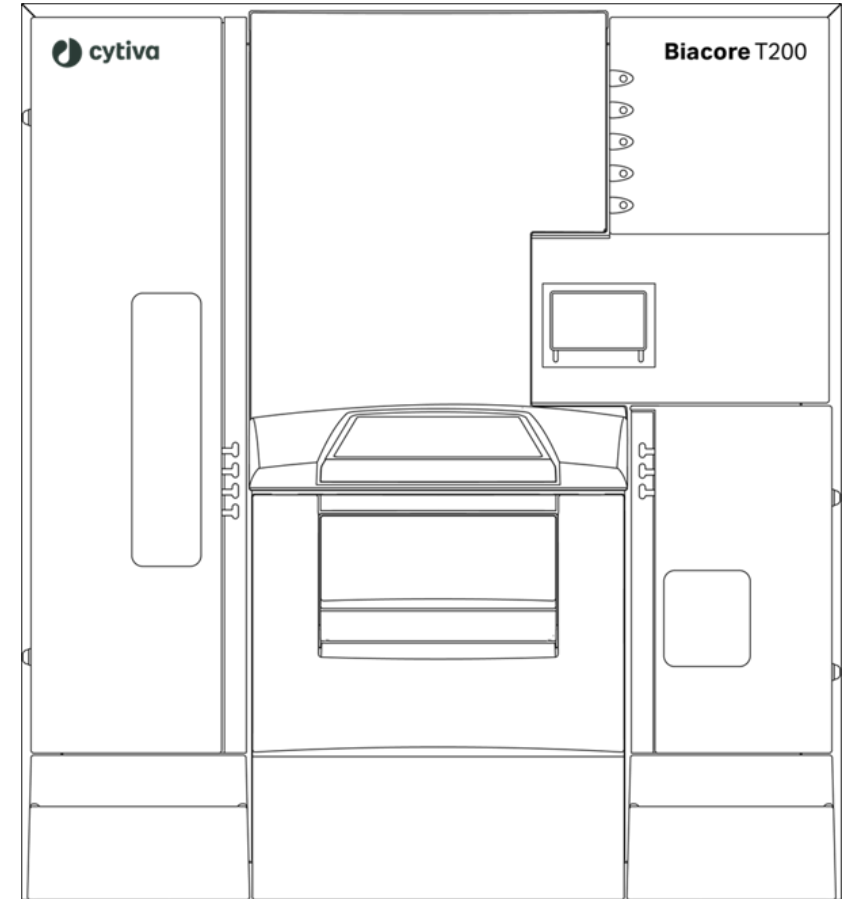




分子間相互作用解析の 意義とBiacore T200

Prepared for Masami Koinuma

April 18, 2022



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はなぜ必要か？

生物学的プロセスは分子同士の相互作用で進行する

How strong?

Affinity

- Affinity は結合の強さを表す

How fast?

Kinetics

- Kinetics は複合体の形成あるいは解離がどれだけ早い遅いかを決定する

How much?

Concentration

- 量と質の定量により活性濃度を測定する

How specific?

Specificity

- 分子がその標的と特異的に結合しているか

How similar?

Comparision

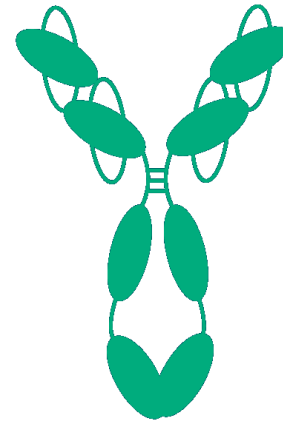
- 参照品と同等かどうか

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 α 抗体... TNF α 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）
- ウィルス、AAV



ビアコアの測定方法

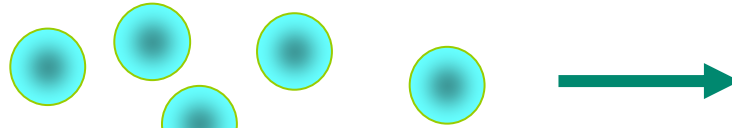
標準的な使用量

タンパク質の場合、
1 固定化あたり 2~5 μg 程度
数十ug/mlを 100 μl 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 μl 程度添加



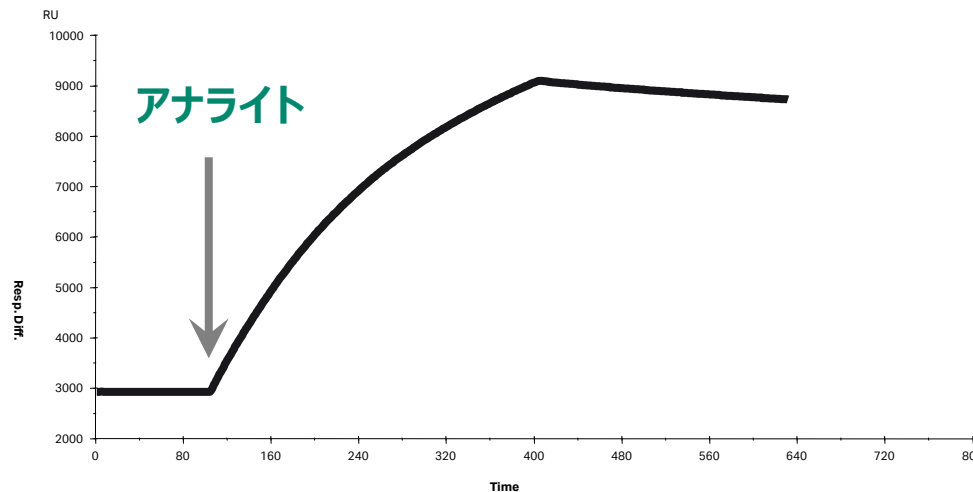
リガンド

Sensor Chip

センサーグラム

Resonance Unit (RU)

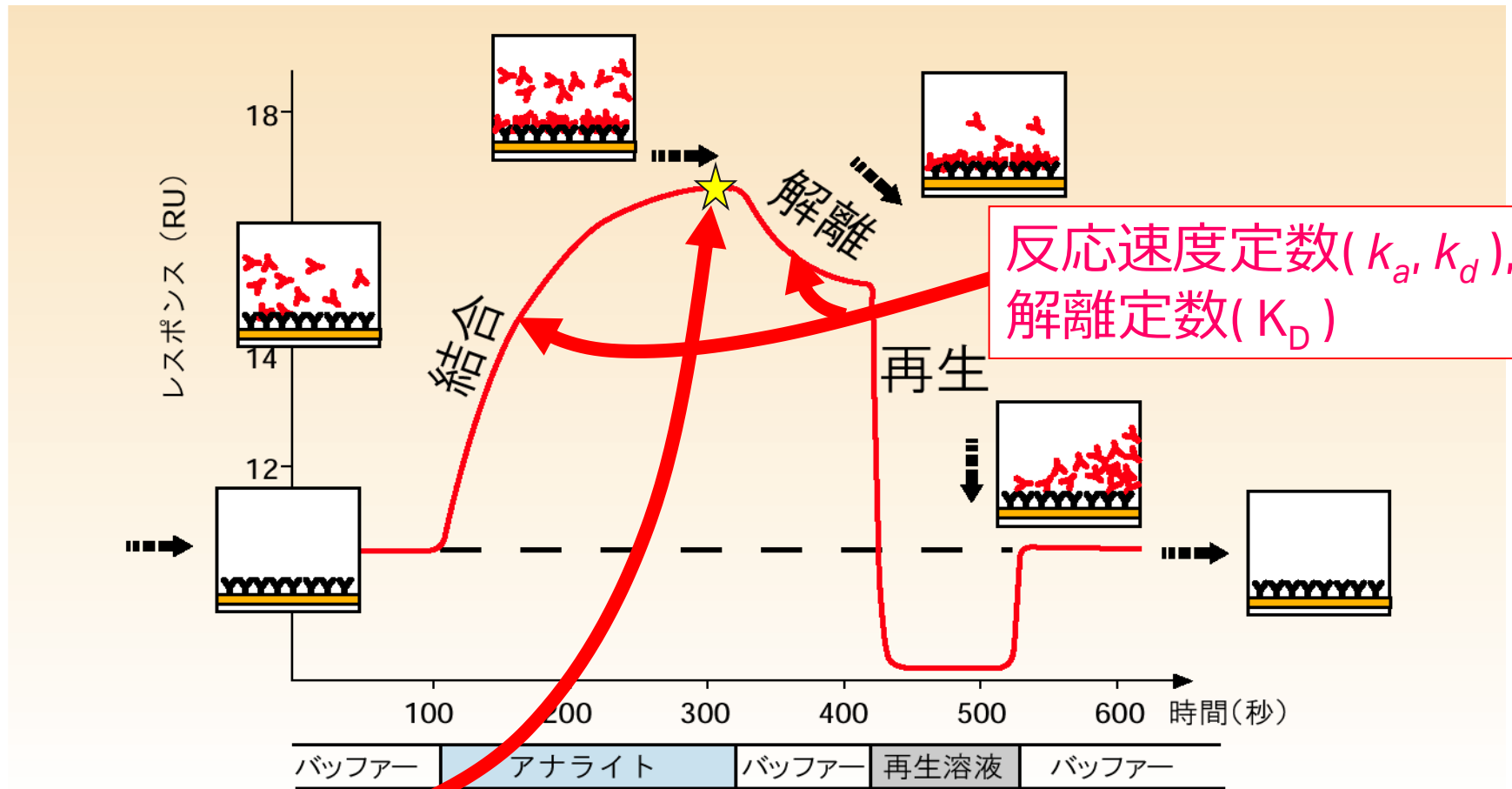
密度



ノンラベル
リアルタイム

時間

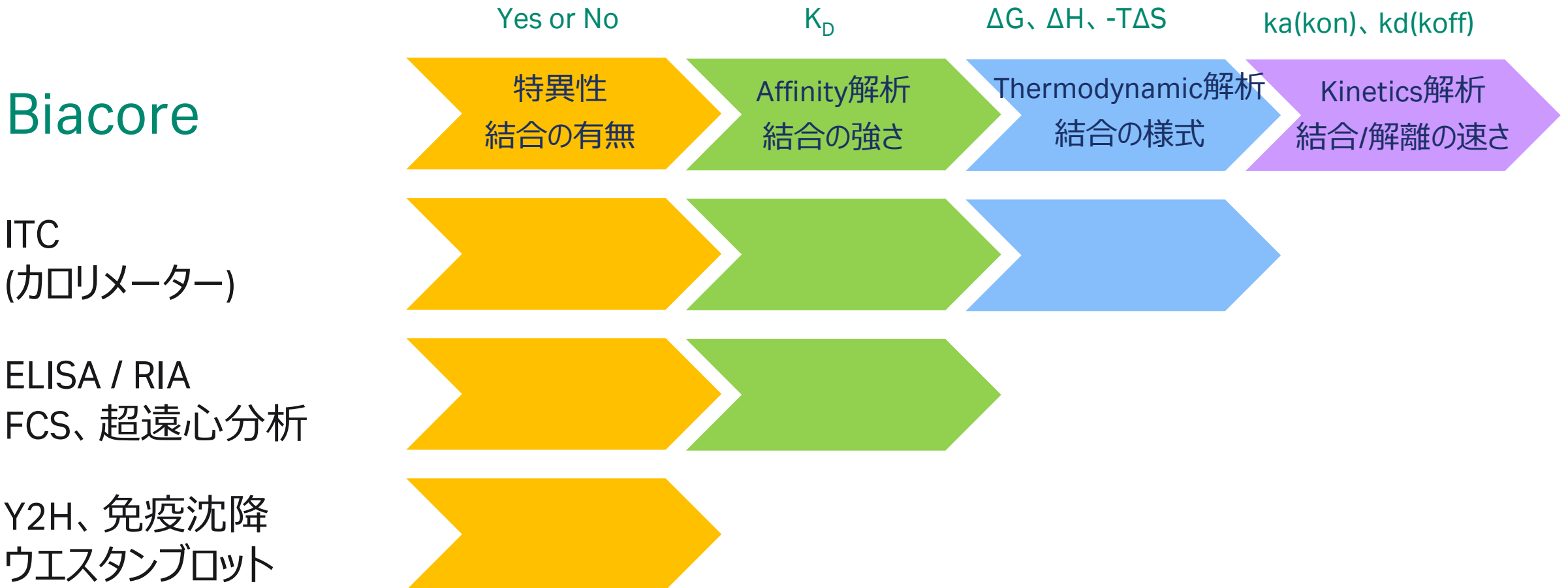
センサーグラムから得られる情報



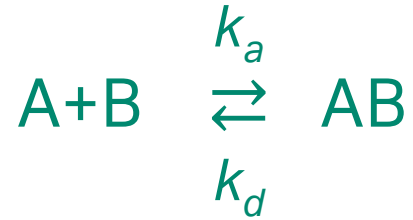
特異的結合の評価

濃度測定

分子間相互作用測定 技術区分



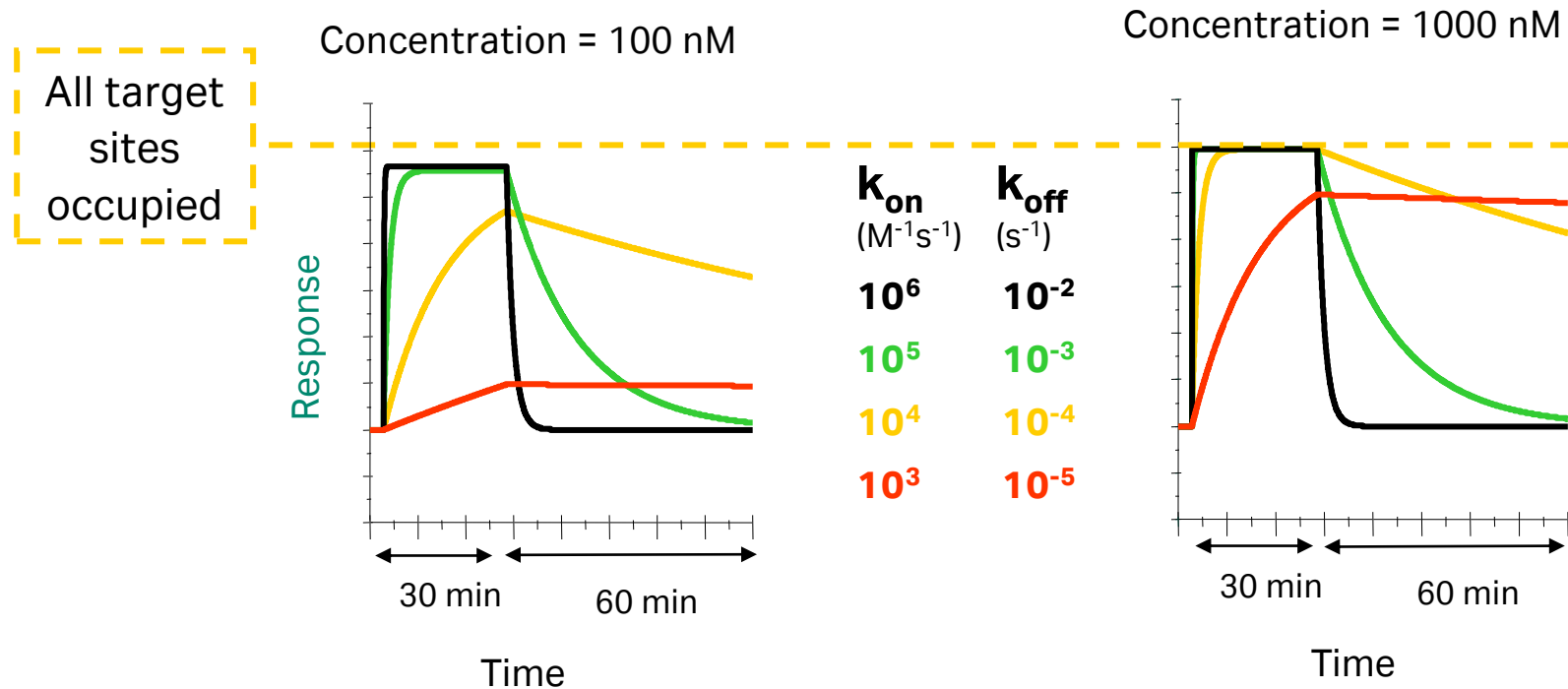
アフィニティーが同じでも...



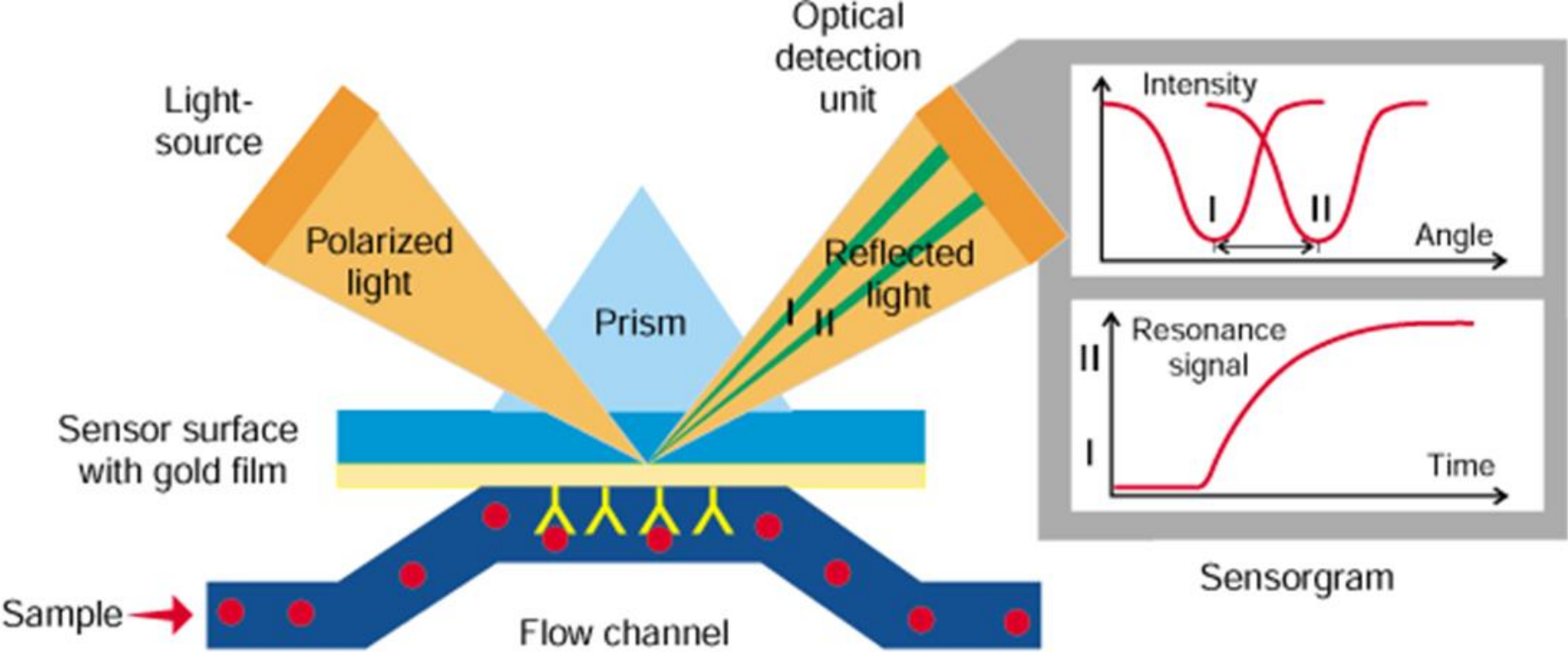
$$K_D = [A][B]/[AB]$$

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

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



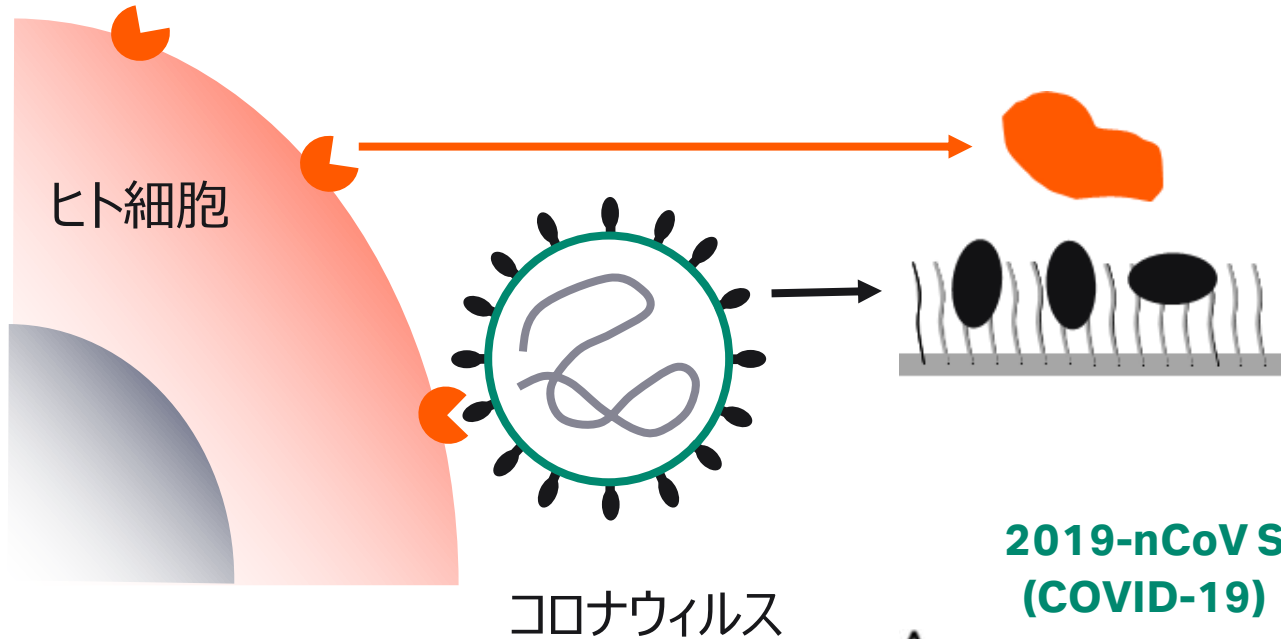
SPR検出系



1000 RU ≒ 1 ng/mm²

(タンパク質の場合)

基礎研究



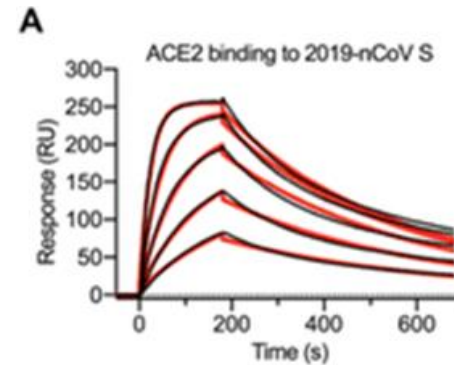
ACE2 (ヒト細胞表面に存在する受容体タンパク質)

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。

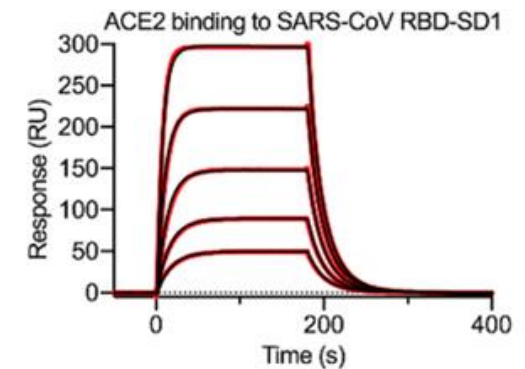
2019-nCoV S
(COVID-19)



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

くっついたら外れにくい

SARS-CoV S



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

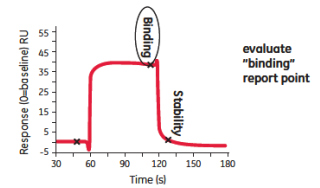
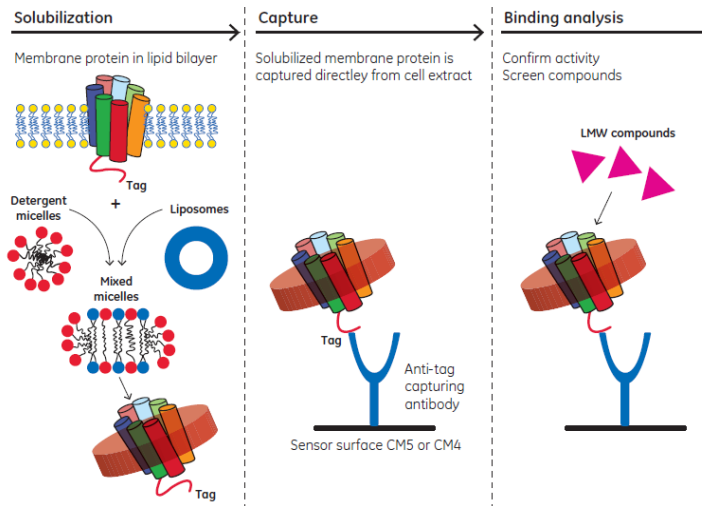
くっついて外れやすい

膜タンパク質の測定 ASIC1a

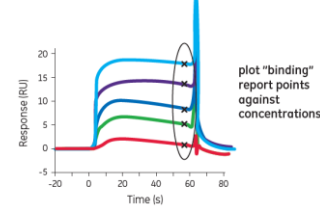
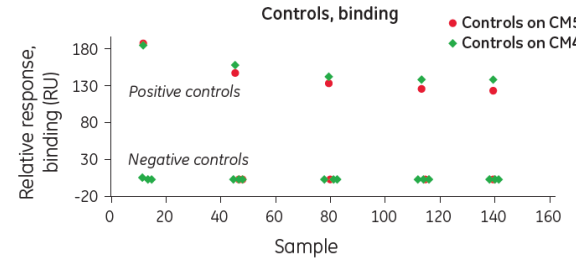
Development of a label-free biosensor method for the identification of sticky compounds which disturb GPCR-assays

Hanno Mohammed Kader

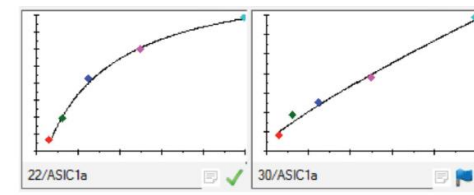
- 膜タンパク質をチップ表面にキャプチャー、化合物のスクリーニング (47 compounds, Mr~300-700)
- 活性の保持、非特異的結合の検証、親和力評価
- ウプサラ工科大学の paper に具体的な測定の流れ



evaluate "binding" report point



plot "binding" report points against concentrations



"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

- 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）

■ 論文のデータ、企業との連携に



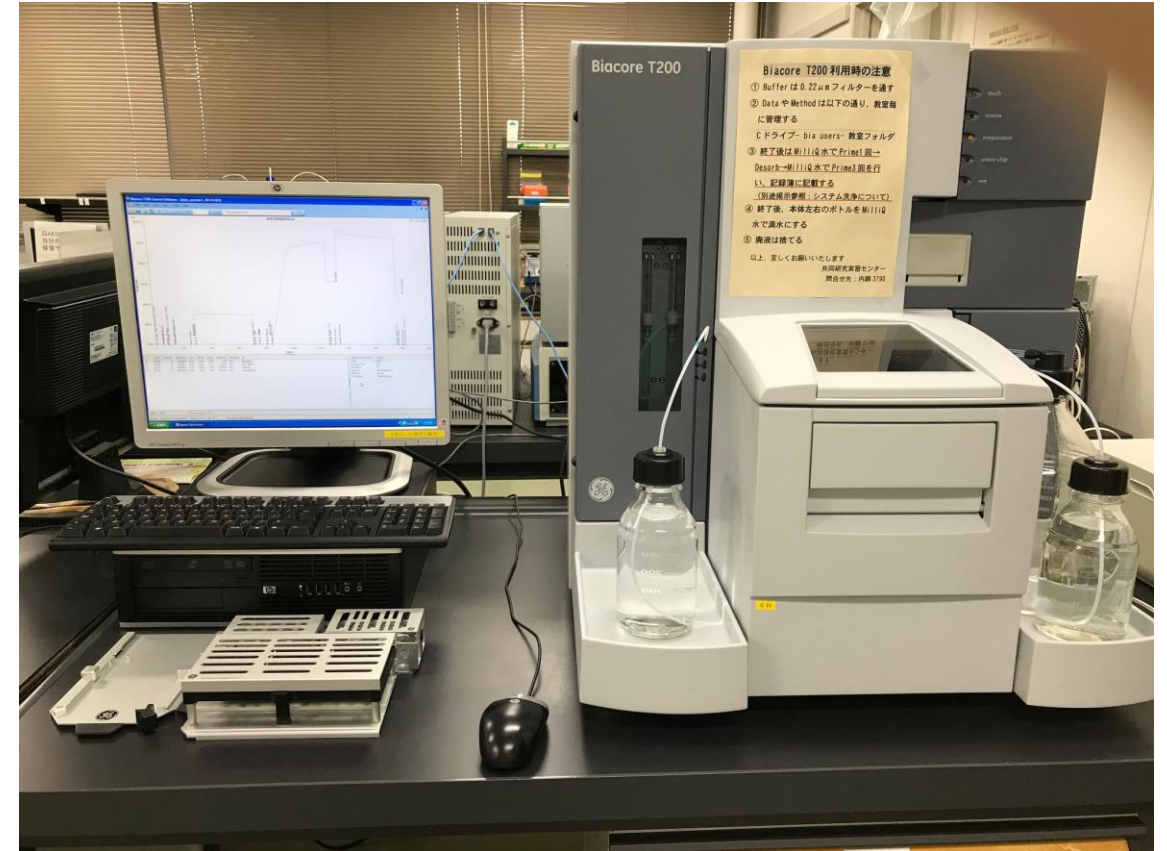
Biacore T200 紹介

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。
- 2021年10月、制御PCをバージョンアップしました。
- 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

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2022年3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。