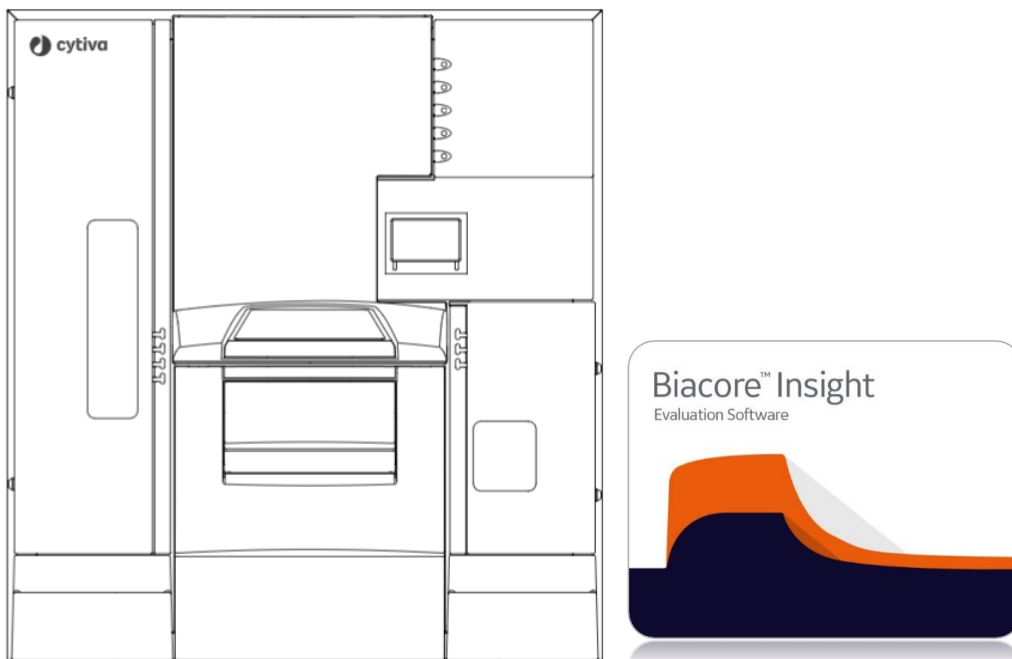


# Biacore T200/S200

## Insight Evaluation Software 操作手順書

Ver.202108




# 目次

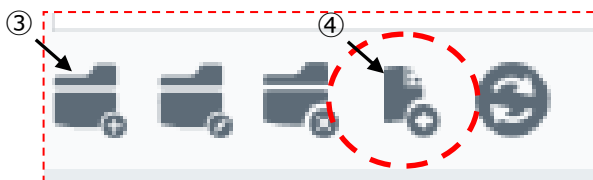
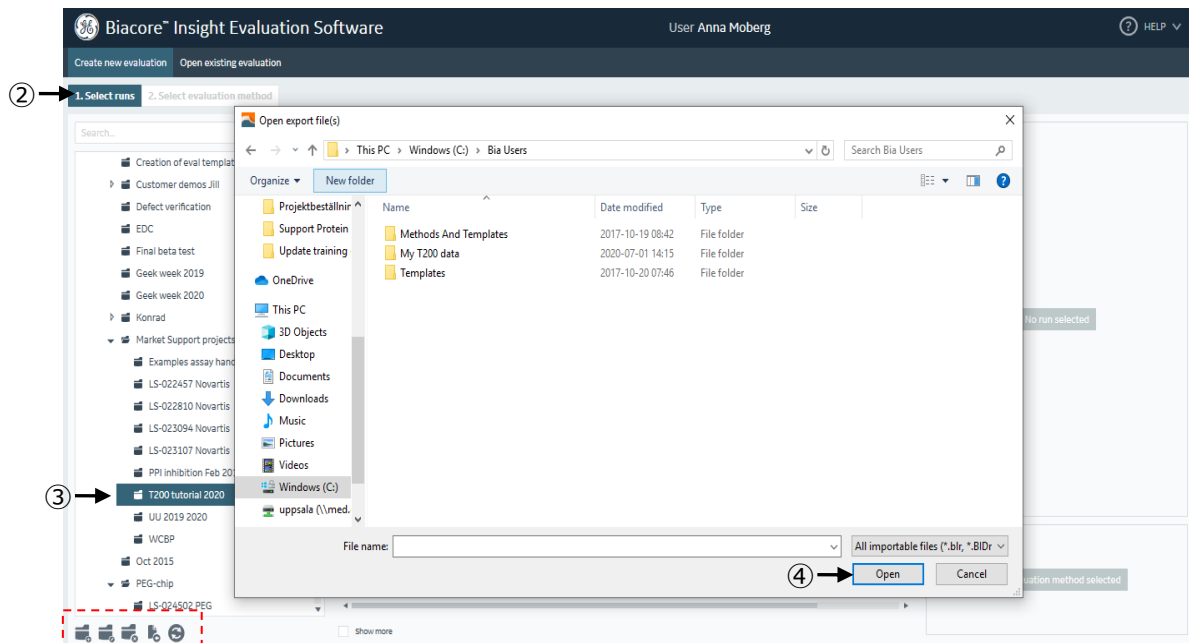
<b>1. 解析を始めるまえに .....</b>	<b>3</b>
1-1. データのインポート .....	3
<b>2. 解析の実行 .....</b>	<b>4</b>
2-1. Insight Evaluation software 概観.....	4
2-2. スクリーニング.....	5
2-3. キャラクターゼーション.....	9
<b>3. TIPS.....</b>	<b>13</b>
3-1. スクリーンサイズの変更 .....	13
3-2. Variables の変更 .....	14
3-3. Flow cell の変更 .....	15
3-3. 各種 Table の変更.....	16

# 1. 解析を始めるまえに

## 1-1. データのインポート

はじめに RUN データ (.blr) をインポートします。

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	既存の RUN ファイルが一覧表示される
③	Add Folder	フォルダを作成する
④	Import	データのインポート。インポートしたデータを一括で選択して Open。

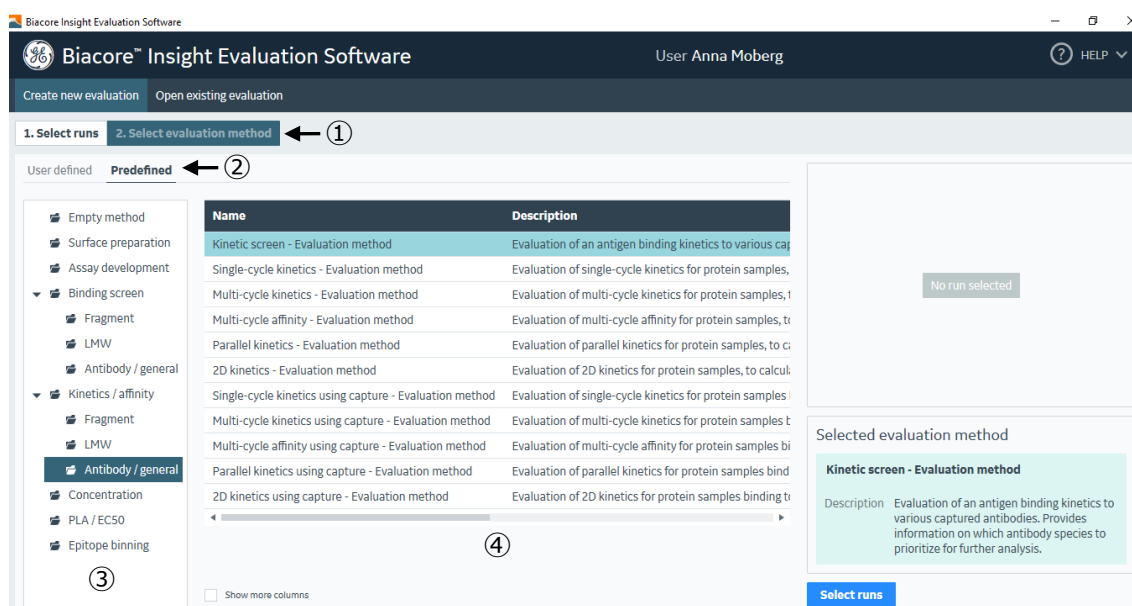


## 2. 解析の実行

### 2-1. Insight Evaluation software 概観


Select evaluation method タブから Predefined タブをすると、測定項目、測定対象に応じた解析 Method が一通りプリセットされています。

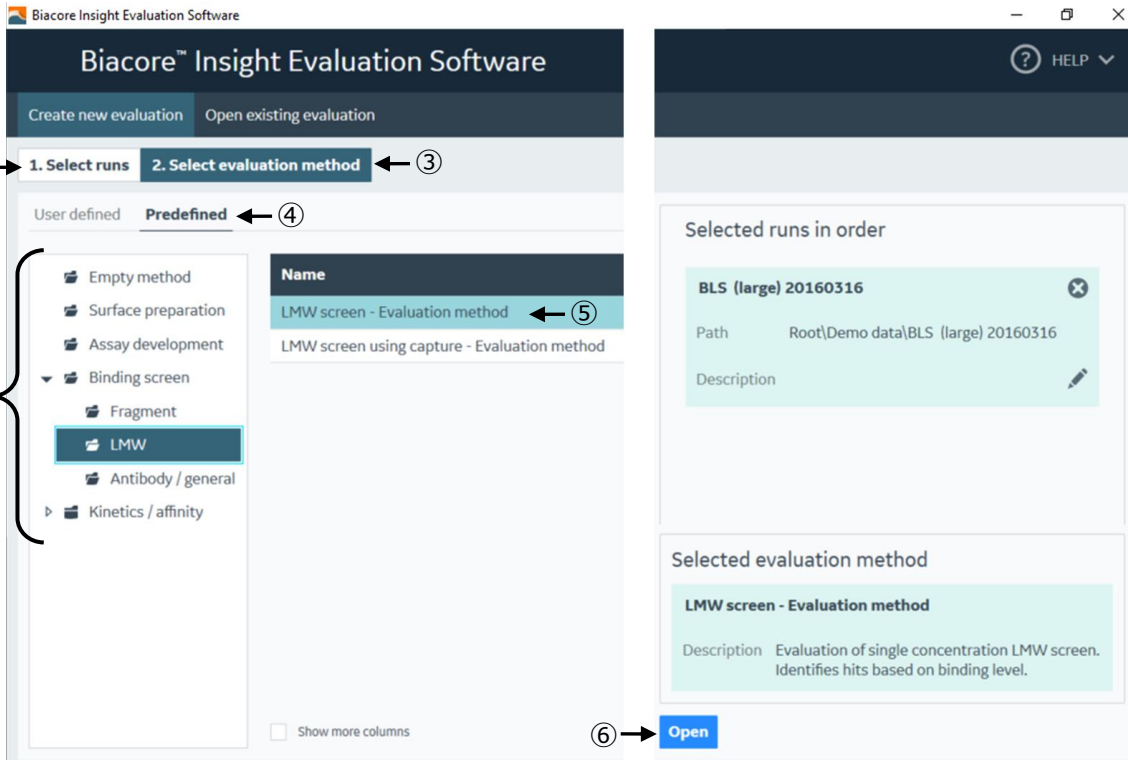
手順	操作項目	注意点・説明
①	Select evaluation method	解析を実行する Method の選択
②	Predefined	プリセットされた解析 Method の選択 * 編集・保存済みの Method は User defined より選択
③	Method Folder	解析内容、解析対象に合わせて Method Folder を選択 下図では Antibody/General (抗体/一般的なタンパク質など)
④	Method	Multi-Cycle/Single-cycle、直接法/キャプチャー法などに応じて選択。 * T200/S200 では、2D、Parallel は使用しません。



## 2-2. スクリーニング

低分子化合物を例に、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例を示します。

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	インポート済みの RUN ファイルの選択。
③	Select evaluation method	解析を実行する Method の選択 <b>(2-2 補足①参照)</b>
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 LMW screen (低分子化合物スクリーニング)
⑥	Open	選択した Method の実行



The screenshot displays the Biacore Insight Evaluation Software interface. The main window is titled "Biacore™ Insight Evaluation Software" and has two tabs: "Create new evaluation" and "Open existing evaluation". The "Open existing evaluation" tab is active, showing a workflow with two steps: "1. Select runs" and "2. Select evaluation method".

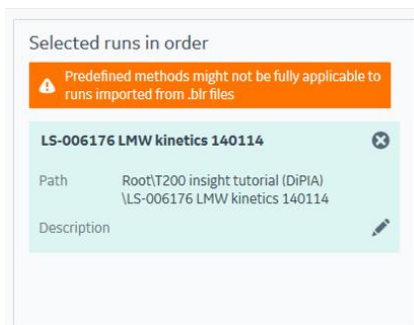
Step 2, "2. Select evaluation method", is currently selected. It features a sidebar with a tree view of methods. The "Predefined" section is expanded, and the "LMW" method is highlighted. A list of predefined methods is shown in the center, including "LMW screen - Evaluation method" and "LMW screen using capture - Evaluation method". The "LMW screen - Evaluation method" is selected.

On the right side of the interface, there are two panels. The top panel, "Selected runs in order", lists a run: "BLS (large) 20160316" with its path and description. The bottom panel, "Selected evaluation method", shows the selected "LMW screen - Evaluation method" with its description: "Evaluation of single concentration LMW screen. Identifies hits based on binding level." At the bottom right, there is an "Open" button.

Numbered callouts (② through ⑥) are placed on the screenshot to correspond with the steps in the table above: ② points to the "1. Select runs" tab, ③ to the "2. Select evaluation method" tab, ④ to the "Predefined" section in the sidebar, ⑤ to the "LMW" method in the sidebar, ⑥ to the "Open" button, and an additional ⑤ points to the selected "LMW screen - Evaluation method" in the center panel.

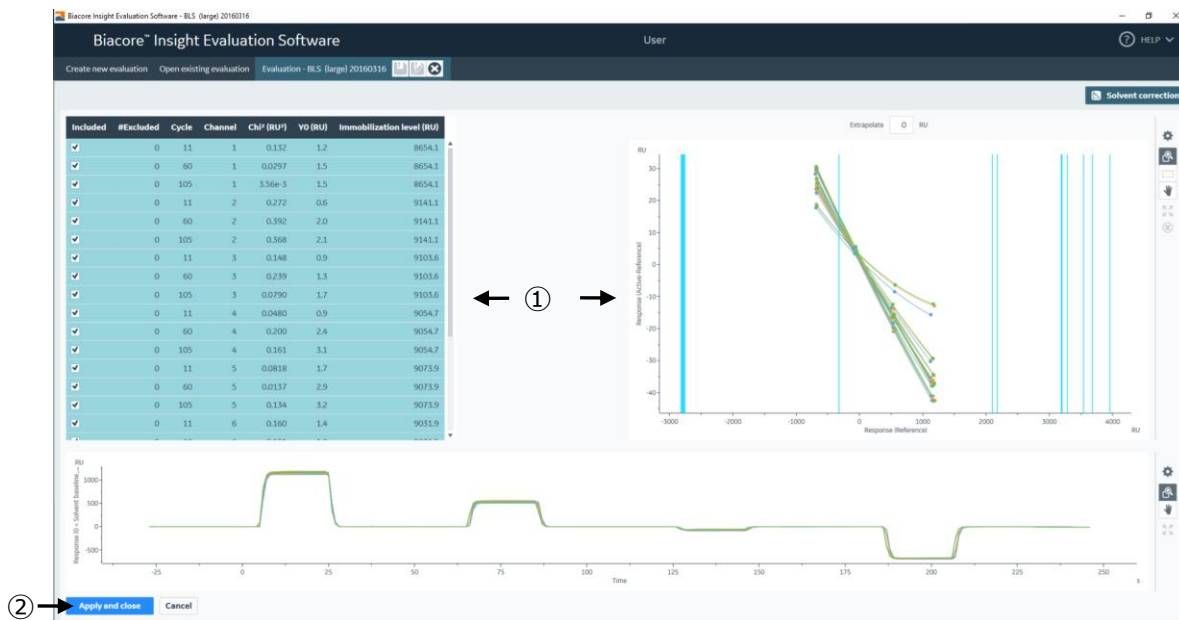
## 2-2 捕捉①：Biacore T200/S200 データ選択時のメッセージ

Biacore T200/S200 データ選択時、下図のようなメッセージが出ます。Biacore Insight Evaluation では、プリセットされた Method を Open するだけで様々な評価結果が表示されます。一部の評価内容が反映されない可能性があることを示しています。必要に応じて設定を変更して再解析を実施します。



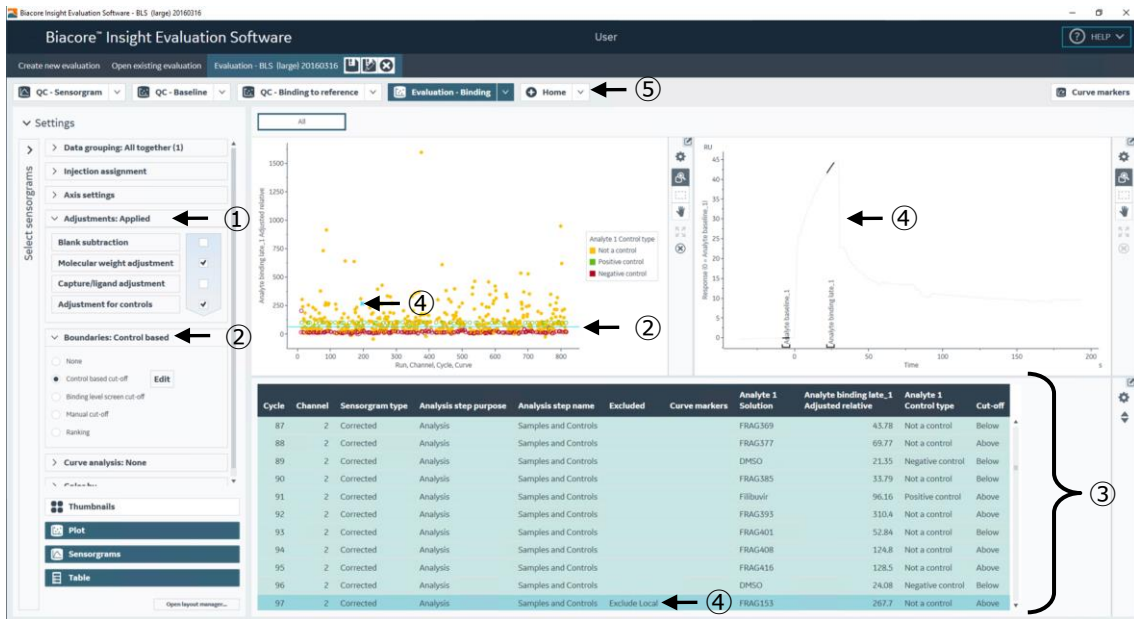
## 溶媒補正の設定

手順	操作項目	注意点・説明
①	溶媒補正 (Solvent Correction)	・センサーグラムや補正曲線の形状が異常な場合、チェックを外す。
②	Apply and Close	Solvent Correction を適応して解析を実行。

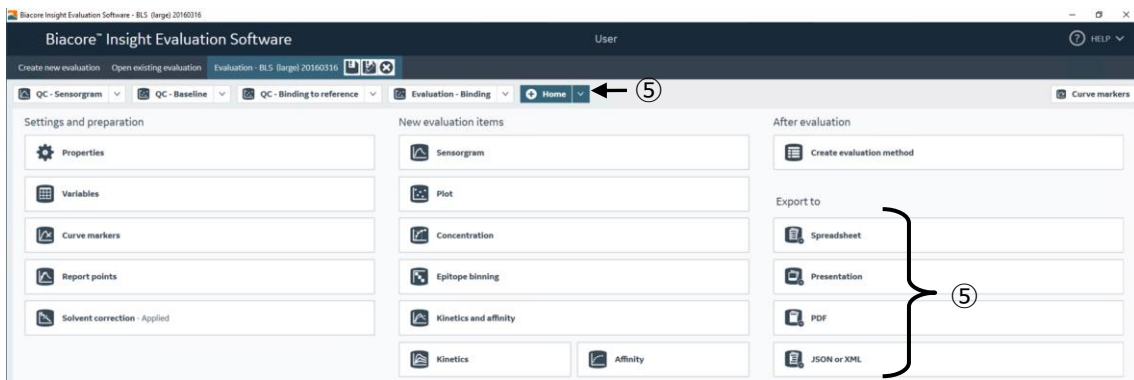


データプロセッシング Evaluation - Binding

手順	操作項目	注意点・説明
①	Adjustment	・分子量、コントロールサンプルなどによるデータ補正 ・ <b>下記補足 Adjustment/Boundaries 参照</b>
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。 ・ <b>下記補足 Adjustment/Boundaries 参照</b>
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

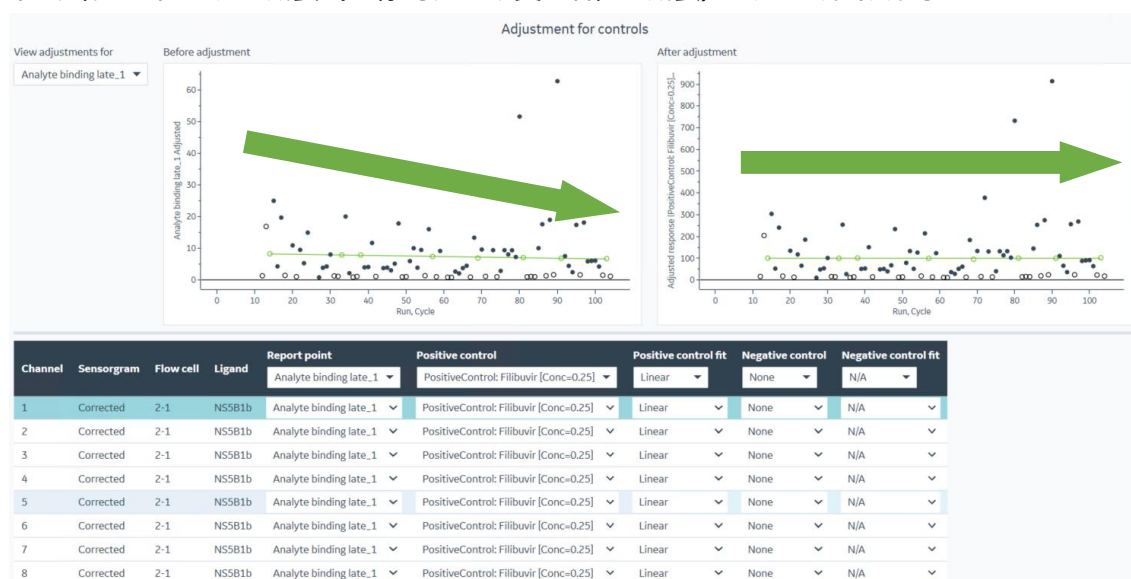


## 2-2 補足② : Adjustment/Boundaries

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 : $100 \times \text{RU} / \text{Da}$
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
	Negative control	
Ranking/Cut-off	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	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

## 2-2 補足③ : 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。

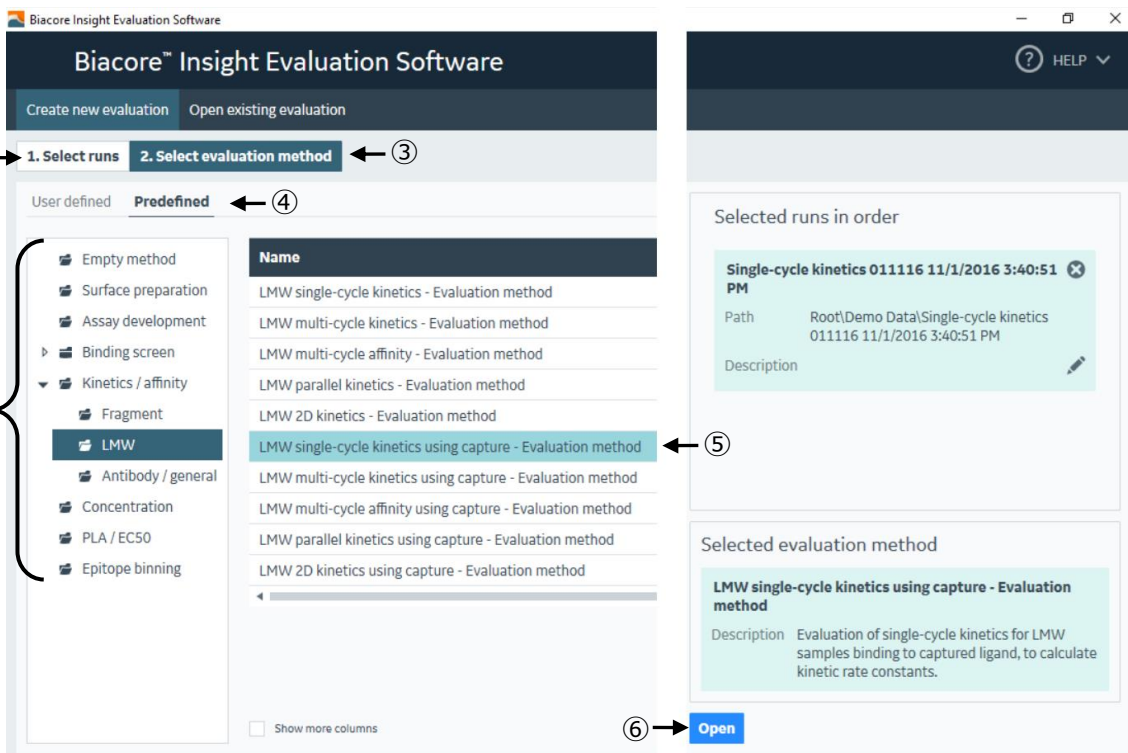




## 2-3. キャラクターリゼーション

キャプチャー法を用いた低分子化合物の Single-cycle kinetics ( $K_D$ 、 $k_a$ 、 $k_d$ の算出) 解析例を示します。

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	インポート済の RUN ファイルの選択。(2-2 補足①参照)
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 LMW 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 title is "Biacore™ Insight Evaluation Software". At the top, there are buttons for "Create new evaluation" and "Open existing evaluation". Below this, 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 under the "Predefined" category. The list includes various kinetic methods, with "LMW single-cycle kinetics using capture - Evaluation method" selected. To the right, there is a "Selected runs in order" panel showing a single run: "Single-cycle kinetics 011116 11/1/2016 3:40:51 PM". Below that, the "Selected evaluation method" panel shows the details for the selected method: "LMW single-cycle kinetics using capture - Evaluation method" with a description: "Evaluation of single-cycle kinetics for LMW samples binding to captured ligand, to calculate kinetic rate constants." At the bottom right, there is an "Open" button. Numbered annotations 1 through 6 are placed on the interface to correspond to the steps in the table above.

## 溶媒補正の設定

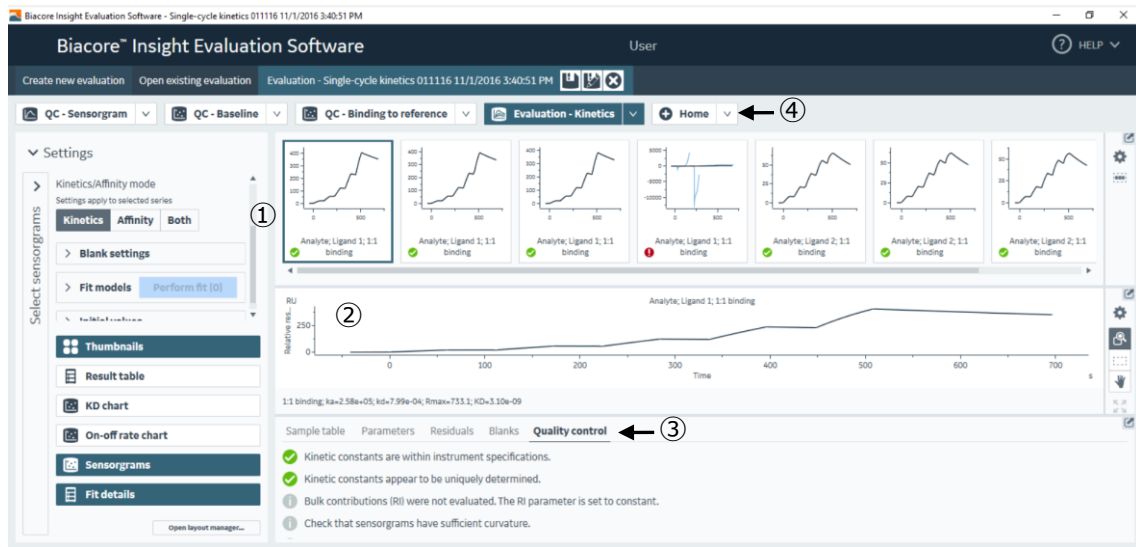
手順	操作項目	注意点・説明
①	溶媒補正 (Solvent Correction)	・センサーグラムや補正曲線の形状が異常な場合、チェックを外す。
②	Apply and Close	Solvent Correction を適応して解析を実行。

The screenshot displays the Biacore Insight Evaluation Software interface. The main window is titled "Biacore™ Insight Evaluation Software" and shows a "Solvent correction" dialog box. The dialog box contains a table with columns: Included, #Excluded, Cycle, Channel, CH<sup>2</sup> (RU<sup>2</sup>), YO (RU), and Immobilization level (RU). The table lists 24 rows of data, all with "Included" checked. To the right of the table is a graph showing "Response (RU) vs Response Reference (RU)" with multiple curves. Below the graph is another graph showing "Response (RU) vs Time (s)" with a step-like signal. At the bottom left, there is a button labeled "Apply and close" with a circled 2 next to it, and a "Cancel" button.

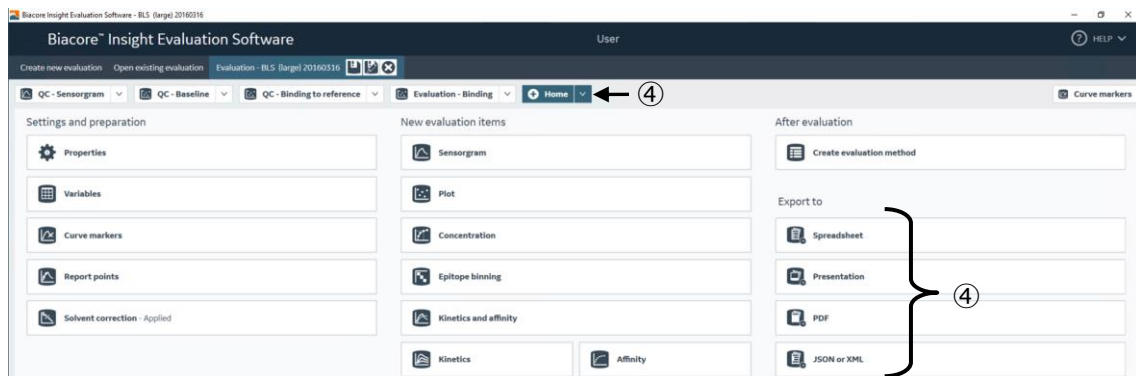
## 解析の実行、再解析、レポートング

Method 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
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



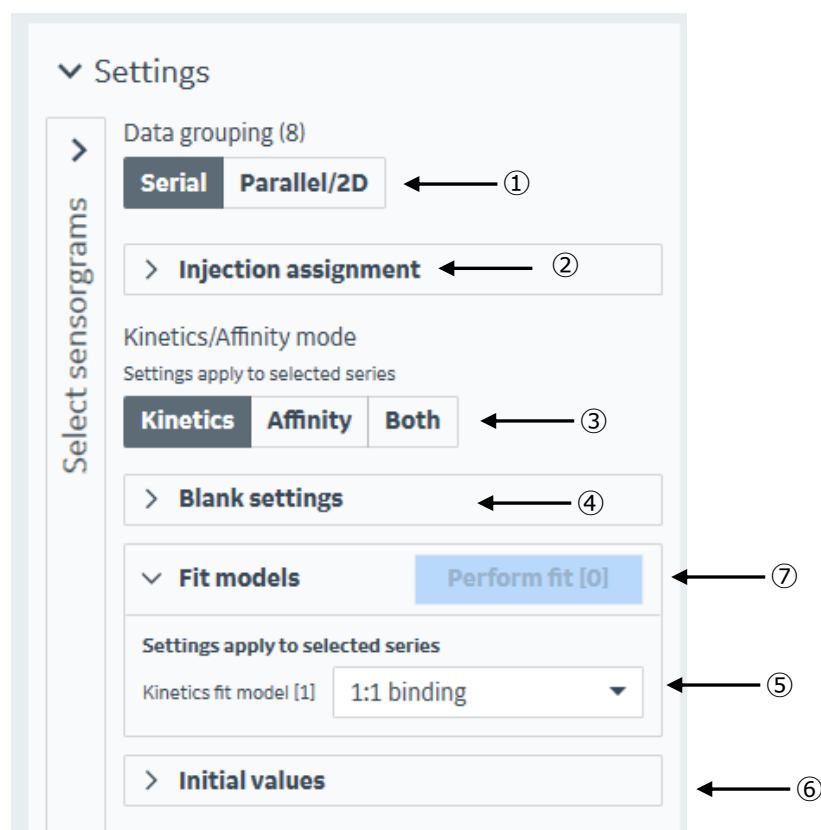
## 結果の Export



## 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。

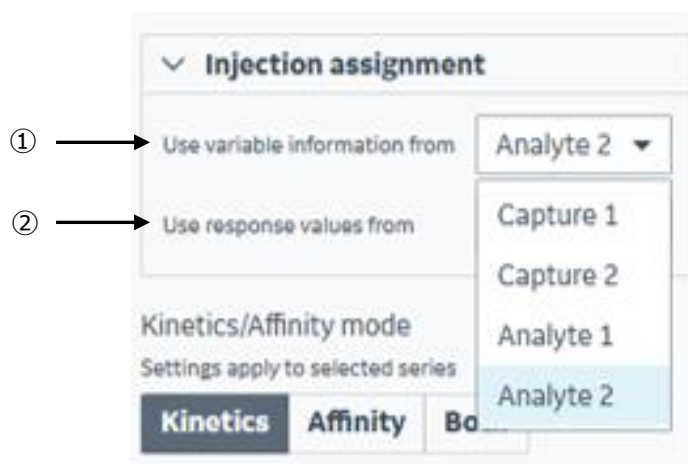
手順	操作項目	注意点・説明
①	Data grouping	T200/S200 データの場合は、Serial です。
②	Injection assignment	次ページ <u>捕捉</u>
③	解析モード	Kinetics / Affinity / Both (両方実施) より選択
④	Blank Setting	各サンプルに採用するブランク (0 濃度) による差し引きを設定 ・Use blanks within same series : 同一名称のブランク ・Use other blank : 直前、直後、直近などから選択 ・No Subtraction : 通常は用いない
⑤	Fit model	フィッティングモデル式の選択
⑥	Initial Values	フィッティング解析時の初期値設定
⑦	Perform Fit	Thumbnail など で解析したいデータを選択し、解析実行。



### 2-3 捕捉：同一センサーグラムで複数評価が可能

例えば、同じセンサーグラムから抗体の濃度定量と、抗原-抗体の Kinetics 解析をしたいなど、へよう化したい変数が自由に選択できます。T200 の Dual に対してもフィッティングが可能です。

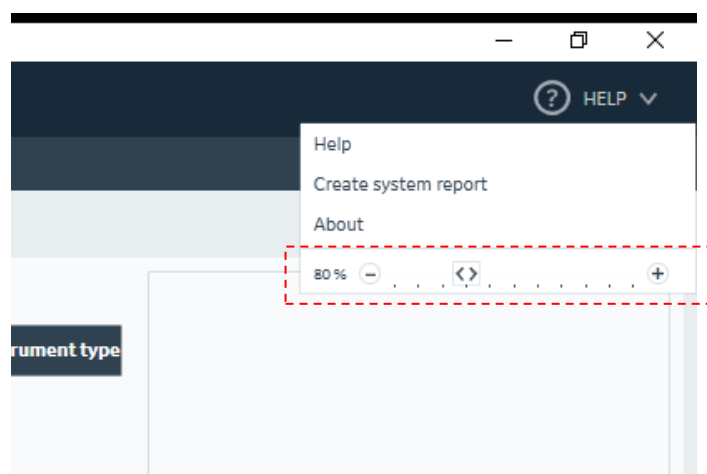
	操作項目	注意点・説明
①	Use variable information from	Capture (リガンド)、Analyte (アナライト) のいずれも変数となっている場合など、評価したい対象の選択
②	Use response values from	解析を実施したいレスポンスの選択



## 3. Tips

### 3-1. スクリーンサイズの変更

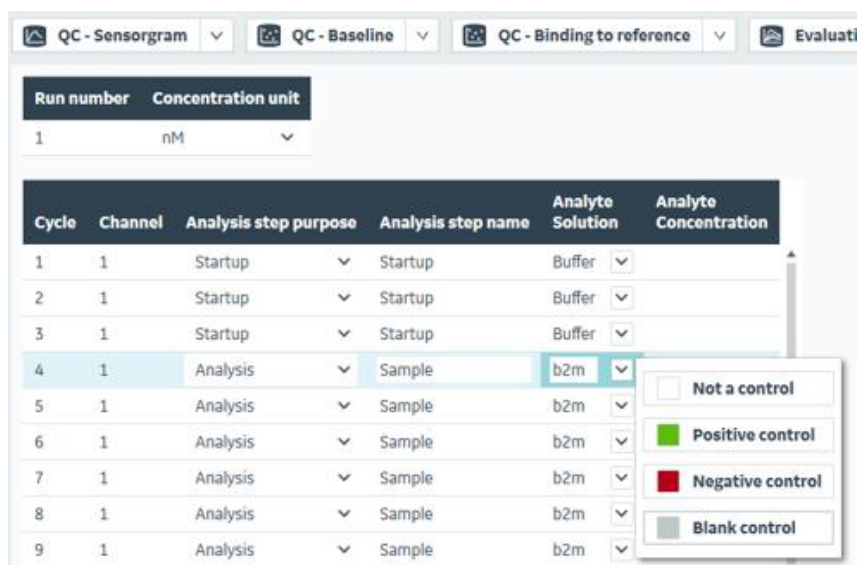
画面右上 Help 内のスライダバーで表示サイズの変更ができます。



### 3-2. Variables の変更

Biacore T200/S200 では Keyord Table でサンプル名、濃度などの修正できました。本ソフトウェアでは Home→Variables より変更します。

Analyte Solution の  より、Control、Blank などの変更を行います。



The screenshot shows a software interface with a table of analysis steps. The table has columns for Cycle, Channel, Analysis step purpose, Analysis step name, Analyte Solution, and Analyte Concentration. A dropdown menu is open over the 'Analyte Solution' column of the 4th row, showing options: Not a control, Positive control, Negative control, and Blank control.

Run number	Concentration unit
1	nM

Cycle	Channel	Analysis step purpose	Analysis step name	Analyte Solution	Analyte Concentration
1	1	Startup	Startup	Buffer	
2	1	Startup	Startup	Buffer	
3	1	Startup	Startup	Buffer	
4	1	Analysis	Sample	b2m	
5	1	Analysis	Sample	b2m	
6	1	Analysis	Sample	b2m	
7	1	Analysis	Sample	b2m	
8	1	Analysis	Sample	b2m	
9	1	Analysis	Sample	b2m	

- Not a control
- Positive control
- Negative control
- Blank control

### 3-3. Flow cell の変更

Fc1、3 に関しては、Active/Reference の変更ができます。Fc2、4 は Active で固定です。

手順	操作項目	注意点・説明
①	Select runs	インポート済の RUN ファイルの選択。
②	Select evaluation method	解析を実行する Method の選択
③	Predefined	ここでは Empty Method を選択します。Home 画面に移ります。
④	Properties	Home より、Properties→Run1 を選択
⑤	Active/Reference	Fc1、Fc3 のみ Active/Reference の変更が可能→Apply and Close

The screenshot displays the 'Run 1' configuration page. At the top, there is a 'Home' button and a 'Run 1' tab, with an arrow pointing to the tab labeled ④. Below this, the page is split into two columns: 'Chip information' and 'Run information'. The 'Chip information' column lists details like 'Chip type: CM5', 'Chip id: 210531-1147:2623147', 'Lot number', and 'First dock date: 5/31/2021 11:51:12 AM'. The 'Run information' column lists 'Name: 210531\_test\_run01', 'Path: Root\Guest\test\_run01', 'Method', and 'Instrument type: Biacore S200'. A 'More info' button is located to the right of the 'Run information' section. Below these sections are two 'Flow cell' configuration areas. 'Flow cell 1' has a 'Channel 1' checkbox checked and a 'Sensorgram type' dropdown menu with 'Active' and 'Reference' options; an arrow points to the 'Reference' option labeled ⑤. 'Flow cell 2' is partially visible below it. At the bottom of the page, there are 'Apply and close' and 'Cancel' buttons, with an arrow pointing to the 'Cancel' button labeled ⑤.

### 3-3. 各種 Table の変更

(Report point) Table や Result Table では、表示したい項目の選択、順番変更、また Column Calculator により、カスタマイズした数値を作成することができます。

手順	操作項目	注意点・説明
①	Table Settings	 Table settings から
②	Column タブ	表示したい項目を Available Column から Selected Column に移す。 並べたい順番を上下ボタンで変更する。
③	Column Calculator	Result Table では、算出されたパラメーターを、Result Table では各種 Report Point から新たな数値を算出します。



**Column Calculator**

Column name:  ③

Formula:

Resulting unit:

Columns:

- B : Immobilized ligand level (RU)
- C : Immobilized ligand MW (Da)
- D : Capture 1 Molecular weight
- F : Kinetics Chi² (RU²)
- G : ka (1/Ms)
- H : kd (1/s)
- I : KD (M)
- J : Rmax (RU)

Calculator keypad: ( ) < > 7 8 9 <- 4 5 6 / 1 2 3 \* 0 . + -





## ■ 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](http://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。