



やっと分かった！

Biacore メンテナンスの方法と意味、 トラブルシューティングまで



Masami Koinuma
April 22, 2021

Agenda

1. メンテナンスキット
2. 日々のメンテナンス操作
～Biacore T200を例に
3. System check の見どころ
4. ヘンなセンサーグラムが出た... 「装置の異常？」
トラブルシューティング編
5. まとめ

- メンテナンスの方法はこれで正しいかな？
- なんか装置の調子がヘンだぞ？
- 同じサンプルなのに前と結果が違う！



1

メンテナンスキット

Maintenance Kit と保守の違い

Maintenance Kit の役割

- 日々のメンテナンス
- 得られるデータの信頼性の担保
- Desorb、Desorb & Sanitize、System check
- 装置を長く安心してご利用いただくために



保守：日々のメンテナンスでは対応できないところ

- 保守 = 「保証」 + 「点検」

保証	• 基本的に全て保証
点検	<ul style="list-style-type: none">• 流路 (IFC) 交換• Pneumatic test• システムチェック• ノーマライズ• シリンジポンプ清掃• オートサンプラー部清掃• オートサンプラーキャリブレーション• チップインサーションキャリブレーション

Maintenance Kit (1)

意義と基本構成

- 装置の洗浄やシステムチェックに必須のキット

基本構成

洗浄用：

Maintenance Chip

Desorb solution 1: 0.5% SDS

Desorb solution 2: 50mM glycine-NaOH, pH9.5

システムチェック用：

Test solution: Sucrose

校正用：

Normalizing solution: Glycerol

【注意！】次亜塩素酸ナトリウム溶液は各自でご用意ください

- 装置内を滅菌するために使用
- BIA disinfectant solution（次亜塩素酸ナトリウム溶液）は現在のキットには付属されていない

用意する次亜塩素酸ナトリウムについて

- 特にメーカーや製品の指定はございません
- 大体10%程度の濃度で販売されていますが、終濃度0.6-1.0%に要時調製してご利用ください
- 紫外線、光、温度によって有効塩素の分解が進行するため、作り置きしないでください
- 大体1年ほどで滅菌効果がなくなりますので、使用期限に注意して保管してください

Maintenance Kit (2)

システムごとに構成が異なるので注意

Desorb Kit (BR100823)
 • Desorb solution 1, 500mL
 • Desorb solution 2, 500mL

System	Product	Code	BIAtest solution		BIAnormalizing solution		BIAdesorb solution 1 BIAdesorb solution 2	Buffer	Sensor Chip
			Volume	Contents	Volume	Contents			
X100, 3000 X,J	BIAmaintenance Kit	29394521	65mL	15% (w/w)sucrose in HBS-EP buffer	30mL	40% (w/w) glycerol	それぞれ 90mL	なし	Maintenance
					30mL	70% (w/w) glycerol			
4000, T/S	Biacore Maintenance Kit, type 2	29394519	65mL	15% (w/w)sucrose in HBS-N buffer with 3.4 mM EDTA	90mL	70% (w/w) glycerol	それぞれ 2x 95mL	HBS-N 50 mL	Series S Maintenance
8K	Biacore Maintenance Kit, type 3	29229054	65mL	15% (w/w)sucrose in HBS-EP buffer	90mL	70% (w/w) glycerol	それぞれ 2x 500mL	なし	Series S Maintenance

• HBS-N 10X (BR100828), 4* 50 mL
 • HBS-N 10X (BR100670), 1000 mL

Series S Maintenance chip (BR100562)

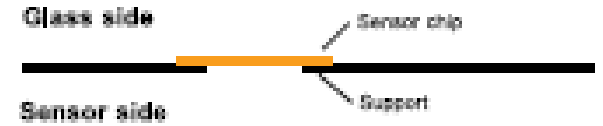
Maintenance Kit (3) - Maintenance chip について

金膜の付いていないガラス基板... レスポンスは出てこない！

- Desorb, Desorb & Sanitize においては、使用済み金膜チップで実施して構わない（ただし再利用はできなくなる）が、再利用したい場合はメンテナンスチップに入れ替える
- 室温保存で問題ないが埃が付着しないように
- 湿らせたキムワイプなどでガラス面両面ともしっかりと拭きとってから Dock
- 汚れが目立つようになったら交換

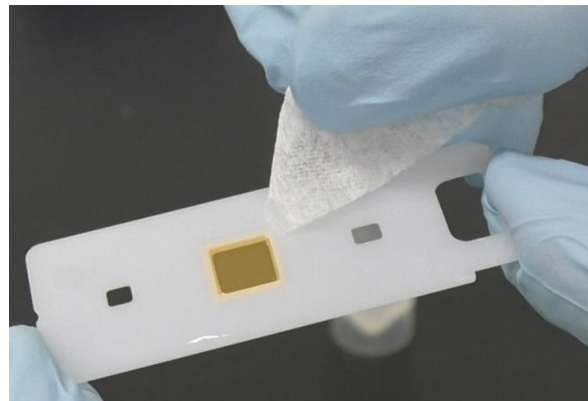
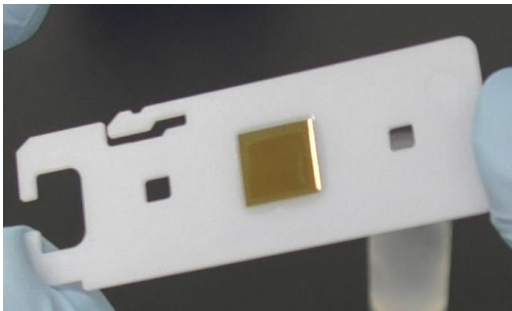


(参考) センサーチップを Dock するときは



どんなときでもシートを取り出して汚れやホコリを確認する

- 目視でホコリなどがいないことを必ず確認：
 - オプトインターフェースにホコリを持ち込むリスク
 - 新品でも確認
- wet 再利用時：
 - ガラス面はキムワイプなどで完全に拭き取り
 - 固定化面（凹）は四隅から吸い取る



カートリッジへの挿入 (Sensor chip series S)

- クワガタが前、ガラス面が印字面
- 間違った方向には挿入できない
- カチッと音がするまで押し込む



(参考) ボトルとボトルキャップ

弊社から販売しています

- ボトルは 45 口径のガラスボトルを推奨
- ボトルキャップも定期的に洗浄
- チューブの先端が底にあることを確認

製品	コード番号
Bottle 250 ml	BR100480
Bottle 500 ml	BR100092
Bottle 1000 ml	29229054
Bottle 2000 ml	BR100488
Cap W Cpl	28935905
Cap 4x3,2 Cpl	28935906
Cap 3,2 Cpl	28935907
SCREW LID GL45 KIT	11000410



28935905 Cap W Cpl



28935906 Cap 4x3,2 Cpl



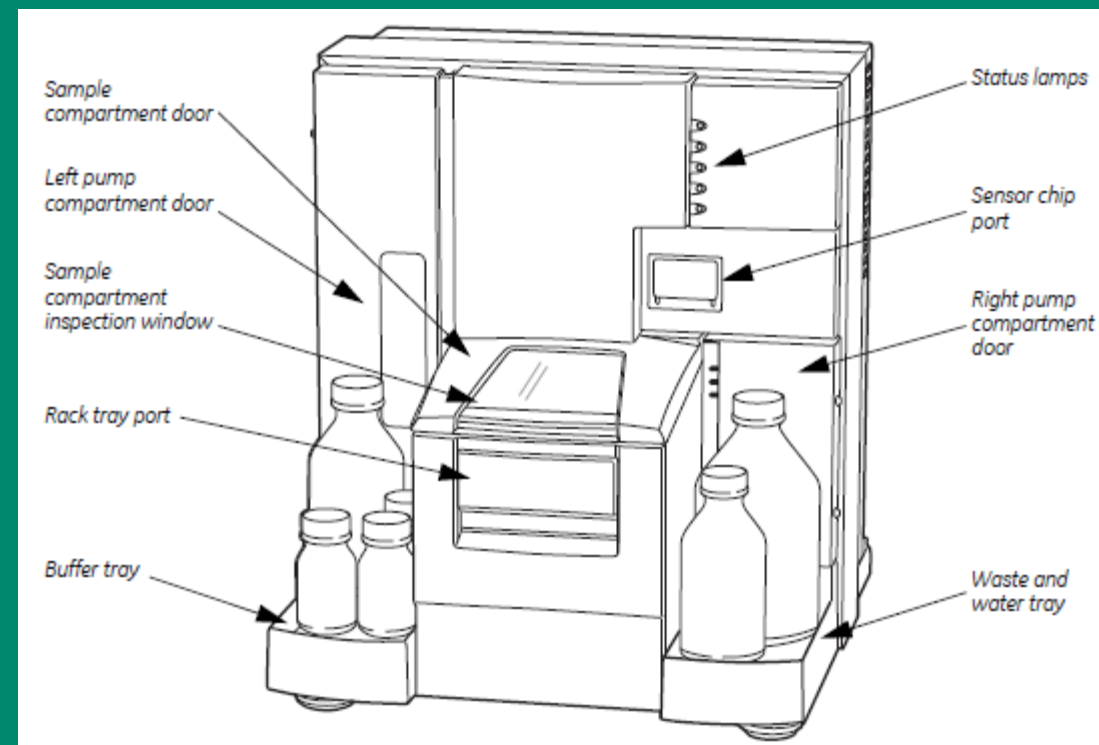
28935907 Cap 3,2 Cpl



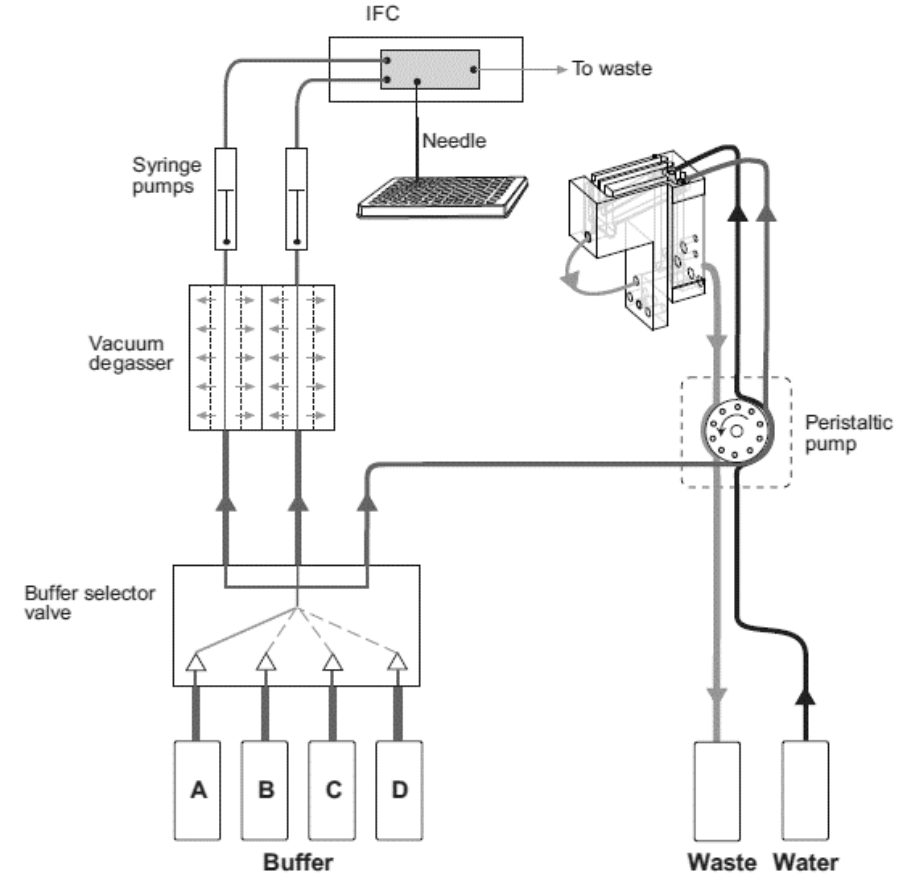
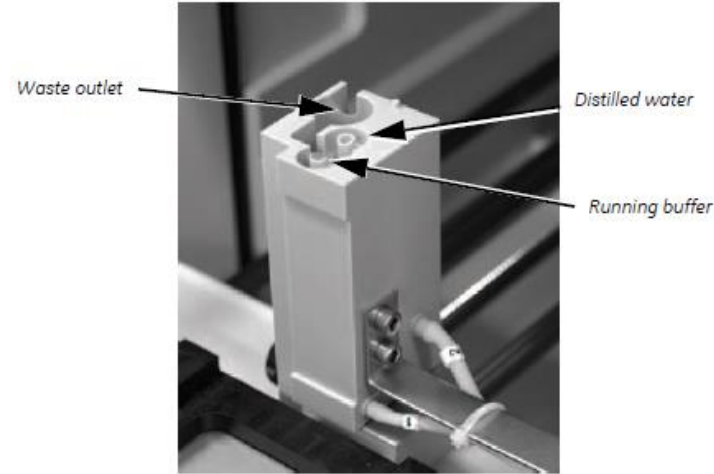
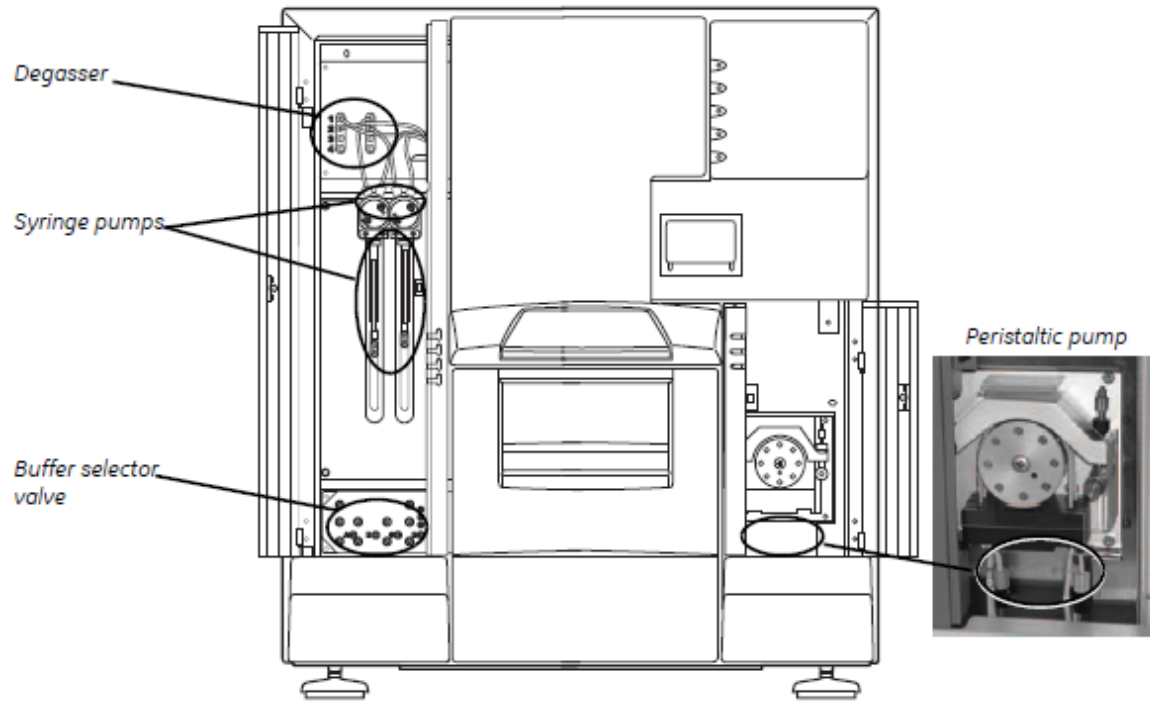
11000410 SCREW LID GL45 KIT

2

日々のメンテナンス操作 ～Biacore T200 を例に



Biacore T200 の装置構成



Desorb

目的と頻度

流路の洗浄。

Weekly または毎測定後に実施。

操作

1. バイアルから Desorb solution 1 を添加
2. バイアルから Desorb solution 2 を添加
3. Prime 3回、あるいは Standby で 3-4 時間～7日

7日以内に使用するなら

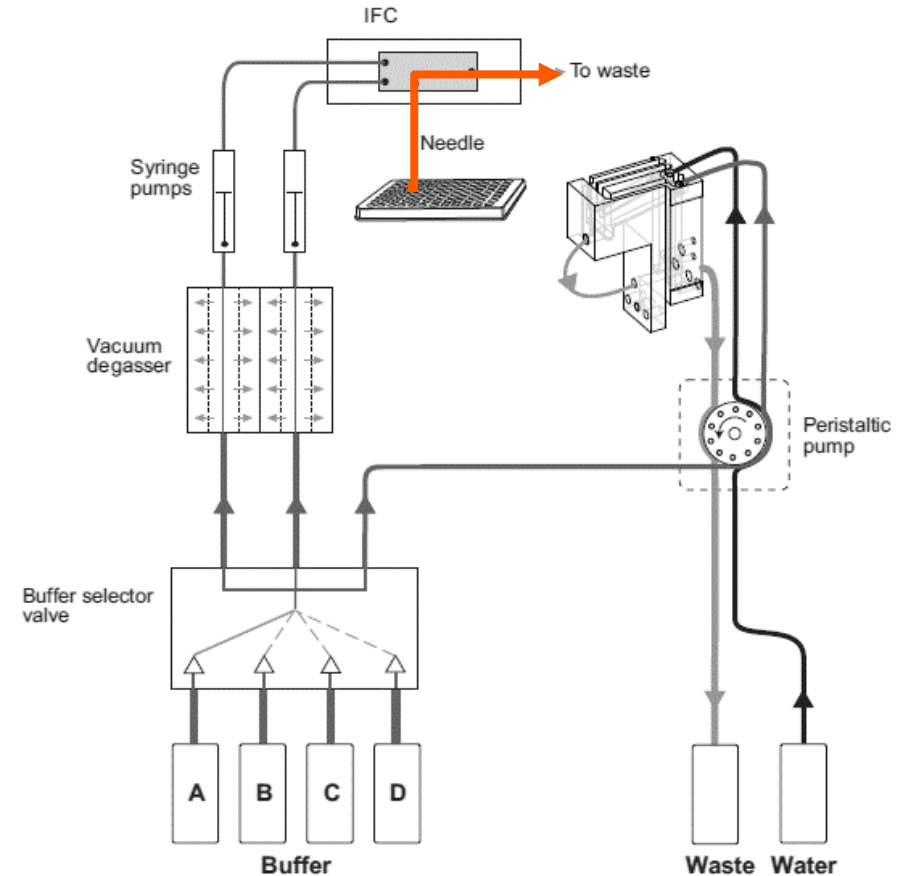
1. 使用したいチップに入れ替える
2. ランニング緩衝液や超純水を新しくして測定開始

7日以上使用しないなら

1. 超純水で Prime (乾燥すると塩が析出するため)
2. チップを取り出して電源オフ

注意点

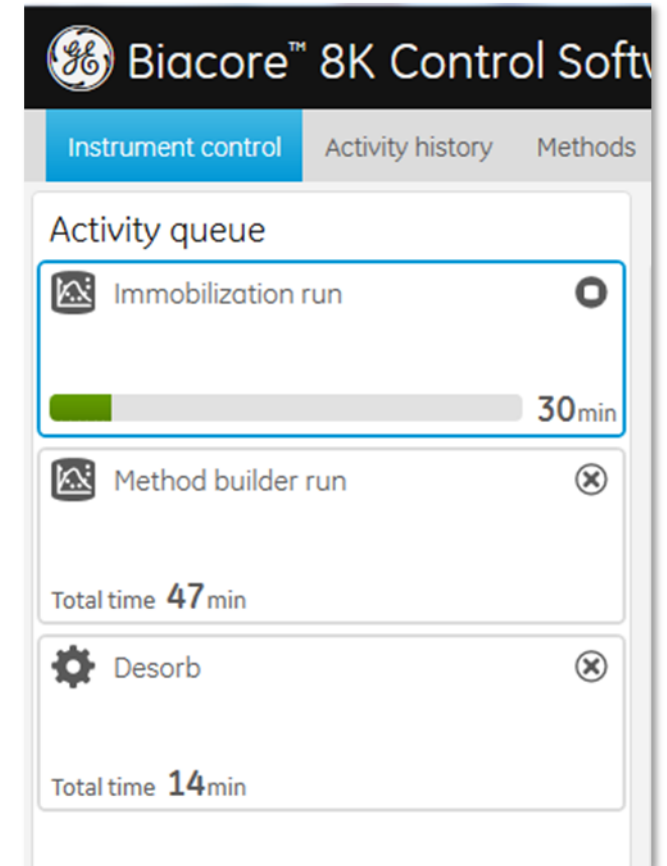
- Desorb solution 1 (SDS) は低温で析出するので室温保存
- 洗浄するときは25°C



(補足) Desorb をランニング緩衝液で可能になったことのメリット

大きな変更点

- 測定終了後そのまま Desorb の操作に移れるため、チップの入れ替えや超純水での Prime がなくなり、手間が減りました。
- Biacore 8Ks でしたら Activity queue にそのまま Desorb を仕込むことが可能となり、ますます使い勝手が良くなっています。
- もちろん、これまでのようにメンテナンスチップ入れ替え→超純水で Prime してから Desorb を実施していただくことも構いません。
- 7日以内に使用する予定の有無で超純水 Prime を実施するか決める
- この次にご案内する Desorb & Sanitize でも、チップを変更せず、いきなりチューブから Desorb solution 1 を吸い上げて構いません。



Desorb & Sanitize

目的と頻度

チューブごと洗浄。さらに次亜塩素酸ナトリウムで滅菌。
装置を使用した月末に実施（未使用の月末は実施不要）。

操作

1. 左右ボトルにセットした Desorb solution 1 を添加
2. 左右ボトルにセットした Desorb solution 2 を添加
3. 左右ボトルにセットした次亜塩素酸ナトリウムを添加
4. 左右ボトルにセットした超純水を添加
5. 緩衝液で Prime 3回、あるいは Standby で 3-4 時間 ~ 7 日

7日以内に使用するなら

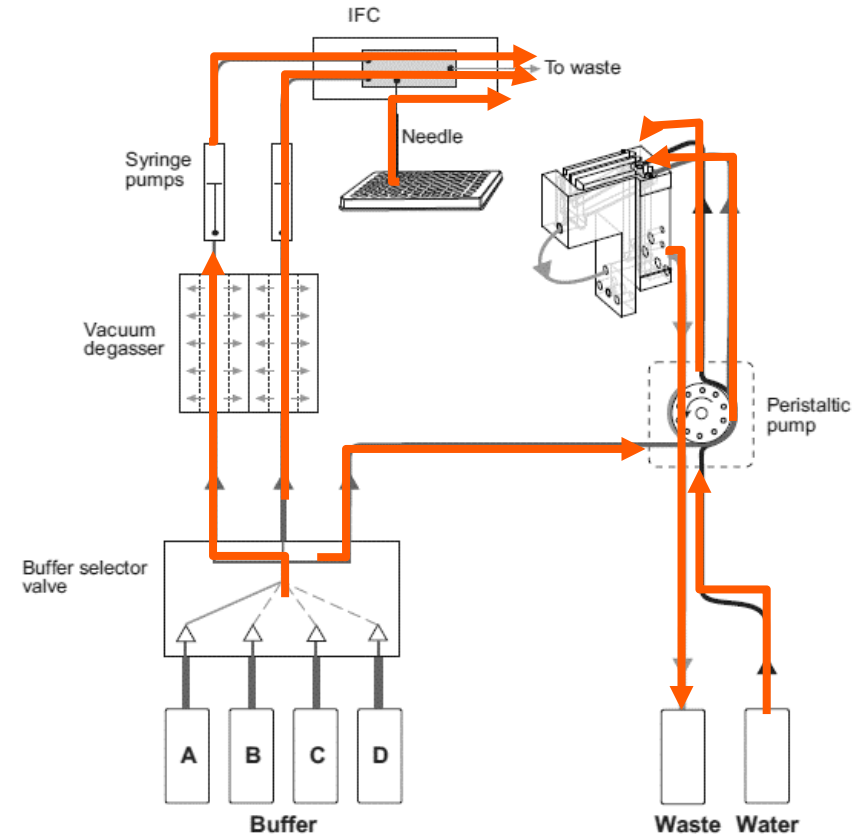
1. 使用したいチップに入れ替える
2. ランニング緩衝液や超純水を新しくして測定開始

7日以上使用しないなら

1. 超純水で Prime（乾燥すると塩が析出するため）
2. チップを取り出して電源オフ

注意点

- 使用していなくとも ABCD チューブ全て洗浄（T200 v3.2 以降は選択制）
- Tris や Hepes などの緩衝液で流路に残存する次亜塩素酸ナトリウムを除去（特に Sensor chip SA）



Desorb & Sanitize

目的と頻度

チューブごと洗浄。さらに次亜塩素酸ナトリウムで滅菌。
装置を使用した月末に実施（未使用の月末は実施不要）。

操作

1. 左右ボトルにセットした Desorb solution 1 を添加
2. 左右ボトルにセットした Desorb solution 2 を添加
3. 左右ボトルにセットした次亜塩素酸ナトリウムを添加
4. 左右ボトルにセットした超純水を添加
5. 緩衝液で Prime 3回、あるいは Standby で 3-4 時間 ~ 7 日

7日以内に使用するなら

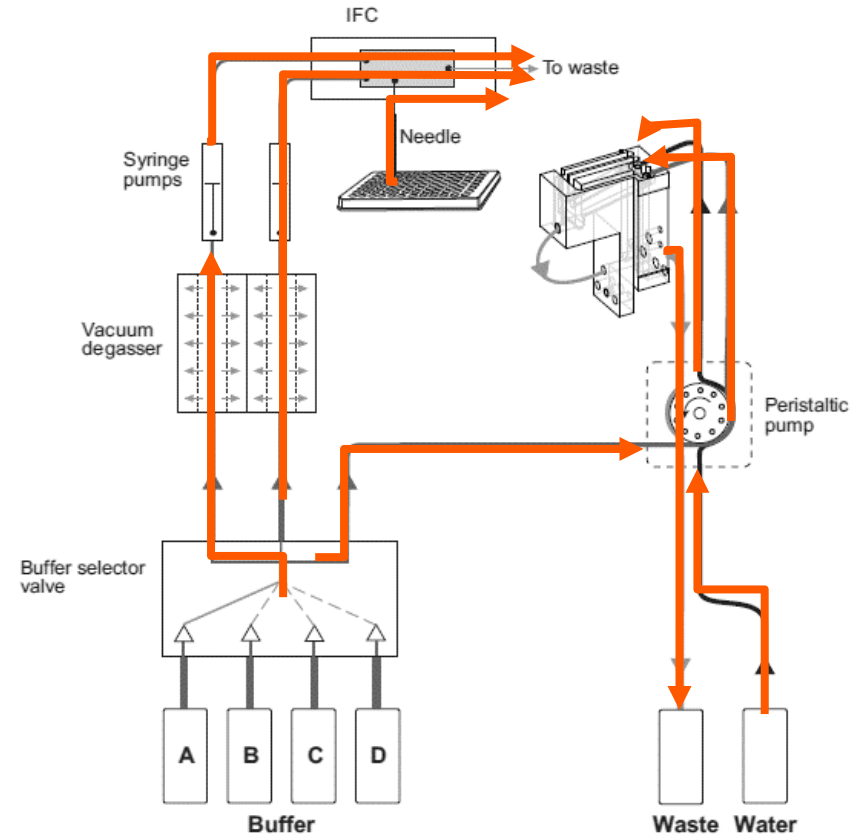
1. 使用したいチップに入れ替える
2. ランニング緩衝液や超純水を新しくして測定開始

7日以上使用しないなら

1. 超純水で Prime（乾燥すると塩が析出するため）
2. チップを取り出して電源オフ

注意点

- 使用していなくても ABCD チューブ全て洗浄（T200 v3.2 以降は選択制）
- Tris や Hepes などの緩衝液で流路に残存する次亜塩素酸ナトリウムを除去（特に Sensor chip SA）



Superclean ※T100, T200, S200, X100

強力な洗浄効果を持つプログラム

- 定期的なメンテナンスを実施していてもシステムの調子が思わしくない（システムチェックが Fail する）場合に実施

タンパク質使用時

- 50°C 超純水
- 1% 酢酸
- 0.2M 重炭酸ナトリウム
- 6M グアニジン塩酸
- 10mM HCl

低分子化合物使用時

- 50°C 超純水
- 1% 酢酸
- 0.2M 重炭酸ナトリウム
- 50% DMSO
- 10mM HCl

Normalize (は)いつ行う？

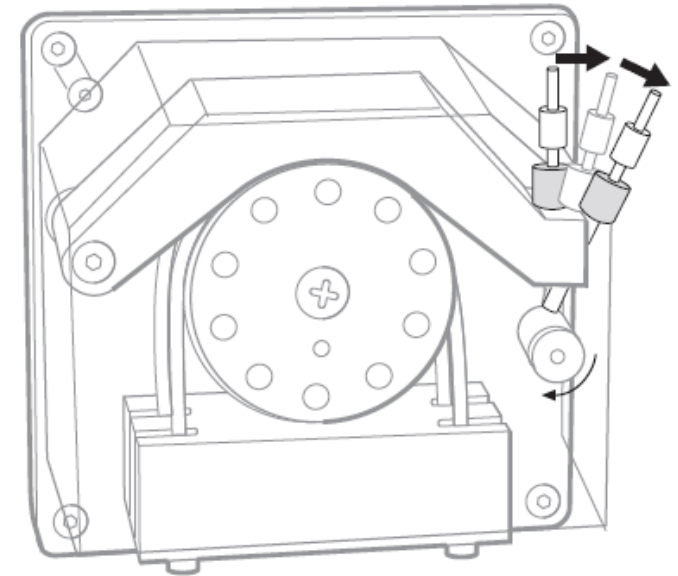
基本的には実施しなくてよい

- 個々のセンサーチップの僅かな違いを補正するために検出器のレスポンスを調整
- ベストパフォーマンスを得るためには新しいチップを利用することに実施
- Normalizing solution (70% グリセロール) を用いる
- 固定化前や固定化直後に実施
- 事実上ほとんど変化がないことが多いので実施しなくてよい

Shutdown

完全な水抜き

- 通常であれば、装置は Desorb & Sanitize 実施後はセンサーチップを抜いて電源を落とせばよい
- 2 週間以上装置を使用しないことが確定した場合に Desorb & Sanitize 後に実施（20 分ほど）
- 水 → 70%エタノールを流路に流し、完全に液体が除かれる
- 最後にペリスタポンプのクランプを開放（再使用时注意）
- Shutdown していれば Desorb や Desorb & Sanitize は不要



3

System check の見どころ

System check で何がわかる？

Test solution (Sucrose) を添加する

- 既定のレスポンスが得られるか？
- 溶液の注入や停止のタイミングは正しいか？
- ノイズレベルは許容範囲か？

注意点

- Desorb & Sanitize 後に実施
- 新品の CM5 チップを使用だが使いまわしはしない（測定には使用可能）
- ランニング緩衝液は HBS 系統（システムにより-EP か -N か異なる）
- 定期的に（少なくとも半年に1回）実施

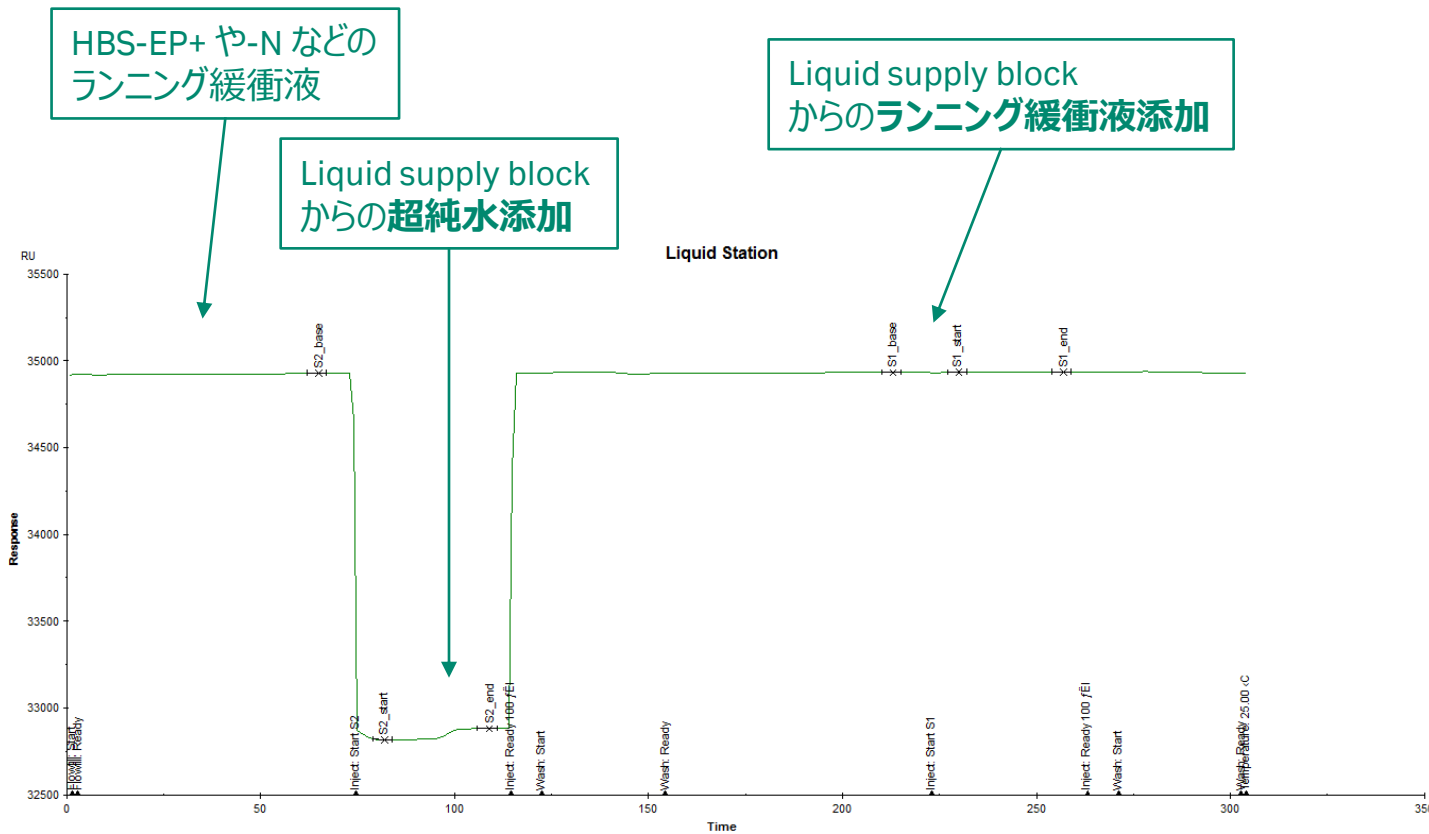


Reagent pumps

Liquid supply block に正しい溶液が来ているか？

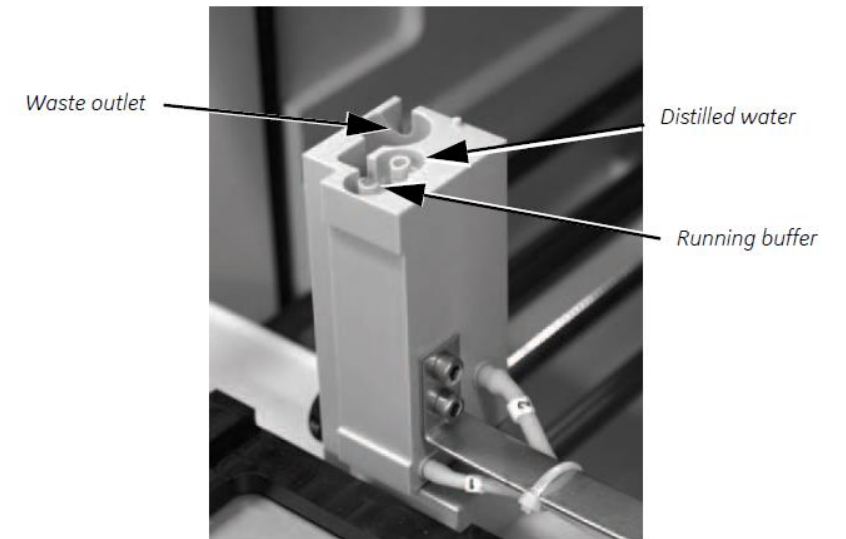
Reagent pump

Water	-2110	(-2600 to -1400 RU)	Pass
Buffer	0	(-50 to 50 RU)	Pass



Liquid supply block

- ずっと超純水やランニング緩衝液が溢れている
- 目視で汚れているなら拭き取る

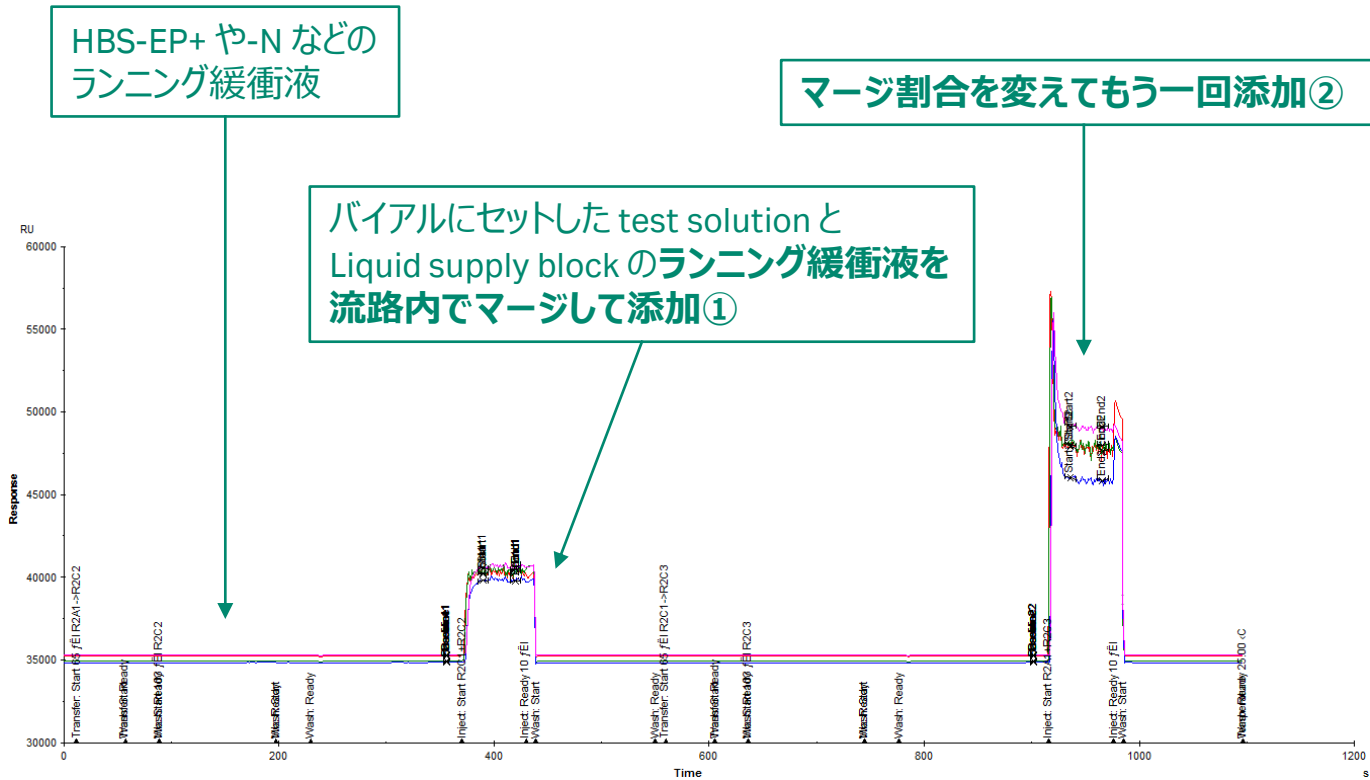


Merged injection

流路内で 2 種類の溶液が正しくマージされているか？ (限定的)

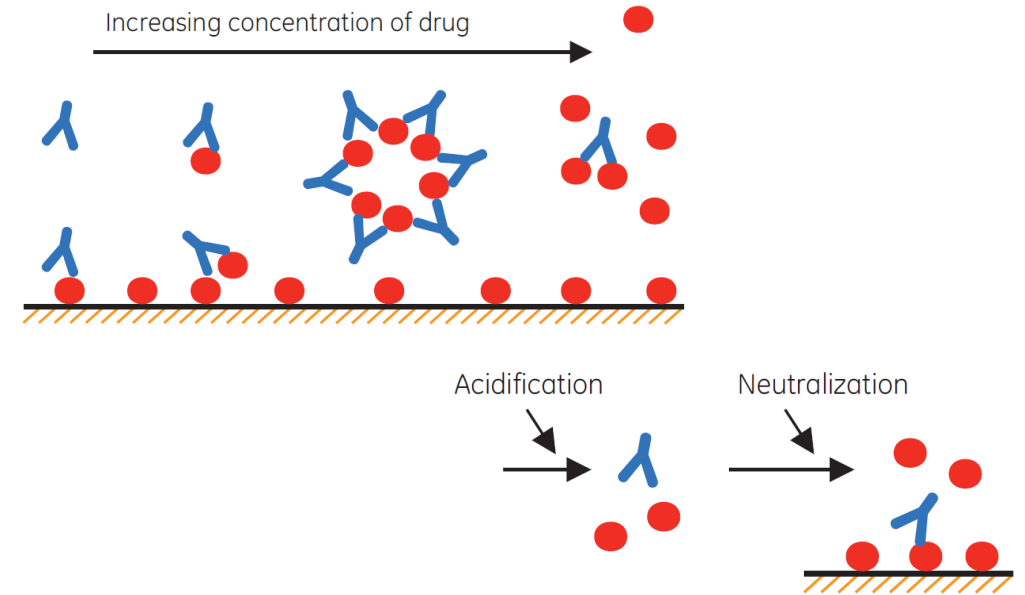
Merged Injections

	Min	Max		
Injection 1	4942	5475	(4000 to 9000 RU)	Pass
Injection 2	10993	13899	(9000 to 15000 RU)	Pass



マージの機能はいつ使う？

- Immunogenicity (免疫原性試験)
- 使わない場合は実施しなくてよい
- 実施しない場合、チェックボックスを外す



Mixing

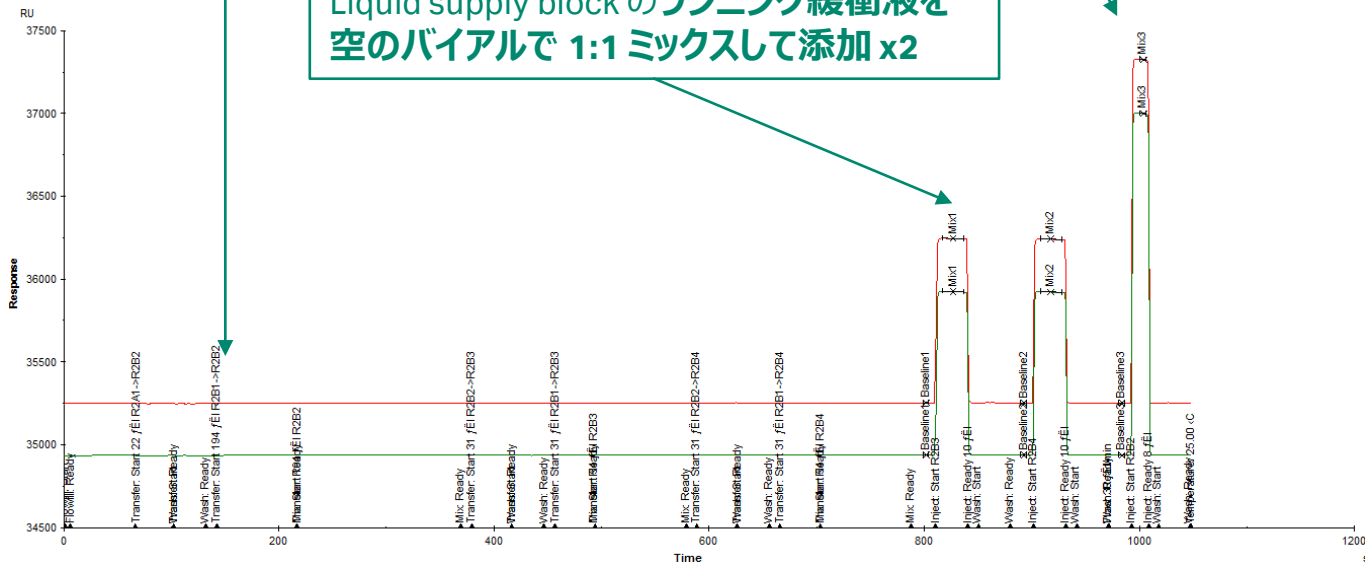
空のバイアルに 2 種類の溶液を正しく混合できているか？

Mixing			
Mix 1	47,8	(45,0 to 55,0 %)	Pass
Mix 2	47,7	(45,0 to 55,0 %)	Pass
Difference	0,2	(<=5,0 %)	Pass

HBS-EP+ や-N などの
ランニング緩衝液

ミックスせずそのまま添加
= レスポンス高がほぼ倍

バイアルにセットした test solution と
Liquid supply block のランニング緩衝液を
空のバイアルで 1:1 ミックスして添加 x2



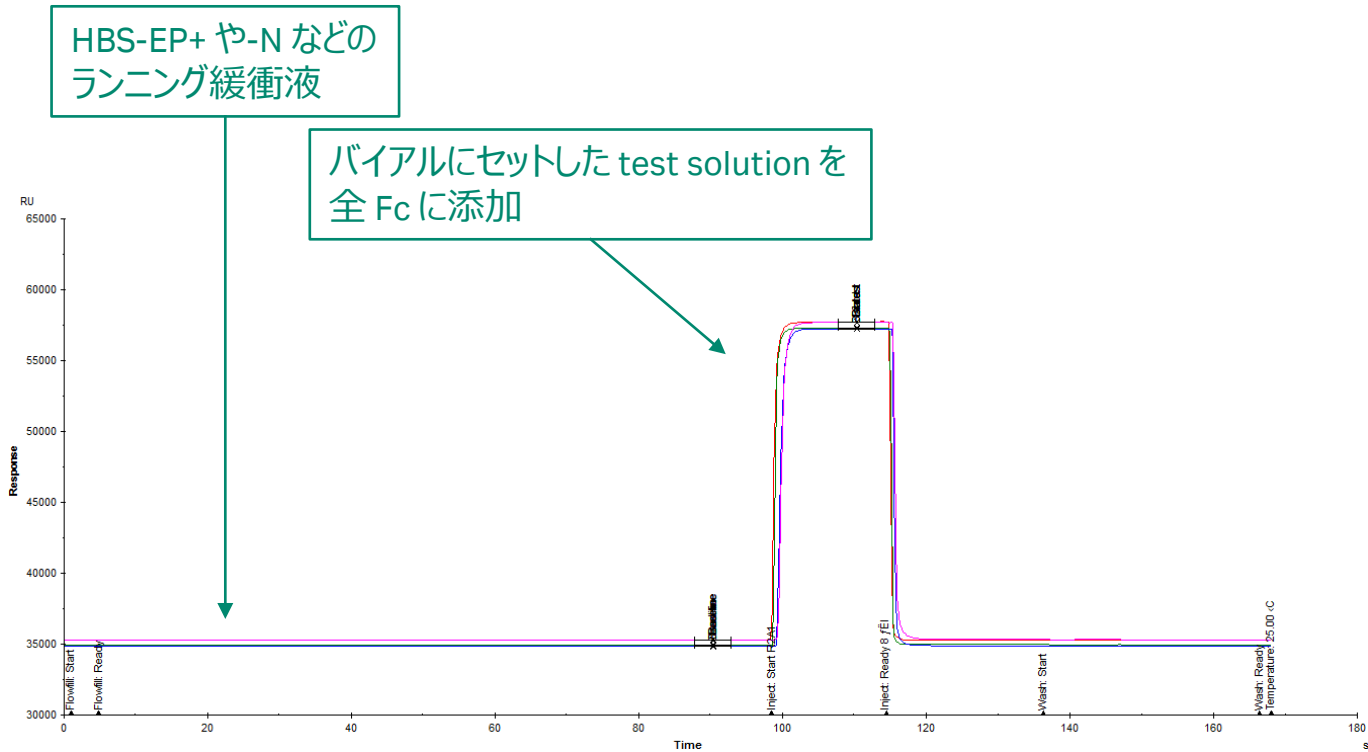
ミキシングの機能はいつ使う？

- Amine coupling の EDC/NHS 混合時など

Refractometer

各 Fc で既定のレスポンスが出ているか？ またバラつきは許容範囲内か？

Refractometer						
	Fc 1	Fc 2	Fc 3	Fc 4		
Biatest solution	22471	22343	22389	22387		(21400 to 23600 RU) Pass
Variation					128	(<=600 RU) Pass
Baseline level	35255	34939	34844	35303		
Variation					459	(<=3000 RU) Pass



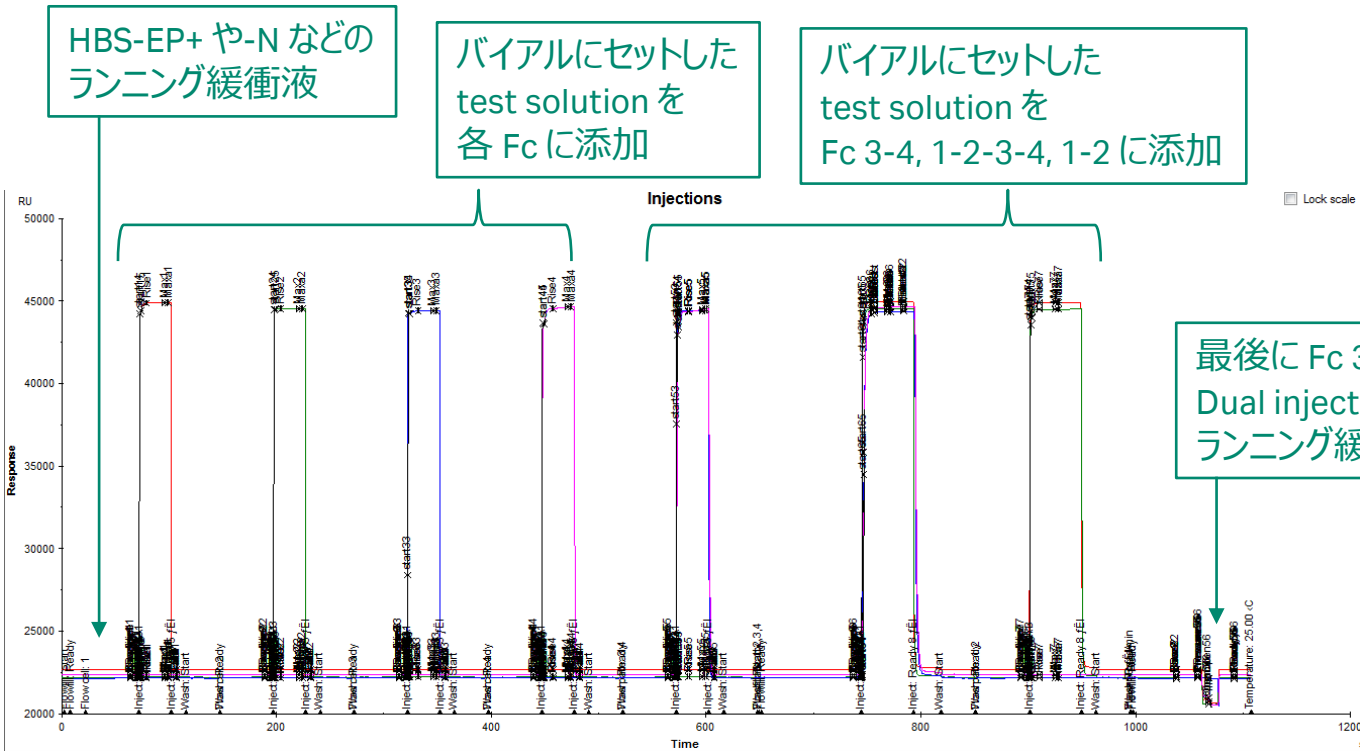
Injections

各 Fc でレスポンスは速やかに立ち上がる/落ちるか？ Fc 間でLeakageはないか？

Injections						
	Fc 1	Fc 2	Fc 3	Fc 4		
Rise	99	100	100	99	(>=90 %)	Pass
Fall	0	0	0	0	(<=5 %)	Pass
Leakage	5	11	14	8	(<=100 RU)	Pass
Colinject, first part			22381	22342	(21400 to 23600 RU)	Pass
Colinject, second part			-2052	-1952	(-2600 to -1400 RU)	Pass

Dual injection

1液を添加した後、ランニング緩衝液による wash を挟まずに2液目を連続添加する添加方法

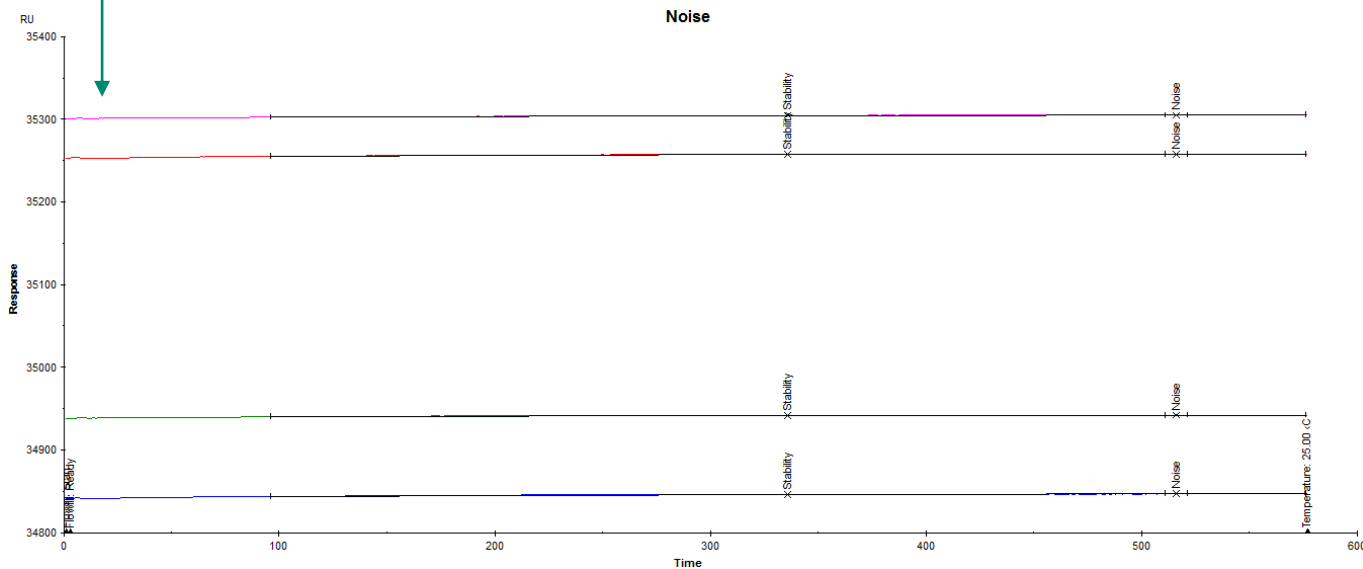


Noise

ショートタームおよびロングタームのノイズをチェック

Noise	Fc 1	Fc 2	Fc 3	Fc 4		
Short term	0,027	0,031	0,023	0,025	(<=0,050 RU)	Pass
Long term	0,005	0,004	0,006	0,005	(<=0,050 RU/s)	Pass

HBS-EP+ や-N などの
ランニング緩衝液



その他の見どころ

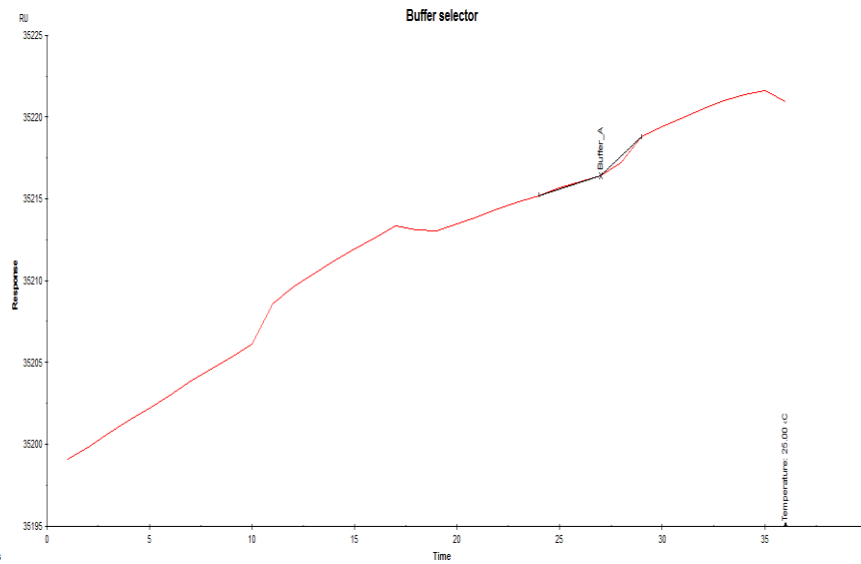
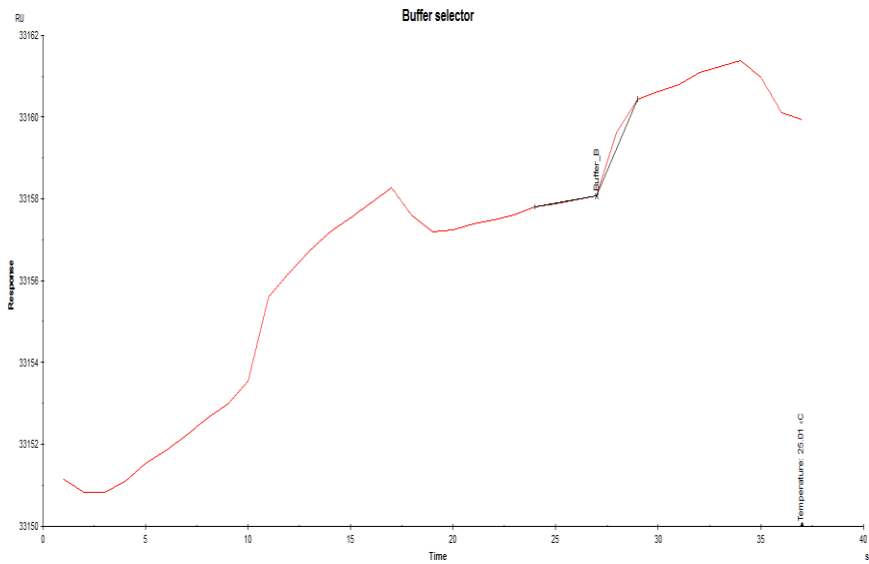
- コンプレッサーが動いていたら空気漏れの疑い
- コンプレッサーの動作は黒い三角形で確認 (Event markerといいます)

Buffer selector

A,B,C,D チューブの切り替えがうまくいっているか

Buffer selector

Buffer B	-2058	(-2600 to -1400 RU)	Pass
Buffer C	-2030	(-2600 to -1400 RU)	Pass
Buffer D	-2053	(-2600 to -1400 RU)	Pass



Aチューブ : Buffer
B,C,Dチューブ : 超純水

A→B、A→C、A→Dと切り替えて
レスポンスが低下すれば良い

4

ヘンなセンサーグラムが出た...
「装置の異常？」

トラブルシュート編

装置を正しく
使用しているか

- 決められた洗浄操作を実施しても異常か？
- バイアルやプレートにはキャップやフویل、セプタを使用しているか？
- ランニング緩衝液は新しいか？
- ニードルや Liquid supply blockは汚れていないか？

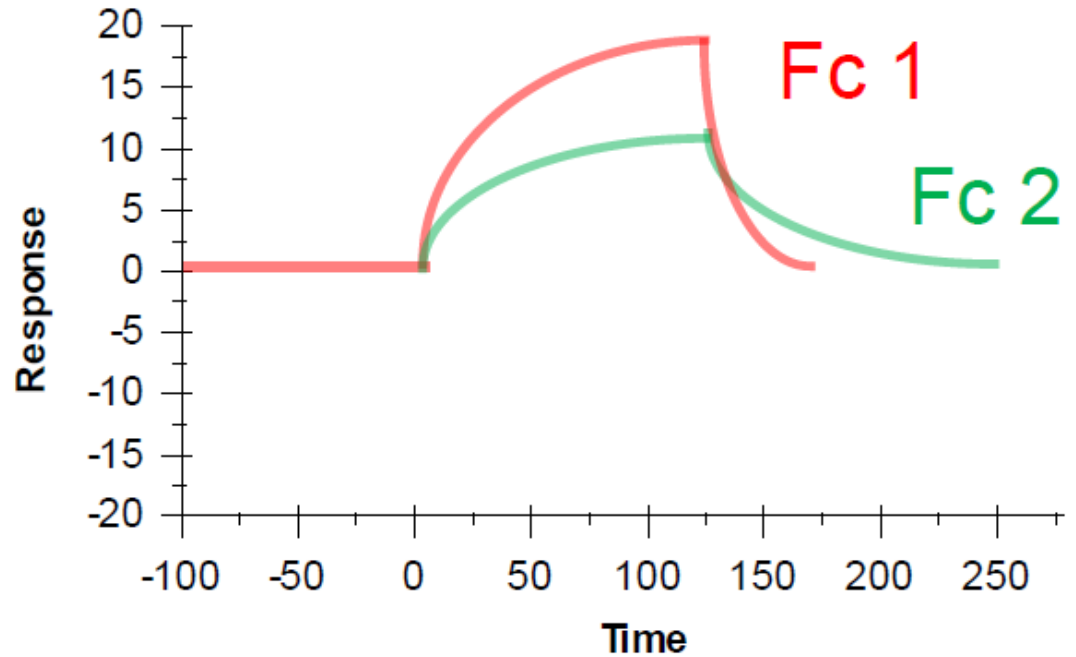
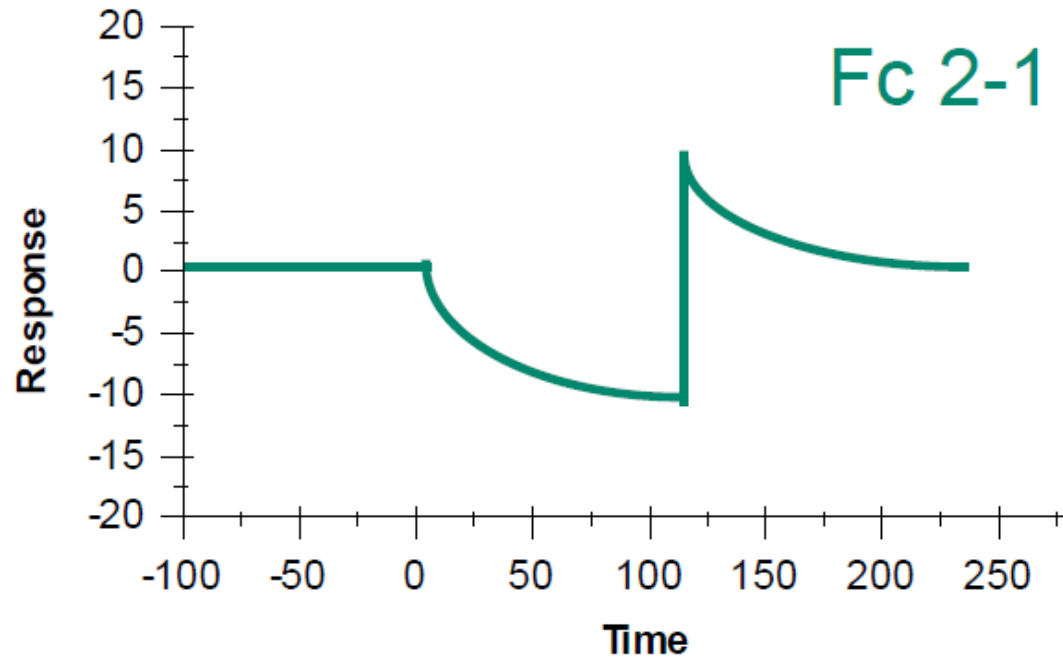
System
check

- PASSしているか？ → Fail なら連絡！
- 妙な挙動はないか？

測定条件
サンプル物性
(case by case)

- バッファー添加の系でも挙動がヘンか？
- リガンドの固定化にかかわる試薬の使用期限は？
(EDC、NHS)
- 新品のチップ：Conditioningは実施済みか？
- リユースチップ：テストサンプルで前回と同じ結果が得られているか？
- リガンドやアナライト：凍結融解を繰り返してないか？
時間経過で物性変化していないか？

【典型例①】センサーグラムが逆向き

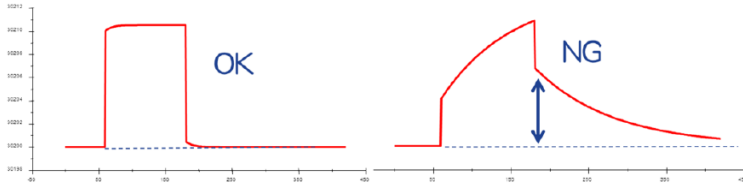


Reference cell のレスポンスを確認しましょう

- Reference cell に非特異的結合がある場合、正しい解析ができません！

【補足】(高分子の) 非特異的結合

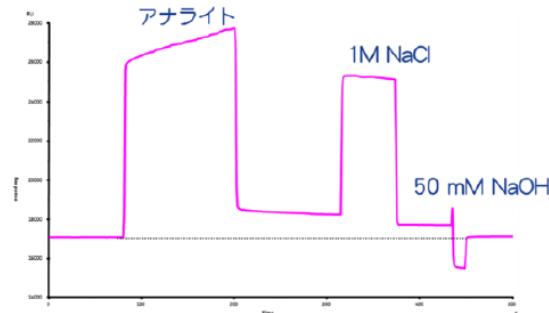
確認方法



Ref cell でアナライト添加後にベースラインが上昇していないこと

- Act cell で同様の非特異的結合が発生していることの証明は困難なので差し引きできない
- Ref cell には非特異的結合せず、Act cell のリガンド (およびキャプチャー分子) そのものに対して非特異的結合するサンプルもあるが、飽和するかどうか判断のポイントになる
- 一般的に非特異的結合はアナライト濃度が上がっても飽和しない

原因と対策

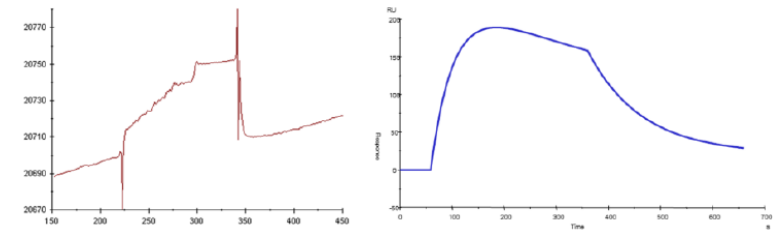


(Ref cell に) 各種試薬を添加して確認する

- 塩(~2M NaCl)で戻るならば静電的な結合の可能性高い→Blank blocking, CM4
- 酸、アルカリ溶液、界面活性剤で戻るならば疎水的結合やデキストランに対して結合している可能性が高い→界面活性剤変更, CM3 (C1, PEG)
- ランニング緩衝液の組成を見直す
- 夾雑物は除去か NSB Reducer

溶液効果と異形

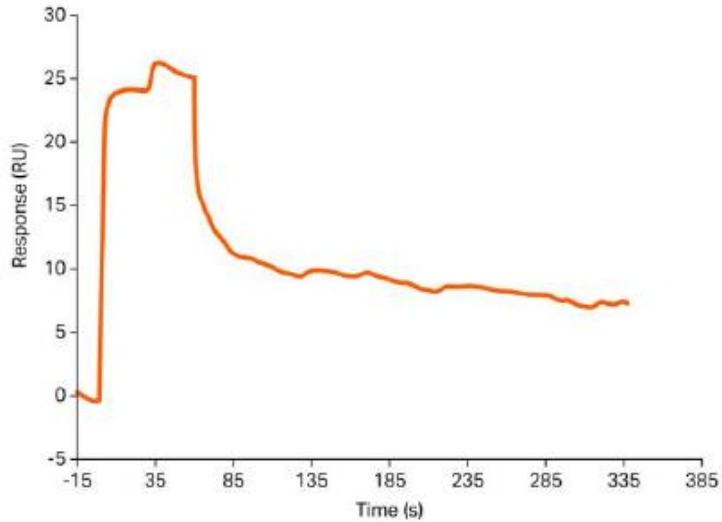
- グリセロールが入っている場合など大きな溶液効果が見られることがある
- 結合相と解離相で分子の拡散速度が変わるため k_a , k_d 算出の信頼性が低下する
- Ref cell と Act cell で同じ溶液効果が出ているとも限らない
→溶液置換する



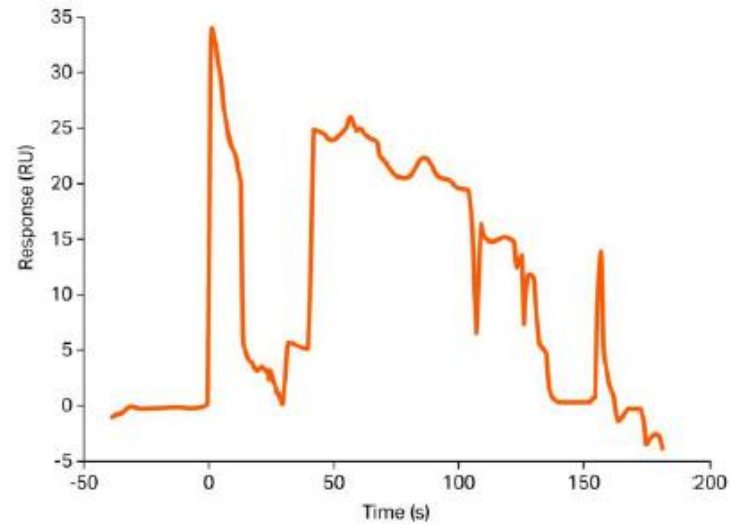
- ガタつき→不溶性、単分散していない、大粒子
- レスポンス低下→単分散していない

【典型例②】センサーグラムががたつく

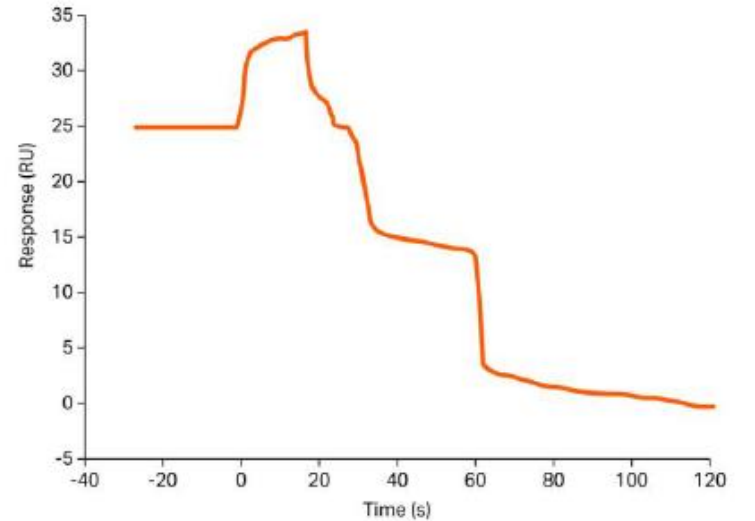
添加中にジャンプ：不溶物が通過



ガタガタ：システム全体が不溶物でコンタミ



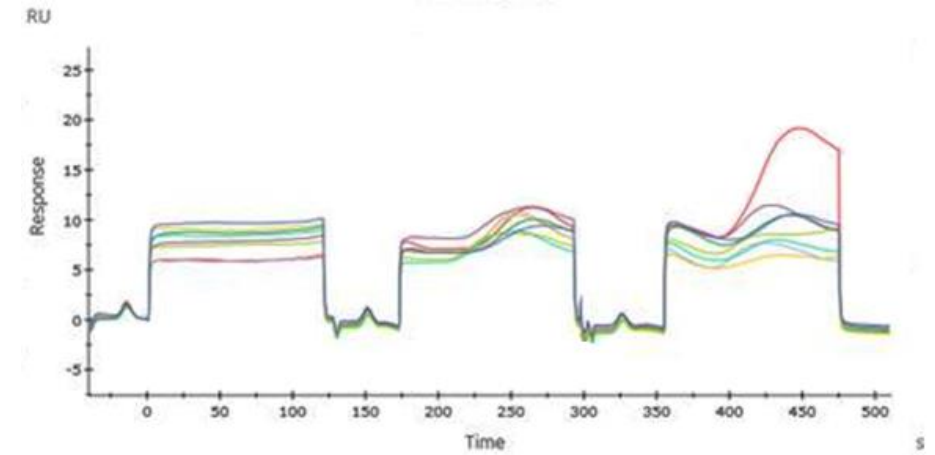
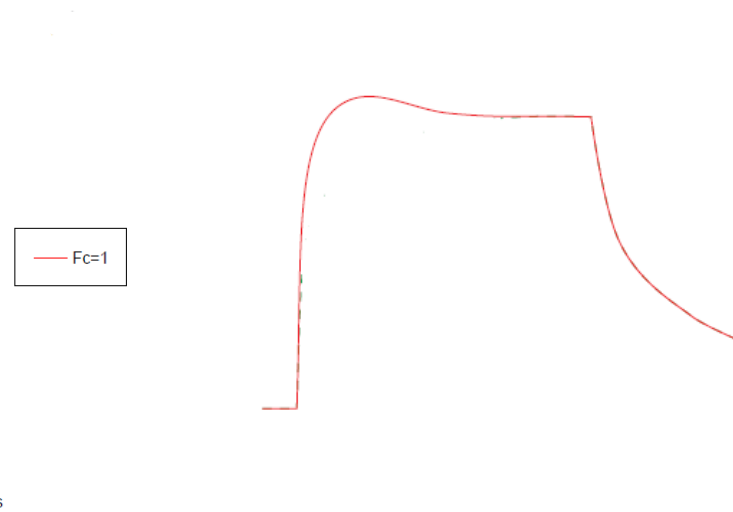
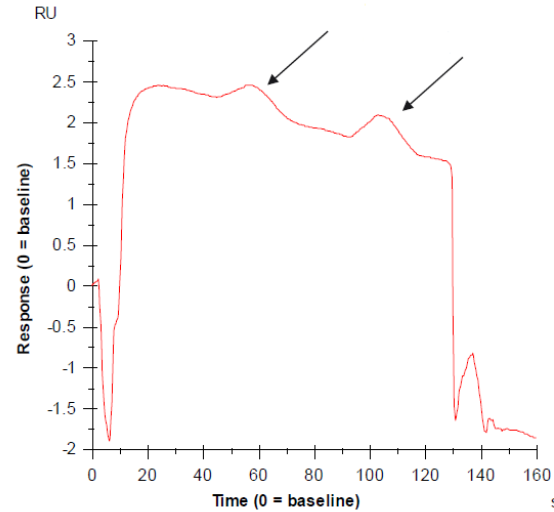
添加中に低下：不溶物が表面から脱落



ランニング緩衝液やサンプルの品質を確認しましょう

- ランニング緩衝液中に浮遊物はありませんか？（要時調製！）
- 溶解性の悪いサンプルではありませんか？（ソニケーターもあり）
- こういったセンサーグラムが出た後は Desorb & Sanitize を実施しましょう

【典型例③】ランニング緩衝液を添加しているだけでセンサーグラムが Wavy になる



界面活性剤かコンタミが原因かもしれません

- ランニング緩衝液が界面活性剤を含まない：添加を推奨
 - 流路に残存していた界面活性剤が剥離
 - 添加したくないなら Desorb & Sanitize 後にその緩衝液で一晩スタンバイ
- バイアルやプレートにはキャップ（セプタ）をする
 - プレートは pooling 設定するならセプタ必須（not foil）



まとめ

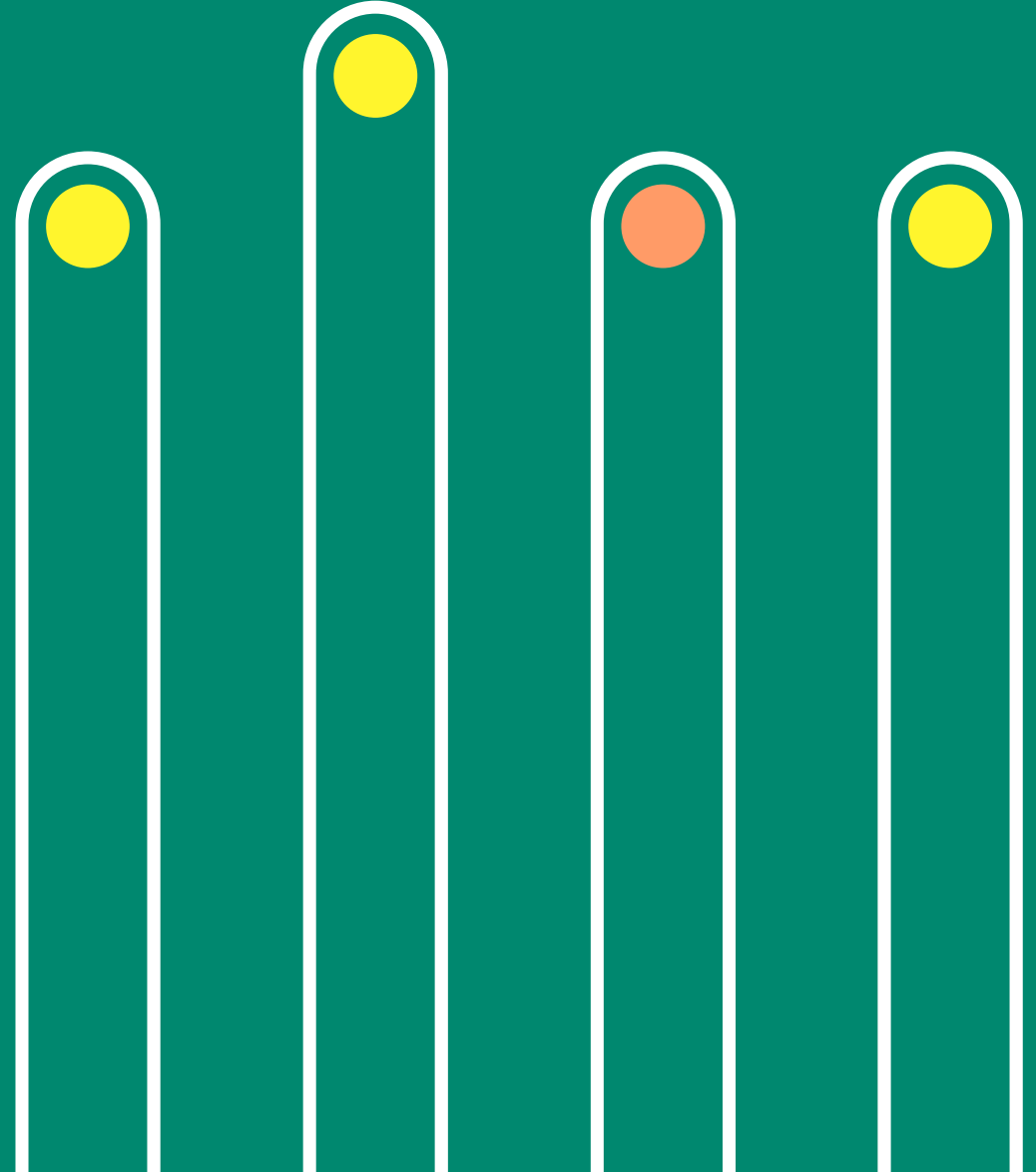
- + メンテナンスキットの構成、保守が何をサポートするか
- + 装置洗浄の際は使用済みチップあるいは Maintenance chip を使用
- + Desorb, Desorb & Sanitize の目的、頻度、操作、注意点
- + System check は何を確認しているか
- + ヘンなセンサーグラムが見られる場合の典型例
- + 装置や試薬に問題がなさそうならバイオダイレクトラインへ！ (tech-jp@cytiva.com)

正しい測定





Thank you



【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 内線#2をご選択ください

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2021年4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。

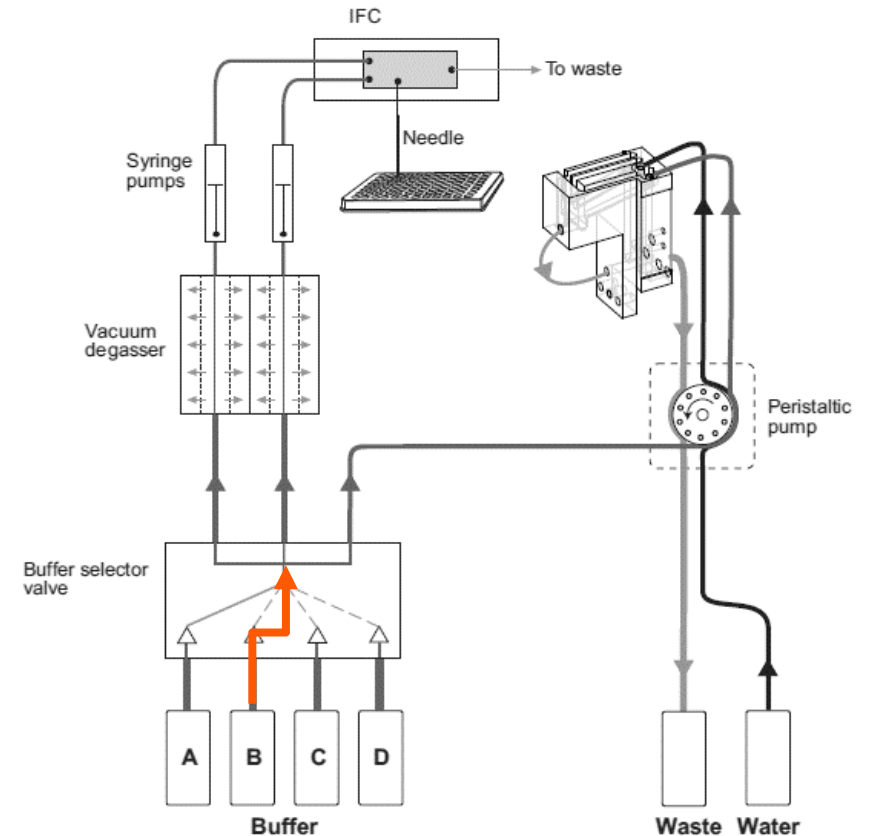
弊社は、資料の掲載内容の正確性を記すべく、情報を随時更新しておりますが全ての情報が最新であることを保証するものではありません。

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。

【補足】Desorb & Sanitize と SAチップ

Wash Buffer Tubing が有効

- Desorb & Sanitize の後、次亜塩素酸ナトリウム溶液は流路に残留します。残留成分はストレプトアビジンと反応してしまい、ビオチン標識サンプルの固定化量を減少させてしまいます。
- これは超純水では次亜塩素酸ナトリウムの活性を抑制できません。緩衝液を流すことで抑制させます。
- しかし緩衝液はAチューブしか流れません。T200 v3.2以前のシステムでは、Desorb & Sanitize ではB,C,Dチューブ全てに次亜塩素酸ナトリウム溶液が流れてしまいますので、例えばBチューブなら右図の部分で緩衝液が流れていないことになります（C,Dも同様）。なお、T200 v3.2以降はAチューブだけ洗浄するというプログラムが選べるようになっています。
- しばらく時間が経てば次亜塩素酸ナトリウムは有効塩素が分解されるためあまり問題になりませんが、「Desorb & Sanitize を実施した直後に、SAチップをドックし、B,C,Dチューブを使ってビオチン標識サンプルを固定化する」という条件においてトラブルが報告されています。
- Prime操作はAチューブのみの対応であり、PrimeではB,C,Dチューブだけにランニング緩衝液を流すことはできません。
- そこでWash buffer tubingというコマンドがありますので、SAチップを挿入する前に、メンテナンスチップにてこちらをご利用いただくことで解決いたします。





cytiva

Biacoreのメールマガジン“月刊Biacoreコンシェルジュ”のご案内

Biacore コンシェルジュ

Biacoreをとことん使いこなす！

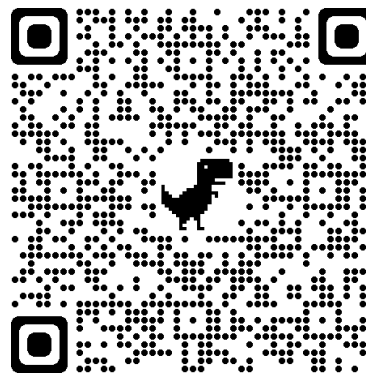
ための月刊メルマガ



- Biacoreの製品・ソフトウェアのアップデート情報
- 機器を使いこなしていただくためのTips、裏技
- ウェビナー、イベント等のご案内
- 頻出のお問合せとその回答
- Biacore関連の論文紹介

是非皆様お誘いあわせの上ご登録ください！

ご登録（無料）はこちらで検索か右のQRコードより



3月号サンプル

3月 & 4月 Biacoreウェビナー

Biacoreで粒子を測定する

3月はウイルスなどの粒子を測定する際の、レスポンスの解析方法についてご紹介いたします。

Date: 3/18 Thu

Time: 15:00~

Title: Biacoreで粒子を測定する

講師: Cytiva アプリケーションスペシャリスト 鯉沼 正美

[Learn More](#)

やっと分かった！

Biacore メンテナンスの方法と意味、トラブルシューティングまで

4月は安心して使っていただくためのBiacoreのメンテナンス方法をご紹介します。

Date: 4/22 Thu

Time: 15:00~

Title: やっと分かった！ Biacore メンテナンスの方法と意味、トラブルシューティングまで

講師: Cytiva アプリケーションスペシャリスト 鯉沼 正美

[Learn More](#)

Biacore™ Insight

Evaluation Software



Biacore共通解析ソフトウェアご存じですか？

Biacore 8K/8K+, T200(v2以降)、S200共通で使用、様々なお悩みを解決します。

- センサーグラムを含めたレポート作成が手間。
- 複数のPCIにデータが散在していて見つけるのが大変。
- 機種ごとに異なるソフトウェアを覚えるのが面倒。

論文紹介でとりあげたエピソードも、効率よく実施可能。

[LEARN MORE](#)

Tips・FAQs

5濃度+0濃度、n=2？

多くのBiacoreユーザーの皆様は、ka、kd測定の方法作成時にアナライズ濃度条件設定の上記ルールを外れると出るアラートを見たことがあると思います。何故こんなルールがあるのでしょうか。無視しても大丈夫でしょうか？

[Learn More](#)

論文紹介

Biacore論文第一号は？

1990年Biacoreを使用した論文第一号はエピソードマッピングでした。ノンヘルド分子間相互作用測定できる強みを生かし、多段階インジェクションで複数サイトに結合する分子を、連続モニターできることは画期的でした。

[Learn More](#)

【先着2,000名】

卓上カレンダープレゼント

記入しやすい紙質、大きな記入欄、年度にあわせて使える、毎年恒例、リピーター多数の「弊社特製卓上カレンダー」の2021年度版を、今年も先着2,000名様に無料プレゼント中です。

[Learn More](#)