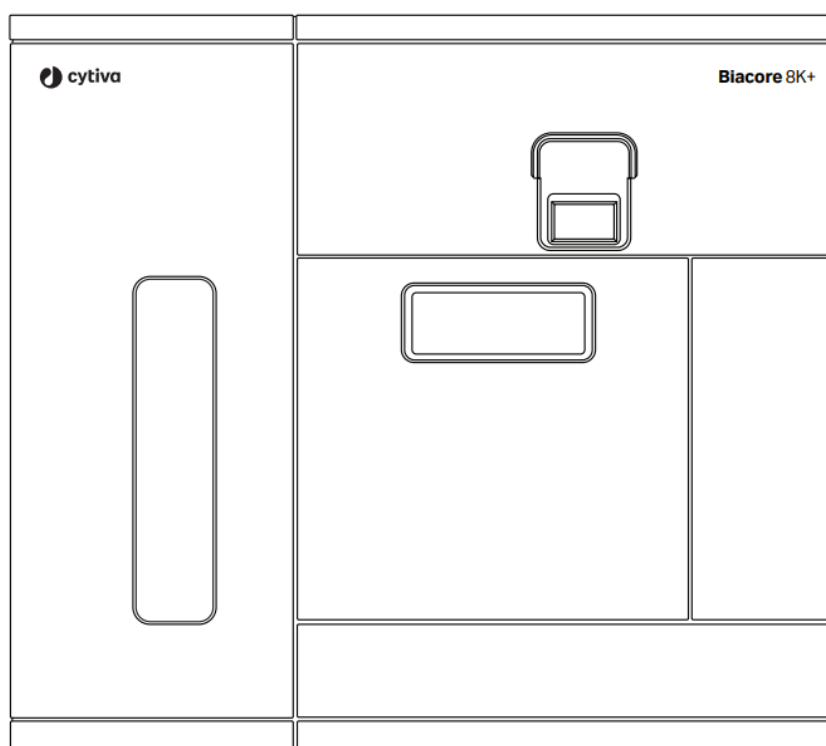


Biacore 8K/8K+

アプリケーション別操作手順書

タンパク質一般編

Ver.202108



重要

本日本語マニュアルは、Biacore の用途別の典型的**基本的操作**手順を記載しています。装置の規制対応、安全性注意事項、**使用するセンサーチップやキット個別の詳細条件設定等は**、[cytivalifesciences.com](https://www.cytivalifesciences.com) 内各製品の **Instruction For Use (IFU, 英語)** を併せてご参照ください。
(各製品ページ“Related Documents”よりダウンロード)

目次

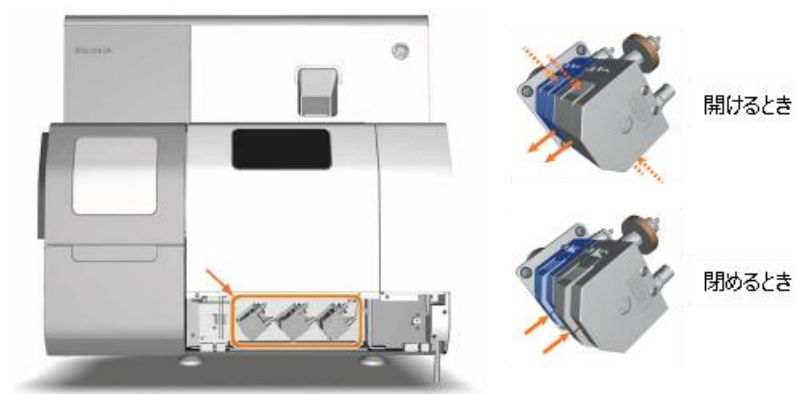
1. 実験を始めるまえに	3
1-1. システムの起動	3
1-2. 測定前の基本操作・設定	4
2. 基本操作.....	5
2-1. サンプルラックの取り扱い	5
2-2. 測定メソッド.....	6
3. 測定系のデザイン.....	7
3-1. 目的別の測定ワークフロー図	7
3-2. 典型的な目的別リガンド固定化法	7
3-3. 固定化法の大分類（直接法とキャプチャー法）	8
4. 抗体の目的別測定解析手順	8
4-1. センサーチップ CM5 への標的キャプチャー用抗体の固定化.....	8
4-2. 抗体のスクリーニング	9
4-3. 抗体のキャラクタリゼーション.....	16
5. メンテナンス・システムチェック・シャットダウン	23
5-1. メンテナンス	23
5-2. システムチェック.....	25
5-3. シャットダウン	27
6. 知っていると呼する TIPS.....	30

1. 実験を始めるまえに

1-1. システムの起動

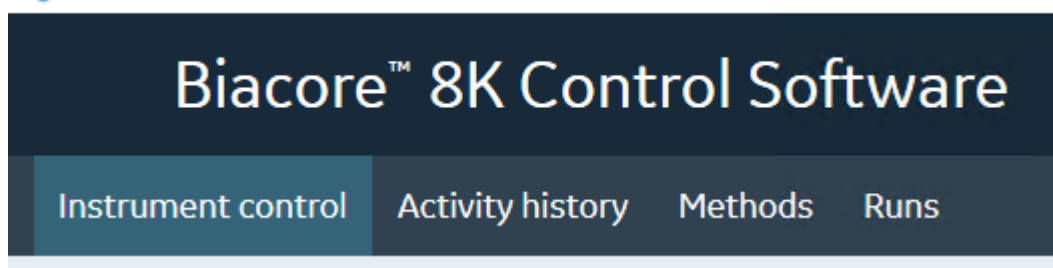
手順	操作項目	注意点
①	電源 On	・システム本体→PC の順
②	バッファ類のセット	・A ラインが main inlet tube
③	コントロールソフトウェアの起動	 Biacore 8K Control Software * 初期パスワードは、Biacore8K

ペリスタポンプは装置前面の下方のパネルの後にあります。システムを使用する場合は灰色（外側）と青色（内側）の両方のポンプクランプを閉じてください。



Biacore 8K Control Software のインターフェースは 4 つのワークスペースから構成されています。

 Biacore 8K Control Software



1-2. 測定前の基本操作・設定

Instrument Control タブをクリック。

手順	操作項目	注意点
①	センサーチップのドック	Change Chip からセンサーチップポートを開ける。  Change chip
②	ランニングバッファーによる平衡化	 Change solutions
③	温度設定	Flow cell / Sample Compartment それぞれ設定可能。  Set flow cell temperature  Set sample compartment temperature

センサーチップのドック手順



Change chip

New chip
Existing chip

☐ Run Change solutions when dock is completed

Dock chip

Type

▼

Id

11/17/2016 6:05:00 PM

Lot number

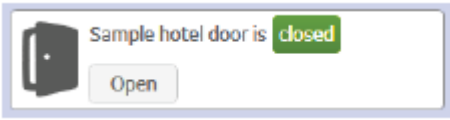
Dock chip

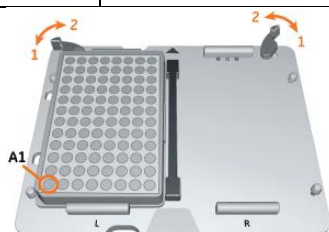
Open chip door

- Open Chip Door をクリック
- センサーチップをセット
- センサーチップの Type を選択
- Dock Chip をクリック

2. 基本操作

2-1. サンプルラックの取り扱い

手順	操作項目	注意点
①	ラックトレイの出し入れ	- 画面右下 Sample hotel door を押す  - ドアが開いてサンプルトレイがセットできます。
②	対応プレート	下図



96/384 プレートが 2 枚ずつセットできるサンプルトレイが、8K で 2 枚、8K+で 6 枚セットできます。図のようにロッキングレバーを操作してセットします。

Microplate type	Microplate	Foil	Septa	Plate height (mm)
96-well, normal, U-bottom, polypropylene	Microplate 96-well, 650201, Greiner	A	B ¹	15
96-well, deep-well, V-bottom, polypropylene, 650 µL	Microplate 96-well, 786201, Greiner	A	B ¹	27
96-well, deep-well, U-bottom, polypropylene, 1 mL	Microplate 96-well, 780201, Greiner	A	B	42
96-well, deep-well, U-bottom, polypropylene, 2 mL	Microplate 96-well, 219020, Porvair	A	B	44
384-well, normal, flat bottom, polystyrene	Microplate 384-well, BR100505, GE 100-pack	C	-	14
384-well, V-bottom, polypropylene	Microplate 384-well, 781280, Greiner	C	-	14
384-well, deep-well, V-bottom, polypropylene	Microplate 384-well, 781270, Greiner	C	-	22
96-well, standard, polystyrene, U-bottom	Microplate 96-well, BR100503, GE 100-pack	A	B ¹	14
96-well, standard, polystyrene, U-bottom	96-well Microplate and Foil, BR100383, GE 50-pack, aluminum foils for 48 wells (perforated for 6 strips for 8 wells each)	-	-	14

Foil/Septa

- A Microplate Foil (96-well), 28975816, GE, 100-pack, plastic foil
 B Microplate Septa (96 well), 29192561, GE, 10-pack, plastic/elastomer cover
 C Microplate Foil (384-well), BR100577, GE, 100-pack, plastic foil

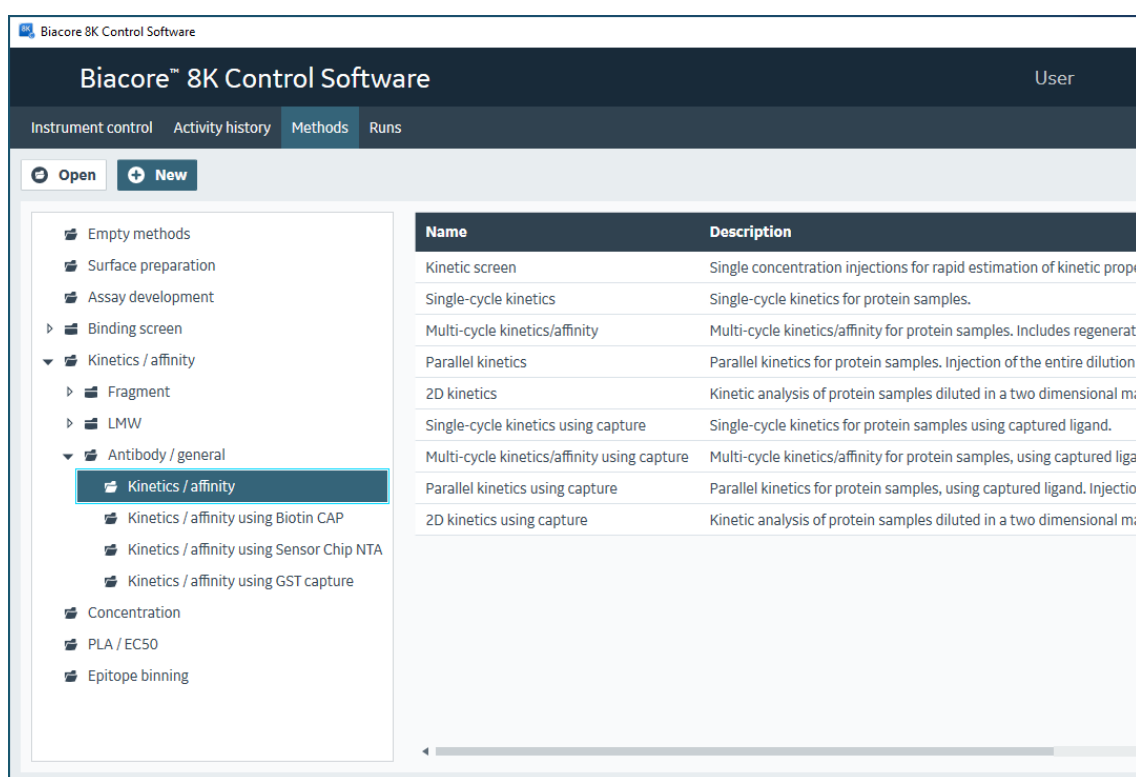
対応可能なプレートおよびプレートシール（Foil/Septa）。有機溶媒を使用する時は、ポリプロピレン製プレートをを用います。サンプルの Pooling には Septa が必要です。

2-2. 測定メソッド

Instrument Control タブよりメソッド作成・編集をはじめます。

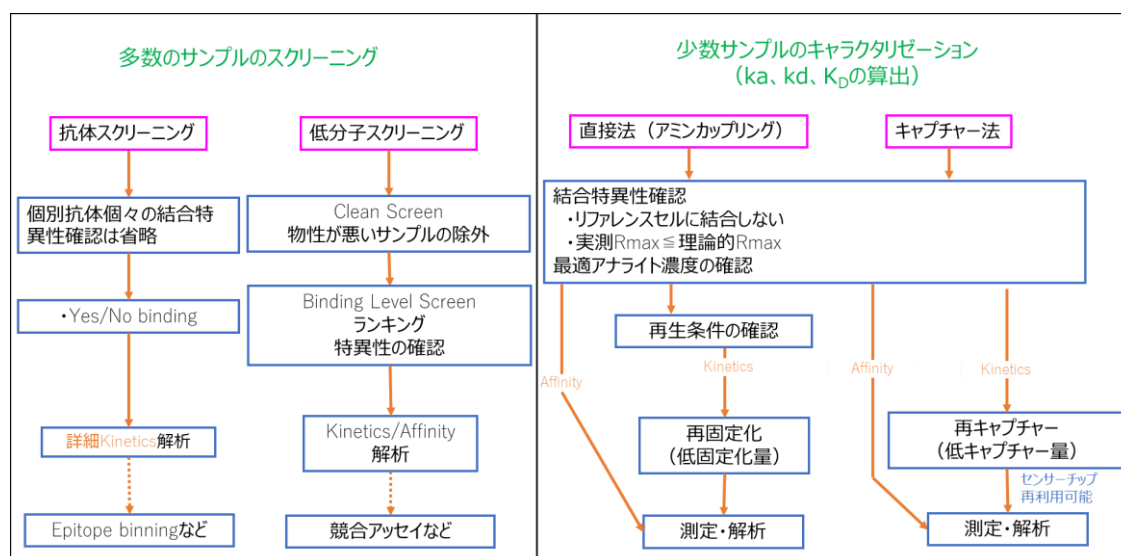
手順	操作項目	注意点
①	新規メソッドの作成	 New method
②	既存メソッド編集	 Open method

New Method の選択で Method タブ画面へ。プリセットされた各種メソッドテンプレート選択が可能。



3. 測定系のデザイン

3-1. 目的別の測定ワークフロー図



3-2. 典型的な目的別リガンド固定化法

サンプル	スクリーニング	キャラクタライゼーション (ka, kd, KD算出のため)
抗体	各種抗体Capture kit Sensor Chip Protein A / Protein G	各種抗体Capture kit Sensor Chip Protein A / Protein G
低分子	Sensor Chip NA/SA	Biotin CAPture kit Sensor Chip NA/SA
その他	各種 Capture kit Amine Coupling Kit	Biotin CAPture kit 各種 Capture kit Amine Coupling Kit

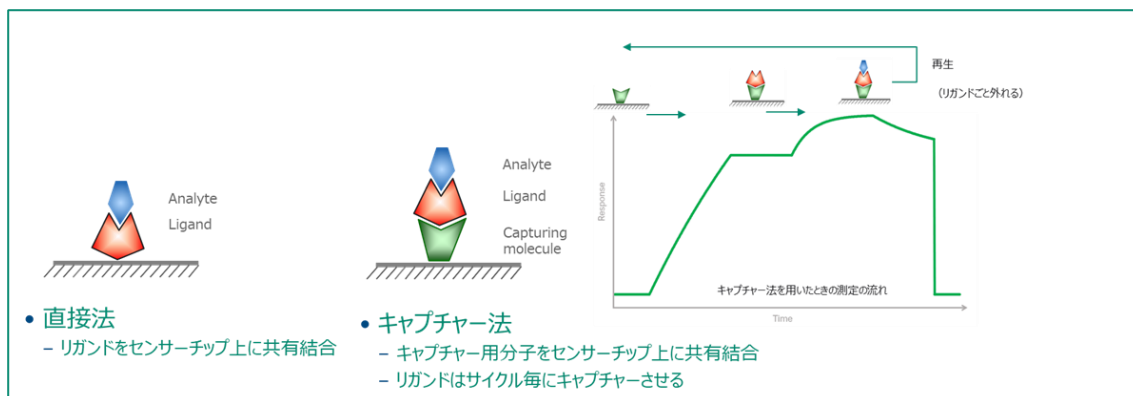
各種 Capture kit の固定化⇒ **4-1 参照**

スクリーニング⇒ **4-2 参照**

Biotin CAPture kit を用いたキャラクタリゼーション⇒ **4-3 参照**

Amine Coupling を用いた固定化 (一般的にタンパク質変性リスクがやや高い) ⇒ **6-1 参照**

3-3. 固定化法の大分類（直接法とキャプチャー法）



	直接法（アミンカップリング）	キャプチャー法
Pros	古典的方法。 キャプチャー法でCapturing moleculeの固定化にもよく使われる。→ アミンカップリングのページ参照。 参照論文が多い。 リガンドの消費量が少ない。	固定化によるリガンドの失活リスクがほとんどない。 再生条件の検討不要。 → 実験成功の確実性。
Cons	アナライトを剥がす再生条件の検討が必要。見つけれないケースがある。 リガンドの固定化時の酸に伴う変性。 → 実験成功の不確実性。	固定化量が比較的少ない（多くの場合問題ない）。 リガンドの消費量が多い。 リガンドのタグに依存。→Biotin化は汎用性が高い。 Hisタグの場合、キャプチャー後のベースラインドリフトが問題になることがある。

4. 目的別測定解析手順

4-1. センサーチップ[®] CM5 への標的キャプチャー用抗体の固定化

A. 手順概略

手順	操作項目	参照
①	センサーチップの選択	
②	Method を用いた固定化	キャプチャー用抗体は Fc1 と Fc2 の両方に固定化します (Immobilize in に、Fc1 and Fc2 series を選択) 6-1 参照

B. 準備する試薬・サンプル

各センサーチップの Instruction For Use (IFU)を併せてご参照ください

4-2. スクリーニング

結合の有無を確認、ランキングなどを行う場合に実施します。

主に、His Capture Kit を使用した例で説明します。

A. スクリーニング測定を始める前に

①	ポジティブコントロールを用いた標的タンパク質の特異的結合の確認 (6-9 参照)
②	• Method による General Screen • 抗体を、結合レスポンスの高さで選出する

B. 準備する試薬・サンプル

	操作項目	用途、備考
必須	ランニングバッファー	メソッド作成時の画面から必要量を確認。加えて自動測定後の standby flow での放置時間分として 65ml/24hr
必須	リガンド溶液	
必須	アナライト溶液	選出したいアフィニティー基準を目安に添加濃度を設定
オプション	ポジティブコントロール	有れば必須。リガンド標的分子の活性確認や Control Adjustment 補正用として (4-2D⑤参照)
オプション	ネガティブコントロール	Control Adjustment 補正用 (4-2D⑤参照)

C. メソッドの作成

Method タブの New より、Binding Screen→Antibody/General→General Screen→Open

手順	操作項目	注意点・説明
①	Method definition	メソッドの動作内容決定
②	Variable and positioning	• Variable にチェックを入れた項目の値の入力 • サンプル配置の決定 (6-8 参照)
③	Cycle overview	全サイクルのステップ、サンプル、ポジションの確認
④	Plate layout	マイクロプレートのサンプルポジションの確認
⑤	Send to queue	Activity queue に追加 (動作開始の予約)
⑥	Method の保存	 上書き保存  別名保存

Biacore 8K Control Software



①～⑥の順番で Method の作成を進める。

Method definition の設定

手順	操作項目	注意点・説明
①	Data Correction rate	スクリーニングは、通常 1 Hz
②	Concentration Unit	アナライト濃度の単位
③	Running buffer	バッファ名称入力
④	Step	下図の場合、Start up → Analysis Control 最初/24cycle 毎/最後 (4-2D⑤参照) * 必要に応じて各タブを選択して編集

Method definition / 各 Command の設定

手順	操作項目	注意点・説明
①	各 Command の選択	下図では Analyte→Regeneration ・Analyte : アナライト添加 Contact Time／Dissociation time : 要検討 (6-2 参照) ／Flow rate : 30 µl/min.以上 ・His-Capture kit の場合、付属の Glycine-HCl pH 1.5 を 60 秒
②	添加条件	サンプル名、添加時間、解離時間、流速、濃度、分子量など * Variable : サンプル名、分子量など Cycle 毎に異なるもの

捕捉：Capture の追加

His Capture kit などのキャプチャー法の場合、Aalyte の前に Capture を追加します。

手順	操作項目	注意点・説明
①	Add Command	Add Command→Capture を選択。Command の先頭へドラッグ
②	Flow Path	Flow cell 2 を選択
③	添加条件	サンプル名、添加時間、解離時間、流速、濃度、分子量など His Capture Kit の場合、 Contact Time：60-180 秒／Flow late：10 μ l/min.

手順	操作項目	注意点・説明
①	各 Command の選択	下図では Capture→Analyte→Regeneration ・Capture：抗体添加 Contact Time：60-180 秒／Flow late：10 μ l/min. ・Analyte：抗原添加 Contact Time：60-120 秒／Dissociation time：120-180 秒 ／Flow late：30 μ l/min.以上 ・Regeneration：各 Kit や Sensor Chip の IFU 参照
②	添加条件	サンプル名、添加時間、解離時間、流速、濃度、分子量など ＊ Variable：サンプル名、分子量など Cycle 毎に異なるもの

The screenshot shows the software interface for adding a command. The 'Add command' dropdown menu is highlighted with a red circle and arrow labeled ①. The 'Property' table has a bracket labeled ③ pointing to the 'Variable' column. The 'Flow path' section has a radio button labeled 'flow cell 2' selected, with a red circle and arrow labeled ② pointing to it.

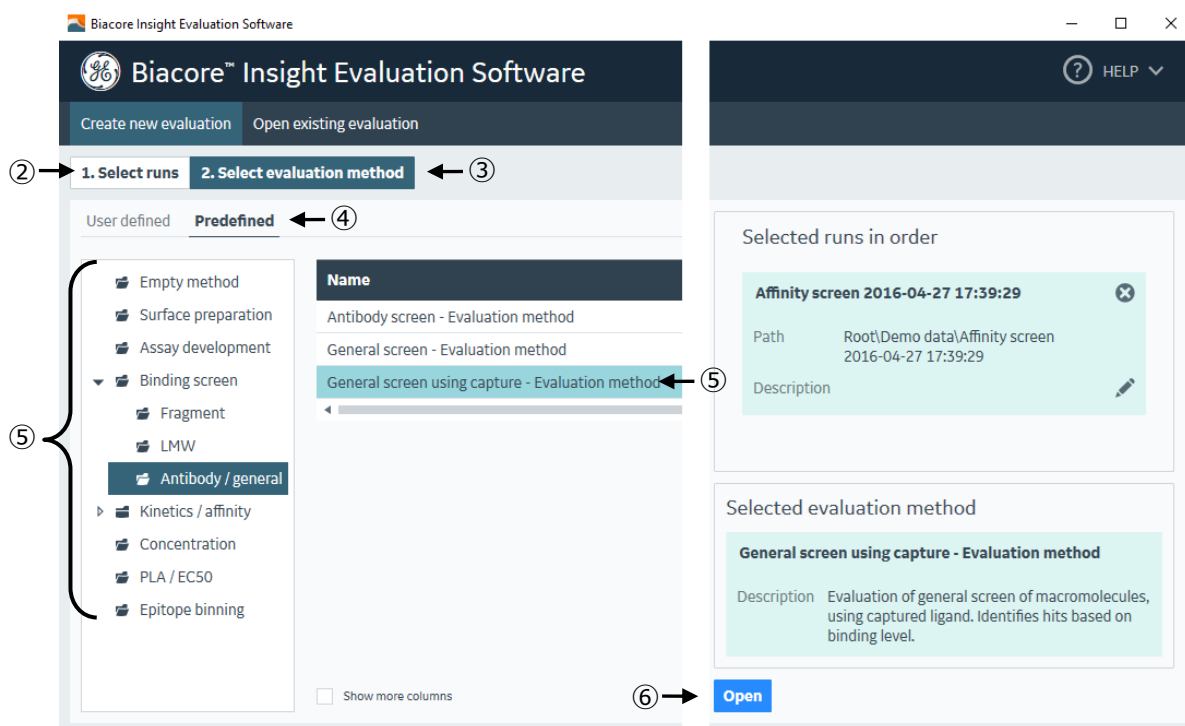
Property	Variable	Value
Solution	☐	His Ab
Contact time	☐	60 s
Flow rate	☐	10 μ l/min
Concentration	☐	nM
Molecular weight	☐	Da

Flow path: ☐ both flow cells ☐ flow cell 1 ☒ flow cell 2

Comment:

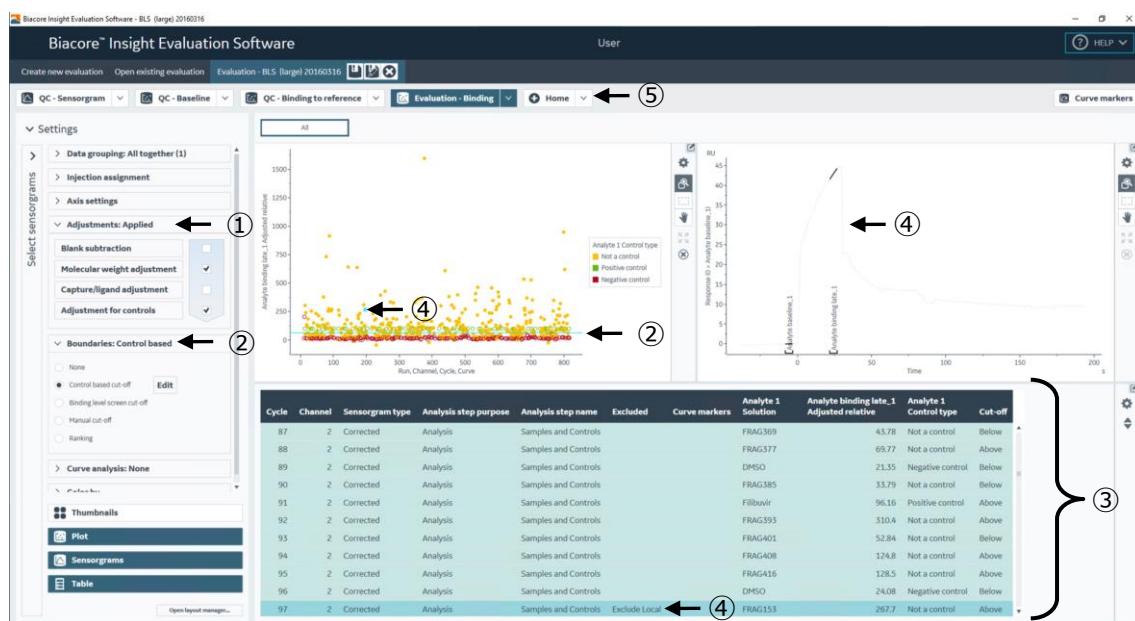
D. スクリーニングプロットのデータプロセッシングと解析

手順	操作項目	注意点・説明
①	解析ソフト起動	 解析ソフト Insight Evaluation software 起動
②	Select runs	解析を実施する RUN ファイルの選択。
③	Select evaluation method	解析を実行する Method の選択
④	Predefined	プリセットされた解析 Method の選択 * 編集・保存済みの Method は User defined より選択
⑤	Method の選択	解析内容、解析対象に合わせて Method を選択 下図では General screen using capture（キャプチャー法を使用したタンパク質一般のスクリーニング）
⑥	Open	選択した Method の実行

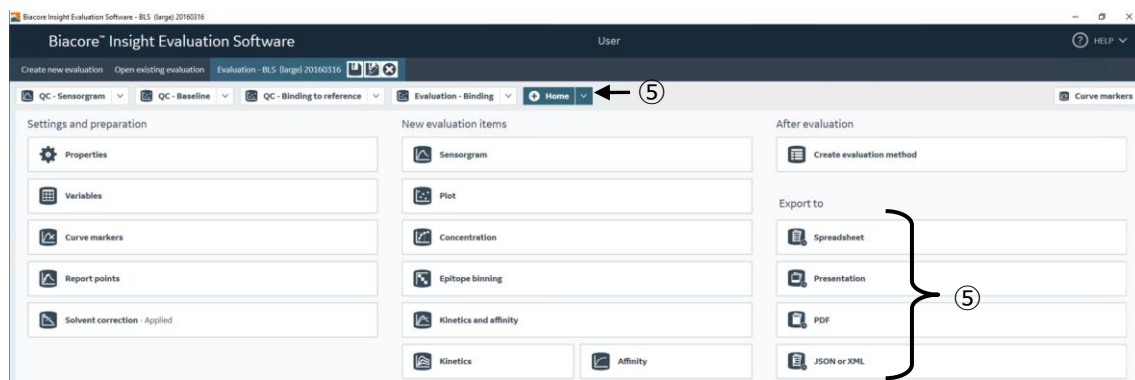


データプロセッシング Evaluation - Binding

手順	操作項目	注意点・説明
①	Adjustment	- キャプチャーレベル、コントロールサンプルなどによるデータ補正 ・下記補足 Adjustment/Boundaries 参照
②	Boundaries	- Cut-Off、Ranking などの設定。下図では、Negative Control の 3SD で Cut-off を設定。Plot 上に Threshold 表示。 ・下記補足 Adjustment/Boundaries 参照
③	Table	サンプル名、レスポンス（RU）、Cut-Off、Ranking などの結果を表示。
④	データの Exclude	選択（水色）したプロットのセンサーグラム形状を確認。除外すべきデータは右クリックから Exclude。 Exclude Global：全ての Evaluation items から該当のデータを除外。 Exclude Local：現在開いている Evaluation item から該当のデータが除外。
⑤	結果の Export	データプロセッシングを経たデータを Excel、パワーポイント、PDF でエクスポート。 Home → Export to



結果の Export



補足：Adjustment/Boundaries

各種補正ボタン・タブ	設定項目	説明
Blank Subtraction		ブランク（0 濃度）レスポンスの差し引き
	Blank	ネガティブコントロール、または、サンプルのゼロ濃度（Sample Conc=0）から選択
	Subtraction settings	差し引き方法をプルダウンメニューから選択
Molecular Weight Adjustment	-	各プロットレスポンスを分子量でノーマライズ $100 \times \text{レスポンス (RU)} / \text{分子量 (Da)}$ プロットの Y 軸の単位：100 × RU / Da
Capture/ligand Adjustment		各プロットレスポンスをキャプチャー量でノーマライズ。抗体スクリーニングで良く使用される。
Adjustment For Controls	Positive control	リガンドのサイクル（時間）経過後の結合活性の低下によるレスポンスの下降をノーマライズ 下記補足 Adjustment for controls 参照
	Negative control	下記補足 Negative control, Blank の違いと設定例参照
	Positive/Negative control Fit	Fitting 方法の選択 Linear: $Y = aX + b$ を適用 Polynomial: $Y = aX^2 + bX + c$ を適用
Ranking/Cut-off		
	Ranking	複数の Threshold を設定。各ランキングに属するデータを返す。Table 中に Ranking Value を表示
	Cut-Off	単一の Threshold を設定。各ランキングを属するデータを返す。Table 中に above/below cut-off を表示

補足：Negative control, Blank の違いと設定例

項目	説明
Negative control	特異的結合が無いと想定されるサンプル ⇒Table における分子量と濃度値は 0 でない。
Blank	濃度 0 のサンプル ⇒解析時、サンプル名に依存せずに選択できる。

Biacore Insight Evaluation Software - BLS (large) 20160316

Biacore™ Insight Evaluation Software User

Create new evaluation Open existing evaluation Evaluation - BLS (large) 20160316

QC - Sensorgram QC - Baseline QC - Binding to reference Evaluation - Binding Home Variables

Run number Concentration unit

1 μ M

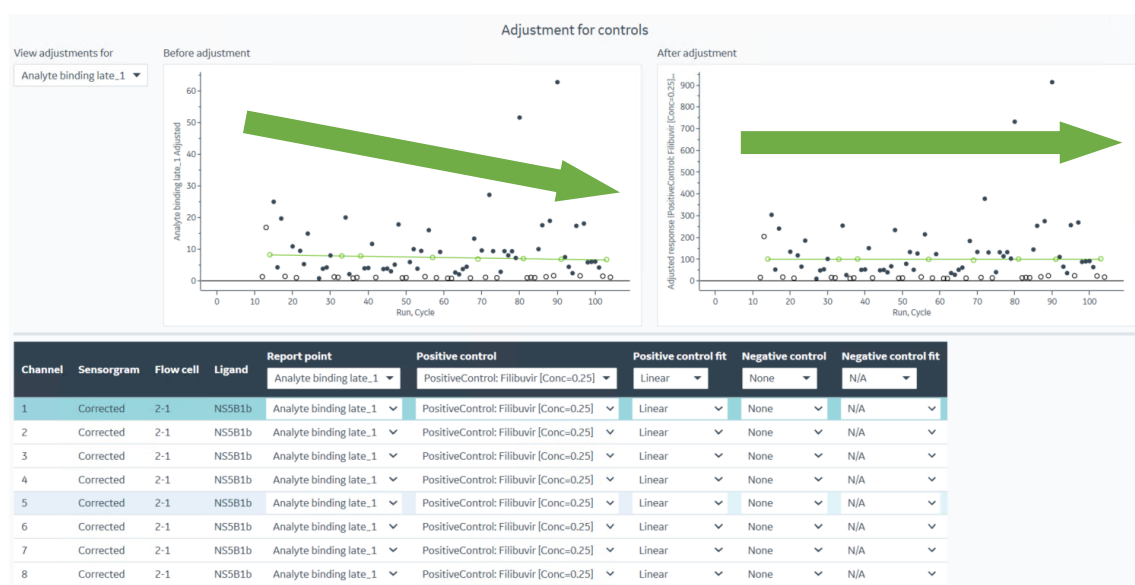
Cycle	Channel	Analysis step purpose	Analysis step name	Analyte Solution	Analyte Concentration	Analyte Contact time	Analyte Dissociation time	Analyte Flow rate	Analyte Molecular weight
55	5	Analysis	Samples and Controls	DMSO		12	30	187	
55	6	Analysis	Samples and Controls	DMSO		12	30	187	
55	7	Analysis	Samples and Controls	DMSO		12	30	187	
55	8	Analysis	Samples and Controls	DMSO		12	30	187	
56	1	Analysis	Samples and Controls	FRAG227		12	30	176	
56	2	Analysis	Samples and Controls	DMSO		12	30	187	
56	3	Analysis	Samples and Controls	FRAG228	1000	12	30	149	
56	4	Analysis	Samples and Controls	FRAG229	1000	12	30	226	
56	5	Analysis	Samples and Controls	FRAG230	1000	12	30	201	
56	6	Analysis	Samples and Controls	FRAG231	1000	12	30	176	
56	7	Analysis	Samples and Controls	FRAG232	1000	12	30	123	
56	8	Analysis	Samples and Controls	FRAG233	1000	12	30	194	
57	1	Analysis	Samples and Controls	Filibuvir	0.25	60	600	30	504
57	2	Analysis	Samples and Controls	Filibuvir	0.25	60	600	30	504
57	3	Analysis	Samples and Controls	Filibuvir	0.25	60	600	30	504
57	4	Analysis	Samples and Controls	Filibuvir	0.25	60	600	30	504
57	5	Analysis	Samples and Controls	Filibuvir	0.25	60	600	30	504
57	6	Analysis	Samples and Controls	Filibuvir	0.25	60	600	30	504
57	7	Analysis	Samples and Controls	Filibuvir	0.25	60	600	30	504
57	8	Analysis	Samples and Controls	Filibuvir	0.25	60	600	30	504
58	1	Analysis	Samples and Controls	DMSO	1000	12	30	187	

Apply and close Cancel

Home → Variables より、 をクリックすると、各サンプルの目的が記録されています。

補足：Adjustment for controls

ポジティブコントロールの減衰（＝標的タンパク質の活性の減衰）を、ノーマライズする。



4-3. キャラクタリゼーション

主に、Biotin Capture Kit を使用した例で説明します。

A. キャラクタリゼーション測定を始める前に

A-1.	アナライトの添加濃度・時間の設定 (6-2 参照)
A-2.	適切なメソッドの検討 (下表参照)

A-1

アナライトの添加濃度・時間の設定 6-2 参照

A-2

センサーチップ／キット	用途
Biotin CAPture Kit	• Biotin タグ付き、Biotin 修飾が可能 (6-4 参照) • 固定化ステップが不要
• Sensor Chip NTA • Sensor Chip CM5 + His Capture kit	• His タグ付き • Sensor Chip NTA は固定化ステップが不要 • アナライトが NTA へ非特異結合する場合 Sensor Chip CM5 + His Capture kit
Sensor Chip CM5 + GST Capture kit	GST タグ付き
Sensor Chip CM5	アミンカップリングによる直接法 (6-1 参照)

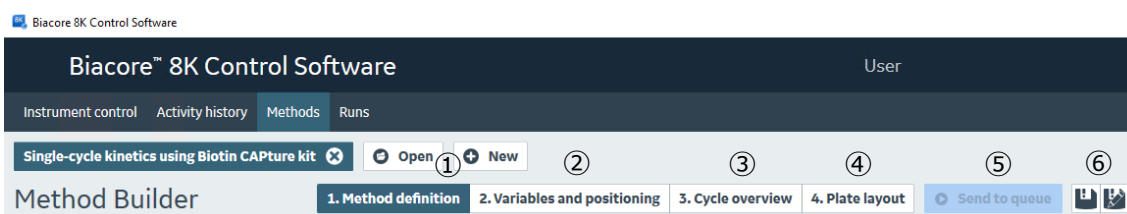
B. 準備する試薬・サンプル (Biotin Capture Kit を使用する場合)

	操作項目	用途、備考
必須	Biotin CAPture Kit	
必須	リガンド溶液	
必須	ランニングバッファー	メソッド作成時の画面から必要量を確認。加えて自動測定後の stanby flow での放置時間分として 260 ml/24 hr
必須	アナライト溶液	

C. メソッドの作成

Method タブの New より、Kinetics / affinity→Antibody / general→kinetics / affinity using Biotin CAP
→single-cycle kinetics using Biotin CAPture kit→Open * 各メソッドの使い分けは **6-2B 参照**

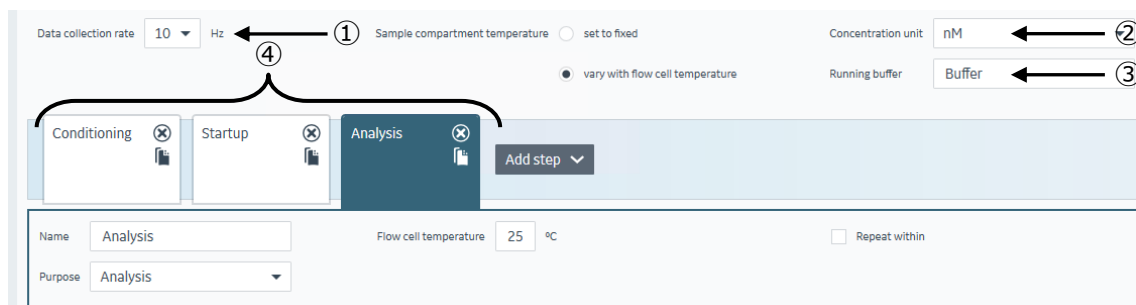
手順	操作項目	注意点・説明
①	Method definition	メソッドの動作内容決定
②	Variable and positioning	- Variable にチェックを入れた項目の値の入力 - サンプル配置の決定 (6-8 参照)
③	Cycle overview	全サイクルのステップ、サンプル、ポジションの確認
④	Plate layout	マイクロプレートのサンプルポジションの確認
⑤	Send to queue	Activity queue に追加 (動作開始の予約)
⑥	Method の保存	 上書き保存  別名保存



①～⑥の順番で Method の作成を進める。

Method definition の設定

手順	操作項目	注意点・説明
①	Data Correction rate	キャラクタリゼーションは、通常 10Hz
②	Concentration Unit	アナライト濃度の単位
③	Running buffer	バッファ名称入力
④	Step	下図の場合、Conditioning→Start up → Analysis * 必要に応じて各タブを選択して編集



Method definition / Analysis の設定

手順	操作項目	注意点・説明
①	各 Command の選択	下図では Biotin CAPture Kit の通常の設定。 General1 : Biotin CAPture Reagent (Kit 付属) Capture1 : Biotin 化リガンドの添加 (添加時間、要検討) Single cycle injection1 : Single cycle によるアナライト添加② Regeneration : 再生溶液 (Kit 付属) Wash : Fc 以外の流路洗浄 (タンパク質は通常 Buffer)
②	アナライト添加条件	差サンプル名称、添加時間、解離時間、流速、濃度、分子量など * Variable : サンプル名、分子量などが Cycle 毎に異なる場合にチェック
③	Concentration per cycle	各サイクルにおける Single cycle injection 濃度点数 (5~9)

The screenshot shows the software interface for defining an analysis method. The interface is divided into three main sections: Conditioning, Startup, and Analysis. The Analysis section is currently selected and expanded, showing a sequence of commands: General 1, Capture 1, Single cycle kinetics 1, Regeneration 1, and Wash 1. A bracket labeled ① groups the first five commands. A bracket labeled ② groups the 'Property' section, which includes variables like Contact time, Dissociation time, Flow rate, and Molecular weight. A bracket labeled ③ points to the 'Concentrations per cycle' dropdown menu, which is set to 5.

Variable and positioning の設定

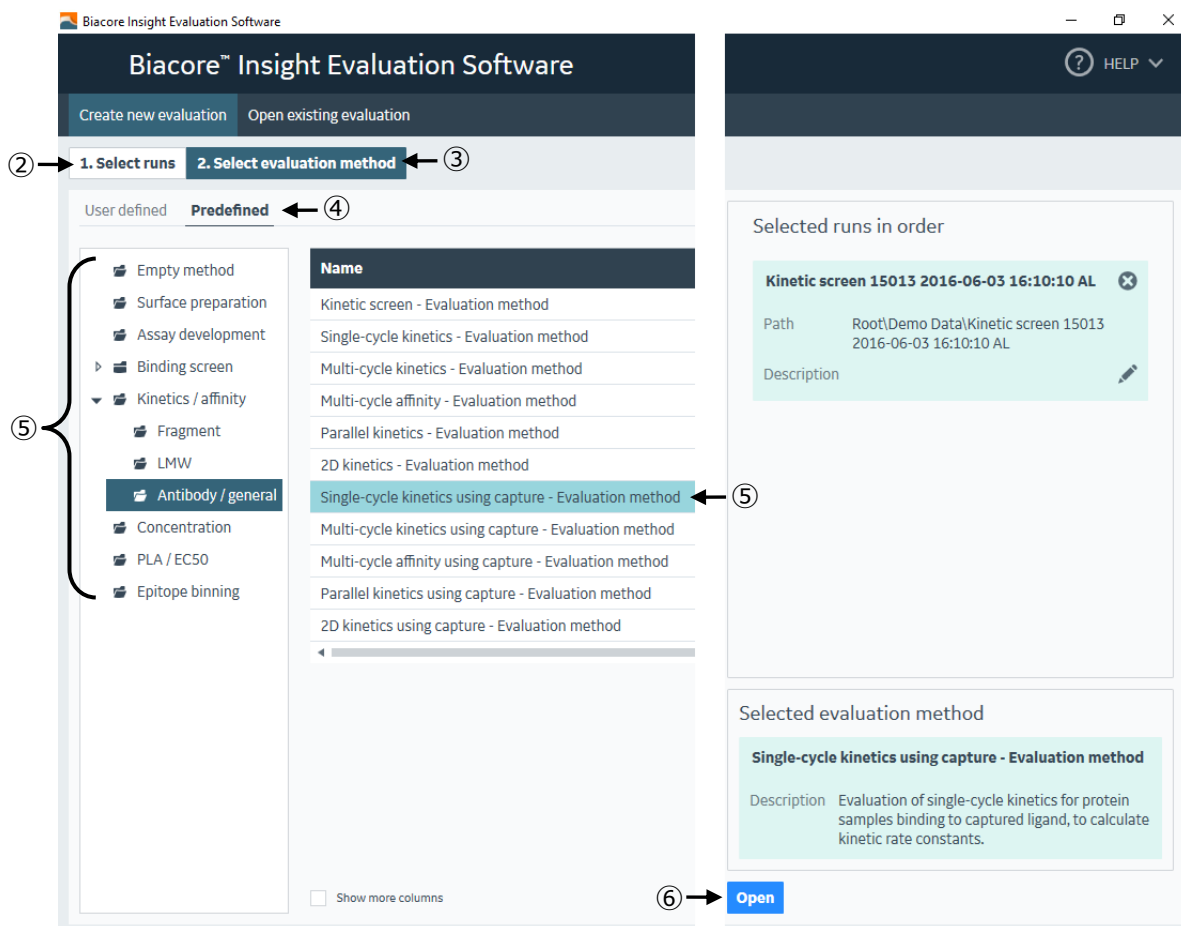
手順	操作項目	注意点・説明
①	Use Channel	使用するチャンネルの選択
②	各 Cycle	変数を変更したい項目の選択（下図では Analysis）
③	Single cycle Kinetics1 Solution	アナライイト名の入力
④	Single cycle Kinetics1 Concentration	適切な濃度（0 濃度サイクルを含む）の入力
⑤	Plate 設定	サンプル配置の決定（6-8 参照）

The screenshot displays the 'Method Builder' window in the Biacore 8K Control Software. The interface is divided into several sections:

- Top Bar:** Shows 'Biacore 8K Control Software' and 'User'.
- Method Builder Tabs:** Includes '1. Method definition', '2. Variables and positioning' (active), '3. Cycle overview', and '4. Plate layout'.
- Use channels:** A row of checkboxes for channels 1 through 8. Arrow ① points to this row.
- Conditioning/Startup/Analysis:** A horizontal bar with three tabs. Arrow ② points to the 'Analysis' tab.
- Table:** A table titled 'Single cycle kinetics 1' with columns: 'No', 'Solution', 'Control', 'Concentration 1 (nM)', 'Concentration 2 (nM)', 'Concentration 3 (nM)', 'Concentration 4 (nM)', and 'Concentration 5 (nM)'. It lists two sets of samples (1-8 and 2-8) with various concentrations. Arrow ③ points to the 'Solution' column, and arrow ④ points to the concentration columns.
- Right Panel:** Contains 'Reagent bottle, empty', 'Plate 1' and 'Plate 2' selection, and a visual representation of the plate layout with colored wells. Arrow ⑤ points to this layout.
- Import from:** Includes 'File' and 'Clipboard' options.
- Set up:** Includes 'Epitope binning', 'Add cycle', 'Remove cycle', and 'Remove all cycles' buttons.
- Move:** Includes 'Move up', 'Move down', and 'Show more columns' options.

D. 解析 (K_D 、 k_a 、 k_d の算出)

手順	操作項目	注意点・説明
①	解析ソフト起動	 解析ソフト Insight Evaluation software 起動
②	Select runs	解析を実施する RUN ファイルの選択。
③	Select evaluation method	解析を実行する Method の選択
④	Predefined	プリセットされた解析 Method の選択 * 編集・保存済みの Method は User defined より選択
⑤	Method の選択	解析内容、解析対象に合わせて Method を選択 下図では single cycle kinetics using capture
⑥	Open	選択した Method の実行



The screenshot shows the Biacore Insight Evaluation Software interface. The main window has a dark header with the title "Biacore™ Insight Evaluation Software" and buttons for "Create new evaluation" and "Open existing evaluation". Below the header, there are two tabs: "1. Select runs" and "2. Select evaluation method". The "2. Select evaluation method" tab is active, showing a list of predefined methods. On the left, there is a sidebar with a tree view of method categories: "Empty method", "Surface preparation", "Assay development", "Binding screen", "Kinetics / affinity", "Fragment", "LMW", "Antibody / general", "Concentration", "PLA / EC50", and "Epitope binning". The "Antibody / general" category is expanded, showing a list of methods. The "Single-cycle kinetics using capture - Evaluation method" is selected. On the right, there is a panel titled "Selected runs in order" showing a list of runs. Below that, there is a panel titled "Selected evaluation method" showing the details of the selected method. At the bottom right, there is a blue "Open" button.

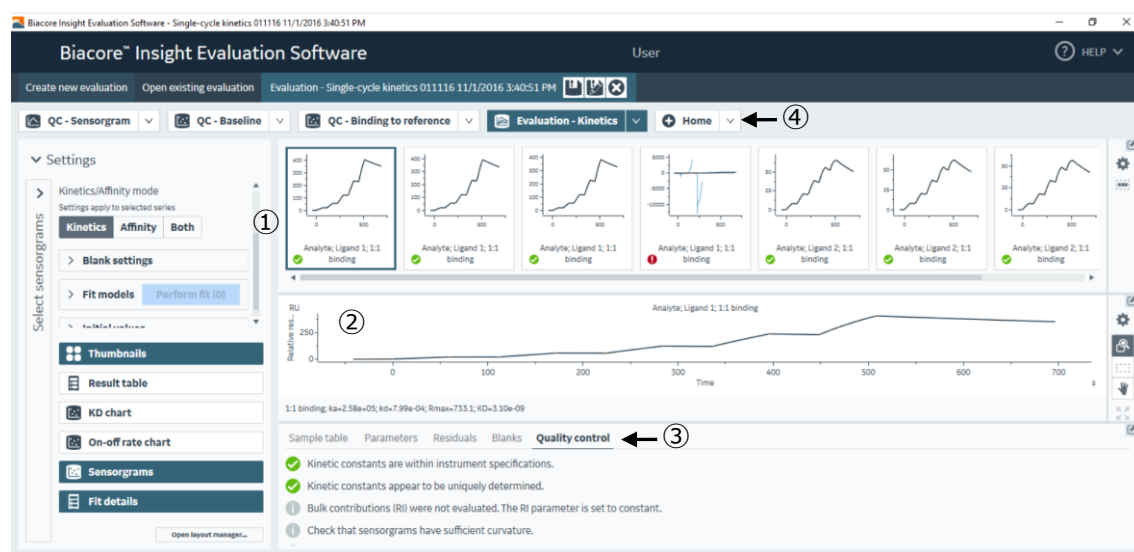
Annotations on the screenshot:

- ② points to the "1. Select runs" tab.
- ③ points to the "2. Select evaluation method" tab.
- ④ points to the "Predefined" tab in the method selection list.
- ⑤ points to the "Single-cycle kinetics using capture - Evaluation method" in the list.
- ⑥ points to the "Open" button.

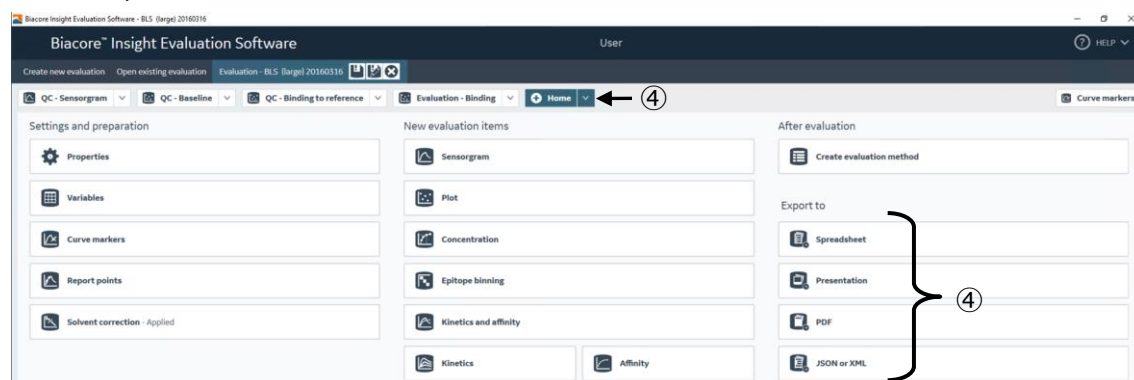
解析の実行、再解析、レポートिंग

Metohd をアプライすることでフィッティング解析が実行されます。

手順	操作項目	注意点・説明
①	Thumbnail	各センサーグラムのサムネイル表示
②	Sensorgram	Thumbnail から選択したセンサーグラムの詳細表示
③	Fit detail	フィッティング結果 (6-12 参照)
④	結果の Export	解析結果を Excel、パワーポイント、PDF でエクスポート。 Home → Export to



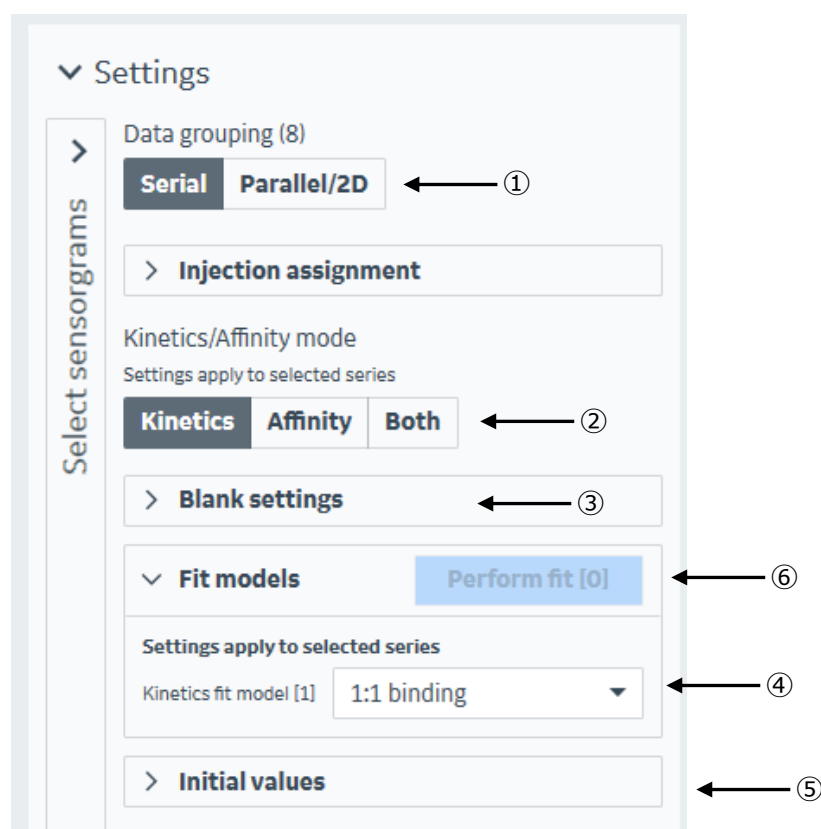
結果の Export



再解析の実行

詳細を再設定して解析を実行しなおすことも可能です。

手順	操作項目	注意点・説明
①	Data grouping	6-2 参照
②	解析モード	Kinetics / Affinity / Both（両方実施）より選択
③	Blank Setting	各サンプルに採用するブランク（0 濃度）による差し引きを設定 ・Use blanks within same series：同一名称のブランク ・Use other blank：直前、直後、直近などから選択 ・No Subtraction：通常は用いない
④	Fit model	フィッティングモデル式の選択（ 6-11 参照 ）
⑤	Initial Values	フィッティング解析時の初期値設定（ 6-11 参照 ）
⑥	Perform Fit	Thumbnail などで解析したいデータを選択し、解析実行。



5. メンテナンス・システムチェック・シャットダウン

5-1. メンテナンス

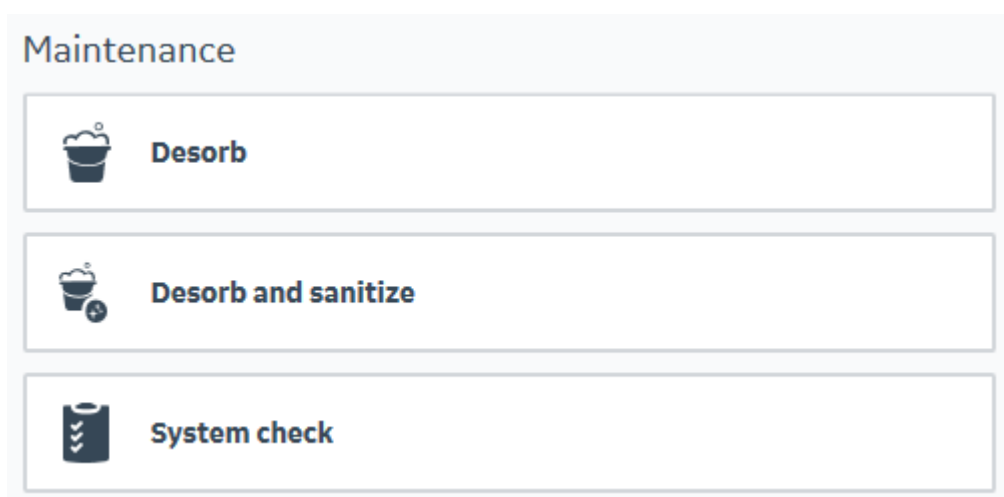
A. 日常のメンテナンス（システム洗浄）の種類

毎週	Desorb（サンプル流路の洗浄）
毎月	Desorb and Sanitize（溶液が触れる全流路の洗浄および滅菌）

Boacore 8K Control Software より、

Instrument control

タブへ。



B. 準備する試薬、消耗品・注意点

Desorb : (D) Desorb and Sanitize (D&S)	必要試薬・消耗品
D、D&S	Biacore Maintenance Kit, type 3 ・Desorb solution 1 は室温保存
D、D&S	Maintenance chip または使用済みのセンサーチップ
D&S	次亜塩素酸ナトリウム（研究用試薬） 終濃度 0.6～1.0%に用事調整。
D、D&S	ランニングバッファーまたは超純水
D&S	10-50mM の Hepes または Tris バッファー

C-1. Desorb（毎週）の手順

手順	説明
チップのドック	 Change chip Maintenance Chip (または使用済みセンサーチップ)の Dock
温度設定	20℃以上（通常 25℃）に設定
Method の実行	 Desorb Method に従い Desorb solution 1, 2 を Deep Well Plate にセット
（所要時間）	約 20 分
実施後次の実験前	・自動的に Stanby flow（260ml/24hr） ・次の実験前に 3-4 時間以上の Stanby flow か Prime の 3 回実施

C-2. Desorb and Sanitize（毎月）の手順

手順	説明
チップのドック	 Change chip Maintenance Chip (または使用済みセンサーチップ)の Dock
温度設定	20℃以上（通常 25℃）に設定
Method の実行	 Desorb and sanitize 洗浄溶液は装置右のインレットチューブから吸引されシステム全体を洗浄
（所要時間）	約 1 時間
実施後次の実験前	・自動的に Stanby flow（260ml/24hr） ・次の実験前に 3-4 時間以上の Stanby flow か Prime の 3 回実施

5-2. システムチェック

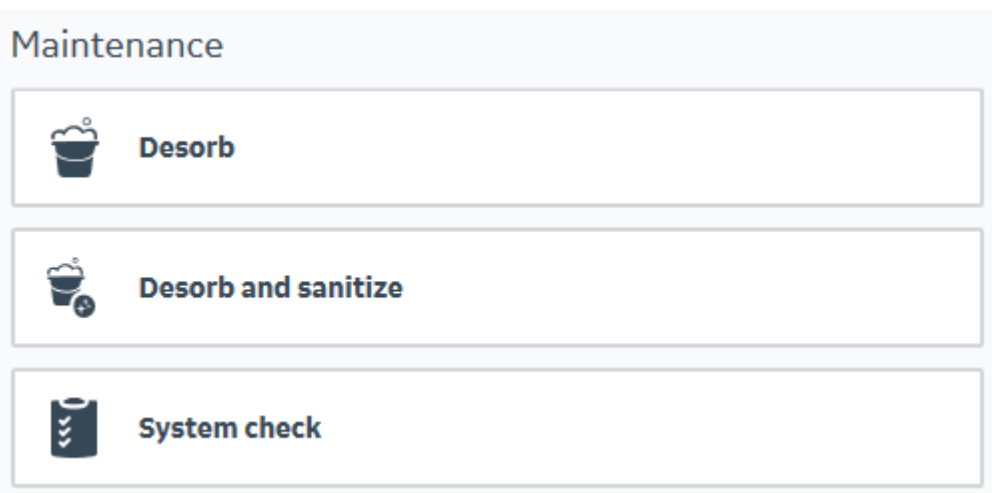
A. 実施頻度等

実施頻度	装置の自己診断。装置の調子が悪いことが疑われるとき。実験が正しく測定できているかを担保するための定期的な実施頻度に設定
System Check	Instrument control の Maintenance→System check をクリック。

Boacore 8K Control Software より、

Instrument control

タブへ。



B. 準備する試薬、消耗品・注意点

Desorb : (D)	必要試薬・消耗品
Desorb and Sanitize (D&S)	
BIAtest solution	Biacore Maintenance Kit, type 3 内
HBS-EP+ Buffer 10×	500 ml 程度
Series S Sensor Chip CM5	新品（実行後、実験に使用可能）
超純水	

C-1. System Check の手順

手順	説明
チップのドック	 Change chip 新品のセンサーチップ CM5 をドック
Change Solution	 Change solutions HBS-EP+をランニングバッファーとして Change Solution
温度設定	25℃に設定
Method の実行	 System check Buffer A,C チューブはバッファーボトル、Buffer B,D チューブは超純水ボトルへセットして、システムチェックの実行。
結果の確認	・正常範囲内：PASS 範囲外：FAIL FAIL の表示が出たときには弊社サポートまでご連絡ください。

5-3. シャットダウン

実験が終了した際には、次のいずれかの方法でシステムを維持できます。

スタンバイ状態で放置	7 日以内に使用する場合
電源を落として終了	7 日以上使用しない場合

5-3-1. スタンバイ状態での放置

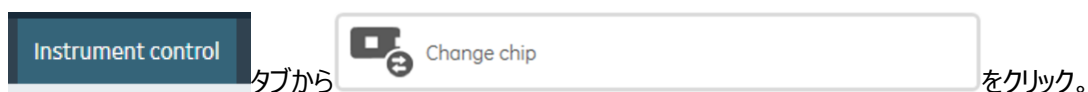
測定が終了すると、自動的に **Standby flow** 状態になります。

チューブ A にセットしたランニング緩衝液で、260 ml/ 24 時間の流速を最長 7 日間継続します。ランニングバッファーを涸らさないように注意してください。廃液ボトルの空き容量にも注意してください。

スタンバイ状態であるか否かは、ウィンドウ下の **Instrument Status** で確認できます。

5-3-2. 電源の落とし方

電源を落とす前には、メンテナンスを実行してください。



センサーチップポートが開きます。

センサーチップを取り出し、Biacore 8K control software を終了します。

パソコンのシャットダウン、Biacore 8K の本体電源を落とします。

注意) 電源を落とす場合は、システム内部が超純水で置き換わっているかどうか確認の上、電源を落としてください。

5-3-3. センサーチップの保存

取り出したセンサーチップは、以下の 2 つの方法で保存できます。

リガンドは保存中に変性する可能性があるため、再使用の際にはポジティブコントロールサンプルのレスポンスからリガンドの活性を確認してください。また、再 Dock 時前には、検出面、固定化面に埃などの汚れが付着していないことを確認してください。

ドライ状態での保存

取り出したセンサーチップにパラフィルムを巻いて 4℃で保存します。

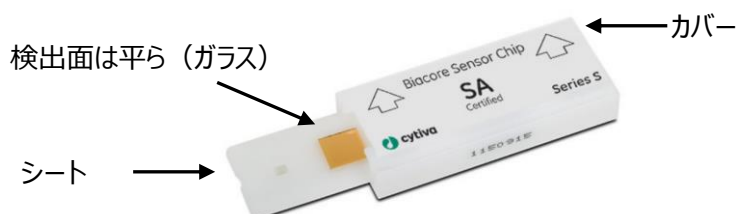
安定なサンプルを固定したセンサーチップの保存に用います。

ウェット状態での保存

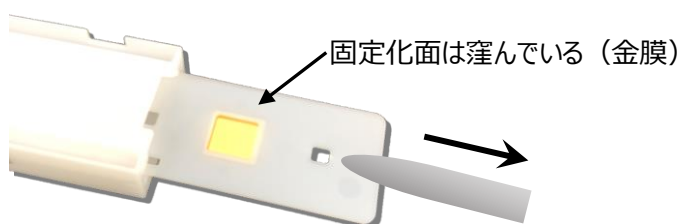
取り出したセンサーチップのシート部分をカバーから抜き取り、シートだけを容器（50 ml 容のふた付きプラスチック遠心チューブ等）に分注した HBS-EP+などの緩衝液に浸し、4℃で保存します。

シートの取り出しと保存

センサーチップはカバーとシートから構成されています。



シートの金基板の窪んでいる面はリガンドが固定化されています。平らな面は検出器が接触します。リガンド固定化面には触れないよう注意してください。



ピンセットにてシートを抜き出し、緩衝液に浸して保存します。

保存していたシートからの緩衝液成分の除去とカバーへの収納

再利用する際は、緩衝液に浸していたシートをカバーに収めます。シートの水分を取り除いてからカバーに収めてください。

プラスチックの部分および検出面

キムワイプで拭き、超純水で湿らせたキムワイプで再度拭きます。さらに乾いたキムワイプで拭きます。

固定化面

キムワイプなどを“こより状”に細くして、金基板の中央部分に触れないように、四隅から水分を吸収します。

埃に注意しながらカバーに収めます。下図のように、検出面が表になる向きで、ピンセットにてカバーの左側から挿入します。

*リガンド固定化面を表にして挿入した場合には最後までシートが入りません。



6. 知っていると得する TIPS

6-1. アミンカップリング	31
6-2. アナライトの添加条件設定	36
6-3. 再生条件の設定	38
6-4. リガンドの Biotin 化	40
6-5. リファレンスライン	42
6-6. 溶媒 (DMSO) 補正 (Solvent Correction)	43
6-7. Control Software の構成および Activity queue	45
6-8. サンプルラックポジションの設定・変更	46
6-9. 特異的結合の確認	48
6-10. Variables によるサンプル名、濃度などの修正	50
6-11. フィッティングモデル式と parameters の設定	51
6-11-1. Kinetics 解析	51
6-11-2. Affinity 解析	53
6-12. 解析結果の品質評価	55
6-12-1. Kinetics 解析	55
6-12-2. Affinity 解析	57
6-13. 用語集	58

6-1. アミンカップリング

A. 手順概略

手順	操作項目	参照
①	リガンド希釈液の pH 選択	・中性タンパク質：等電点の pH0.5~2.0 低い Acetate ・塩基性タンパク質：トリス、グリシンなど一級アミンを含まない中性緩衝液。 ・酸性タンパク質：アミンカップリング不可→Biotin 化 (6-4 参照) ・Capture kit は付属の Acetate ・不明な場合は、Wizard から pH Scouting 実施 (6-1C 参照)
②	センサーチップの選択	・CM5→アミンカップリングの第一選択 ・C1、CM3、CM4→デキストランへの非特異を減らす。固定化する分子が大きい場合（細胞など）。 ・PEG→固定化を極限まで下げて、デキストランへの非特異を減らす ・CM7→CM5 で固定化が足りない場合
③	Wizard テンプレートを用いた固定化	6-1D 参照

B. 準備する試薬・サンプル

各センサーチップの Instruction For Use (IFU)を併せてご参照ください

Amine Coupling Kit (BR100050)*

各種リガンド希釈液

一般的に固定化するタンパク質は数十 $\mu\text{g/ml}$ オーダー程度が適当ですが、サンプルや目標とする固定化量により異なります。

* Amine Coupling Kit の NHS および EDC は超純水に溶解後、凍結保存します。100 μl 程度バイアルに小分けにすることをお勧めします。Biacore 8K/8K+の場合、PCR 8 連チューブが便利です。

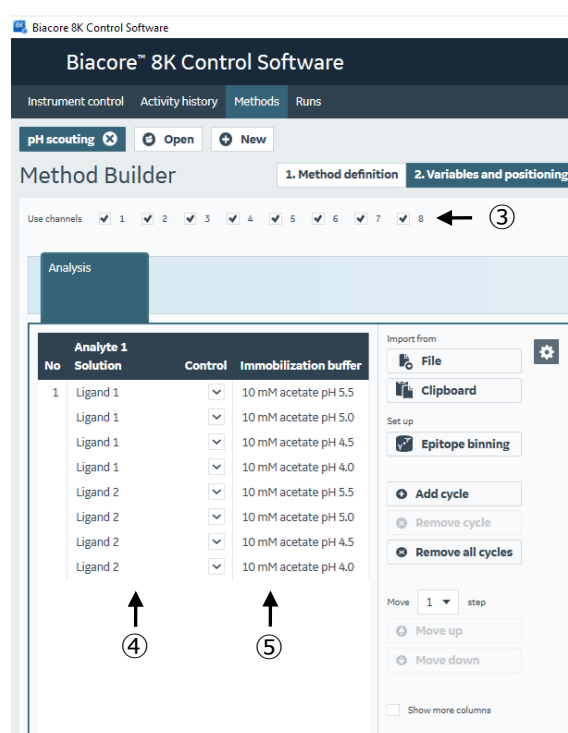
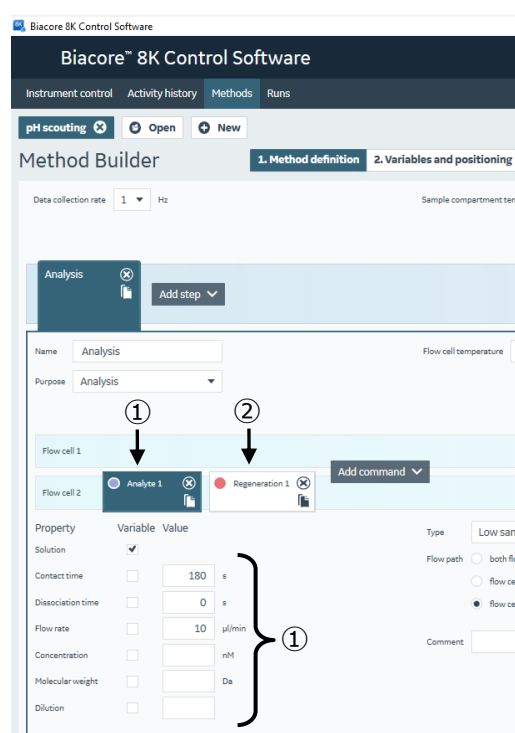


C. ソフトの操作のポイント ～ pH Scouting

使用すべきリガンド希釈液が不明な場合、はじめに pH Scouting を行います。

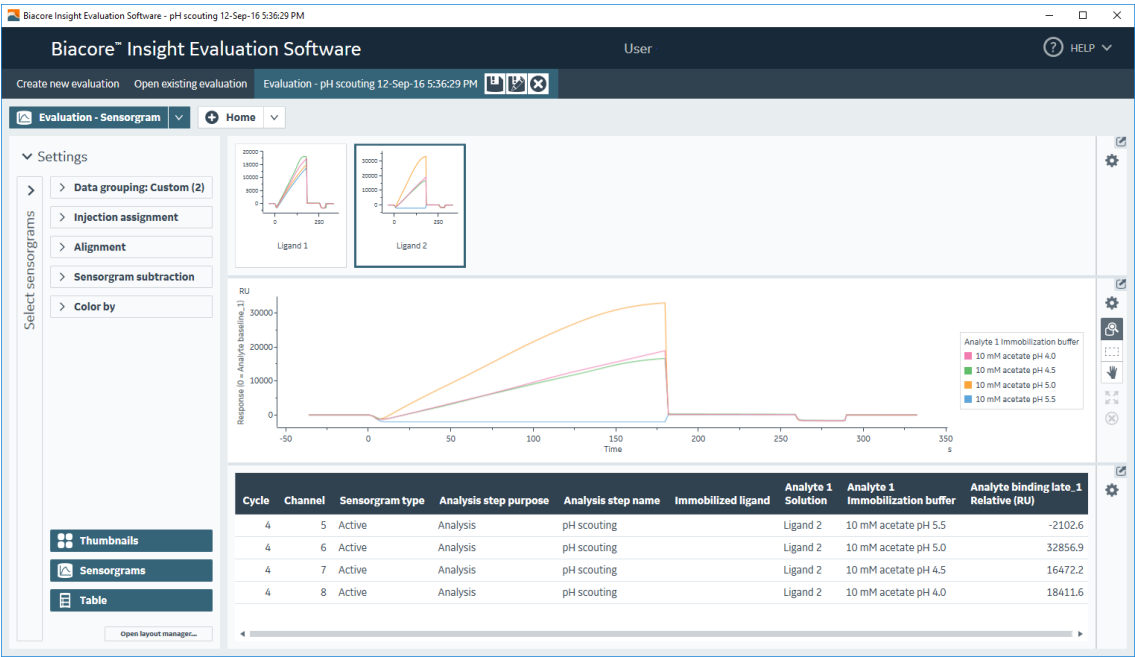
Method タブの New より、→Surface preparation→pH Scouting→Open

手順	操作項目	注意点・説明
①	リガンド添加時間・流速	通常 60 秒、5 μ l/分
②	センサーチップ洗浄液	通常 50mM NaOH
③	Use Channel	使用するチャンネルにチェック
④	Ligand 名	サンプル名称入力
⑤	Immobilization buffer	使用する希釈液名称および pH



Insight Evaluation Software を起動し、Select runs タブより、RUN データを選択。
Select evaluation method タブの Predefined より、Surface preparation→pH Scouting→Open

下図のようなセンサーグラムが得られます。プレコンセントレーションによるレスポンスが確認できる希釈液のうち最も pH が高いものを採用します。この場合は、10 mM Acetate pH 5.0。



D. ソフトの操作のポイント ～ Amine Coupling

Method タブの New より、→Surface preparation→Immobilization→Open

手順	操作項目	注意点・説明
①	センサーチップの選択	・デフォルトで CM5 が選択されています
②	Immobilize in	・固定化する Fc の選択。通常は Fc2 ・キャプチャー用抗体の固定化には Fc1 and Fc2 series を選択
③	各 Command の確認	・SA-Biotin Capture を選択
④	リガンド添加時間・流速	・各センサーチップ IFU 参照 ・アミンカップリングは、通常 420 秒、10μl/分 ・各種 Capture Kit のキャプチャー用抗体の固定化条件は、各キットの IFU を参照してください。
⑤	Ch 選択／リガンド名	使用する Ch にチェック。リガンド名入力。

Biacore 8K Control Software

Instrument control Activity history **Methods** Runs

Immobilization

Immobilization 1. Method definition 2. Positioning and plate layout

chip type **CM5** ← ① Sample compartment temperature 25 °C Flow cell temperature 25 °C Running buffer Buffer

Amine ③

Immobilize in

☐ Flow cell 1

☒ Flow cell 2

☐ Fc 1 and 2 in series

☐ Fc 2, activate/deactivate in 1

②

Flow cell 1 Wash

Flow cell 2 EDC+NH₂ Ligand Ethanolamine

Contact time 420 s

Flow rate 10 μl/min

☐ Mix with

④

☒ All ☒ Channel 1 ☒ Channel 2 ☒ Channel 3 ☒ Channel 4 ☒ Channel 5

Flow cell 1 ligand name

Flow cell 2 ligand name

Ligand 1 Ligand 2 Ligand 3 Ligand 4 Ligand 5

☐ Copy editing to all channels

☐ Add molecular weights

⑤

E. 固定化量の確認と理論的 Rmax の算出

固定化が終了すると Immobilization Result **Results** の画面になります。
測定結果のウィンドウ（Response Bound と Response Final）で確認します。

補足. 固定化量の評価

固定化量として Response Bound と Final の 2 種類が表示される。

レスポンスが小さい方を固定化量として採用する。

固定化量	注意点・説明
Response Bound	リガンド添加前後のセンサーグラムの高さの差
Response Final	NHS/EDC 添加前からエタノールアミン添加終了後の差

Biacore 8K Control Software

Biacore™ 8K Control Software User

Instrument control Activity history Methods **Runs**

Immobilization SA 5/6/2021 4:06:27 PM Open

Immobilization SA 5/6/2021 4:06:27 PM **Results** Sensorgram Run properties

Immobilization result Print

Chip SA

Date	Channel	Flow cell	Chemistry	Method	Ligand	Response bound (RU)	Response final (RU)
5/6/2021 4:06:51 PM	1	1	SA-biotin capture	Immobilization	Activation/Deactivation		
5/6/2021 4:06:51 PM	1	2	SA-biotin capture	Immobilization	Ligand1_1.25	10.5	46.4
5/6/2021 4:06:51 PM	2	1	SA-biotin capture	Immobilization	Activation/Deactivation		
5/6/2021 4:06:51 PM	2	2	SA-biotin capture	Immobilization	Ligand1_2.5	9.6	44.0
5/6/2021 4:06:51 PM	3	1	SA-biotin capture	Immobilization	Activation/Deactivation		
5/6/2021 4:06:51 PM	3	2	SA-biotin capture	Immobilization	Ligand1_5	13.0	47.5
5/6/2021 4:06:51 PM	4	1	SA-biotin capture	Immobilization	Activation/Deactivation		
5/6/2021 4:06:51 PM	4	2	SA-biotin capture	Immobilization	Ligand1_10	16.8	49.5
5/6/2021 4:06:51 PM	5	1	SA-biotin capture	Immobilization	Activation/Deactivation		
5/6/2021 4:06:51 PM	5	2	SA-biotin capture	Immobilization	Ligand2_1.25	19.2	51.1
5/6/2021 4:06:51 PM	6	1	SA-biotin capture	Immobilization	Activation/Deactivation		
5/6/2021 4:06:51 PM	6	2	SA-biotin capture	Immobilization	Ligand2_2.5	32.8	65.8
5/6/2021 4:06:51 PM	7	1	SA-biotin capture	Immobilization	Activation/Deactivation		
5/6/2021 4:06:51 PM	7	2	SA-biotin capture	Immobilization	Ligand2_5	65.8	103.4
5/6/2021 4:06:51 PM	8	1	SA-biotin capture	Immobilization	Activation/Deactivation		
5/6/2021 4:06:51 PM	8	2	SA-biotin capture	Immobilization	Ligand2_10	121.7	154.1

リガンドがアグリゲーションしている場合やセンサーチップ表面に吸着する場合は、エタノールアミンを添加することにより、非共有結合でセンサーチップ表面に残ったリガンドは洗い流されるため、Final のレスポンスは Bound より小さくなる。

また、極めて固定化量が少ない場合は、NHS 化した部分の大半に（一部はリガンドが導入されている）エタノールアミンが導入されるため、Final のレスポンスは Bound より大きくなることもある。

いずれの場合も、レスポンスが小さい方を固定化量として採用する。

理論的 Rmax [RU]= 固定化量[RU]×（アナライトの分子量/リガンドの分子量）×リガンドの結合価数

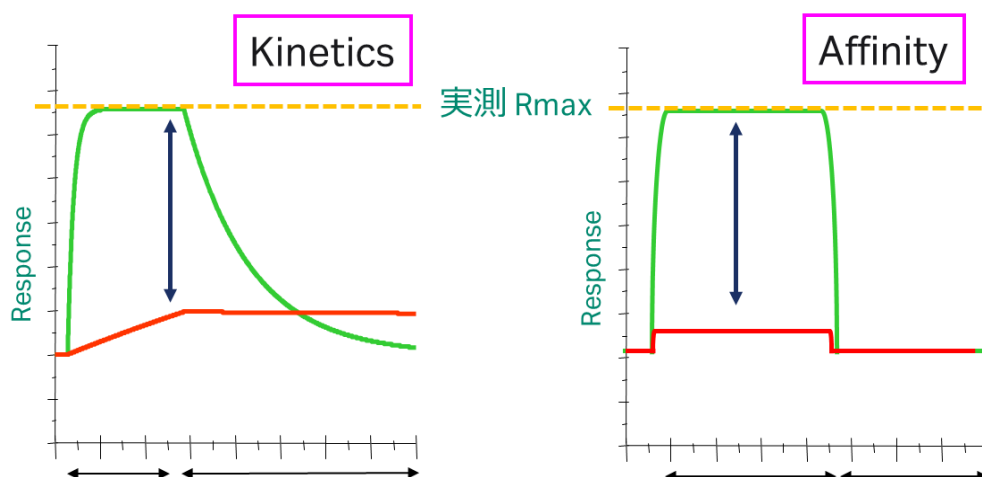
アナライト添加時に十分なレスポンスが得られるか、実際にアナライトを添加したときのレスポンスが結合部位特異的かどうかなどを見積もるために利用します。

6-2. アナライトの添加条件設定

アナライトは、通常、Rmax 近くからギリギリレスポンスが得られる範囲で、～3 桁程度の添加濃度レンジで添加します。濃度 5 点を取る場合、3 倍希釈シリーズ程度です。

A. 添加、解離時間の目安

	Kinetics	Affinity
添加時間	結合・解離が緩やかなセンサーグラム： 2-5 min 箱型に近いセンサーグラム： 1-2 min	結合・解離が緩やかなセンサーグラム： （結合相で平衡にならない場合）適用不可 箱型または箱型に近いセンサーグラム： 1-2 min
解離時間	結合・解離が緩やかなセンサーグラム： ～90 min 箱型に近いセンサーグラム： 1～2 min	不要（30 秒程度で設定）
濃度点数	5	8 程度



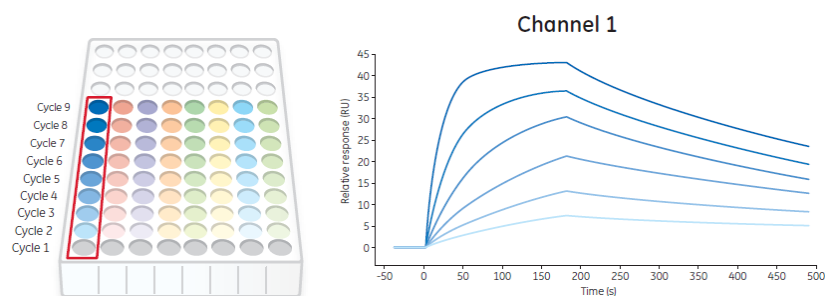
B. 2D kinetics で幅広く測定

Biacore 8K/8K+には、4つの測定モードがあります。その中でも 2D Kinetics では、はじめて相互作用を行うサンプルでも、広範囲な濃度で一度に評価することができます。

Biacore 8K/8K+では、各種特定モード毎に Method テンプレートがセットされています。

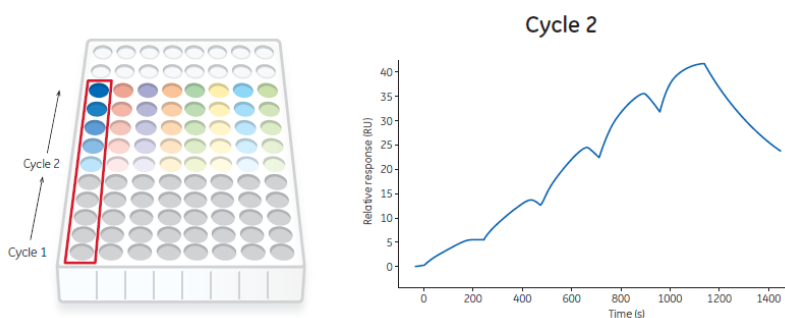
Multi-cycle kinetics

複数アナライトの評価に。主に、再生のいらない低分子化合物のアフィニティ解析に用います。



Single-cycle kinetics

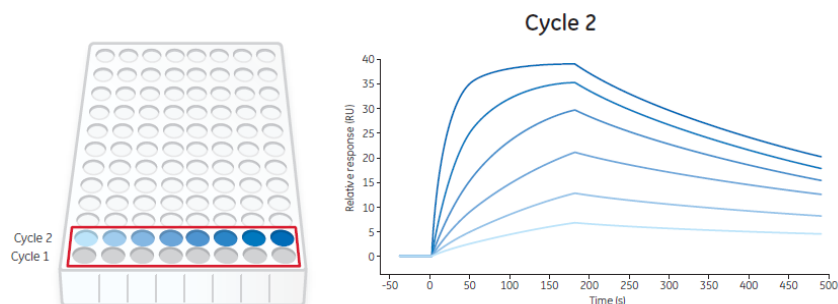
複数サンプルをより早く評価。解離の遅いサンプルも短時間で評価が可能。



* Multi-cycle kinetics および Single-cycle kinetics をまとめて Serial kinetics と呼ぶことがあります。

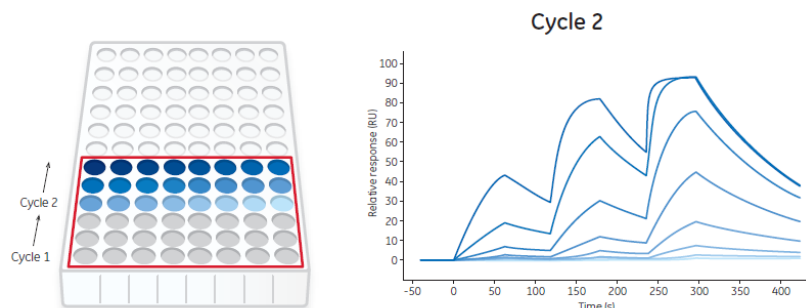
Parallel kinetics

小サンプルを短時間に評価。1種類であれば再生操作不要。解離の遅いサンプルにも有用。



2D-kinetics

はじめて相互作用を行うサンプルで、広範囲な濃度で一度に評価。



6-3. 再生条件の設定

アミンカップリングによる Sensor Chip CM5 などの直接固定、または、Sensor Chip SA を用いた場合、リガンドとアナライトを完全に外す再生条件を設定する必要があります。

再生条件として、以下の二点が重要です。

- ① アナライトが完全に外れてベースラインまで戻ること。
- ② 同じアナライトをインジェクションした際に同等のレスポンスが得られる（リガンドが失活しない）こと

A. 手順概略

手順	操作項目	参照
①	リガンド固定化済みのセンサーチップを用意	・アミンカップリング (6-1 参照) ・Sensor Chip SA (4-1 参照)
③	Method テンプレートを用いた Regeneration Scouting	6-3D 参照

B. 準備する試薬・サンプル

Regeneration Scouting Kit の Instruction For Use (IFU)を併せてご参照ください

Regeneration Scouting Kit (BR100556)

リガンド固定化済みのセンサーチップ

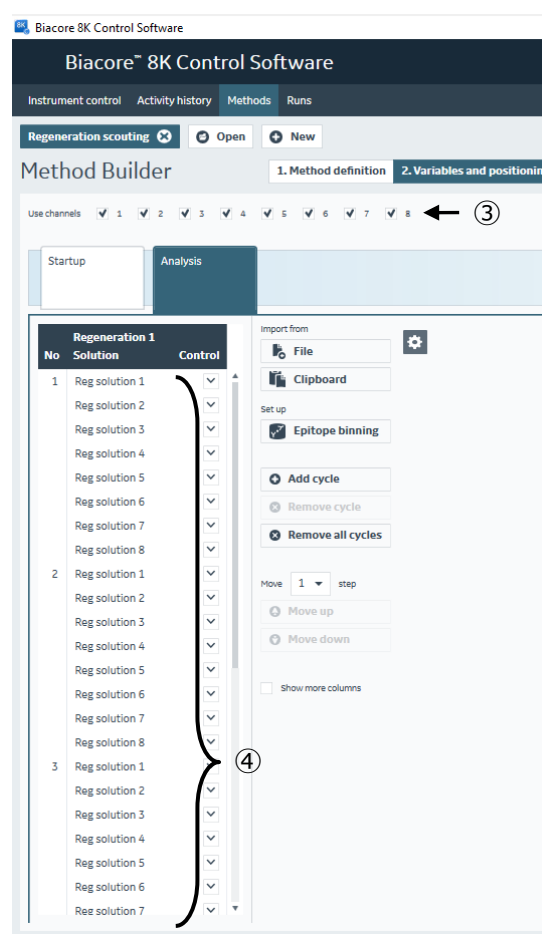
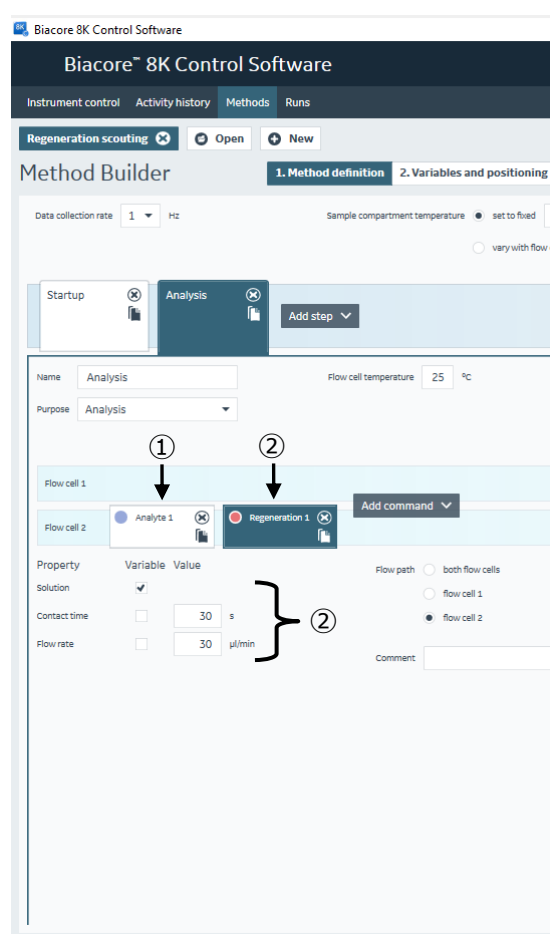
アナライト溶液

ランニング緩衝液

C. ソフトの操作のポイント

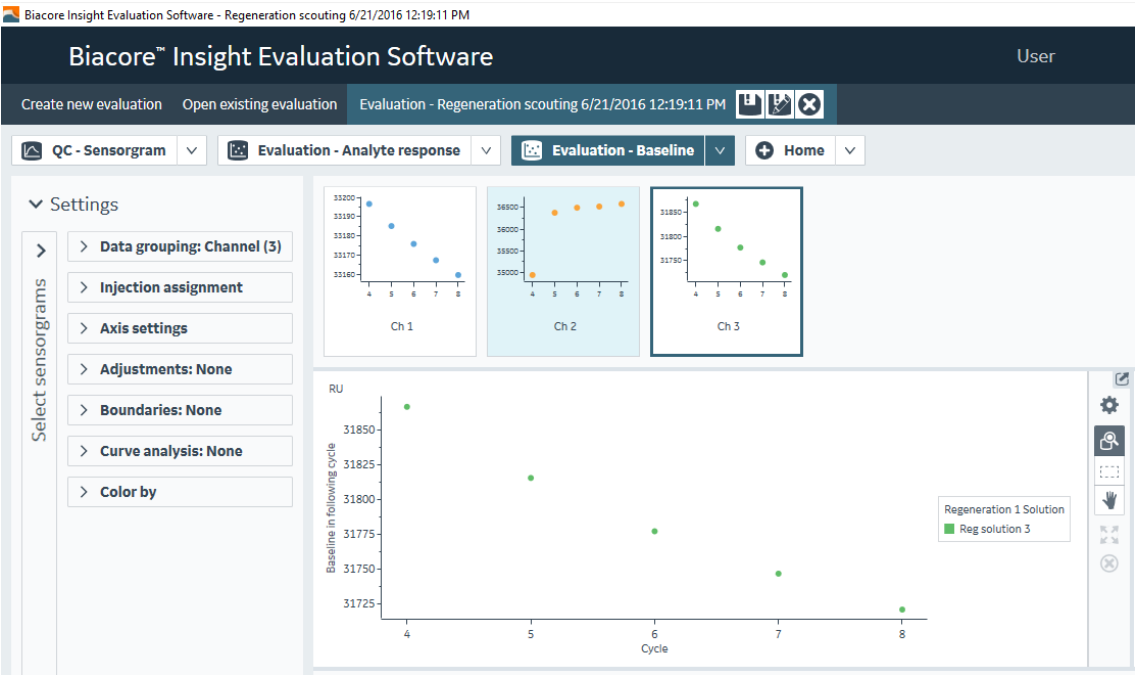
Method タブの New より、→Assay Development→Regeneration Scouting→Open

手順	操作項目	注意点・説明
①	Analyte1	アナライト名称、通常 60-120 秒、30μl/分
②	Regeneration1	流速、コンタクト時間
③	Use Channels	使用するチャンネルにチェック
④	Regeneration1 Solution	再生溶液の名称 下図では 8 チャンネルで 8 種類の再生溶液を評価。 5 サイクルで、アナライト結合、再生を繰り返し評価。



Insight Evaluation Software を起動し、Select runs タブより、RUN データを選択。
Select evaluation method タブの Predefined より、Assay Development→Regeneration Scouting→
Open

下図のような Result が得られます。複数回の Injection により、Baseline まで戻り、同じアナライトをイン
ジェクションした際に同等のレスポンスが得られる条件を採用します。



6-4. リガンドの Biotin 化

Biotin 化試薬を用いた一例を示します。

A. 手順概略

手順	操作項目	注意点・説明
①	Biotin 化反応	・タンパク質サンプル:HNS-Biotin = 1:1.5（モル比）で混和 ・室温 1 時間、または、4℃で o/n
②	遊離 Biotin の除去	ゲルろ過による除去、または、限外濾過膜による濃縮

B. 準備する試薬・サンプル

EZ-Link™ NHS-LC-Biotin (21336 *Thermo Fisher, 50 mg)

EZ-Link™ Sulfo-NHS-LC-Biotin, No-Weigh™ Format (A39257 * Thermo Fisher Scientific, 10 x 1 mg)

PD SpinTrap G-25 (28918004)

Vivaspin 500-3K (28932218)

HBS-N 10X (BR100670)

C. Biotin 化、遊離 Biotin の除去手順

① Biotin 化反応

10mM NHS-Biotin in DMSO ストック溶液作成

タンパク質サンプル:HNS-Biotin = 1:1.5 (モル比) で混和

室温 1 時間、または、4℃オーバーナイトで静置

② 遊離 Biotin の除去

②-1 PD SpinTrap G-25 によるフリービオチンの除去

Sephadex G-25 担体の入ったカラムを Vortex

先端を折って、キャップを切り取った 1.5ml チューブにセット

1 min at 800 × g で保存溶液除去

400 µl HBS-N を添加。1 min at 800 × g で平衡化。5 回繰り返す。

平衡化済みのカラムを、付属の回収用チューブにセット

Biotin 化サンプル 140-180 µl を、2 min at 800 × g で精製

カラムを除いて、付属のキャップを締める。

②-2 Vivaspin 500-3K によるフリービオチンの除去 (ビオチン化サンプルの濃縮)

Biotin 化反応後、500 µl にアップ

30 min at 12,000 × g で濃縮

残量 100 µl 程度になるように + 10 分程度

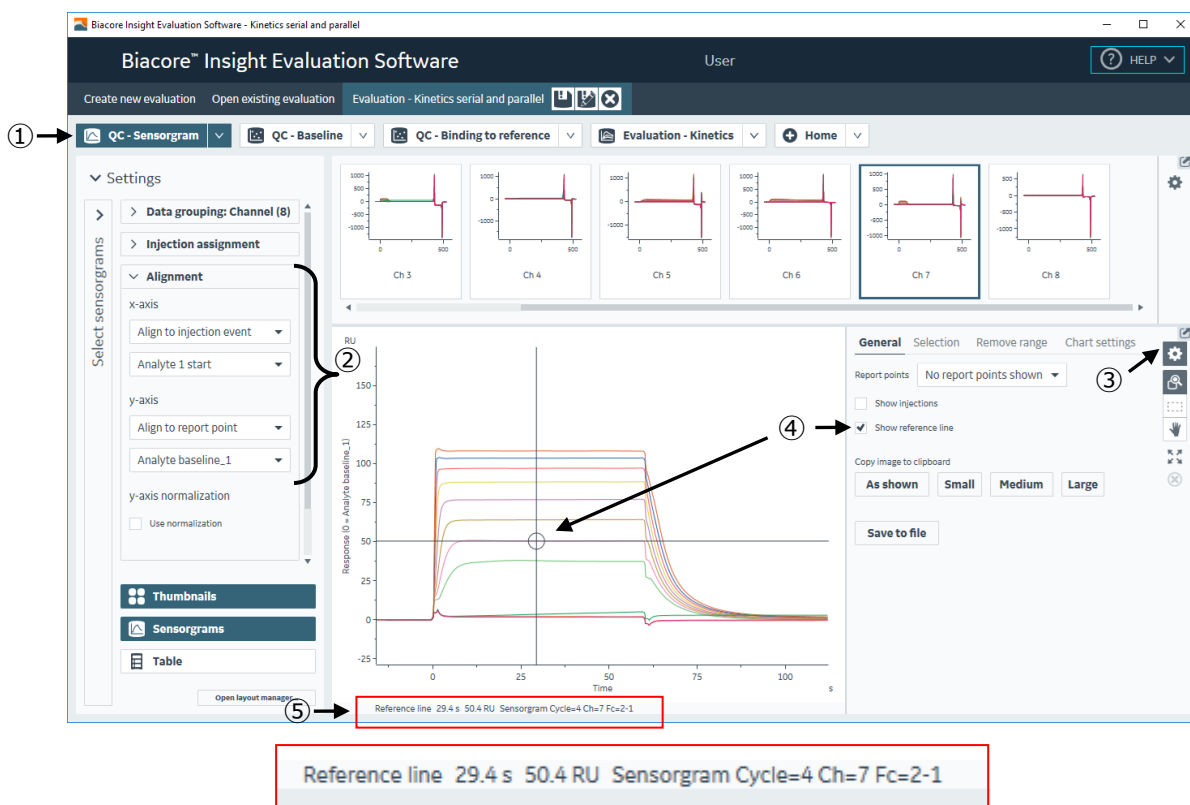
濃縮済みの溶液をマイクロチューブに回収。もとの液量になるように HBS-N を追加。

* 各試薬および精製カラムの Instruction For Use (IFU)を併せてご参照ください

6-5. リファレンスライン

Insight Evaluation Software で、レスポンスの詳細な値を確認したい場合、リファレンスラインを用います。

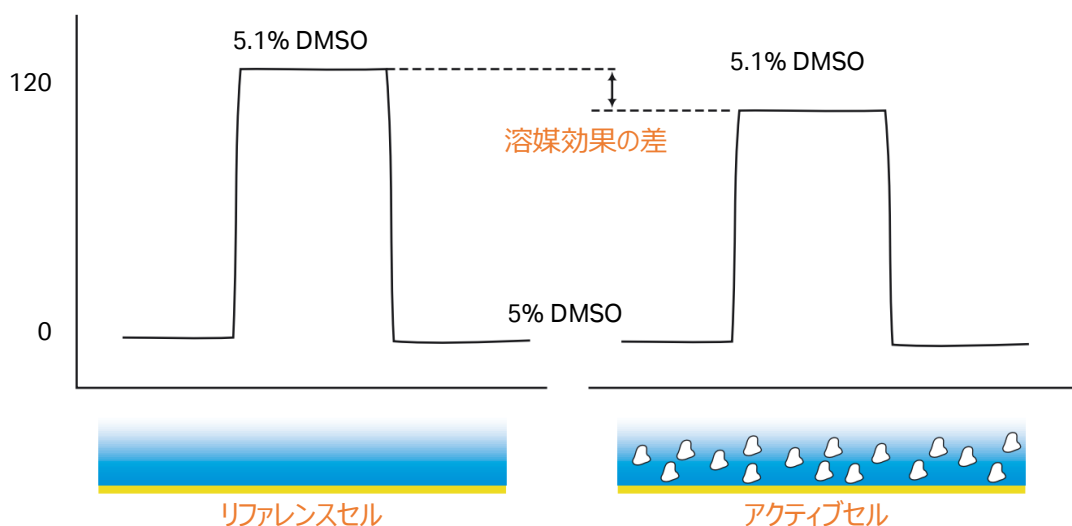
手順	操作項目	注意点・説明
①	QC - Sensorgram	センサーグラムの詳細を確認します。
②	Alignment	各センサーグラムの位置合わせ。 デフォルトで Y 軸は Analyte Baseline で 0 合わせられています。
③	Chart Setting	 より、センサーグラム表示の詳細設定
④ ⑤	Show reference line	リファレンスラインが現れ、マウスでドラッグすることにより、選択した部分の時間（秒）およびレスポンス（RU）の数値が表示されます。



6-6. 溶媒（DMSO）補正（Solvent Correction）

低分子化合物のストック溶液は、多くの場合 DMSO に溶解されているため、アナライト溶液として数%程度 DMSO を含んだ状態で測定することになります。ランニング緩衝液とアナライト溶液中の DMSO 濃度 1%の違いは約 1,200 RU のバルクレスポンスに相当するため、ランニング緩衝液とアナライト溶液中の DMSO 濃度を揃えていただくことが重要です。

それでも、下図のように 5% DMSO を含むランニング緩衝液中に 5.1% DMSO を含むアナライト溶液が流れると、120 RU 程度のバルクレスポンスが確認できます。また、厳密に見ると、リガンドが固定化されたセル（アクティブセル）は、リガンド固定化分センサーチップ近傍へアクセスできる DMSO 量が減るため、溶媒効果のずれが生まれます。これを補正する機能が、溶媒補正（Solvent Correction）です。



A. 溶媒補正の準備

5 % DMSO 含有サンプルを用いる場合の溶媒補正用 DMSO 溶液の作成方法例を記載します。4.5%～6%のような 5%を挟んでやや高めの範囲で DMSO 溶液を 4 点～8 点程度セットすることが標準的です。特に Biacore8K/8K+では流路構造の工夫により検量線がおおむね直線的になるため、標準設定として 4 点になります。それ以外の機種では、設定する DMSO 濃度の範囲の広さ、検量線の直線性、測定に求める真度と測定時間やバイアル設置個所のバランス、などの要素を考慮して濃度点数を決定してください。

すべての DMSO 溶液は用事調製します。

① 1.05x PBS-P+を調製します。

210 ml 10x PBS-P+ を、超純水で 2000 ml になるように希釈します。

②溶媒補正用 4.5 %、6% DMSO 溶液および 5.0% DMSO ランニング緩衝液を調製します。

Nominal DMSO concentration	4.5% DMSO (~ 10 mL)	6.0% DMSO (~ 10 mL)	5.0% DMSO running buffer (1000 mL)
1.05× PBS-P+	9.5 mL	9.5 mL	950 mL
100% DMSO	0.45 mL	0.60 mL	50 mL

③ストック溶液を下記表の割合で混合して、4.5%～6%の溶媒補正用 DMSO 溶液を調製します。

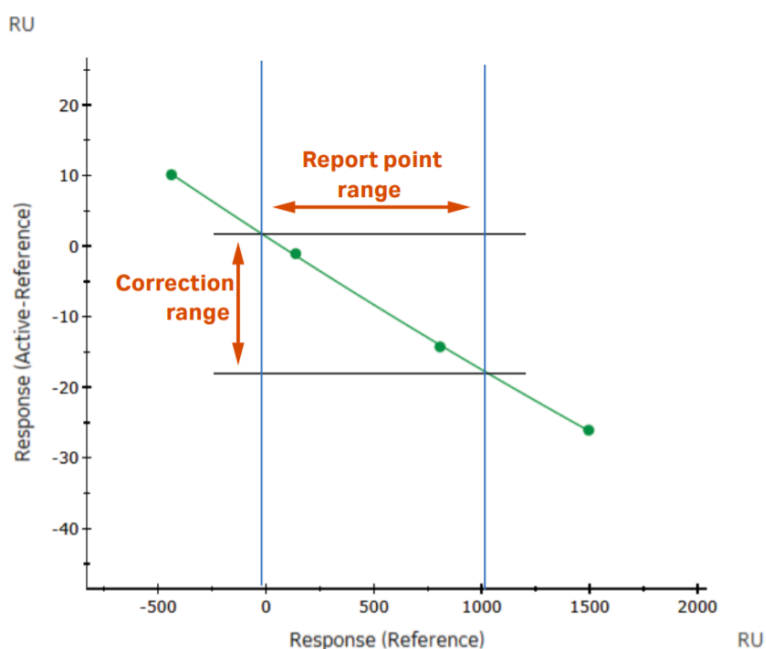
8 段階の溶媒補正用 DMSO 溶液を調製する場合：

4.5% DMSO		100	200	300	400	500	600	700
6% DMSO	700	600	500	400	300	200	100	
	700	700	700	700	700	700	700	700 (μl)

4 段階の溶媒補正用 DMSO 溶液を調製する場合（主に Biacore 8K/8K+）

4.5% DMSO		1500	2x1500	3x1500
6% DMSO	3x1500	2x1500	1500	0
	4500	4500	4500	4500 (μl)

測定時に Solvent Correction を用い、解析を実行することで下図のような補正曲線の作成およびリファレンスセル-アクティブセル間の補正が実行されます。

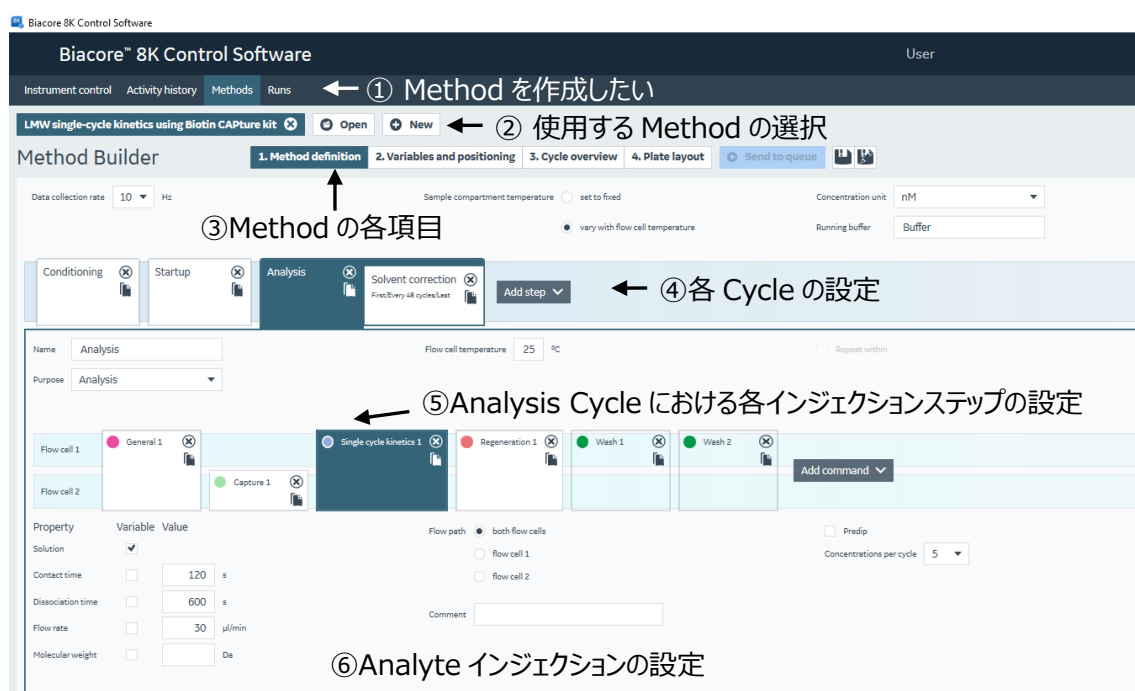


X 軸：リファレンスセルのレスポンス、Y 軸：リガンド固定化セル-リファレンスセルのレスポンス。Report point range：本測定の各検体が示したバルクレスポンス(リファレンスセル) の範囲、Correction range：補正される最大補正值 (RU) ～最小補正值 (RU) の範囲

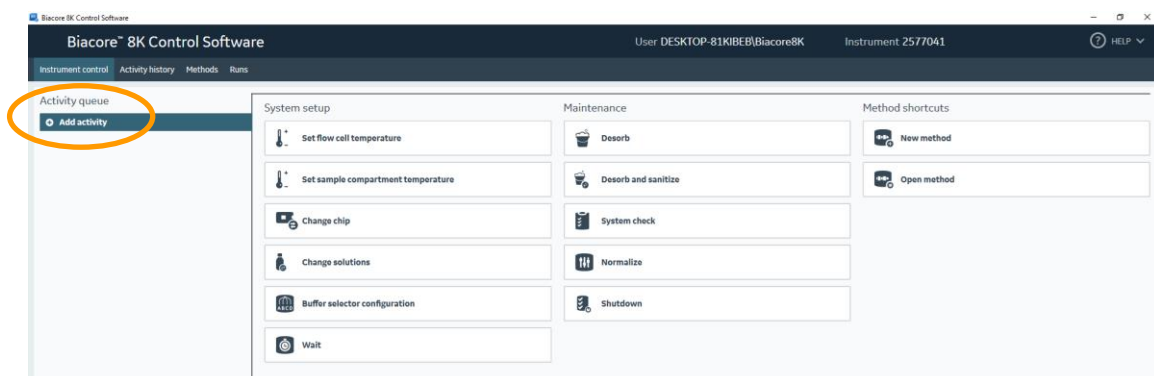
6-7. Control Software の構成および Activity queue

Biacore 8K Control Software の基本的な構成を説明します。

下図は LMW single-cycle kinetics using Biotin CAPture kit の Method を用いて、測定の設定におけるアナライトインジェクション条件を設定している画面です。ワークスペースはタブ区切りによる階層構造になっており、上から下の階層へと実施したい項目を選択し、左から右へと各ステップの確認・変更を行っていきます。ハイライトされているのは選択されているタブです。

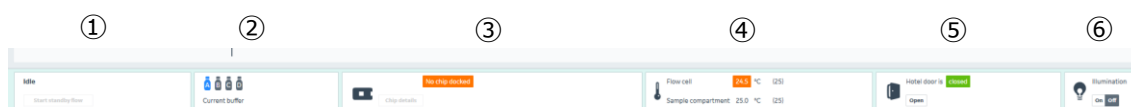


トップ画面の Instrument Control には、温度設定、チップ交換、バッファー変更、各種メンテナンス、メソッドへのショートカットなどのボタンがあります。また左側 Activity queue の **Add activity** をクリックすることで、各 Activity を予約することができます。Change Chip→Change Solution→Open Method というように並べることで、各 Activity の終了を待つことなく設定を進めることが可能です。



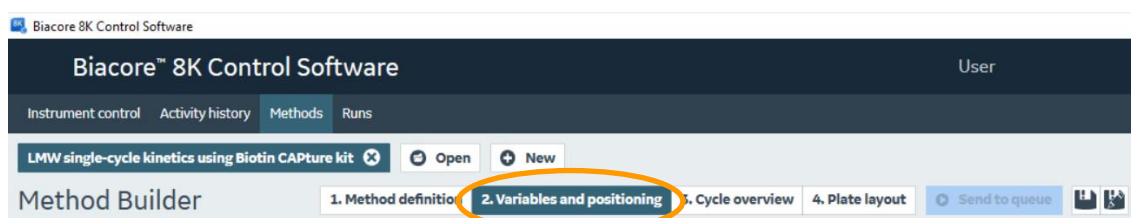
また、画面下部には、システムのステータスが表示されています。

	項目	注意点・説明
①	Current instrument activity	チップが挿入されると、Standby flow の経過時間を示します。 7 日間継続可能。
②	Current buffer	現在使用しているバッファチューブを示します。
③	Sensor chip	現在ドックされているセンサーチップの情報を表示します。
④	Temperature	フローセルとサンプルコンパートメント内の設定温度と現在の温度を表示します。 橙：設定温度に未達。緑：設定温度を保持。
⑤	Sample hotel door	サンプルホテルを開閉の状態を示します。Open をクリックすることで空けることができます。
⑥	Sample illumination	サンプルコンパートメントとホテル内の照明 on/off ができます。



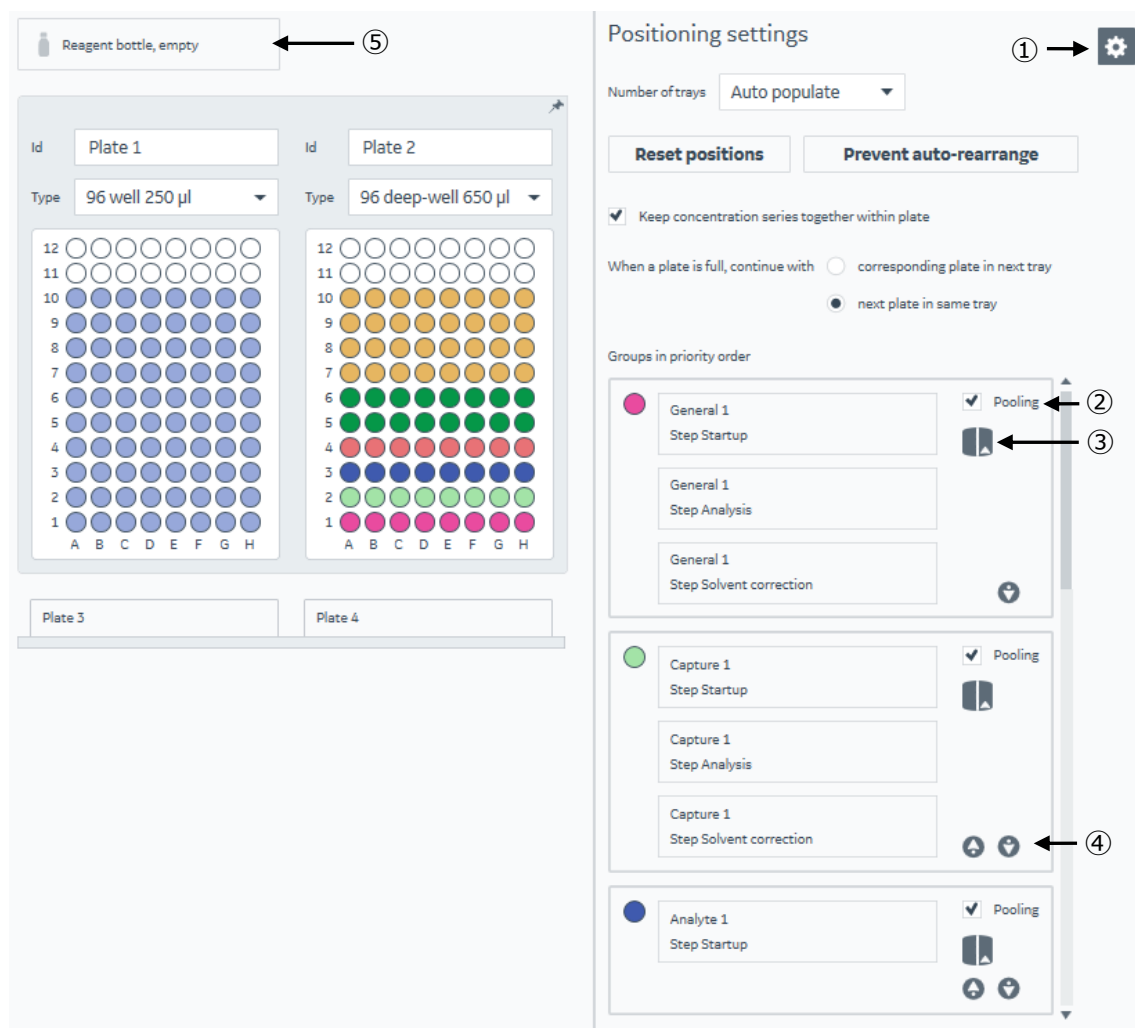
6-8. サンプルラックポジションの設定・変更

Rack Position の確認しながら、バイアル、プレートに必要なサンプルを分注します。ポジション変更は、各 Method Builder の Variable and positioning（または Positioning and Plate layout）で実施します。



サンプル位置は、同一サンプルであっても、添加回数分、分注して配置されるように組まれています。同一サンプルを同ウェルから使用したい場合はプーリング機能を利用します。画面右の Positioning settings で設定します。* プーリング機能を使用時は乾燥とニードルのコンタミを防ぐため、専用のセプタを貼ります。

手順	操作項目	注意点・説明
①	Positioning Setting	ポジション変更ルールの設定
②	Pooling * 96 プレートのみ	・同一サンプルをプーリングする場合にチェック。 ・Microplate Septa (29192561) を使用します。
③	Positioning Direction	・どのプレートの中のどの方向にサンプルを配置するか決定する。 ・ の場合、トレイ右側のプレートの手前に配置します。
④	Move up / Move down	Positioning Direction は、Positioning Setting 画面で上に表示されているものが優先されます。   で、優先順位を決めます。
⑤	Reagent bottle	同一の溶液をボトルから供給する場合、該当サンプルをウェルからドラッグ＆ドロップします。



Reagent bottle, empty

⑤

Positioning settings

①

Number of trays: Auto populate

Reset positions Prevent auto-rearrange

☒ Keep concentration series together within plate

When a plate is full, continue with ☐ corresponding plate in next tray ☒ next plate in same tray

Groups in priority order

General 1 Step Startup ☒ Pooling  ② ③

General 1 Step Analysis

General 1 Step Solvent correction

Capture 1 Step Startup ☒ Pooling 

Capture 1 Step Analysis

Capture 1 Step Solvent correction  ④

Analyte 1 Step Startup ☒ Pooling 

Analyte 1 Step Analysis

Analyte 1 Step Solvent correction

Plate 1 Plate 2

Id Plate 1 Id Plate 2

Type 96 well 250 µl Type 96 deep-well 650 µl

Plate 3 Plate 4

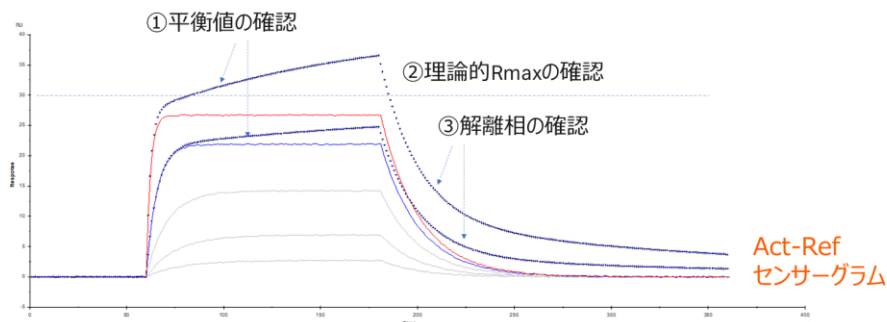
6-9. 特異的結合の確認

測定値の評価、フィッティング解析を行う前に、取得したセンサーグラムが“結合部位特異的”な相互作用を反映したものであるか確認することが重要です。

A. 差し引き後のセンサーグラムからの確認 (Fc2-1)

以下の様子が確認された場合、非特異的な背結合成分が含まれていると考えられます。

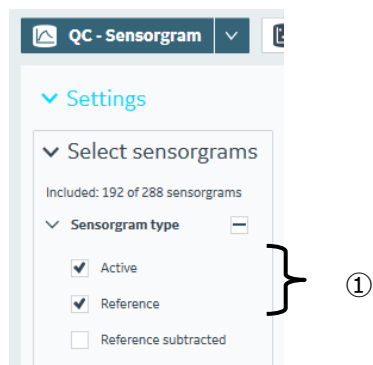
手順	確認項目	注意点・説明
①	平衡値の確認	平衡値に達しているべきセンサーグラムで、特に高濃度帯の結合相で平衡値に達しないでダラダラと上昇していないか？
②	理論的 Rmax の確認	その上昇が理論的 Rmax（これ以上結合しないという飽和点）を超えていないか？
③	解離相の確認	特に高濃度帯の解離相で最初は速やかに下降するのに、そのあとなかなかベースラインまで落ちない二相性の形状になっていないか？

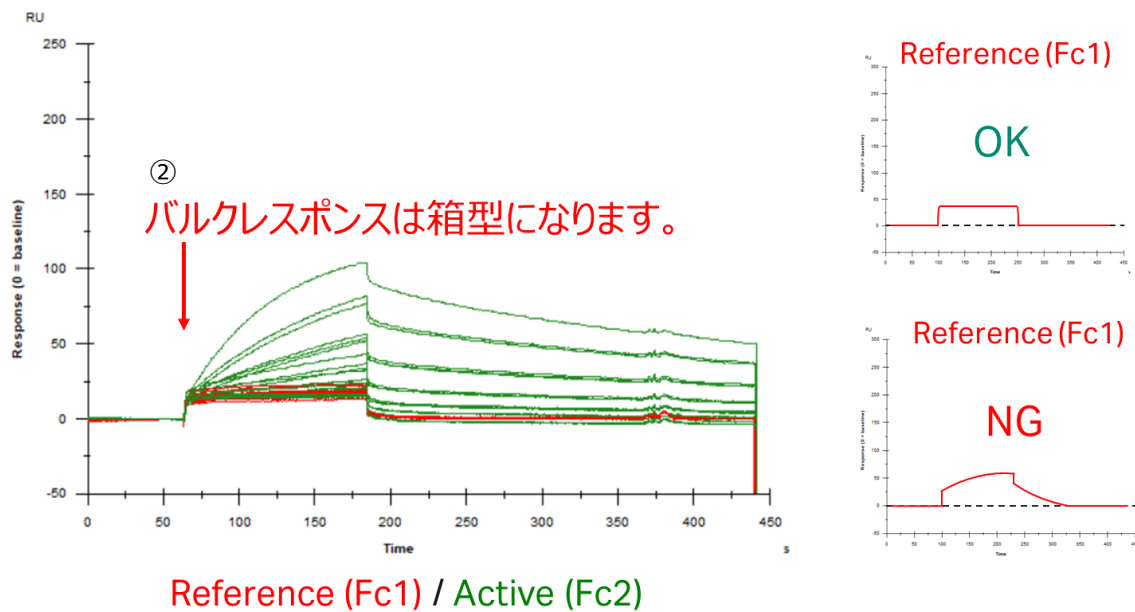


B. リファレンスセルに対する非特異的結合の確認

詳細を確認するためには、まず、リファレンスセルのみを確認します。

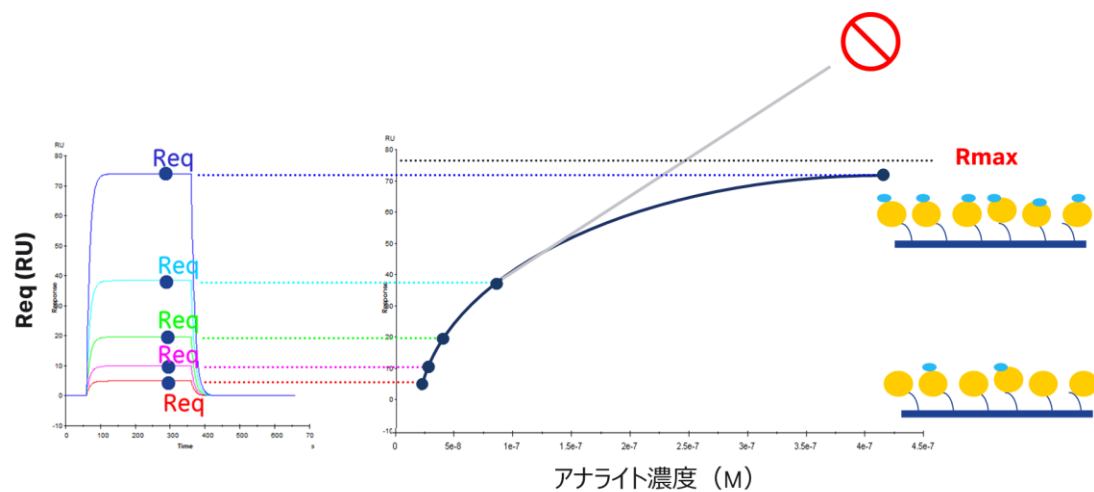
手順	確認項目	注意点・説明
①	Curve Type の選択	QC - Sensorgram の Setting から、Sensorgram Type として Reference と Active 個別のセンサーグラムを選択します。
②	Reference の確認	Reference のセンサーグラムに箱型のバルクレスポンス以外の、非特異結合が無いことを確認します。





C. 結合部位特異的な結合であるかの確認

続いて、その結合が結合部位特異的なものであるかという点も重要です。アナライトの濃度を複数点とった時に、実測 Rmax が、理論的 Rmax (4-1E 参照) 以下で飽和することを確認します。



6-10. Variables によるサンプル名、濃度などの修正

サンプル濃度および濃度単位、サンプルの名称など入力ミスがあった場合、Insight Evaluation Software の Home から Tools... → Keyword Table...をクリックします。

手順	確認項目	注意点・説明
①	Concentration Unit	濃度単位に入力ミスがあった場合、解析実行前に編集します。
②	Table	サンプル濃度、サンプルの名称など入力ミスがあった場合、解析実行前に編集します。

The screenshot shows the 'Variables' tab in the Biacore Insight Evaluation Software. The 'Concentration unit' dropdown is set to 'nM' (labeled ①). The table below shows the variables being edited:

Cycle	Channel	Analysis step purpose	Analysis step name	Analyte Solution	Analyte Concentration
5	4	Analysis	antibodies	rb	0
5	5	Analysis	antibodies	wt	0.25
5	6	Analysis	antibodies	r106a	2.5
5	7	Analysis	antibodies	y52a	25
5	8	Analysis	antibodies	rb	0
6	1	Analysis	antibodies	wt	0.5
6	2	Analysis	antibodies	r106a	5
6	3	Analysis	antibodies	y52a	50
6	4	Analysis	antibodies	rb	0
6	5	Analysis	antibodies	wt	0.5
6	6	Analysis	antibodies	r106a	5
6	7	Analysis	antibodies	y52a	50
6	8	Analysis	antibodies	rb	0
7	1	Analysis	antibodies	wt	1
7	2	Analysis	antibodies	r106a	10
7	3	Analysis	antibodies	y52a	100

Buttons at the bottom: Apply and close, Cancel.

6-11. フィッティングモデル式と parameters の設定

フィッティング解析は Method を選択するとデフォルト設定で実行されますが、詳細を再設定して解析を実行しなおすことも可能です（4-3D 参照）。

6-11-1. Kinetics 解析

A. フィッティングモデル式と parameters の設定方法

Evaluation タブの Settings より、Kinetics または Both を選択

手順	確認項目	注意点・説明
①	Fit models	実際の反応様式に沿ったモデル式を選択（6-11-1B 参照）
②		下図は Serial Kinetics における Default 値（6-11-1C 参照）

Kinetics/Affinity mode
Settings apply to selected series

Kinetics Affinity Both

> Blank settings

▼ Fit models Perform fit [1]

Settings apply to selected series

Kinetics fit model [1] 1:1 binding ▼ ← ①

▼ Initial values
Changes apply to selected series with the same fit model

Model type	Model name	Parameter	Fit	Initial value
Kinetics	1:1 binding	ka	Fit global ▼	1e5 Reset
Kinetics	1:1 binding	kd	Fit global ▼	1e-3 Reset
Kinetics	1:1 binding	Rmax	Fit local ▼	YMax Reset
Kinetics	1:1 binding	tc	Fit global ▼	1e8 Reset
Kinetics	1:1 binding	RI	Constant ▼	0 Reset
Kinetics	1:1 binding	Drift	Constant ▼	0 Reset

③

B. Kinetics 解析の反応モデル

K_D 値は 1:1 結合の上で成り立つ数値のため、可能な限りアッセイを 1:1 の系にいただき、1:1 Binding のモデル式を選択することをお勧めします。

モデル式	説明
1:1 Binding	$A + B \rightleftharpoons AB$ リガンドとアナライトが 1 分子同士で結合するもっとも単純な反応モデル。
1:1 Dissociation	$A + B \rightleftharpoons AB$ リガンドとアナライトが 1 分子同士で結合するもっとも単純な反応モデル。 ＊ 解離相のみをフィッティングして k_d のみを算出
Bivalent Analyte	$A + B \rightleftharpoons AB, AB + B \rightleftharpoons AB_2$ アナライトが 2 価もしくはホモ 2 量体の反応モデル。AB 複合体形成後、リガンド B が 2 次的に結合する反応。
Heterogeneous Analyte	$A_1 + B \rightleftharpoons A_1B, A_2 + B \rightleftharpoons A_2B$ 競合反応。リガンド上の 1 種類の結合部位を 2 種類のアナライトが競合する反応。
Heterogeneous Ligand	$A + B_1 \rightleftharpoons AB_1, A + B_2 \rightleftharpoons AB_2$ アナライトに対して親和性の異なる 2 つの結合部位を持つリガンドにアナライトが並行して結合する反応モデル。
Two state Reaction	$A + B \rightleftharpoons AB \rightleftharpoons AB^*$ リガンドとアナライトの 1 分子同士の結合であるが、複合体形成後コンフォメーション変化を起こす反応モデル。

C. Parameter Setting の使用方法

各パラメータに対して以下の設定が可能です。

項目	説明
Fit	Fit Global : 複数濃度のセンサーグラムで 1 つの解を求めます。 Fit Local : 各濃度のセンサーグラムでそれぞれ解を求めます。 Constant : 固定値。
Initial Value	- Fitting 解析をはじめる初期値を設定。 - Constant と併せて固定値を設定。

各パラメータに対する主な変更点。Default のまま実施するケースも多いです。

モデル式	説明
k_a	多くの場合、変更はしない。
k_d	解離が遅いもので、真値と明らかに異なる値が出た場合、 $1e-5$ くらいからはじめることもある。

Rmax	通常は Fit Global。再生が不十分でサイクルごとに Rmax が変わる際、Fit Local を使用するケースがある。
tc	多くの場合、変更はしない。
RI	箱型に近いなどセンサーグラムの形状によっては実際のレスポンスを RI として計算してしまうことがあるため、Constant 0 にしたほうが良い場合がある。

6-11-2. Affinity 解析

A. フィッティングモデル式と parameters の設定方法

Evaluation タブの Settings より、Affinity または Both を選択

手順	確認項目	注意点・説明
①	Model	実際の反応様式に沿ったモデル式を選択 (6-11-2B 参照)
②	Calculate response at Position	Affinity 解析をする際に数値を取得する箇所。 下図の場合、アナライト添加終了 5 秒前の 5 秒間平均 (Default)
③	Parameter	下図は Default 値 (6-11-2C 参照)

Kinetics/Affinity mode
Settings apply to selected series

Kinetics **Affinity** Both

> Blank settings

▼ Fit models Perform fit [1]

Settings apply to selected series

Affinity fit model [1] Steady state affinity ← ①

☒ Show affinity range for all series

Settings apply to selected series

Calculate response at position

5 s before injection end } ②

with window 5 s

Reset range to defaults Apply range [1]

▼ Initial values

Changes apply to selected series with the same fit model

Model type	Model name	Parameter	Fit	Initial value
Affinity	Steady state affinity	KD	Fit global ▼	XMax Reset
Affinity	Steady state affinity	Rmax	Fit global ▼	YMax Reset
Affinity	Steady state affinity	offset	Fit global ▼	YMax/5 Reset

} ③

B. Affinity 解析の反応モデル

通常、Steady State Affinity が選ばれます。K_D 値は 1:1 結合のもとで求められる数値ですので、1:1 の結合様式であるとしてフィッティングの計算がされます。

モデル式	説明
Steady State Affinity	$R_{eq} = \frac{CR_{max}}{K_D + C} + offset$ 1:1 Binding モデルで、Rmax は Fitting パラメータ。
Steady State Affinity Constant Rmax	Steady State Affinity と同じモデル式で、ポジコンのレスポンスから計算された 100 Da あたりの Rmax を入力して、解析を行う。高濃度側のアナライト濃度のデータポイントを取得できない場合に使用。

C. Parameter Setting の使用方法

各パラメータに対して以下の設定が可能です。

項目	説明
Fit	Fit Global : 複数濃度のセンサーグラムで 1 つの解を求めます。 Fit Local : 各濃度のセンサーグラムでそれぞれ解を求めます。 Constant : 固定値。
Initial Value	- Fitting 解析をはじめる初期値を設定。 - Constant と併せて固定値を設定。

各パラメータに対する主な変更点。Default のまま実施するケースも多いです。

モデル式	説明
k _a	多くの場合、変更はしない。
Rmax	通常は Fit Global。再生が不十分でサイクルごとに Rmax が変わる際、Fit Local を使用するケースがある。
offset	多くの場合、変更はしない。

6-12. 解析結果の品質評価

Evaluation Software は、フィッティングの品質評価を行う機能があります。十分に注意いただきたい点として、これはあくまでフィッティング計算における品質評価です。まずは見たいものを反映しているセンサーグラム形状になっているか、そのためのアッセイセットアップが何より重要です **(6-9 参照)**。

6-12-1. Kinetics 解析

A. Quality Control タブ

手順	確認項目	注意点・説明
①	速度定数がシステムのスペック範囲内か？	Biacore T200 のスペック範囲 $k_a = 1e3 \sim 1e9$ 、 $k_d = 1e-5 \sim 1$
②	各パラメータが独立して算出されているか？	k_a 、 k_d および R_{max} の間に相関性はない。 マストランスポールミテーション下で k_a 、 k_d に相関性が見られる。
③	溶液効果の値 (RI) の妥当性	リファレンスセルおよびアナライトのゼロ濃度を差し引くによって RI はゼロに近い値となるはず。
④	センサーグラムはカーブを描いているか？	高濃度サンプルに注目。センサーグラムの結合・解離領域が直線的な場合、Fitting 結果の信頼性は低い。
⑤	フィッティングカーブに対して測定プロットがランダムに分散しているか？	Residuals タブを確認 (6-12-1B 参照)

Sample table	Parameters	Residuals	Blanks	Quality control
✓	Kinetic constants are within instrument specifications.			← ①
✓	Kinetic constants appear to be uniquely determined.			← ②
✓	No significant bulk contributions (RI) found.			← ③
i	Check that sensorgrams have sufficient curvature.			← ④
i	Examine the residual plot. Pay attention to systematic and non-random deviations.			← ⑤

ステータスマーク



(緑) クオリティーアセスメントにパスしています。



(橙) クオリティーアセスメントの許容限界に近いです。



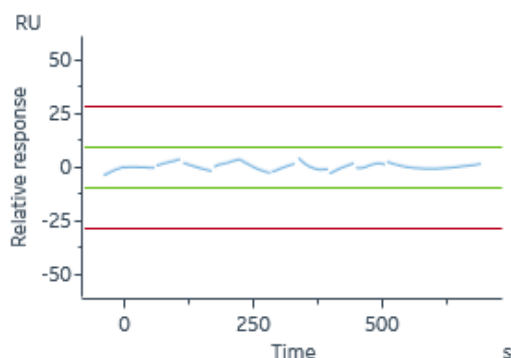
(赤) クオリティーアセスメントにパスしていません。



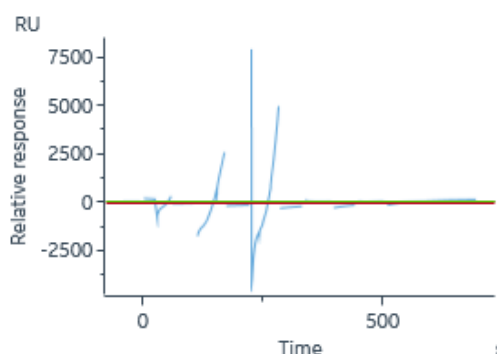
(灰) 測定者が確認します。

B. Residuals タブ

フィッティングカーブをゼロ一直線にした際の各データのばらつき具合を示します。良好なフィッティングでは、ランダムにプロットが分散しており、ガイドライン内にほぼ全てのプロットが収まっています。残差プロットに偏りが見られる場合、良好なフィッティングであるとは言えません。



Residuals for a good fit



Residuals for a poor fit

C. Report および Parameters タブ

解析結果として以下のパラメータが算出されます。

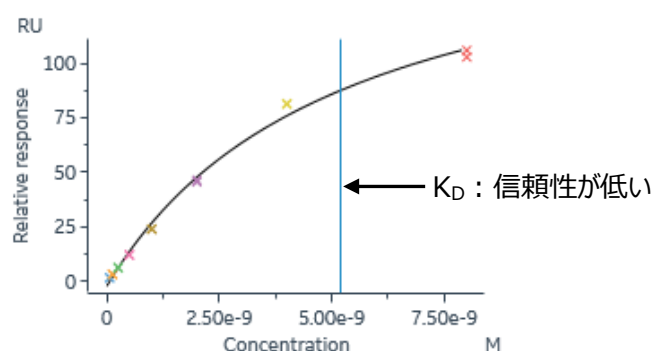
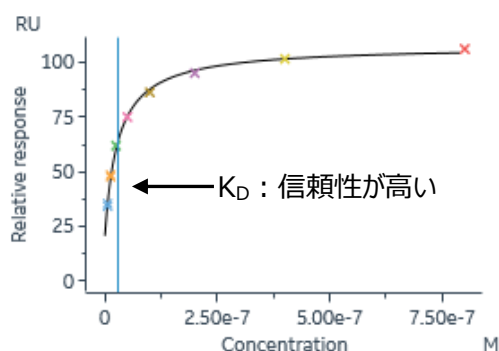
		単位	説明
1:1 binding model 式の変数	結合速度定数 k_a	1/Ms	複合体形成速度。1M の A と B を混合した際に形成する複合体の数。
	解離速度定数 k_d	1/s	複合体の安定性。複合体が 1 秒間に解離する割合。 $k_d = 0.01 \text{ s}^{-1} = 1\%$ 1 秒当たり複合体が 1% 解離する。
	解離定数 K_D	M	アフィニティーは平衡状態においてどれだけの複合体が形成されているかを表す。
	Rmax	RU	アナライトの最大結合量。
	溶媒効果 RI	RU	バルクレスポンスを引いた時に、ゼロからわずかにずれる誤差値。 * 本来は極めて 0 に近い値をとるべき値
	tc 値	$\text{RU} \cdot \text{M}^{-1} \text{s}^{-2/3} \text{m}^{-1}$	$\text{tc} = k t^3 / \sqrt{f}$ マストランスポート (MTL) 定数 (kt) の流速非依存性コンポーネント * どれだけ MTL が強くかかっているかと算出しているかの指標。この値が小さい場合、センサーチップ表面に到達するアナライトの実際の濃度は低くなっていると計算されている。

Fitting 解に対する評価 パラメーター	カイ二乗 Chi ²	RU ²	測定データフィッティングカーブ間の差を示す。 良好なフィッティングでは、シグナルノイズの平均平方値に一致。
	U-value	-	解析値の信頼性。≤15 問題なし。≥25 算出された値の信頼性は低い。 * 既存の 1:1 Binding モデル使用時のみ
	標準誤差 SE	-	各パラメータについて SE を算出。 各パラメータの解析結果に対して、10%以下で一般的には問題ないと判定されることが多い。

6-12-2. Affinity 解析

A. 信頼性の確認

信頼性の高い解析結果を得るためには、アナライトの最高濃度が K_D 値の 2 倍以上で添加されている必要があります。



B. Report および Parameters タブ

		単位	説明
1:1 binding model 式の変数	解離定数 K_D	M	アフィニティーは平衡状態においてどれだけの複合体が形成されているかを表す。
	Rmax	RU	アナライトの最大結合力。実際にアナライ添加した時、結合力が飽和するレスポンス。
	Offset	RU	X = 0 の時の Y 軸の値
Fitting 解に対する 評価パラメーター	カイ二乗 Chi ²	RU ²	測定データとフィッティングカーブ間の差を示す。良好なフィッティングでは、シグナルノイズの平均平方値に一致。

6-13. 用語集

2D-kinetics	2D カイネティクス	8K/8K+で用いる測定方法の一つ。複数ニードルと複数サイクルで広範囲な濃度で一度に測定する。
Active Cell	リガンド固定化セル	Flow Cell のうち、リガンドを固定するセル
Affinity	平衡値解析	各アナライト濃度の結合相における平衡値プロットから $1/2R_{max}$ に相当するアナライト濃度に相当する K_D 値を算出。結合・解離の速い相互作用を示すセンサーグラム解析手法。
Affinity	アフィニティー	分子の 1:1 結合における親和力 (K_D 値)。
Amine Coupling	アミンカップリング	分子の一級アミンを利用して、センサーチップにリガンドやキャプチャー分子を直接固定化する一般的な手法。
Analyte	アナライト	Biacore において送液する側のサンプル。
Association	結合	アナライトを送液して、センサーチップ上のリガンドとアナライトが結合すること。
Avidity	アビディティー	多価分子における親和力の総量。
Bulk Effect	溶液効果	ランニング緩衝液に対して密度の異なる溶液を添加すると、レスポンスが生じる現象。
Capture	キャプチャー	リガンドを捕捉する分子をセンサーチップに固定化し、間接的にリガンドをセンサーチップに結合させること。
Capturing molecule	キャプチャー分子	センサーチップへリガンドを間接的に固定化するための捕捉用分子。リガンドの再生が可能となる。
Channel	チャンネル	8K/8K+における、各ニードルに対応する測定番号。
χ^2	カイ二乗	測定データフィッティングカーブ間の差（平均平方値）を示す。
Contact Time	添加時間	リガンド、アナライトなどをインジェクションする時間。
Desorb	デゾルブ	IFC およびサンプルチューブを洗浄するプログラム。週一回の実施を推奨。
Desorb and sanitize	デゾルブアンドサニタイズ	すべてのフローシステムの滅菌および洗浄するプログラム。月一回の実施を推奨。
Direct Immobilization	直接法	センサーチップにリガンドを直接固定化する方法。主にアミンカップリングを指す。
Dissociation	解離	アナライトの送液を止めて、センサーチップ上のリガンドとアナライトが解離すること。
Experimental R_{max}	実測 R_{max}	実際にアナライトを添加した時、結合量が飽和するレスポンス(RU)
Fit	フィッティング解析	非線形最小二乗法により変数となる k_a 、 k_d 、 R_{max} などを算出する解析方法。

Fitting Model	反応モデル	フィッティング解析を行う際のモデル式。
Flow Cell (Fc)	フローセル	センサーチップ上でマイクロ流路から送液された溶液と接液する箇所。反応・検出の場。通常、Active Cell と Reference Cell を持つ。
Foil	フォイル	Biacore で 96/384 ウェルプレートを用いる際のプレートシール (Pooling 不可)
Immobilization	固定化	センサーチップにリガンドを結合させる操作。Capture (キャプチャー) との総称として用いることもある。
Injection	インジェクション	ニードルを用いたサンプルの添加。
Integrated Microfluidic Cartridge (IFC)	マイクロ流路系	カートリッジ形式のマイクロ流路系。センサーチップと接する個所にフローセルを形成する。
k_a (k_{on})	解離速度定数	複合体の安定性。複合体が 1 秒間に解離する割合 (1/s)。 $k_d = 0.01 \text{ s}^{-1} = 1\%$ (1 秒当たり複合体が 1% 解離する)。
K_D	解離定数	平衡状態においてどれだけの複合体が形成されているかを表す (M)。
k_d (k_{off})	結合速度定数	複合体形成速度。1M の A と B を混合した際に形成する複合体の数 (1/Ms)。
Kinetics	カインेटクス解析	反応速度論的解析。センサーグラムを評価し、 k_a 、 k_d を算出する解析手法。
Ligand	リガンド	Biacore においてセンサーチップに固定化する側のサンプル。
Mass Transport Limitation (MTL)	マス・トランスポートリミテーション	アナライトの供給が追いつかず、消費速度が上回る現象。センサーグラムの変形が生じるため、固定化量を下げるとともに流速も高流速 (30 $\mu\text{L}/\text{min}$) にする。
Multi cycle kinetics	マルチサイクル法	各アナライト濃度を個別サイクルで測定する方法。
Parallel kinetics	パラレルカインेटクス	8K/8K+ で用いる測定方法の一つ。複数ニードルで一度に複数濃度を測定する。
Pre-Concentration	プレコンセントレーション	アミンカップリングにおいて、リガンドの等電点より 0.5~2.0 程度低い pH の溶媒を用いることでセンサーチップ近傍へ静電的に濃縮させる効果。
Quality Control	クオリティーコントロール	フィッティング解析終了後に Evaluation Software が示すフィッティングの品質評価。
Reference Cell	リファレンスセル	Flow Cell のうち、リガンドを固定化しないセル (溶液効果の補正用)
Regeneration	再生	センサーチップに固定化されたリガンドからアナライトを強制的に全て解離させる操作。リガンドごと解離させる場合もある。

Residuals	残差プロット	Evaluation Software が示すフィッティングの品質評価の一つで、フィッティングカーブに対する測定データのズレを示す。
Resonance Unit (RU)	レゾナンスユニット	Biacore の測定によって得られるレスポンスの単位。
RI	溶媒効果	バルクレスポンスを差し引いた時に、ゼロからわずかにずれる誤差値。
Rmax	アールマックス	アナライトの最大結合量。Theoretical Rmax (理論的 Rmax) と Experimental Rmax (実測 Rmax) がある。
Sensor Chip	センサーチップ	リガンドを固定化し、分子間相互作用の場となる Biacore 専用の消耗品。全 15 種類程度。
Sensorgram	センサーグラム	Biacore から得られる、結合、解離の様子を反映した測定データ。
Septa	セプタ	Biacore で 96/384 ウェルプレートを用いる際のゴム製プレートシール (Pooling 可)
Serial kinetics	シリアルカインेटクス	8K/8K+ で用いる、Single cycle kinetics と Multi cycle kinetics の総称。同一のニードルで各濃度をとる。
Similarity	同等性	EC50、PLA などのポテンシーアッセイ、また、Sensorgram Comparison による結合様式の類似性評価。
Single cycle kinetics	シングルサイクル法	各アナライト濃度を同一サイクルで測定する方法。
Solvent Correction	溶媒補正	アナライトに DMSO などのバルクレスポンスが大きな溶媒を含む際に生じる、Active Cell と Reference Cell における溶液効果のズレを補正すること。
Surface Plasmon Resonance (SPR)	表面プラズモン共鳴法	表面への分子の結合・解離を金膜表面近傍の屈折率変化として非標識かつリアルタイムで追跡できる方法。
System Check	システムチェック	装置の診断をおこなうプログラム。
tc 値	ティーシー値	どれだけ MTL が強くかかっていると算出しているかの指標。この値が小さい場合、センサーチップ表面に到達するアナライトの実際の濃度は低くなっていると計算されている。
Theoretical Rmax	理論的 Rmax	固定化したリガンド分子にアナライトが全て結合した時に得られる理論上最大のレスポンス(RU)
Thermodynamics	熱力学的解析	Δh エンタルピー、 Δs エントロピーといった熱力学的パラメーターに基づいて、分子間の結合様式情報を得る解析方法。
U-Value	ユーバリュー	マストランスポートリミテーションを反映する解析値の信頼性。≤15 問題なし。≥25 算出された値の信頼性は低い。* 1:1 Binding モデル使用時のみ

■総合お問合せ窓口

TEL : 03-5331-9336

● 機器アフターサービス

(営業日の 9:00～17:30、音声案内に従い①を選択)

FAX : 03-5331-9324 (常時受付)

● 製品技術情報に関して

(バイオダイレクトライン、営業日の 9:00～12:00、13:00～17:30)

音声案内に従い②を選択後、対象の製品別の番号を押してください。

① : ÄKTA、クロマトグラフィー関連製品

② : ビアコア関連製品

③ : 電気泳動関連製品、画像解析装置

④ : IN Cell Analyzer、ワットマン製品、その他製品

e-mail : Tech-JP@cytiva.com (常時受付)

● 納期／在庫お問合せ

(営業日の 9:00～12:00、13:00～17:30、音声案内に従い③を選択)

注) 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。

注) アナログ回線等で番号選択ができない場合はそのままお待ちください。オペレーターにつながります。

www.cytivalifesciences.co.jp

論文に掲載いただく際の名称・所在地

Cytiva / Tokyo, Japan

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
〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルヂング

お問合せ : バイオダイレクトライン

TEL : 03-5331-9336

e-mail : Tech-JP@cytiva.com

掲載されている内容は 2021 年 8 月現在のもので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。お問い合わ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。