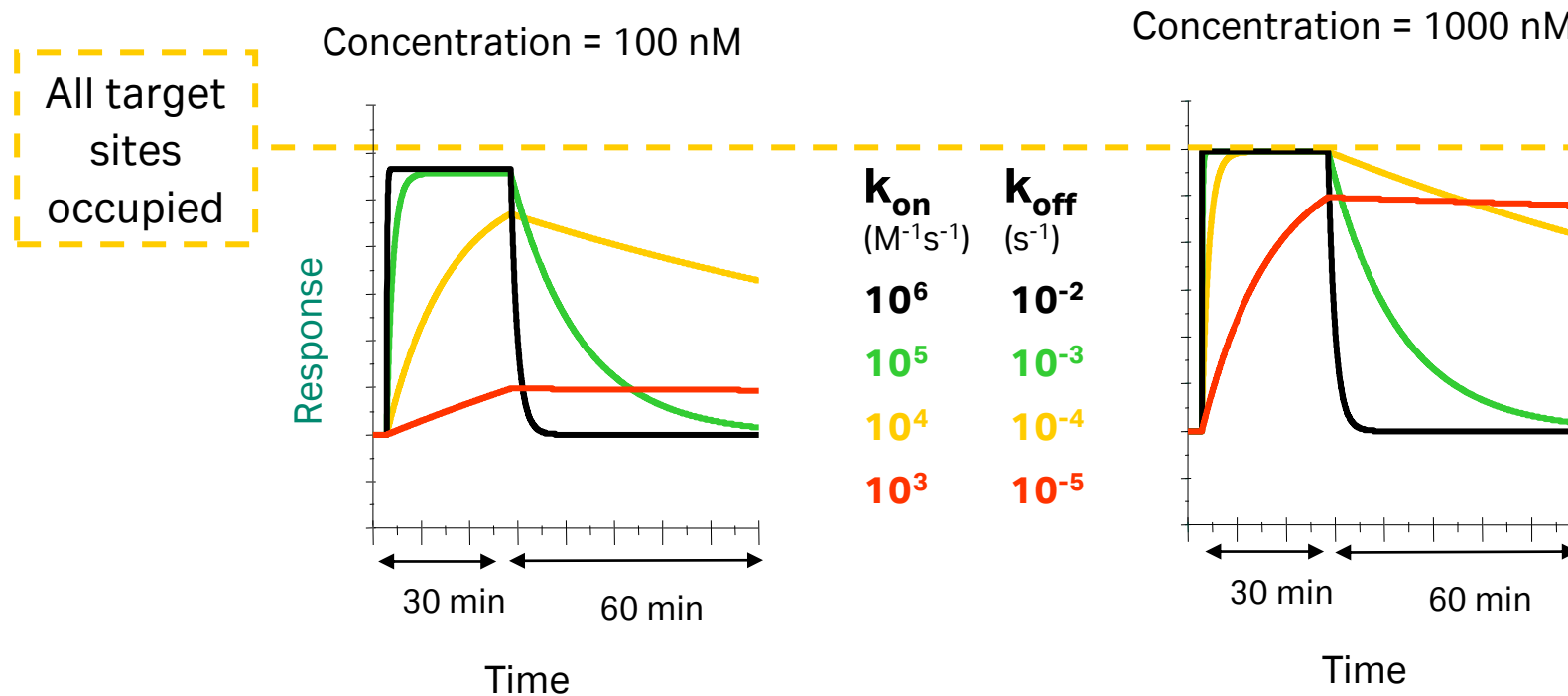
# アフィニティーが同じでも...



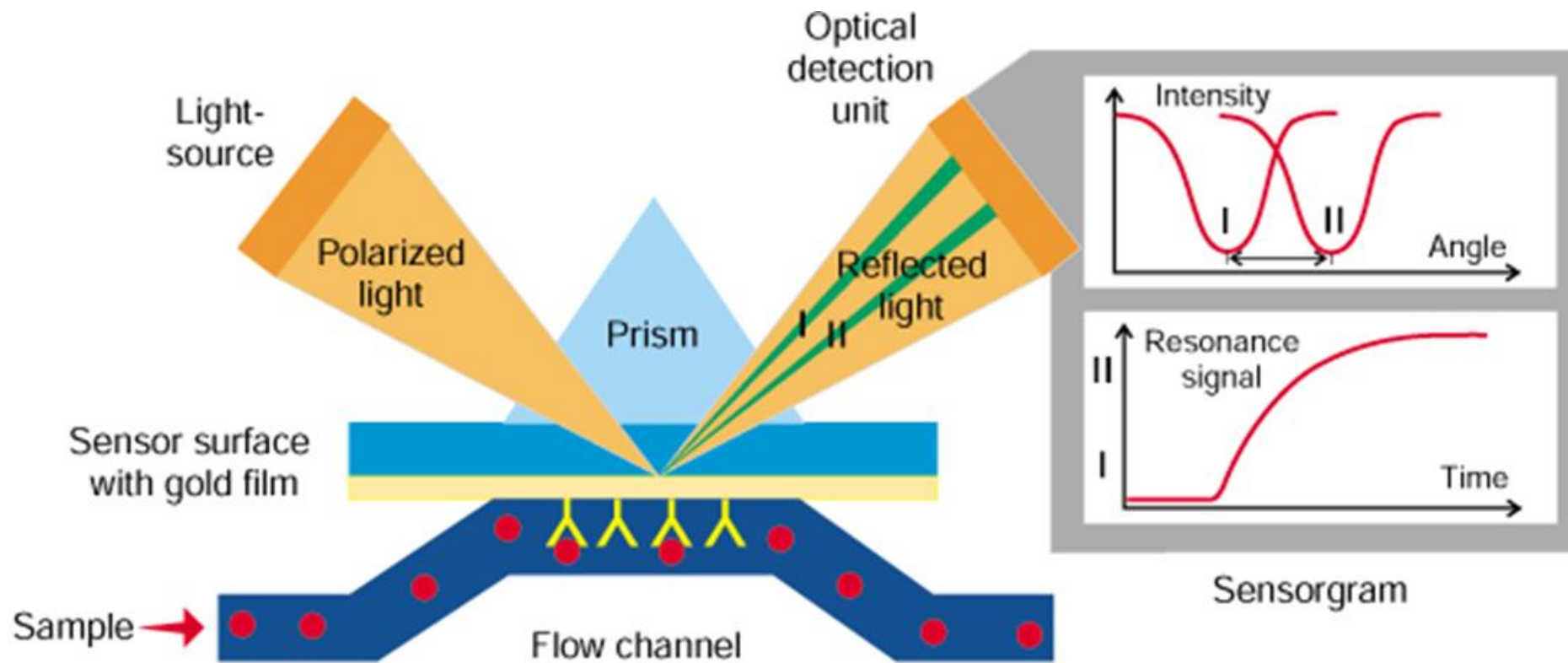
$$K_D = [A][B]/[AB]$$

$$K_D = \frac{k_d}{k_a}$$

アフィニティーが同じ4つの化合物で比較する ( $K_D = 10 \text{ nM} = 10^{-8} \text{ M}$ )



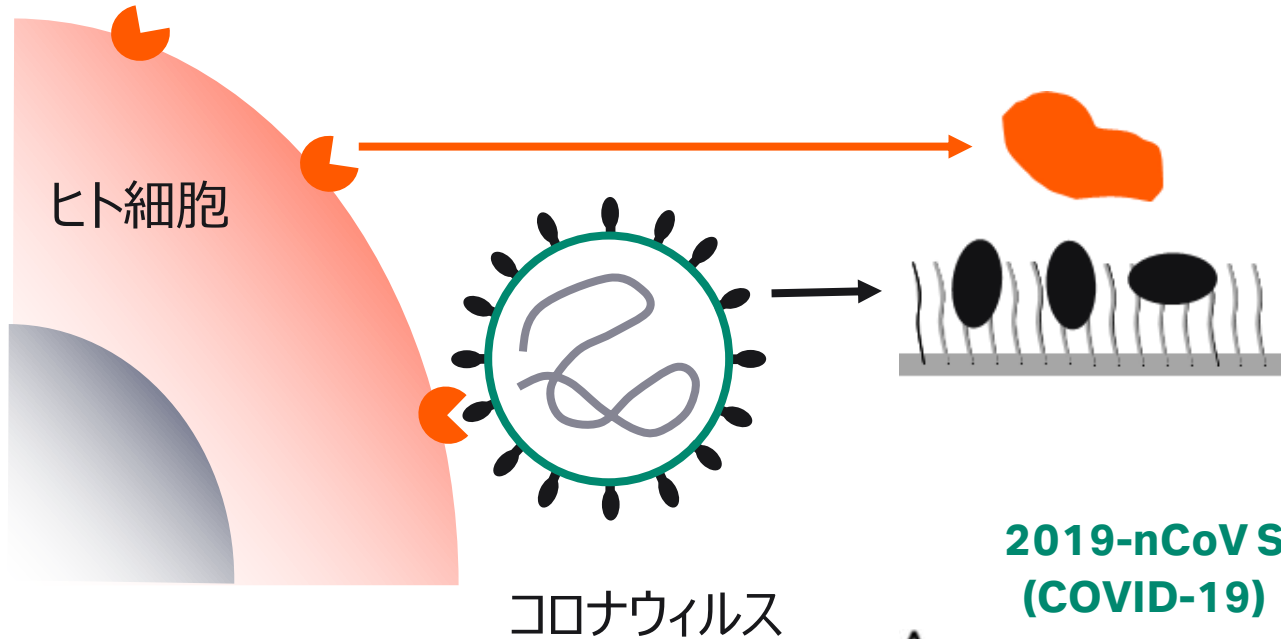
# SPR検出系



**1000 RU  $\doteq$  1 ng/mm<sup>2</sup>**

**(タンパク質の場合)**

# 基礎研究



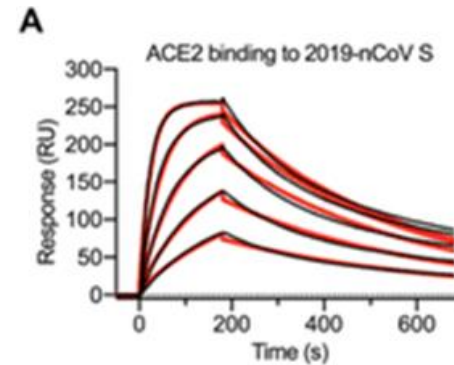
ACE2 (ヒト細胞表面に存在する受容体タンパク質)

2019-nCoV (コロナウイルスのスパイクタンパク質)  
Sensor Chip NTA

Science 13 Mar 2020: Vol. 367

新型コロナウイルスがSARSよりもヒトの細胞にくっつきやすいことをBiacore X100で解析  
約10~20倍の結合親和性。

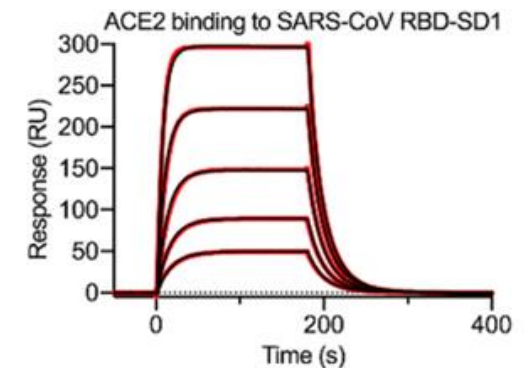
2019-nCoV S  
(COVID-19)



$K_D = 14.7 \text{ nM}$   
 $k_a = 1.88 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$   
 $k_d = 2.76 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$

くっついたら外れにくい

SARS-CoV S



$K_D = 325.8 \text{ nM}$   
 $k_a = 3.62 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$   
 $k_d = 0.112 \text{ s}^{-1}$

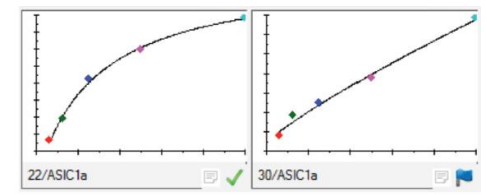
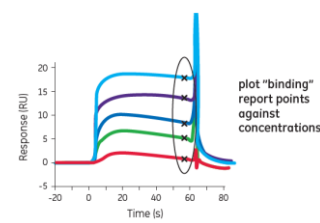
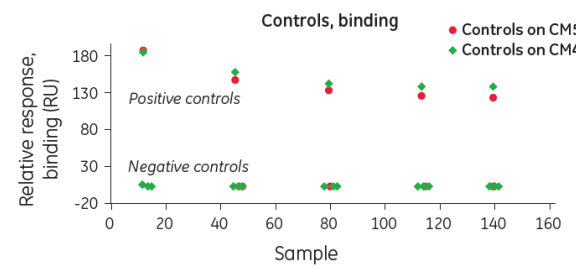
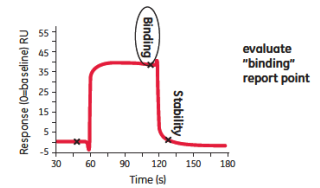
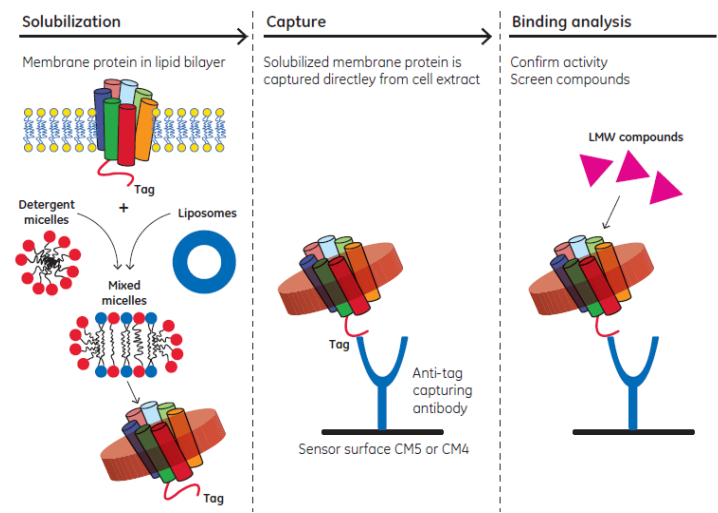
くっついて外れやすい

Development of a label-free biosensor method for the identification of sticky compounds which disturb GPCR-assays

Hanno Mohammed Kader

# 膜タンパク質の測定 ASIC1a

- 膜タンパク質をチップ表面にキャプチャー、化合物のスクリーニング (47 compounds, Mr~300-700)
- 活性の保持、非特異的結合の検証、親和力評価
- ウプサラ工科大学の paper に具体的な測定の流れ



**"Magic GPCR mixture"**  
0.5% CHAPS, 0.1% DDM,  
0.1% CHS, 50 mM TRIS,  
200 mM NaCl, 30%  
glycerol  
Heiko Heerklötz, Biozentrum, Switzerland. At  
Biophysical Society 2007: Membrane  
solubilization on the way from arts to routine  
technology

**GE Healthcare Life Sciences**

## Developing a robust screening assay for acid sensing ion channel 1a using Biacore™ systems

Hanno Kader, Markku Hämmäläinen, and Ewa Pal  
GE Healthcare Bio-Sciences, Ångström 30, SE-75184 Uppsala, Sweden

- 29-1051-60 AA
- Uppsala University School of Engineering

# 3

使用感は？（動画）

# 4

## まとめとご案内

# まとめとご案内

- + Biacore は分子間相互作用測定におけるデファクトスタンダード
- + 特に医薬品の分野ではとても信頼性の高い装置
- + 取り扱えるサンプルの種類も多く、得られるデータの情報量が非常に多い
- + Surface Plasmon Resonance という技術で金膜周辺の密度の変化を検出
- + 必要なものはセンサーチップとバッファー
- + （今回は紹介していませんが）各種キットや試薬も豊富
- + サポートも自慢！ご相談ならバイオダイレクトラインへ！（[tech-jp@cytiva.com](mailto:tech-jp@cytiva.com)）

≡ 論文のデータ、企業との連携に



# Biacore T200 紹介

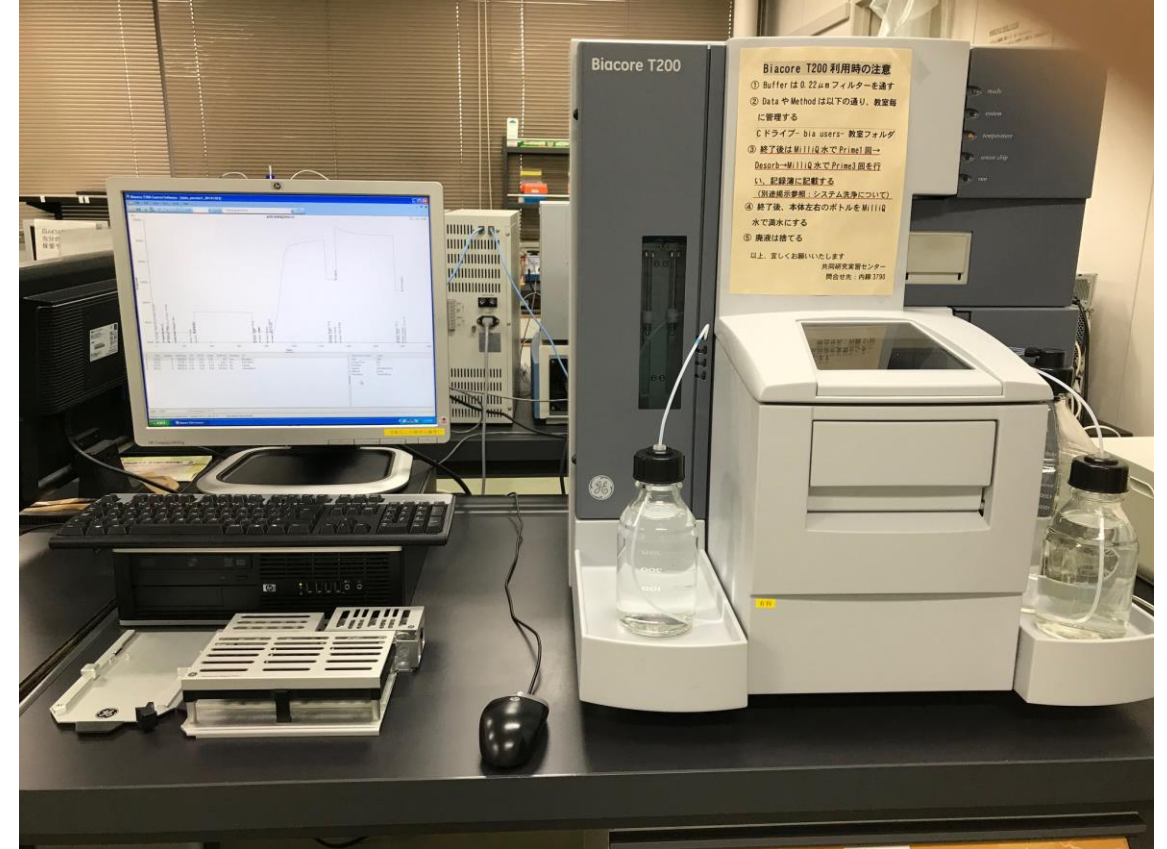
## Youtube コンテンツ

---

- <https://www.youtube.com/watch?v=KaWrCNUxvSQ>
- <https://www.youtube.com/watch?v=K6WCWSuxMS0>

# 大阪大学医学系研究科 附属共同研究実習センターからのご案内

- Biacore T200 は共同研究棟 9F（D91-03室）にあります。
- ラックタイプは3種類。こちらは共同研のものをお使いください。
- サンプルバイアル、センサーチップ等の消耗品、メンテナンスキットをご用意ください。
- 予約システム対象機器（有償）です。
- Biacore 解析ソフトは D91-05 室にあります。



## 【お問合せ先】

グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社

バイオダイレクトライン

TEL: 03-5331-9336 / FAX: 03-5331-9370

e-mail: Tech-JP@cytiva.com

[www.cytivalifesciences.co.jp](http://www.cytivalifesciences.co.jp)

本資料の使用については、お客様施設内での使用に限ります。他社への転送、譲渡等は禁じます。本資料の著作権その他の知的財産権は、グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社に帰属します。無断転載、無断コピー、改ざん、二次利用を禁じます。

掲載されている価格は2020年5月現在の希望小売価格です（消費税は含まれておりません）。希望小売価格は単なる参考価格であり、弊社販売代理店が自主的に設定する販売価格を何ら拘束するものではありません。掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。

弊社は、資料の掲載内容の正確性を記すべく、情報を随時更新しておりますが全ての情報が最新であることを保証するものではありません。

したがって、当資料上の掲載内容に誤りがあった場合でも弊社は責任を負いかねます。