



Biacore

取り扱い説明会

基礎セミナー

Version 1.1.1

本セミナーの内容

1. Biacore概略・原理および各種固定化方法 ……3

1-1. Biacore概略・原理

Biacoreとは、どんな原理で何ができるのか

1-2. 各種固定化方法

Biacoreによる測定の第一歩、リガンド分子の固定化について

2. Biacoreの適用例概略 ……30

Biacoreではどのような測定が可能か、医薬品開発での適応分野は

3. Biacore測定ワークフローの基本的条件設定 ……34

固定化以降、KD値算出までのワークフローについて
特異的な結合をどのように判断するか
低分子化合物、抗体の測定におけるワークフローと注意点
リガンド分子の固定化量、アナライト添加濃度・時間設定の目安

4. 汎用性の高い測定ワークフロー例 ……52

Biotin CAPture Kit によるワークフロー

5. 解析 ……57

カインेटクス解析、アフィニティー解析のフロー
クオリティーコントロールと算出される各種パラメータ

6. メンテナンス ……73

機器メンテナンスと、センサーチップの保存方法

7. アミンカップリング法 ……76

アミンカップリング法によるリガンド（またはCapturing molecule）の固定化

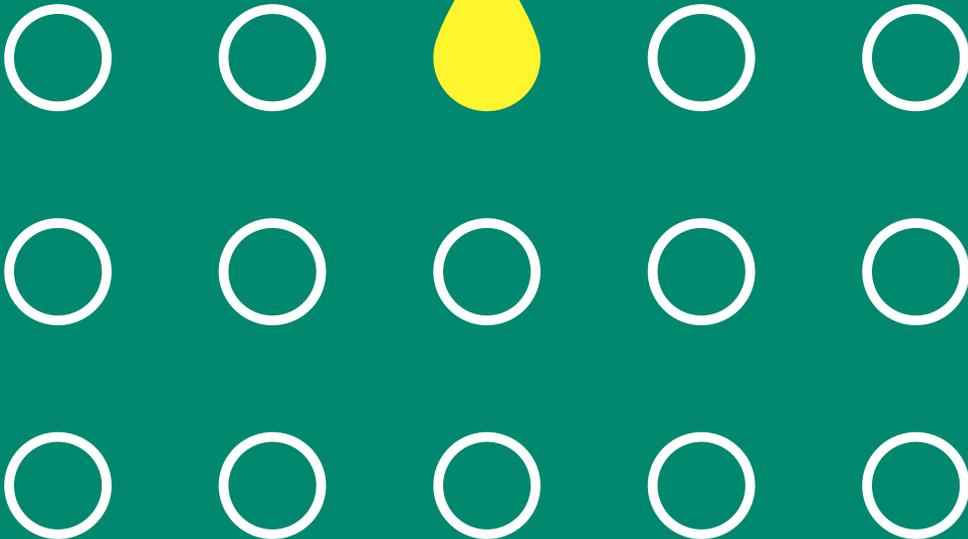
8. サポート情報の入手先 ……81

Biacoreコンシェルジュ（メールマガジン）
Biacoreポータルサイト、Cytiva Webinar、Online Training（無料）
消耗品製品情報・説明書などの入手方法

Appendix ……84

適合96/384プレート、フォイル、セプタ
抗体や各種タグ融合タンパク質の固定化/キャプチャー
EZ-Link™ によるリガンドタンパク質のBiotin化例

1. Biacore概略・原理 および各種固定化方法





1 - 1 . Biacore概略・原理

表面プラズモン共鳴 (SPR) :
Target-based drug discoveryにおける30年の足跡

SPRは1990年初頭に抗体医薬品Humira™のキャラクタリゼーションに初めて成功しました

今日SPRは抗体抗原結合のリアルタイム検出とtarget-based drug discoveryにおけるkinetics測定のスタンダードになりました。

1990-1999

研究、高分子、少サンプルでのSPRの時代

- ・ 1990: アボット社が初めてBiacore™ SPRシステムを購入
- ・ バイオ医薬品製薬企業がSPRテクノロジーを抗体抗原のaffinity, kineticsやエピトピーニングの測定に採用
- ・ フェージディスプレイによる完全ヒト抗体ライブラリーの整備
- ・ 1997: FDAがSPRを使って開発された移植時の拒絶反応予防の最初のヒト化モノクローナル抗体を承認 - 抗IL-2受容体
- ・ 標的に対して結合する未知分子がSPRとマススペクトロメトリーを接続することで同定される可能性



2000-2010

創薬で“Core”テクノロジーになった時代

- ・ 2003: 乾癬治療薬のAlefacept、初めてBiacore™システムを用いた出荷試験
- ・ 2008: 新規承認薬の約50%がtarget-based drug discoveryによるものに
- ・ SPRの高感度化とスループットの向上は大規模フラグメントライブラリーのスクリーニングを可能とした。またGPCRのようなチャレンジングな標的に対する結合解析が可能となった。



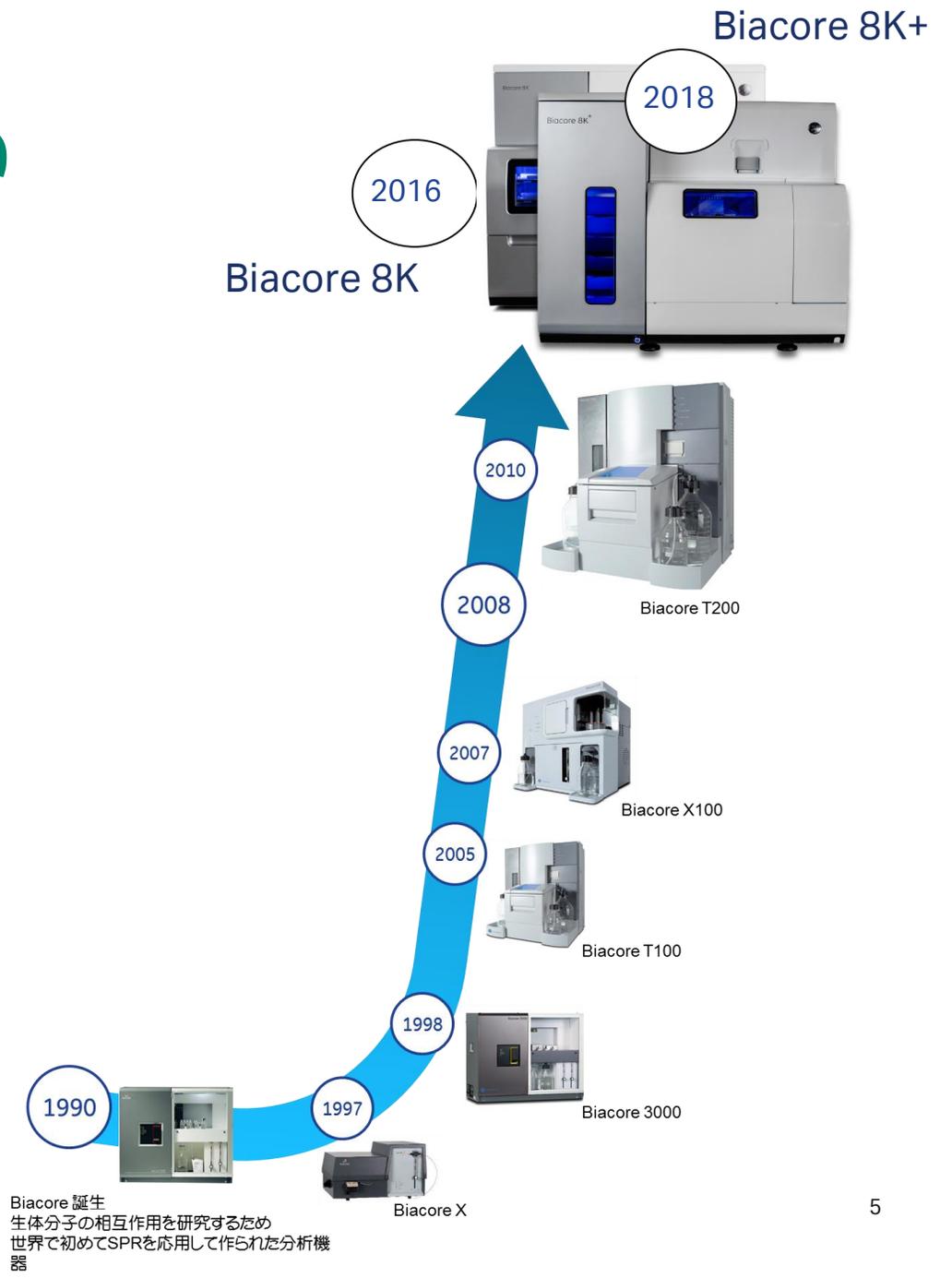
2011-2020

規制当局の承認事例の増加
バイオシミラー分析のキーテクノロジーに

- ・ 最初のFBDDで開発された医薬品の発売
- ・ 上位100標的分子のうち~25%がGPCRに
- ・ 2018: 販売額上位10品目のうち8品目がバイオ医薬品に
- ・ SPRテクノロジーが日米欧の薬局方に掲載される

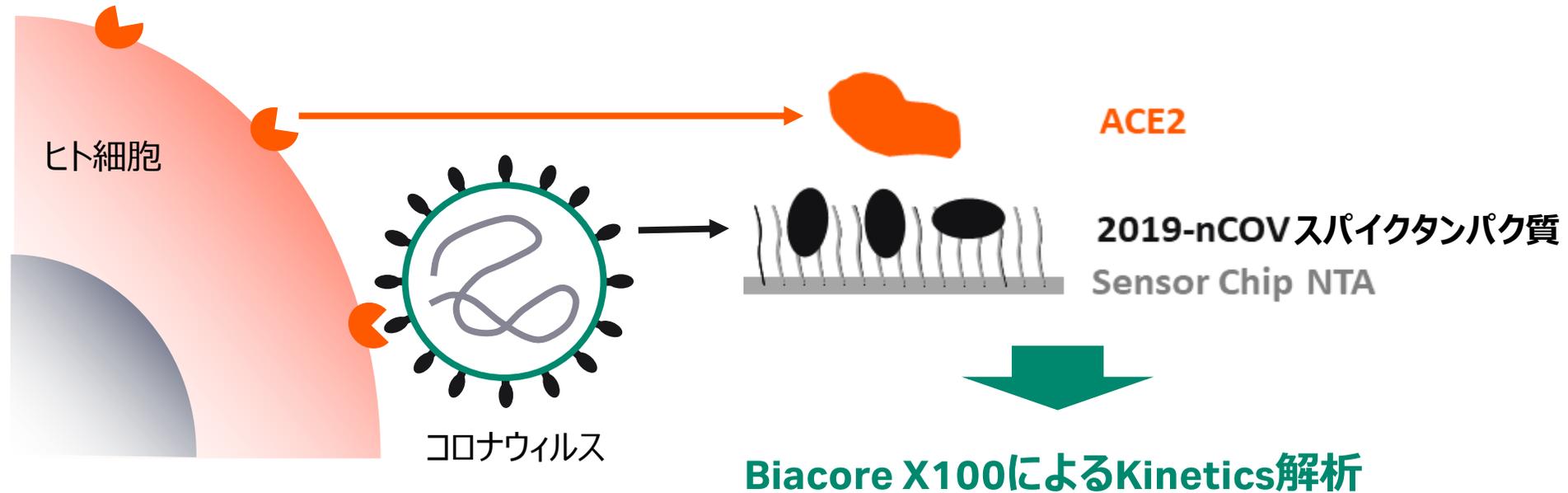


History



【事例】新型コロナウイルスの結合親和性

NIHワクチンリサーチセンターによる、Biacore X100 を用いた評価事例



SARS-CoV1に対して2019-nCoV (SARS-CoV2) の結合親和性が10~20倍程度高い
↓
感染力の強さに起因すると推察。

From Wrapp et al., "Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation" Science 13 Mar 2020: Vol. 367, Issue 6483, pp. 1260-1263 DOI: 10.1126/science.abb2507
<https://science.sciencemag.org/content/367/6483/1260.abstract>

Biacoreシリーズ

8本のニードルにより高品質測定データを短時間で

- 最大で、スクリーニング：2,300サンプルを1日、キャラクタライズ：64相互作用を4時間で処理
- 1サンプルのKD値を出すのに条件検討も含めて35分（2Dカインेटクス）
- 実験条件から数値データ、画像までを表計算ソフトへ一括Exportでき、レポートの負担を軽減



Biacore 8K/8K+

基礎研究から医薬品探索・品質管理まですべてに

- カインेटクス解析から、濃度測定、同等性評価まで1台でカバー
- 研究目的が多岐に渡るラボや、複数の研究者で使用する場合に
- 医薬品の特性解析、品質管理、プロセス開発をサポートするGxPパッケージ（オプション）



Biacore T200

低分子創薬に

- シリーズ最高感度
- フラグメントスクリーニングも効率化：384サンプルを最大16時間で測定、特化した解析ソフトを搭載
- 高難度標的分子の解析に



Biacore S200

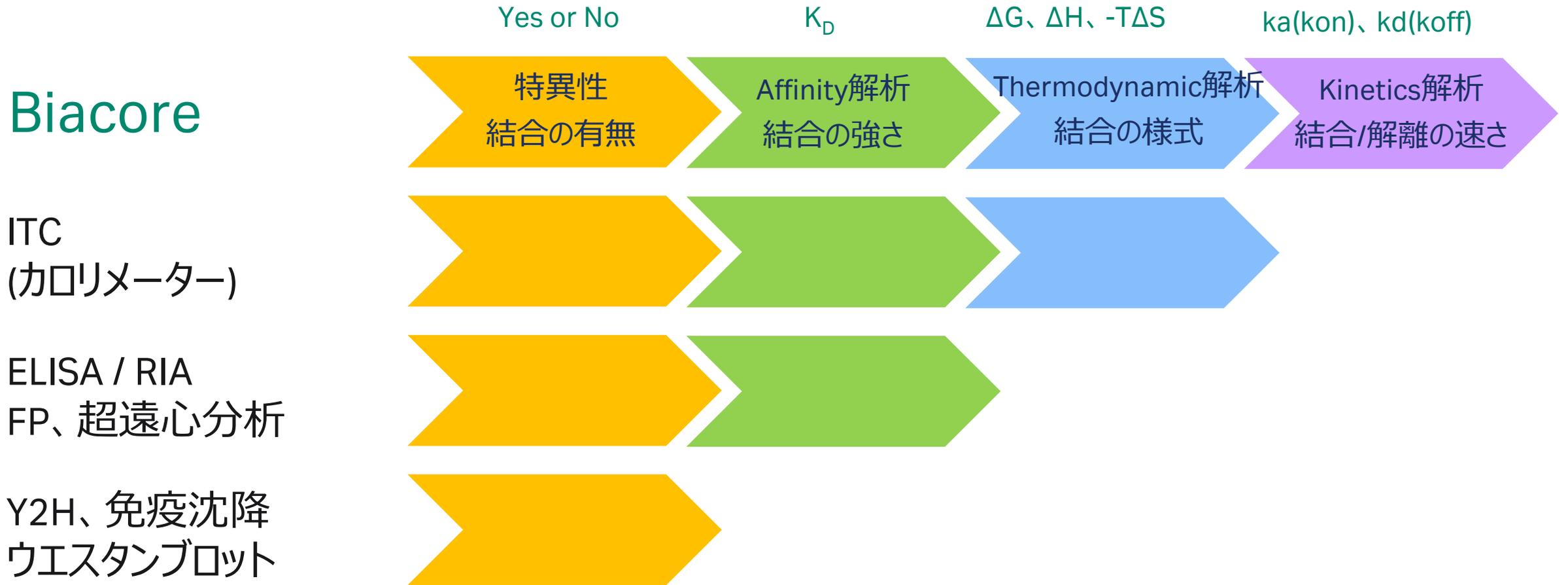
小スケールの相互作用解析に

- Biacoreのデータ品質を備えたコンパクトモデル
- はじめてカインेटクス解析を行う方
- 少サンプルをじっくり評価したい方
- 濃度測定、低分子にも対応（Plus Packageのみ）



Biacore X100

分子間相互作用測定 技術区分



Biacoreの使用例

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

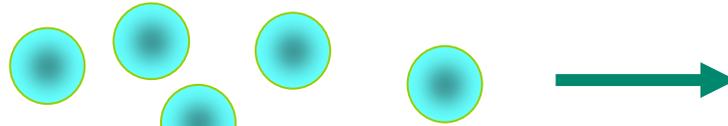
標準的な使用量

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

アナライト

標準的な使用量

K_D [M]前後を1回添加
あたり100 μl 程度



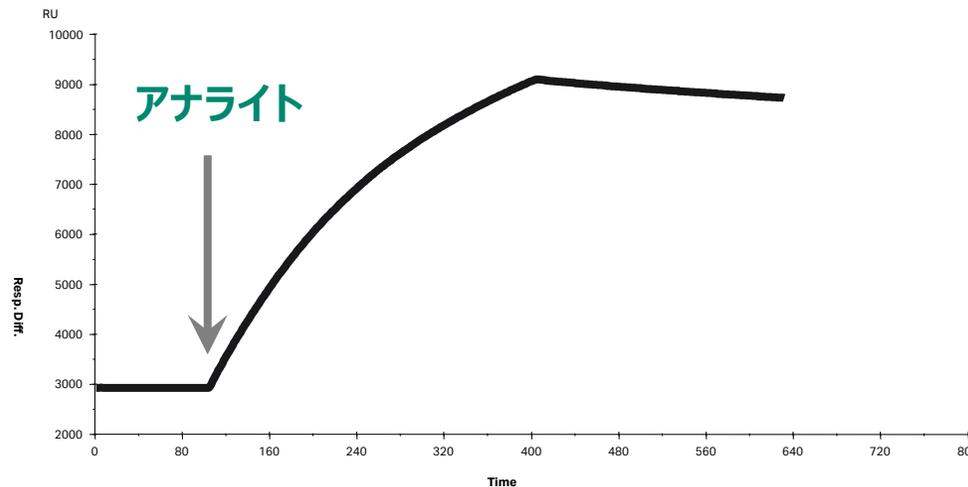
リガンド

Sensor Chip

センサーグラム

Resonance Unit (RU)

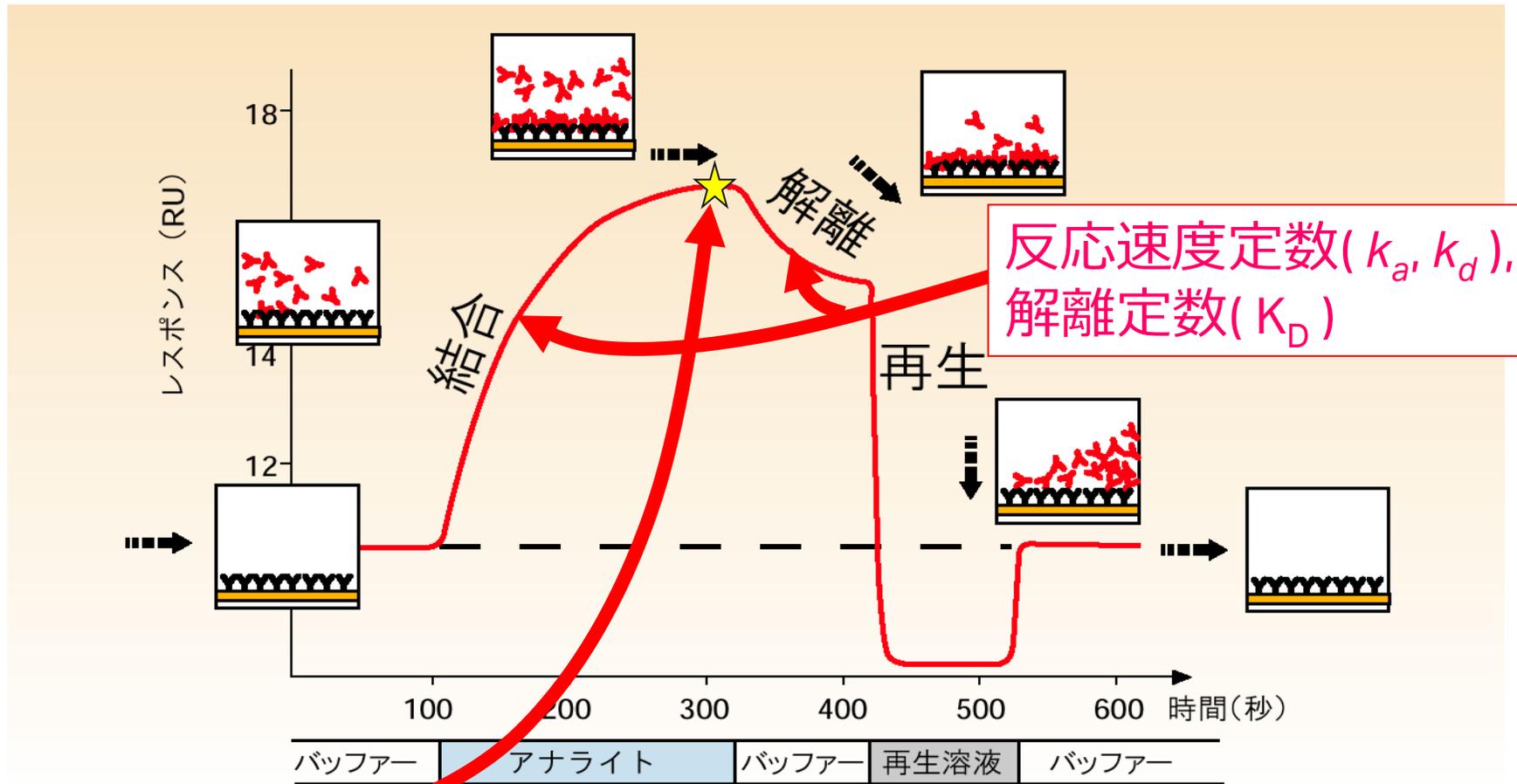
密度



ノンラベル
リアルタイム

時間

センサーグラムから得られる情報

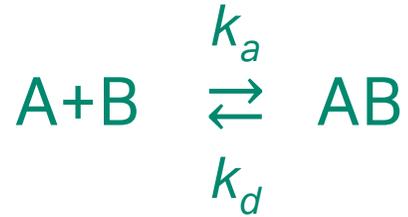


特異的結合の評価

濃度測定

Y ; リガンド
Y ; アナライト

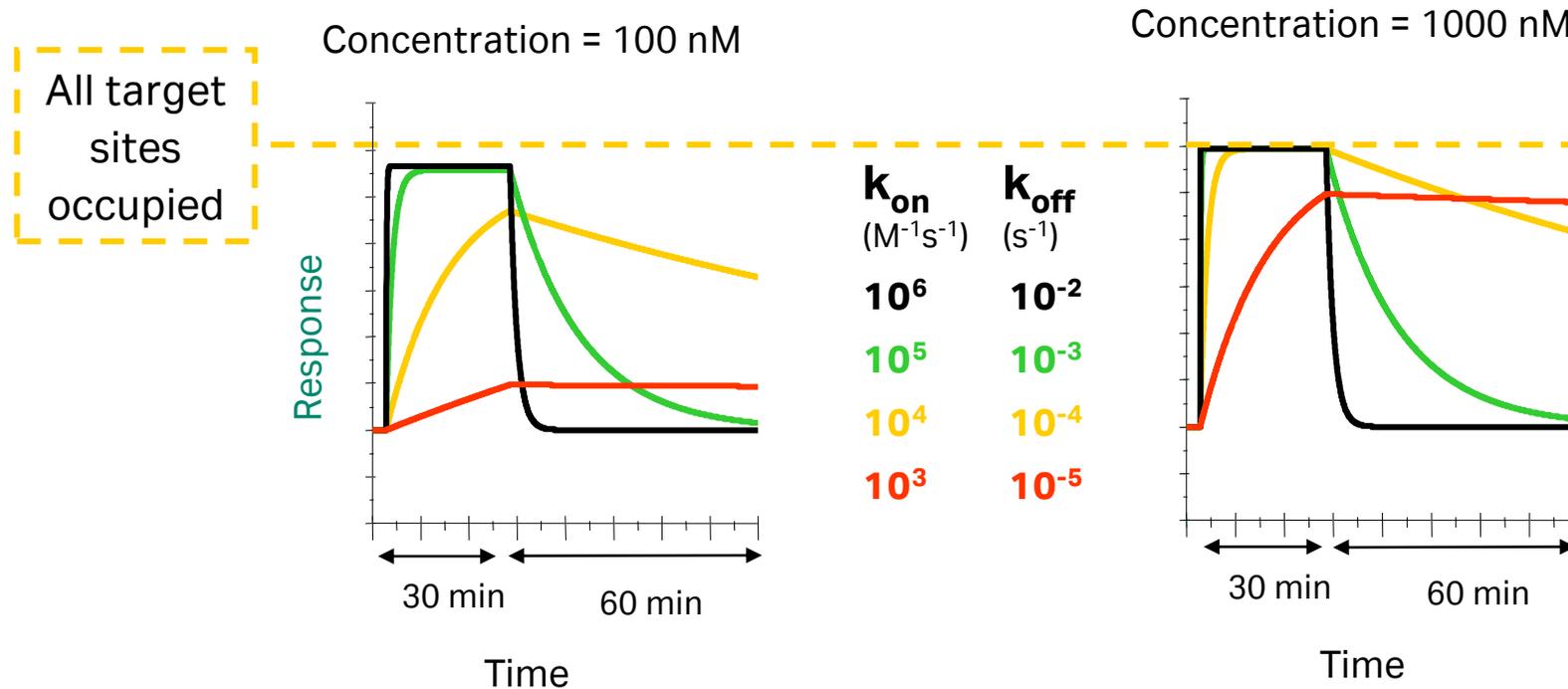
アフィニティーが同じでも...



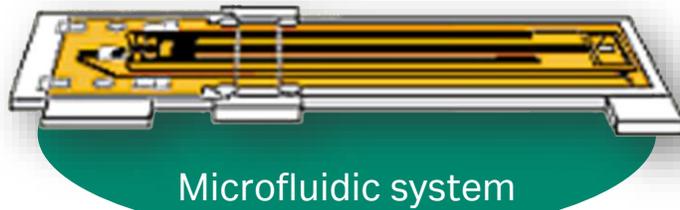
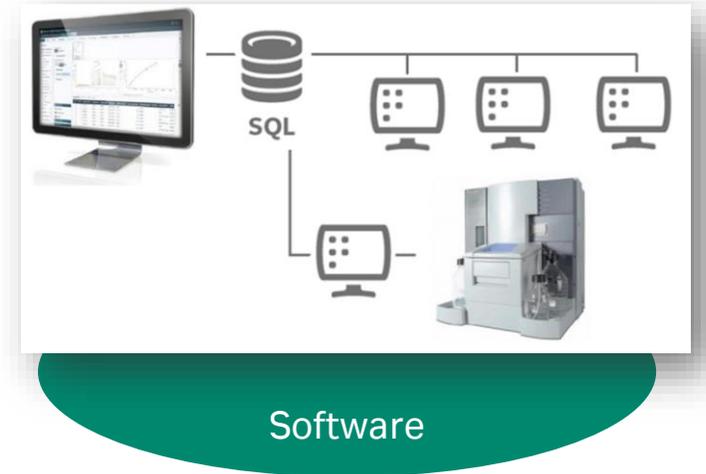
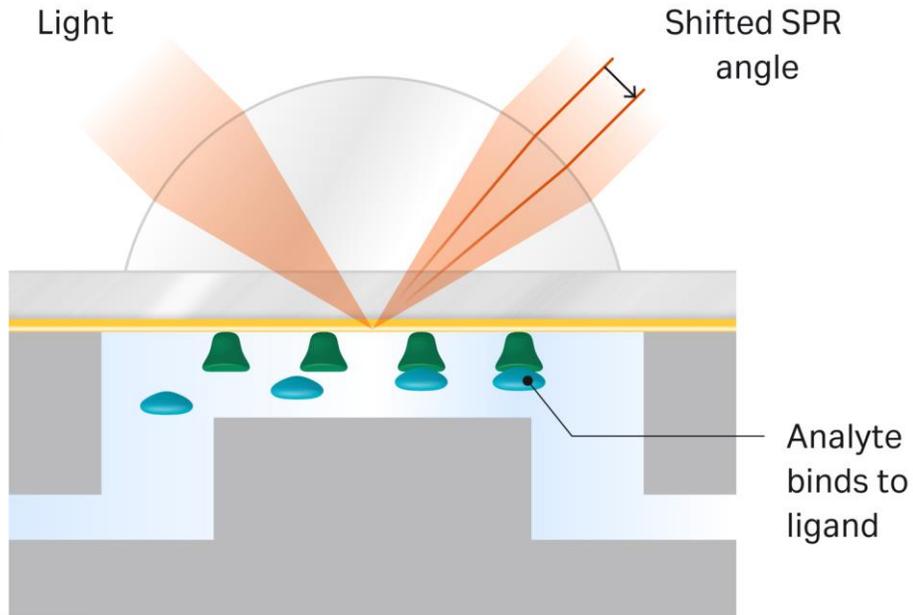
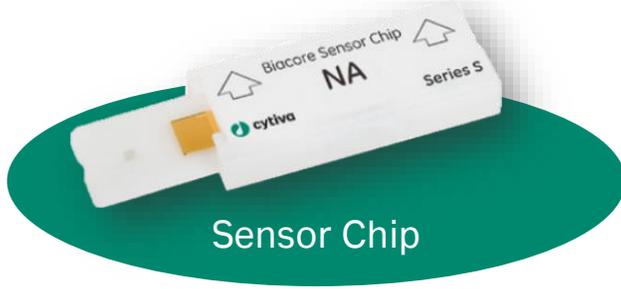
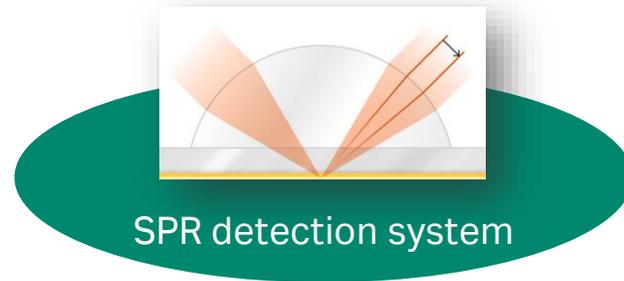
$$K_D = [A][B]/[AB]$$

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

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

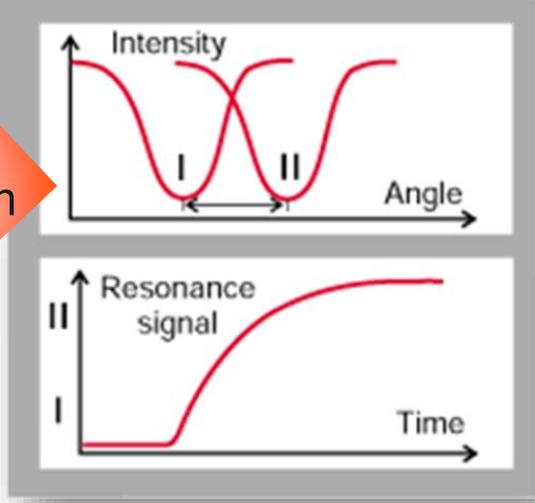
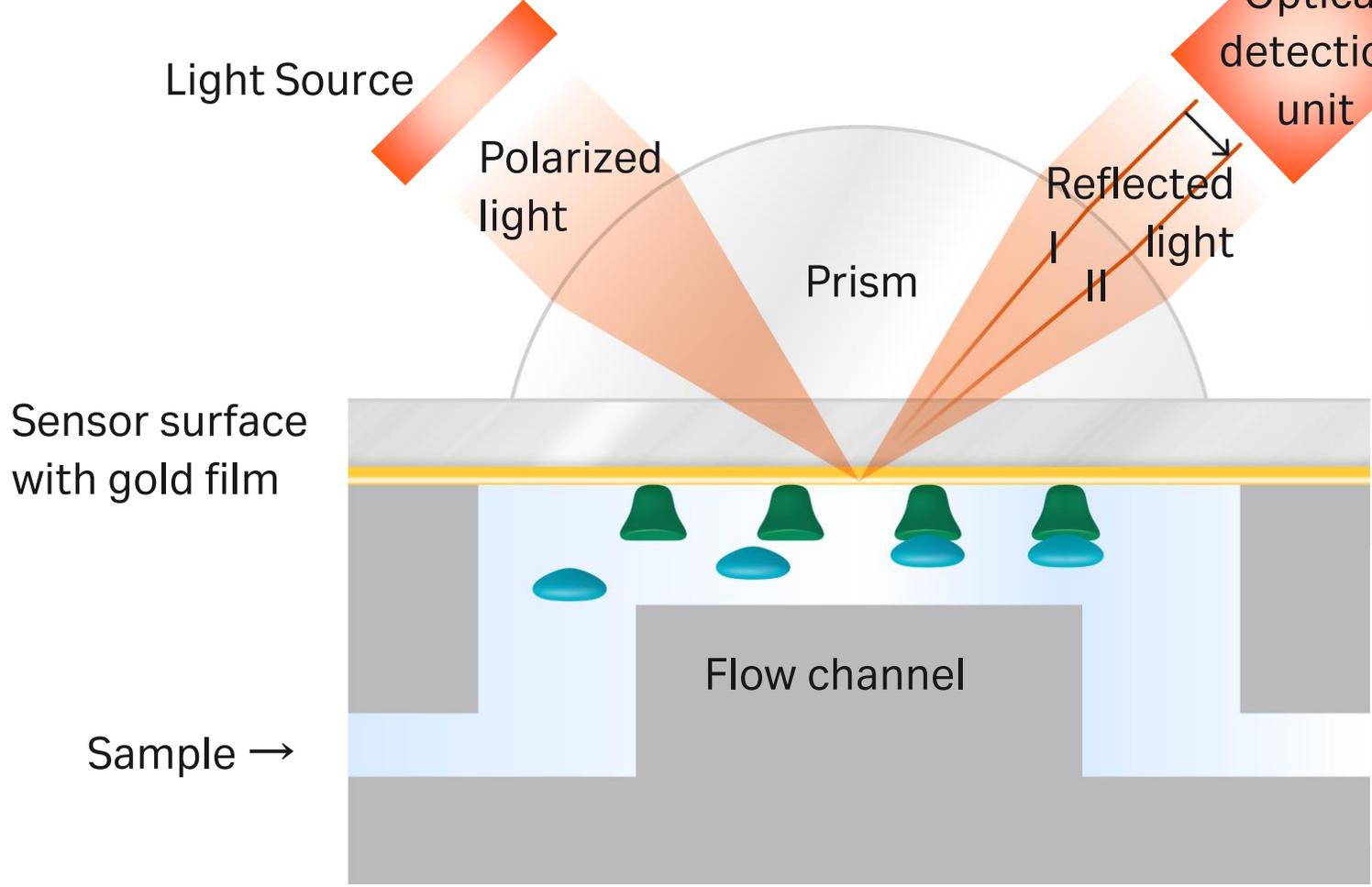


ビアコアの技術



Knowledge / Support

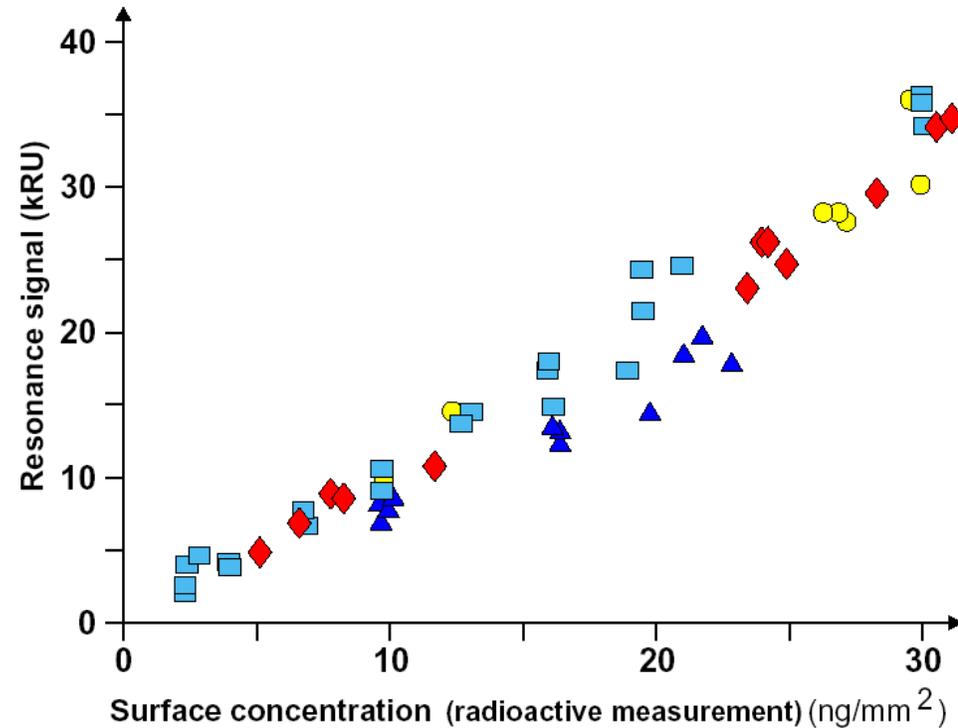
SPR検出系



Sensorgram

1000 RU ≒ 1 ng/mm²
(タンパク質の場合)

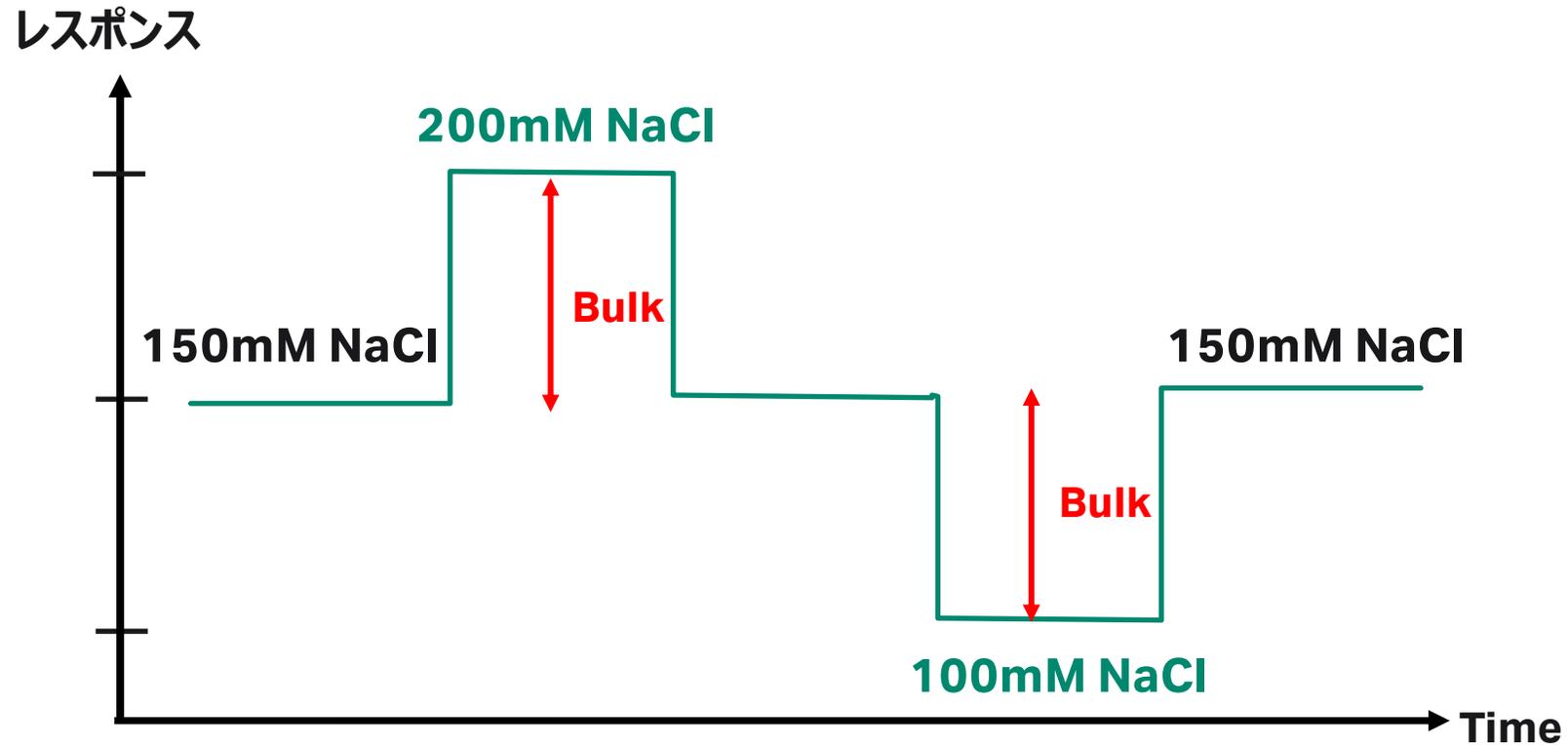
レスポンスと密度の関係



レスポンスと密度（濃度）は正比例関係にある

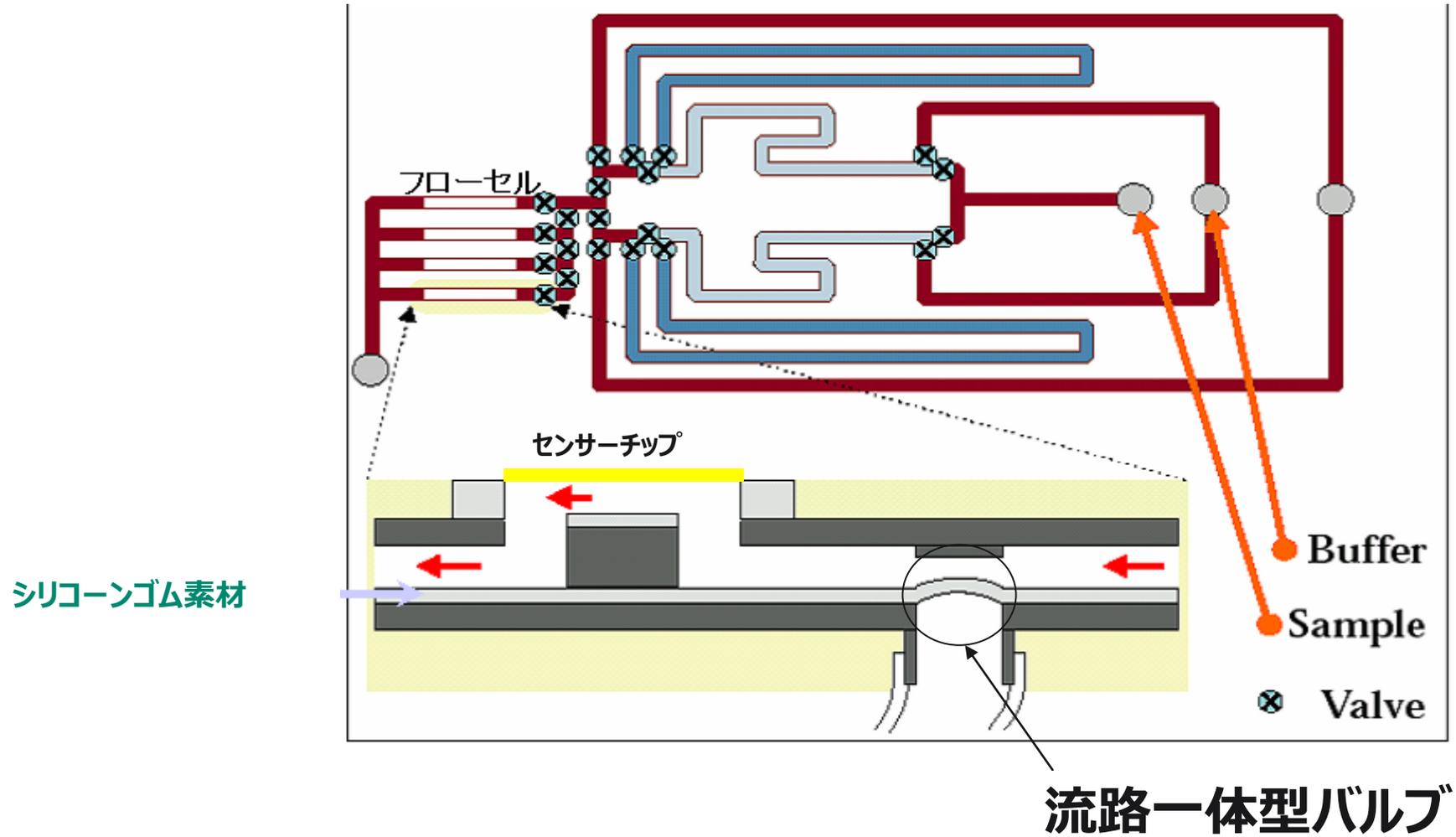
U. Jonsson and M. Malmqvist (1992). Real time biospecific interaction analysis. The integration of surface plasmon resonance. Detection, general biospecific interface chemistry and microfluidics into one analytical system. *Advances in Biosensors* **2**: 291-336.

レスポンスと溶液密度の関係

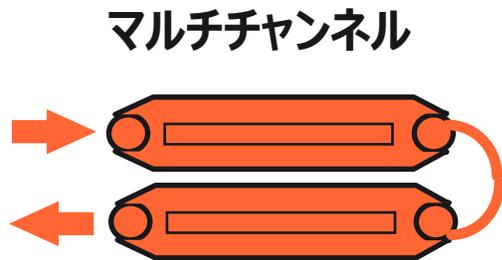
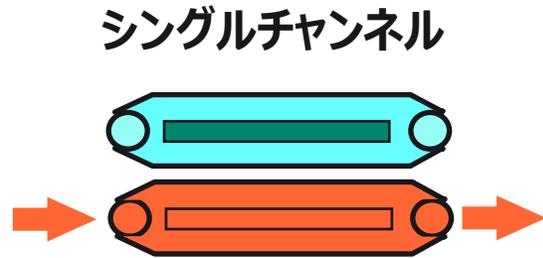


ランニング緩衝液に対して密度の異なる溶液を添加すると、レスポンスが生じる
⇒ 溶液効果(Bulk Effect)

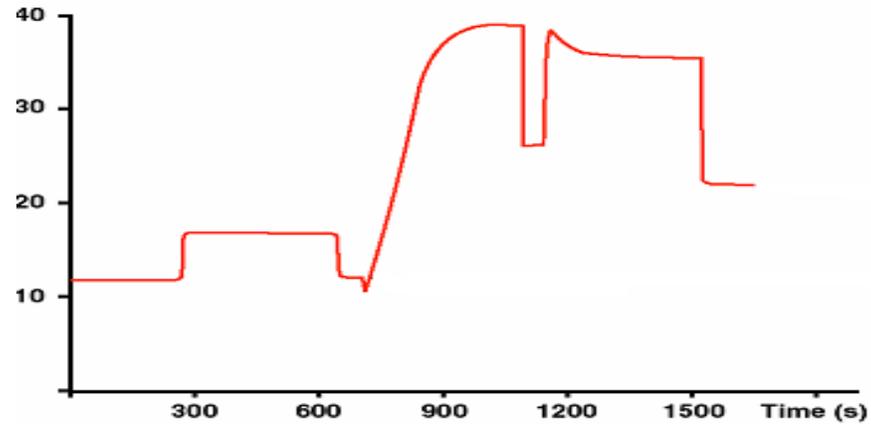
マイクロ流路系



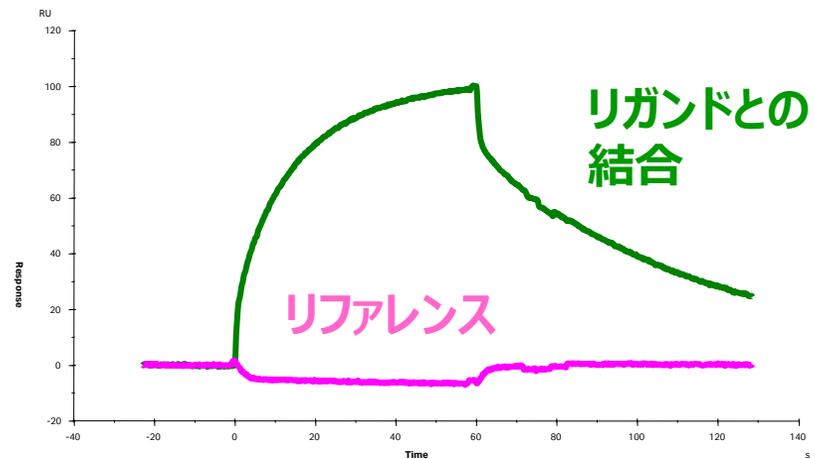
フローセルの送液方法の選択



リガンドの固定化



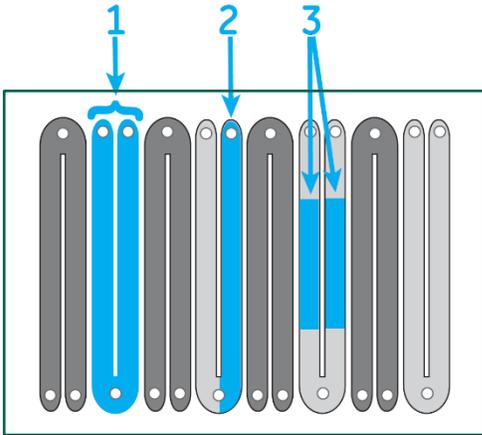
特異的な相互作用の検出



機種によるフローセルの違い

Biacore 8K/8K+

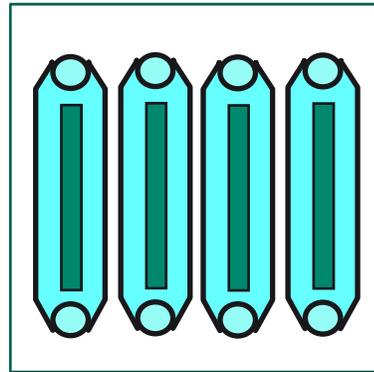
1. チャンネル (8)
2. フローセル (Fc)(16)
3. 検出スポット (16)



各チャンネルについて、
Active (Fc2) / Reference (Fc1)

Biacore T200/S200

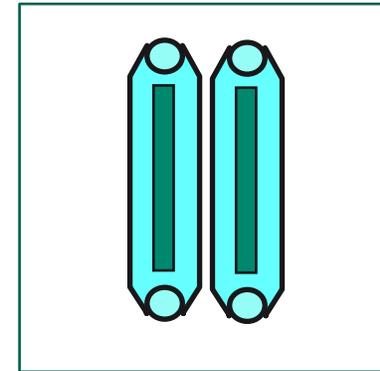
- フローセル (Fc)(4)
検出スポット (4)



Active (Fc2,4) / Reference (Fc1,3)
または
Active(Fc2,3,4) / Reference (Fc1)

Biacore X100

- フローセル (Fc)(2)
検出スポット (2)



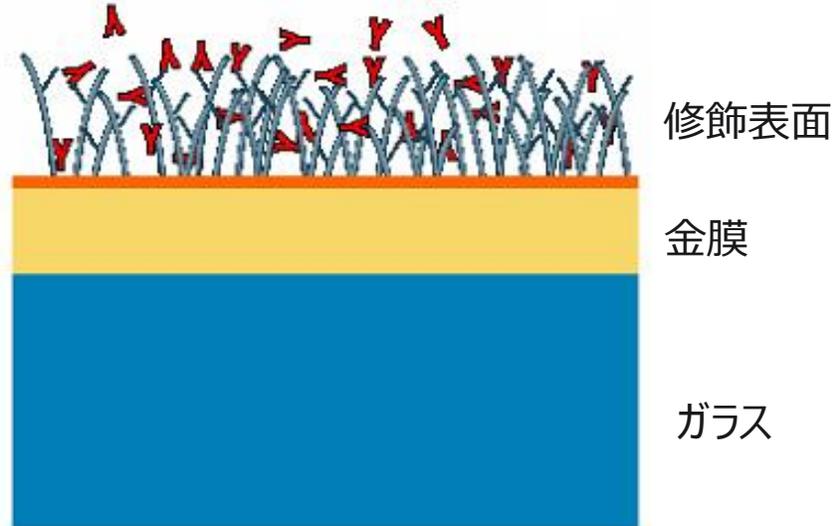
Active (Fc2) / Reference (Fc1)

センサーチップとは

Sensor Chip



Series S Sensor Chip



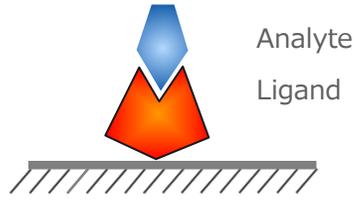
フローセルの形成

- 流路の開放部分にセットされて、フローセルを形成
- シート中央、ガラス基板の金膜上の各種修饰表面にリガンド分子を固定
- リガンドの種類に応じた固定化法およびセンサー表面（15種類程度）



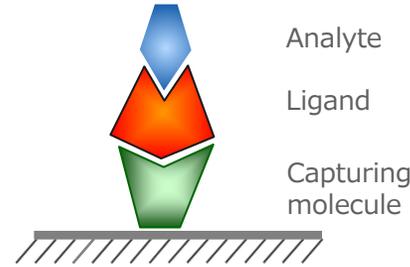
1-2 . 各種固定化方法

固定化について：直接法とキャプチャー法



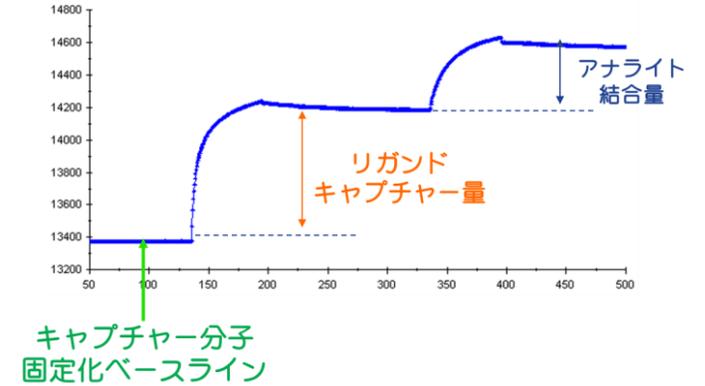
• 直接法

- リガンドをセンサーチップ上に共有結合



• キャプチャー法

- キャプチャー用分子をセンサーチップ上に共有結合
- リガンドはサイクル毎にキャプチャーさせる



| | 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ต์を剥がす再生条件の検討が必要。見つけら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。 |

代表的な固定化方法 ～ ビオチン化サンプルの固定化

ニュートラビジン/ストレプトアビジン – ビオチンの高い親和性で安定したリガンドの固定化

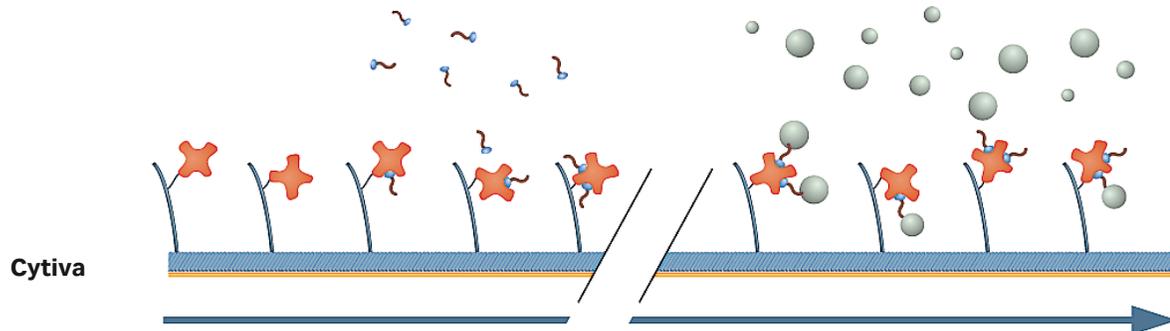
センサーチップNA/SA

キャプチャー法（再生不可）

*NAはSeries Sのみ



- センサーチップにニュートラビジン（NA）もしくはストレプトアビジン（SA）があらかじめアミンカップリングされている。
- 固定化は添加するのみ



Biotin CAPture Kit

キャプチャー法（再生可）



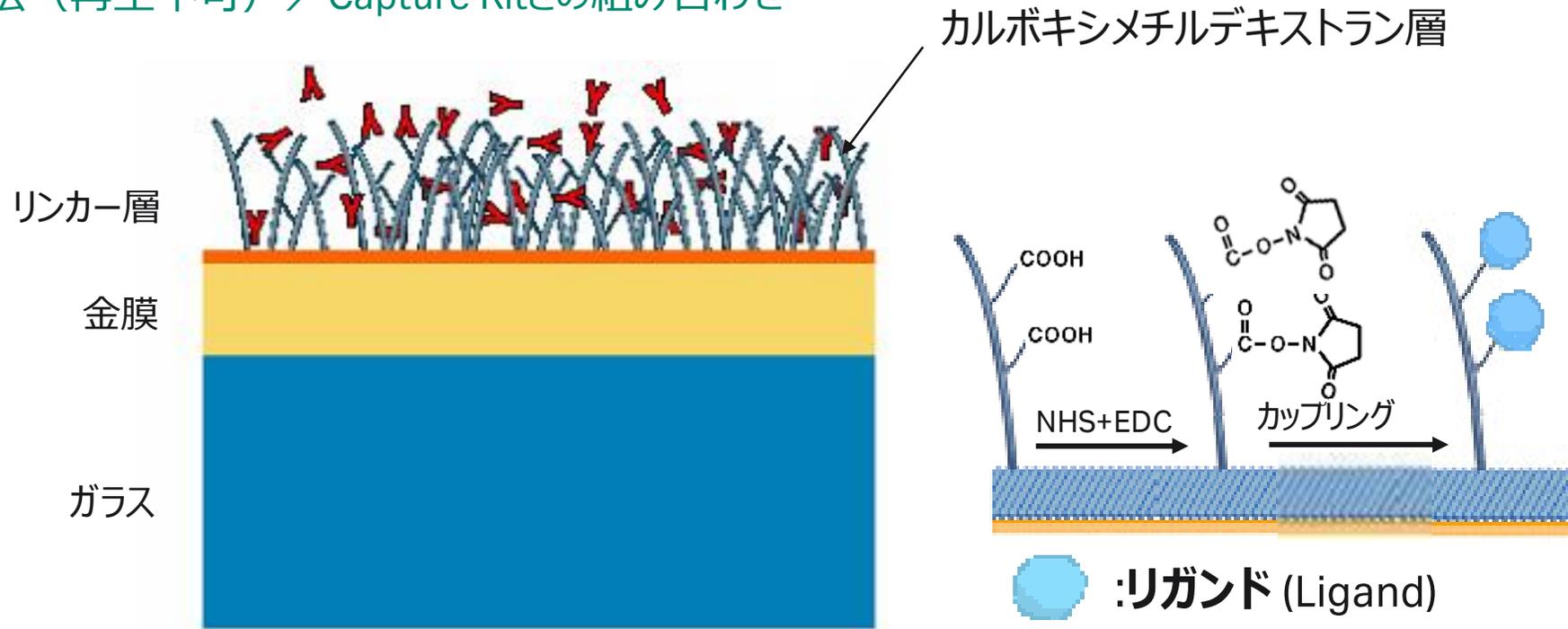
- 一本鎖オリゴDNAがプレイモビライズされたチップとストレプトアビジン(SA)修飾された相補鎖DNAを使用
- 強力なビオチン-ストレプトアビジン結合であってもリガンドの付け替えが可能



センサーチップの紹介

センサーチップCM5

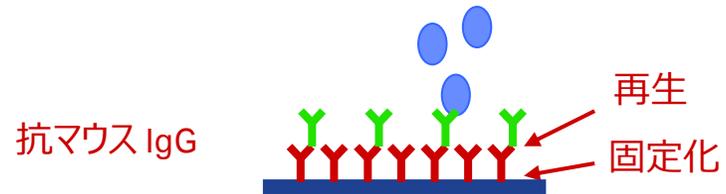
直接法（再生不可） / Capture Kitとの組み合わせ



- リガンドの種類に応じた固定化法およびセンサー表面
- 直鎖デキストラン表面⇒固定化したサンプルの自由度が高い

キャプチャーキットの紹介

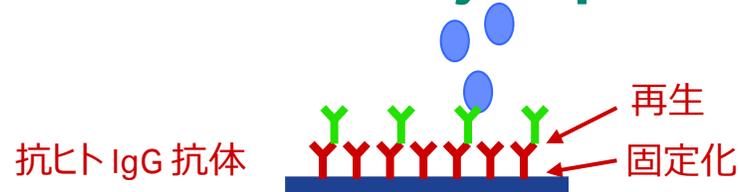
Mouse Antibody Capture Kit



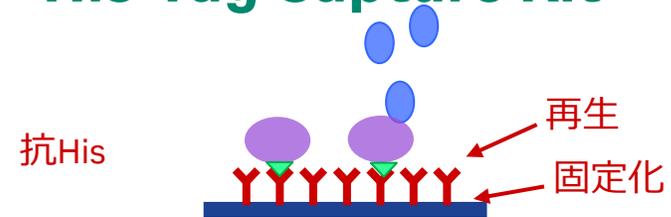
Biotin CAPture Kit



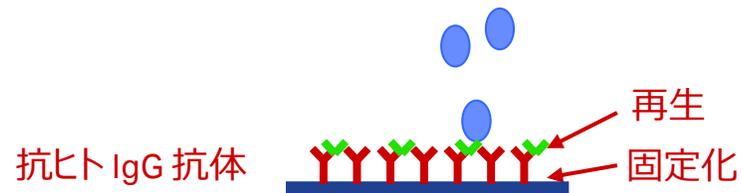
Human Antibody Capture Kit



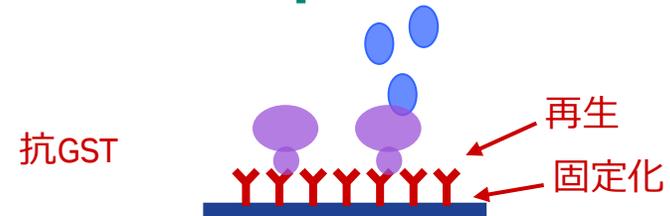
His-Tag Capture Kit



Human Fab Capture Kit



GST Capture Kit



センサーチップの紹介

抗体用センサーチップ

キャプチャー法（再生可）

Sensor Chip Protein A

human IgG1, IgG2, IgG4 の捕捉が可能。

human IgG3 には結合しません。

カインेटクス／アフィニティー解析、CFCA を含む濃度定量。

Sensor Chip Protein G

human、rat、mouse、rabbit、goat、cow 等のさまざまな哺乳動物由来の IgG の捕捉が可能。

chicken IgG および human IgA、IgD、IgE、IgM には結合しません。

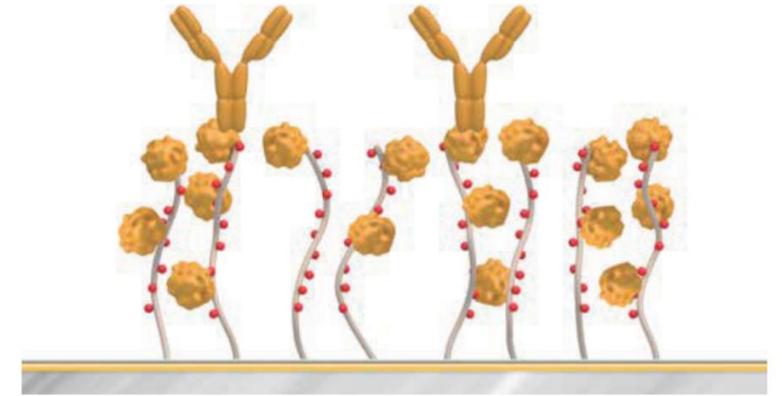
カインेटクス／アフィニティー解析、CFCA を含む濃度定量。

Sensor Chip Protein L

ヒトまたはマウス由来の Fabs、single-chain variable fragments (scFv)、domain antibodies (dAbs) の捕捉が可能。

濃度定量や yes / no スクリーニング。

抗原結合に伴い、ベースラインドリフトが生じることがあるため、カインेटクス／アフィニティー解析にはおすすめしません。

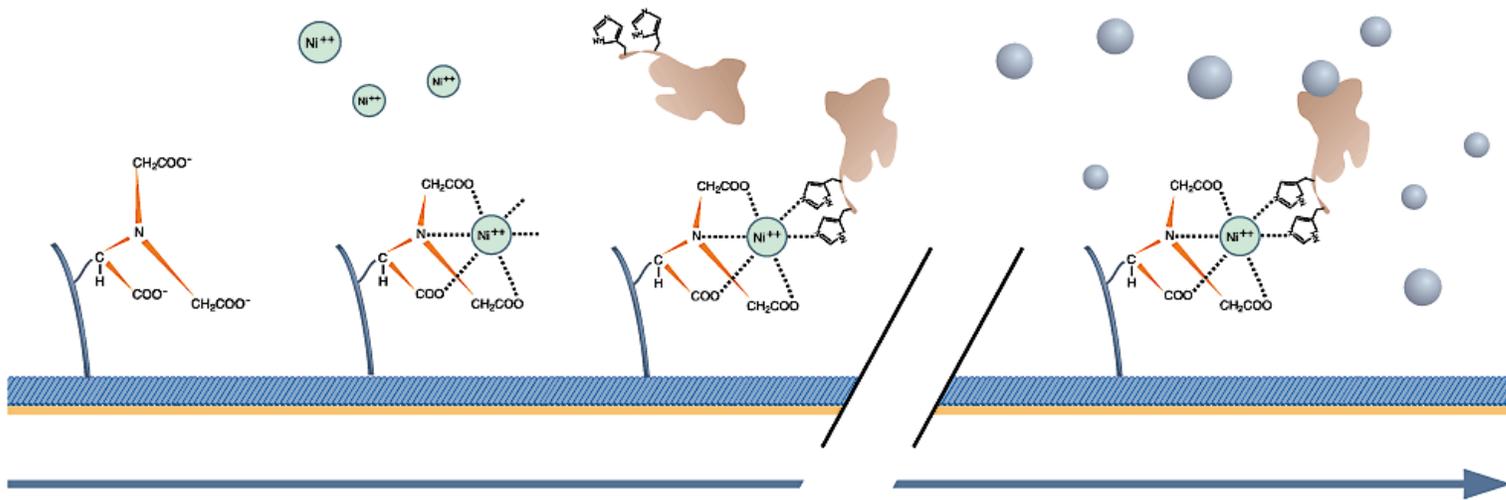


センサーチップの紹介

センサーチップNTA

キャプチャー法（再生可）

- CM5センサーチップにNTAがアミンカップリングされている
- リガンドはHisタグタンパク質
- NTA(キレート試薬)、ニッケル、Hisタグのキレート反応を利用した固定化



NTA Reagent Kit

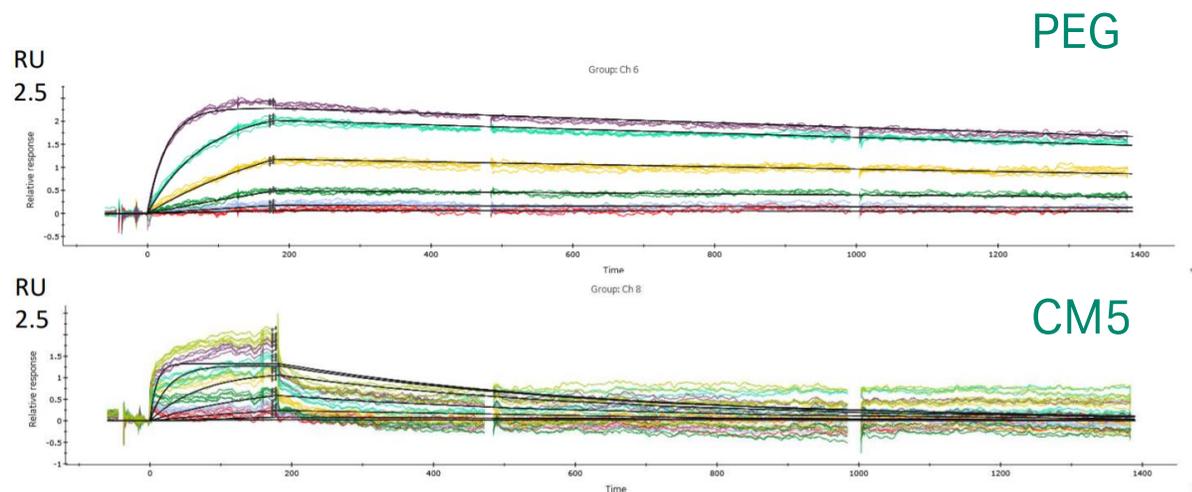


0.5 mM NiCl₂ (Ni溶液)
350 mM EDTA (再生溶液)

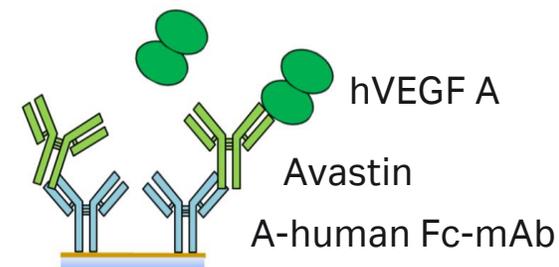
センサーチップの紹介

センサーチップPEG

- デキストランマトリクスが問題となる場合のセンサーチップ
- 固定化量の期待値はC1相当、CM5固定化レベルの10%
- センサーチップC1と比較して、血清および血漿からの非特異的結合が大幅低減
- キャプチャーキットにも使用可 * 再生条件は要検討
- -20°C保管 * ほかのセンサーチップは全て4°C保存です。



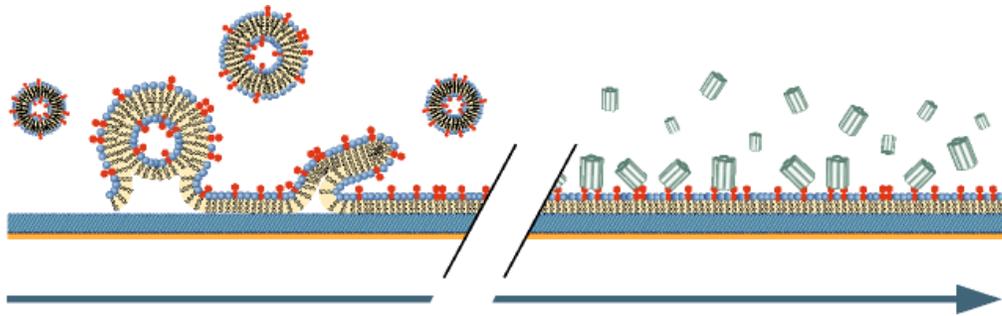
Stickyなhomodimerを測定→感度ギリギリの固定化量
⇒センサーチップPEGでセンサーグラムの変形が改善



センサーチップの紹介

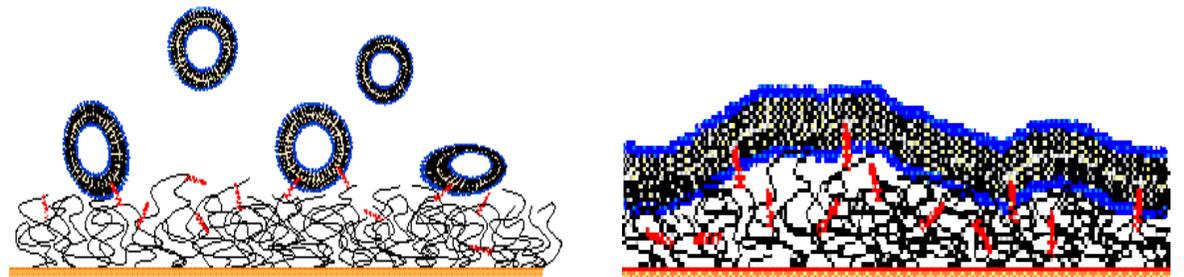
センサーチップHPA

- アルカンチオール基(C-18)をコーティングした疎水性の強いセンサーチップ
- 単層膜
- リガンドは糖脂質、リン脂質等

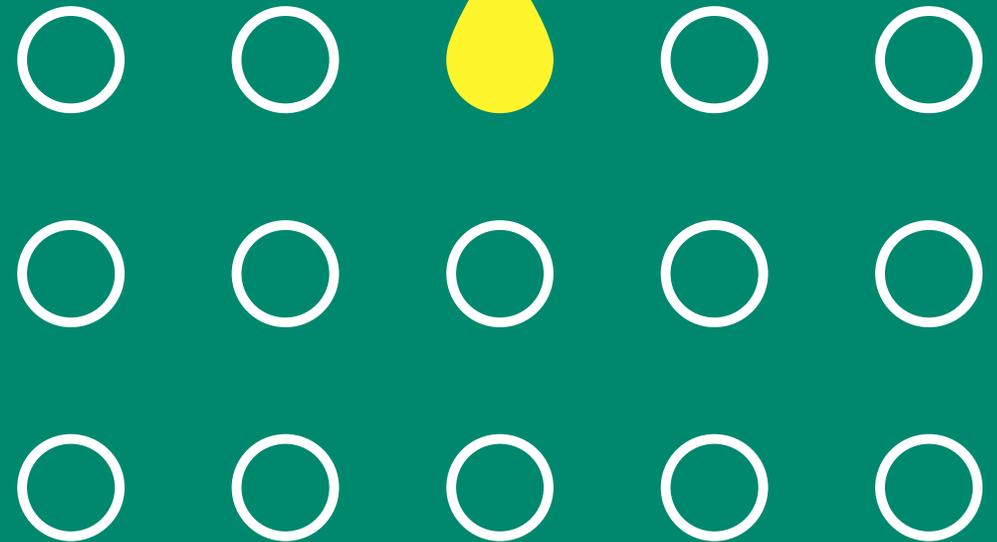


センサーチップL1

- CM5に長鎖アルカンをコーティングした親水性と疎水性の混在したセンサーチップ
- 二重膜
- リガンドは、糖脂質、リン脂質等



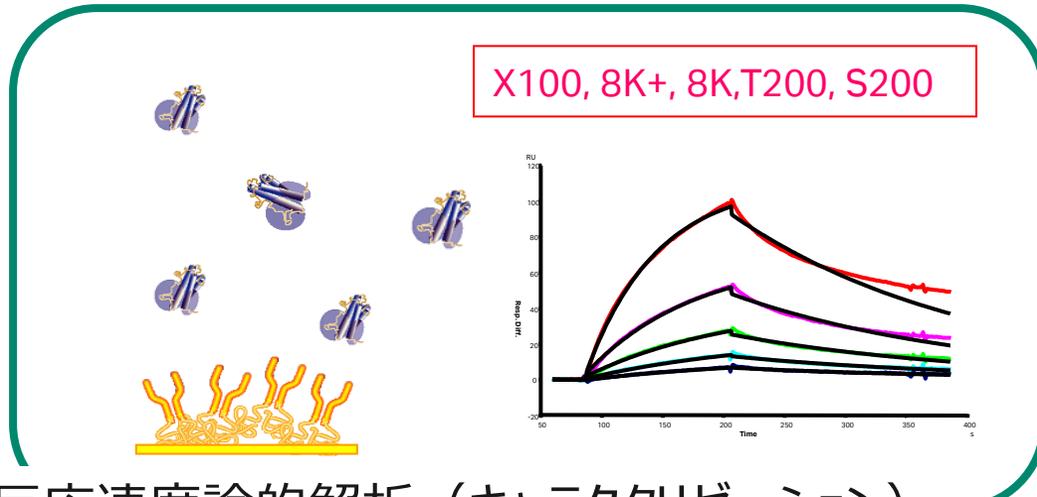
2. Biacoreの適用例概略



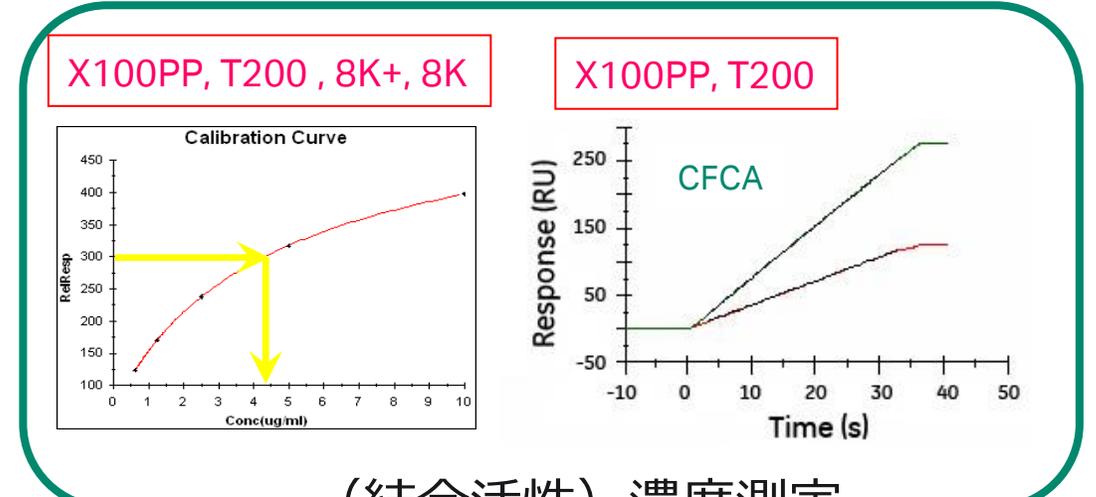
Biacoreで得られる解析値のいろいろ

| Biacoreで得られる解析値 | |
|-----------------------|--|
| 反応速度論的解析（キャラクタリゼーション） | KD、ka、kd |
| （結合活性）濃度測定 | 濃度 |
| スクリーニング | Yes/No、ランキング、結合レスポンス |
| 同等性評価 | Similarity score、EC50、PLA（Slopeなど） |
| Thermodynamic解析 | ΔG 、 ΔH 、 $-T\Delta S$ |
| 免疫原性試験（ADA） | Yes/No、結合レスポンス |

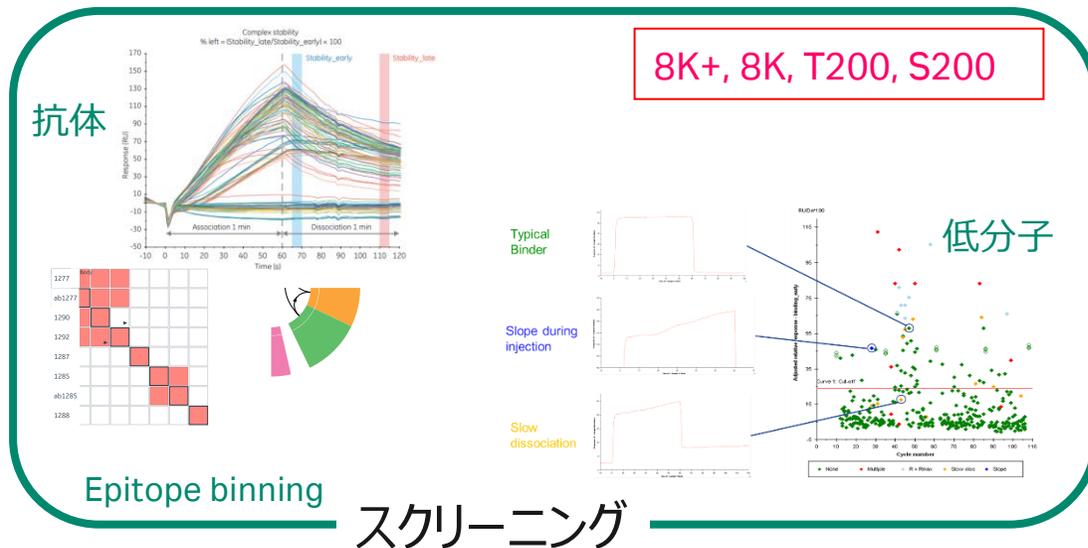
Biacoreの使用例



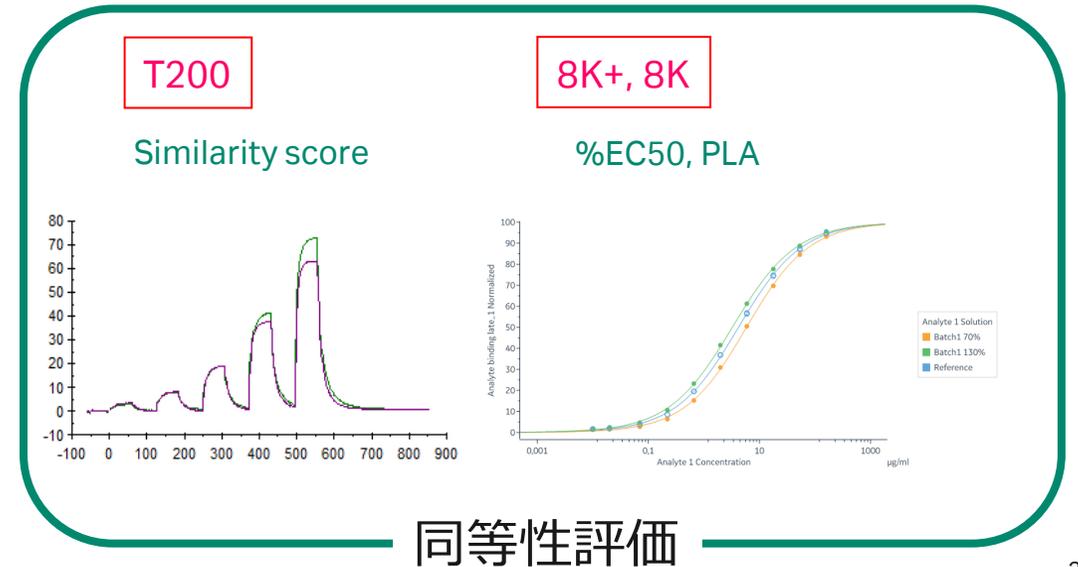
反応速度論的解析 (キャラクタリゼーション)



(結合活性) 濃度測定



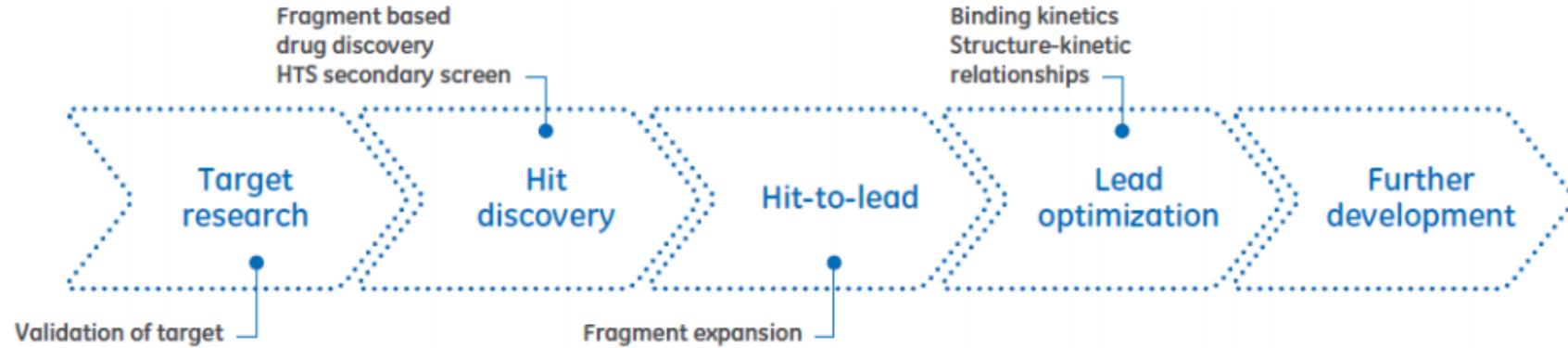
スクリーニング



同等性評価

医薬品開発でのBiacoreの適応分野

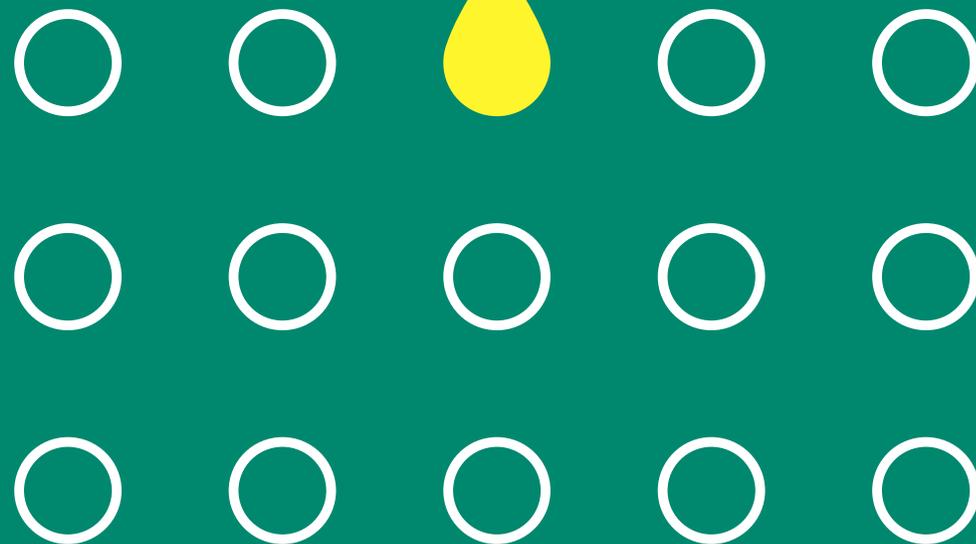
低分子医薬品
ペプチド



バイオ医薬品

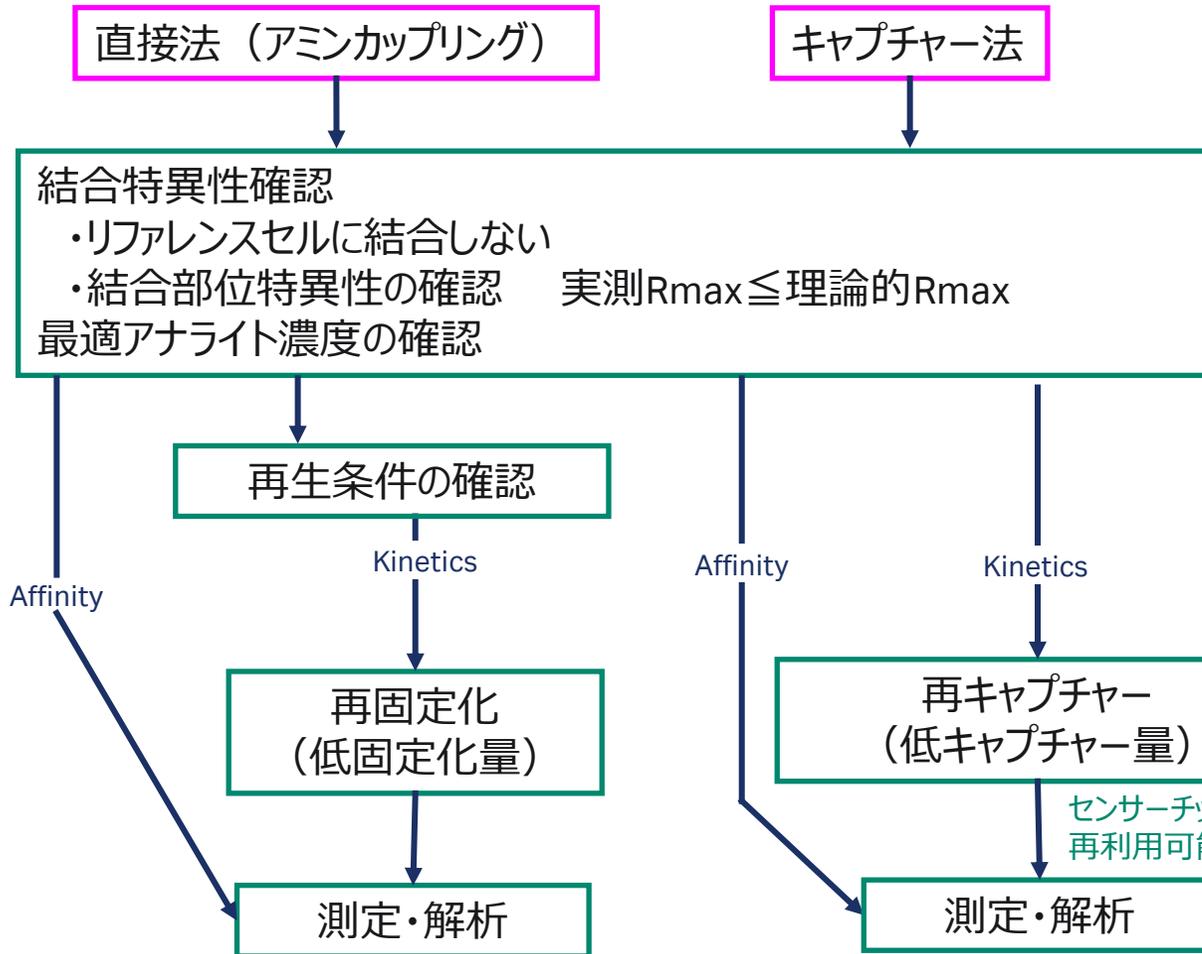


3. Biacore測定ワークフローの 基本的条件設定

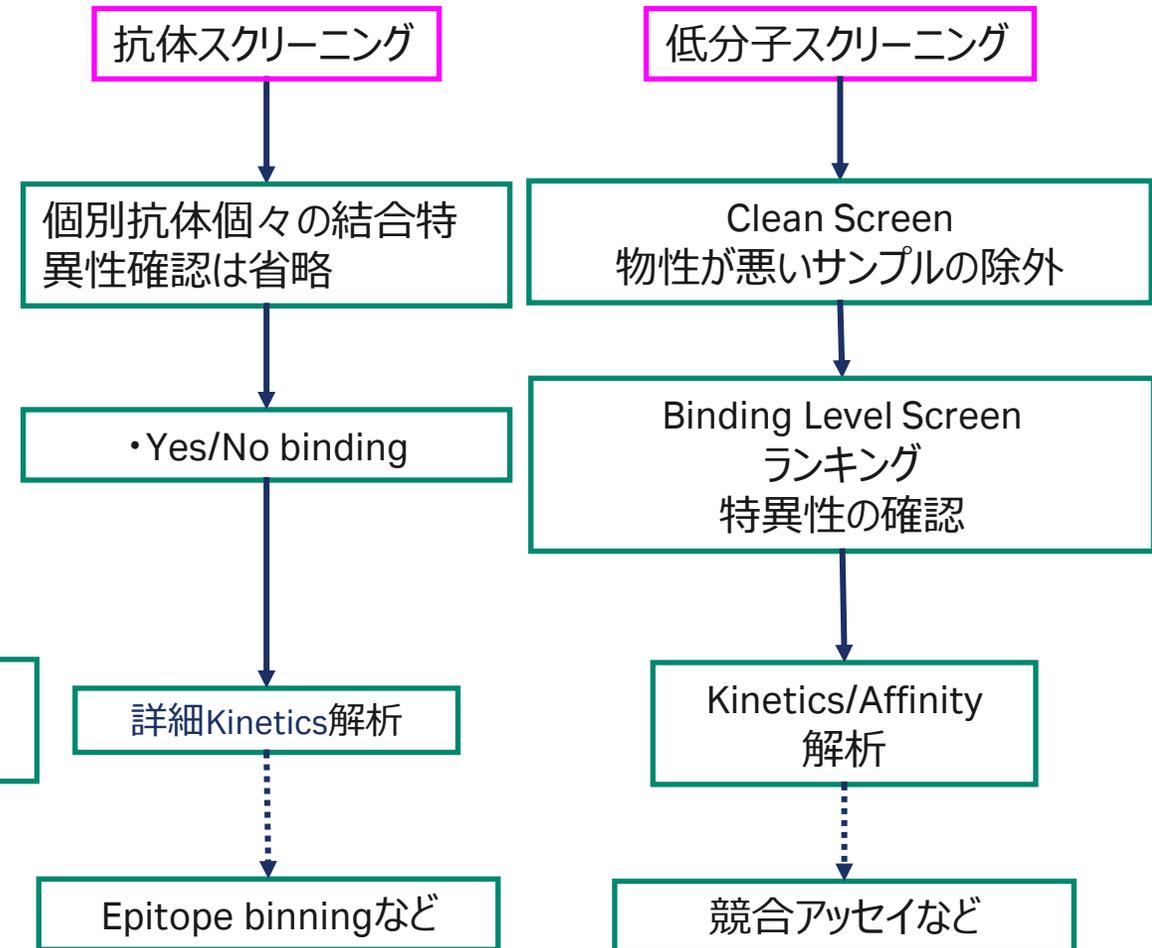


KD値算出までの固定化後のワークフロー

検体数が少ない場合



検体数が多い場合 (スクリーニング)



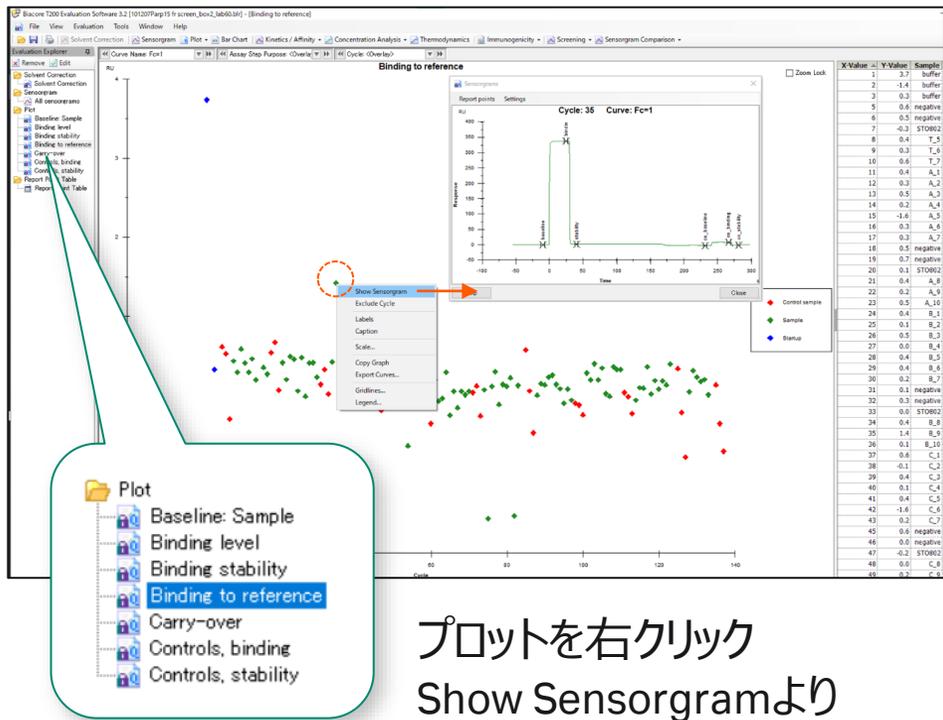
アプリケーション別お勧め固定化方法

| サンプル | スクリーニング | キャクタイゼーション |
|------|--|--|
| 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 |

【重要】リファレンスセルに非特異的結合がないこと

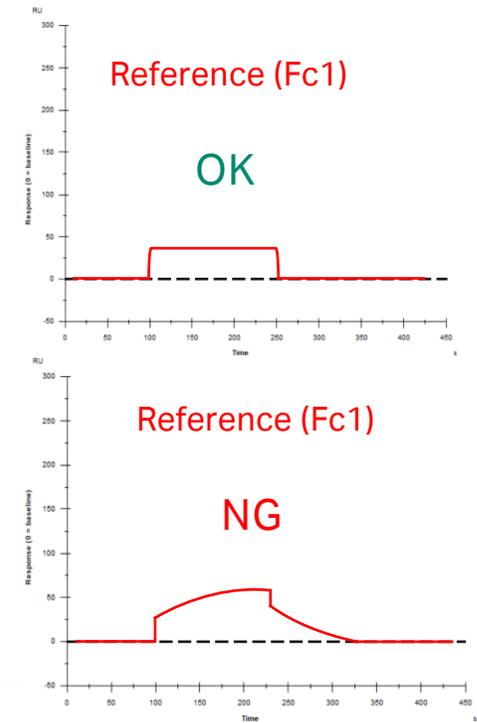
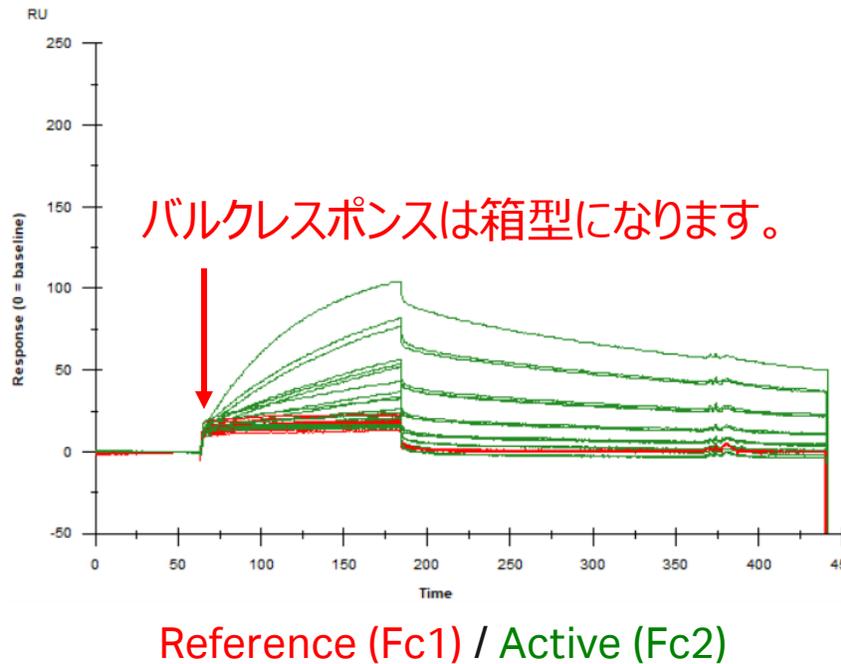
*) リファレンスセルの非特異的結合は正確に差し引くことはできない。

QCプロットの確認 (Binding to Reference)



プロットを右クリック
Show Sensorgramより
センサーグラムの確認

センサーグラムの確認

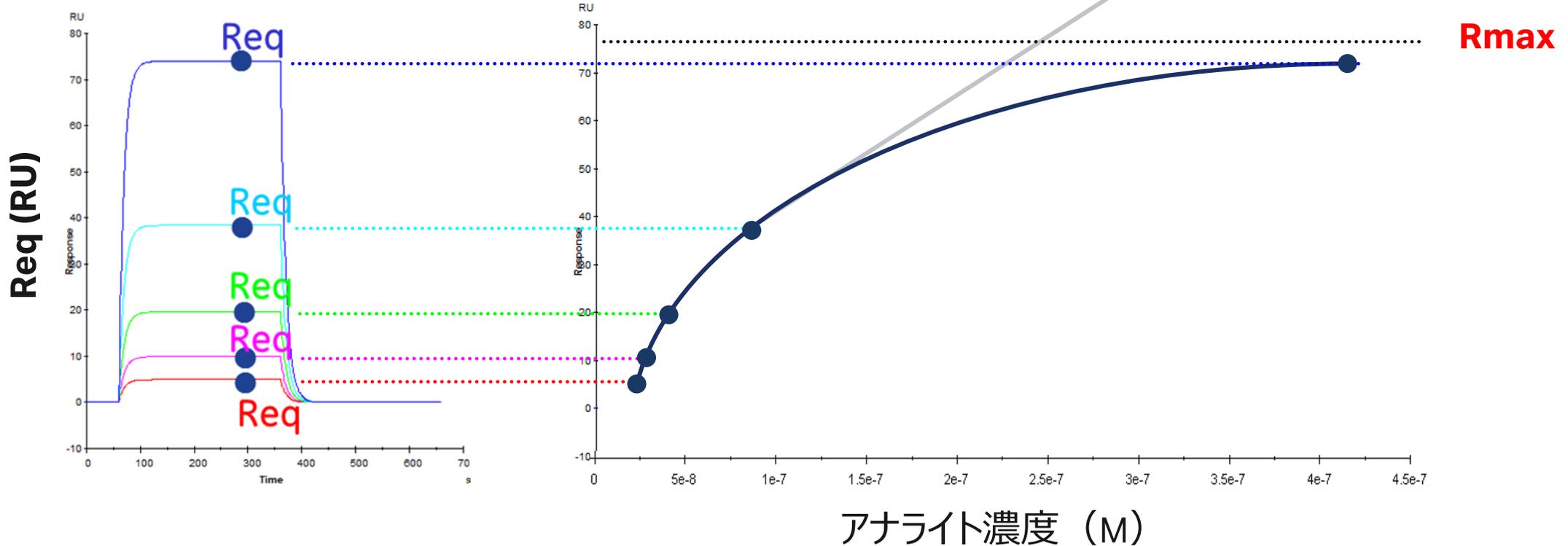


【重要】結合部位特異性の確認

非特異的結合のレスポンスを解析しても意味がありません！

アナライト濃度を上げていき、理論的Rmax以下でResponseが飽和することを確認。

実測 Rmax ≤ 理論的 Rmax



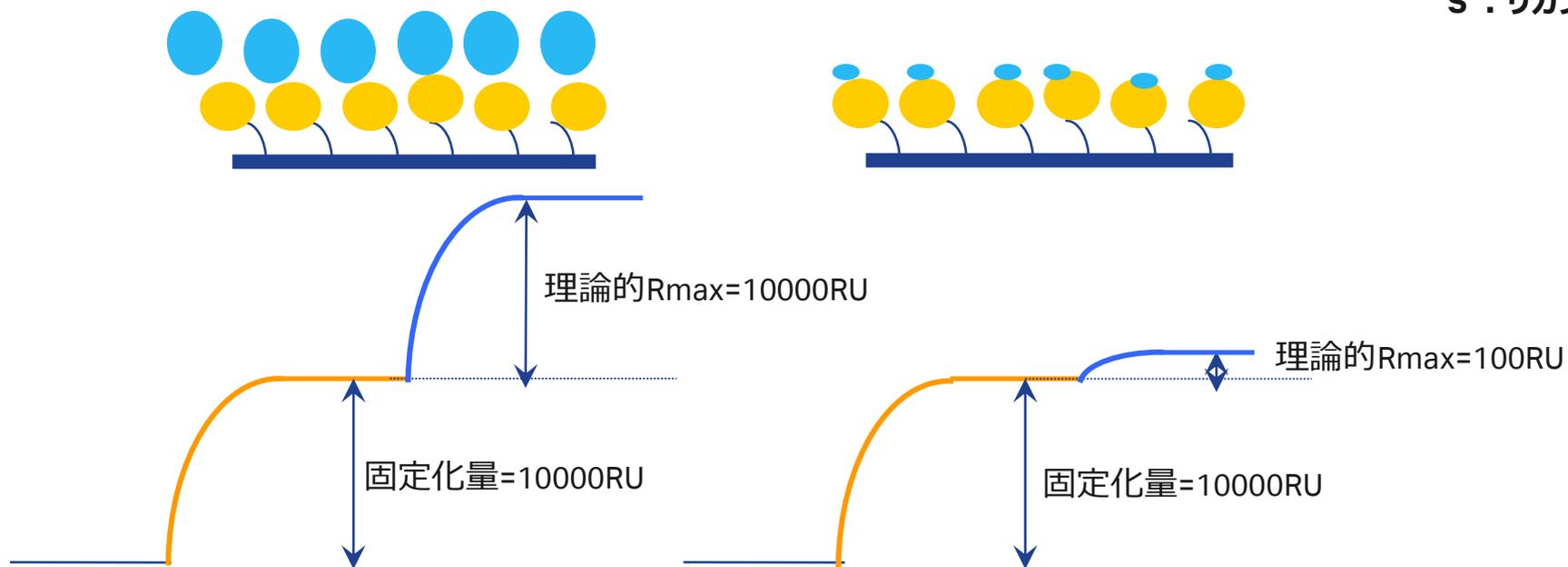
【Tips】理論的Rmaxの算出方法

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)

実測Rmax : 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)

$$\text{理論的Rmax} = \frac{\text{アナライトの分子量(Da)}}{\text{リガンドの分子量(Da)}} \times \text{リガンドの固定化量(RU)} \times s$$

s : リガンドの価数



抗体スクリーニング/キャラクタライゼーション ワークフロー

- クルードな溶液中の抗体
- 抗体をリガンドとしたキャプチャー法
- 抗原1濃度で添加

- 精製済み抗体
- 抗体をリガンドとしたキャプチャー法
- 抗原複数濃度で添加

Screening

Yes/No
binding

Kinetic
screen

Epitope
binning

Characterization

Kinetic
analysis

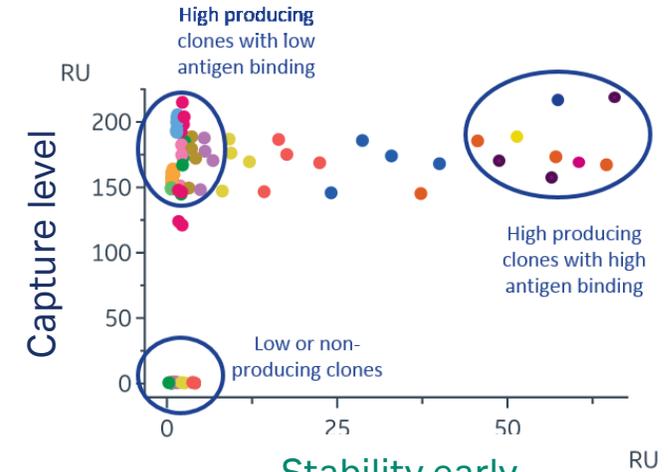
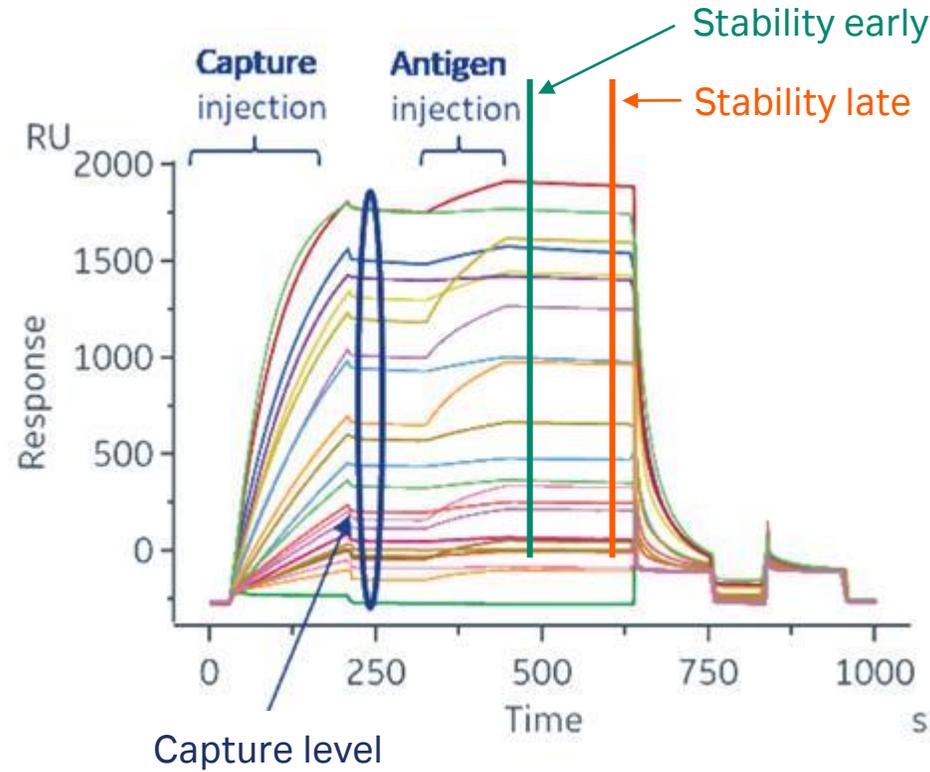
Fcγ
binding

FcRn
binding

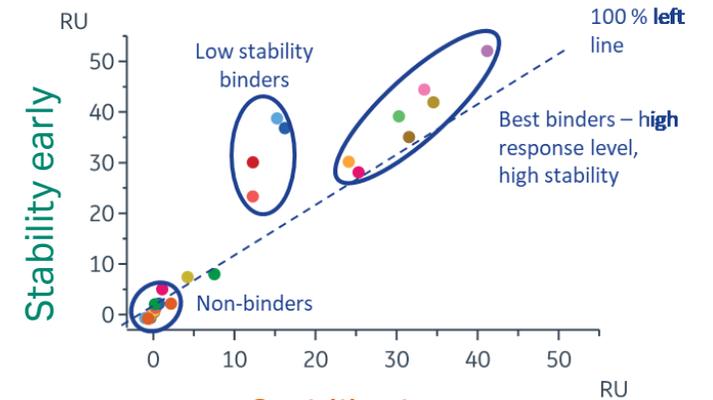
Active
conc.

抗体スクリーニング/キャラクタライゼーション ワークフロー

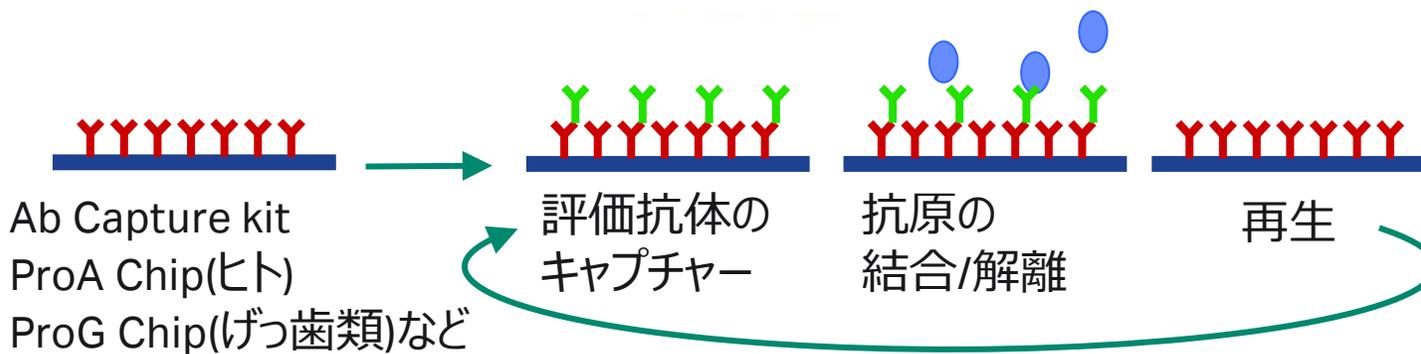
- 1:1 反応にするため抗体をリガンドとする。
- キャプチャー法により Sensor Chip 再生可能



Stability early
抗原との結合量が少ないクローンを除外可能

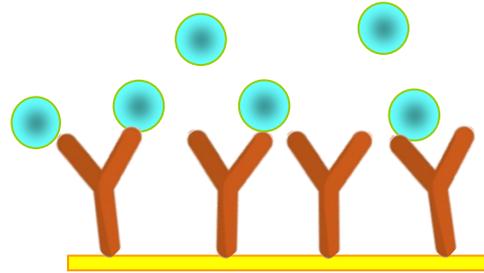


Stability late
複合体の安定性の良い抗体を選別可能

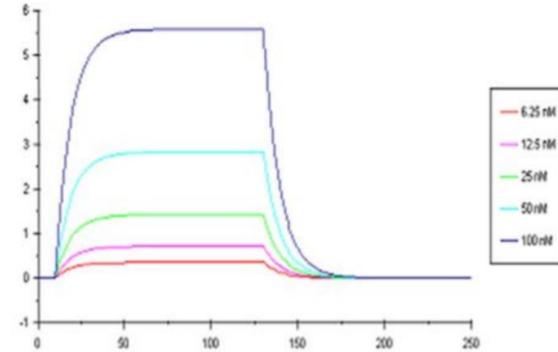


【Tips】なぜ抗原側を固定化が第一選択ではないのか？ AffinityとAvidityの違い

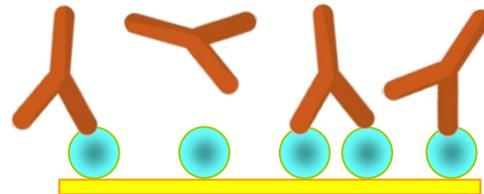
Affinity



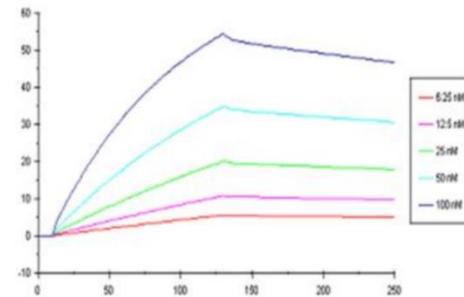
二価分子を固定化



Avidity



二価分子を流す

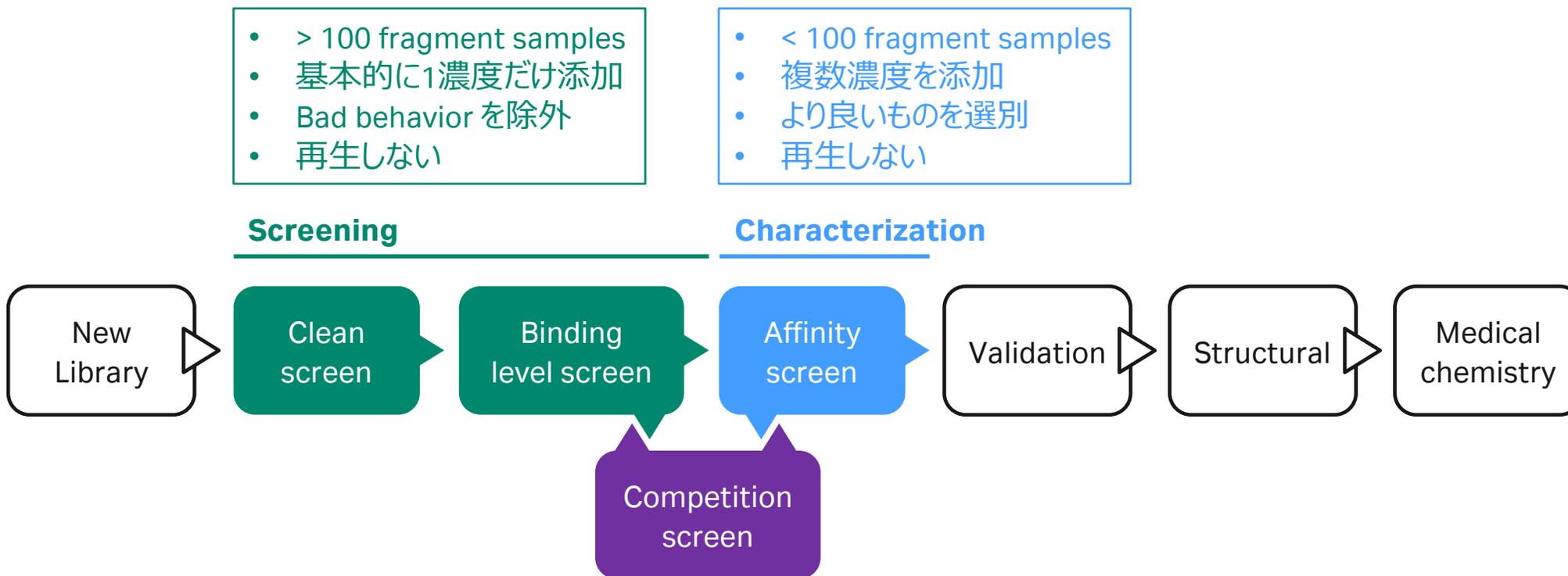


K_D 値

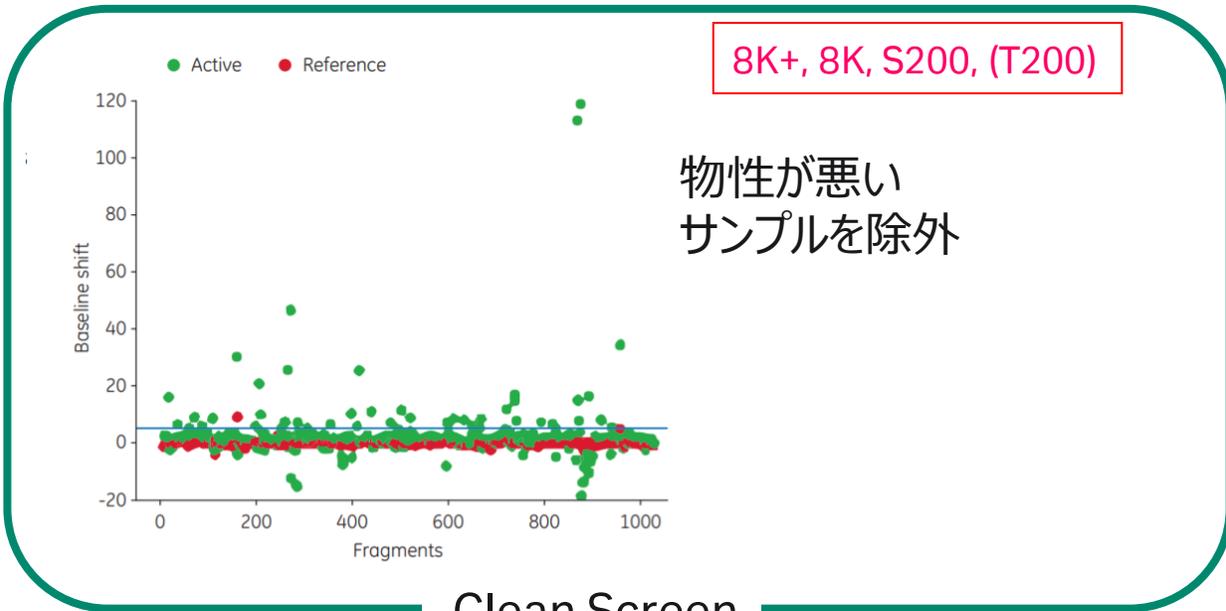
片手、両手についているものが混在しているため、見かけ上解離速度が遅くなります。

K_D 値は 1:1 binding の親和性を定義 ($K_D = [A][B]/[AB]$)。⇒なるべく1:1のセットアップ。

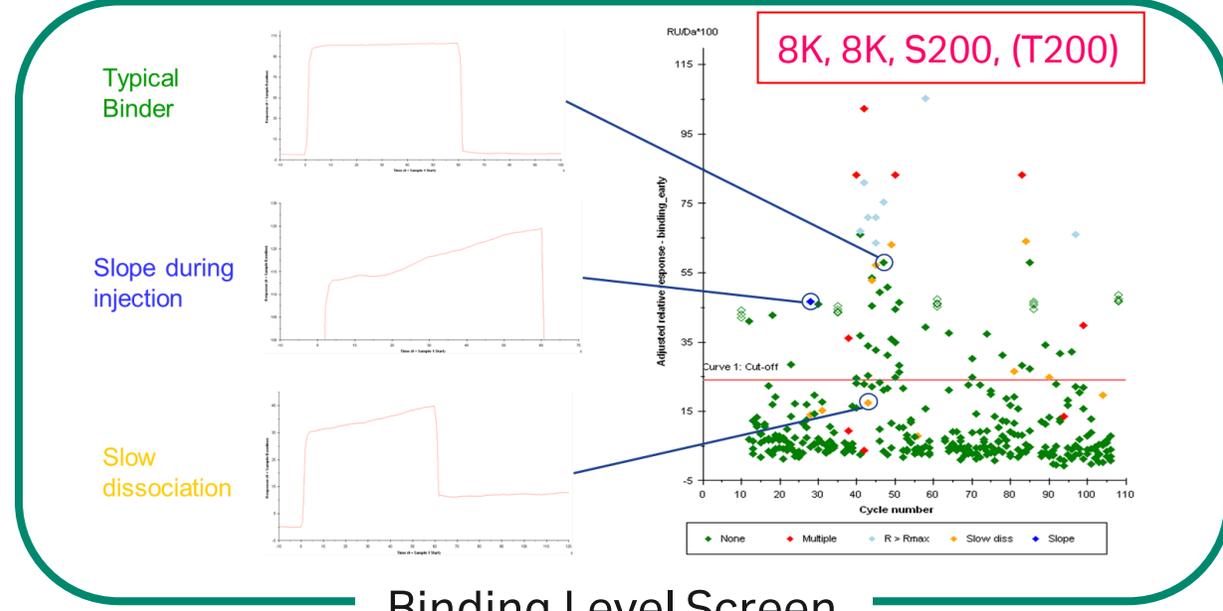
低分子(FBDD)スクリーニング/キャラクタライゼーション ワークフロー



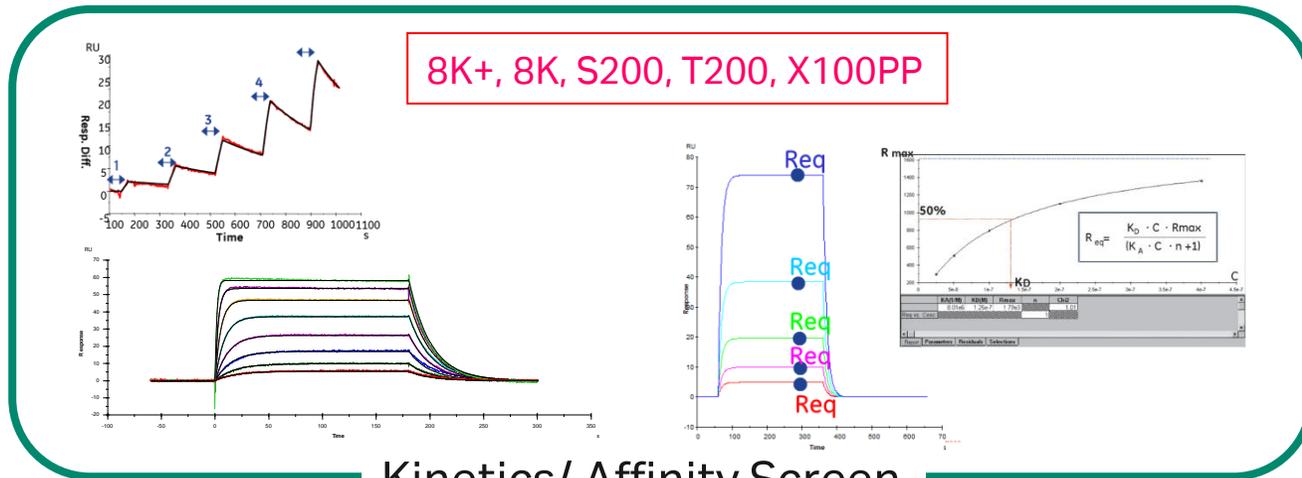
低分子スクリーニング/キャラクタライゼーション ワークフロー



Clean Screen



Binding Level Screen



Kinetics/ Affinity Screen

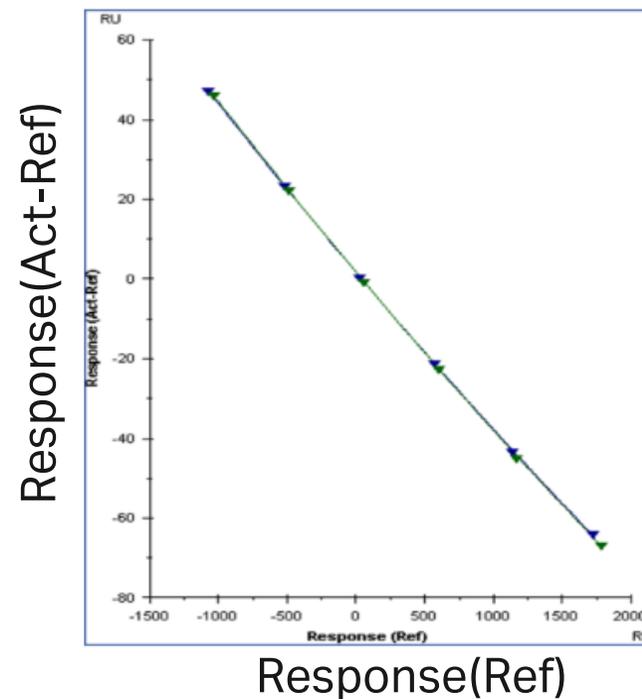
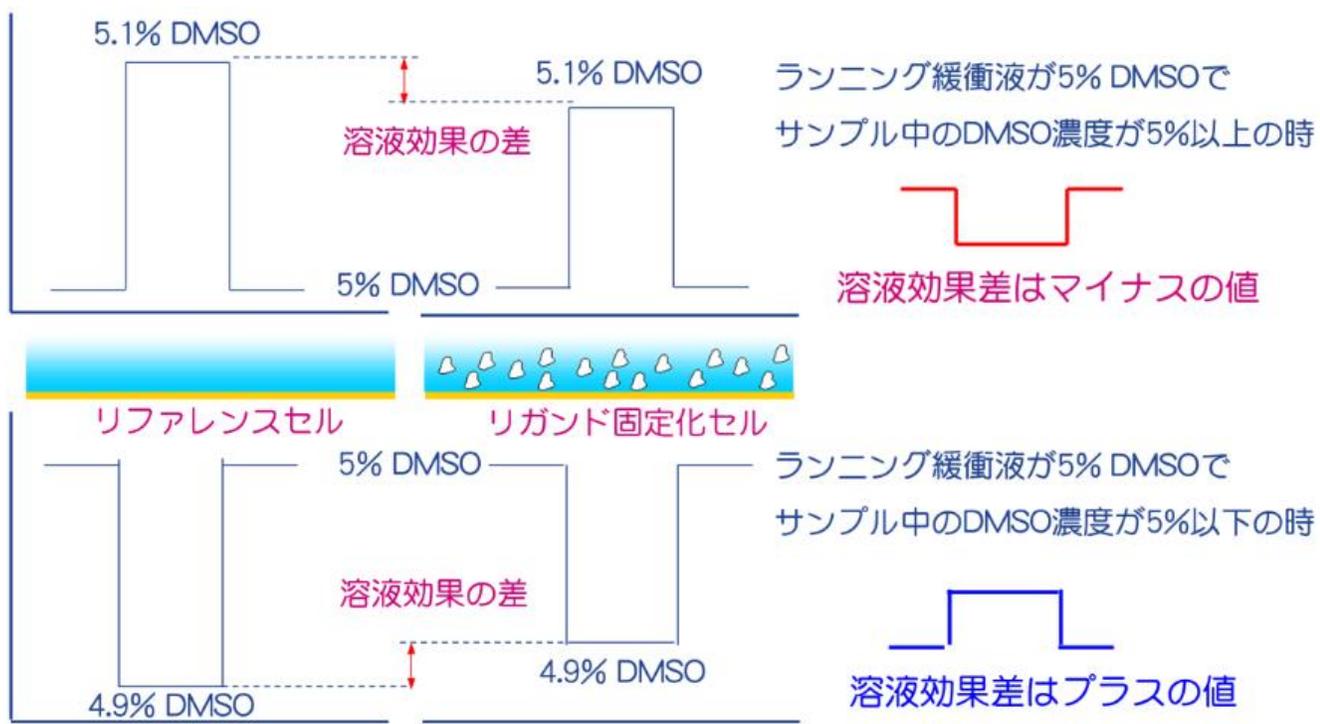
8K+, 8K, S200, T200, X100PP

溶媒補正

【Tips】 溶媒補正の考え方

ランニング緩衝液とアナライต์溶液中のDMSO濃度1%の違いは約1,500 RUのバルクレスポンスに相当。
DMSO濃度の調製誤差が無視できないバルクレスポンスの差を生む可能性がある。

リガンド固定化セルに添加した溶液は、リガンド分子の占有体積分排除されるため、
リファレンスセルのバルクレスポンスは、リガンド固定化セルよりも大きい。

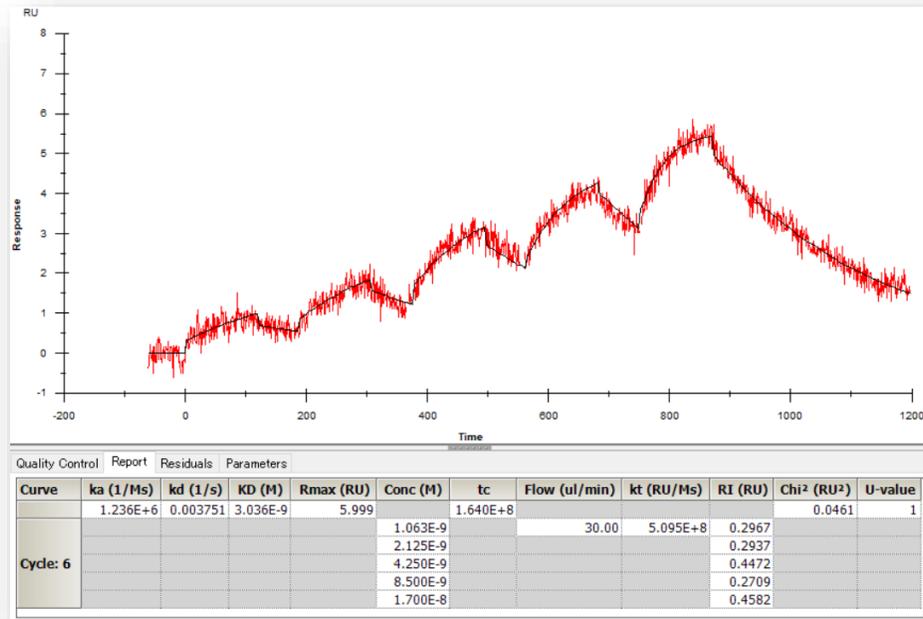


補正用曲線を利用して溶媒誤差を補正

カインेटクス解析とアフィニティ解析

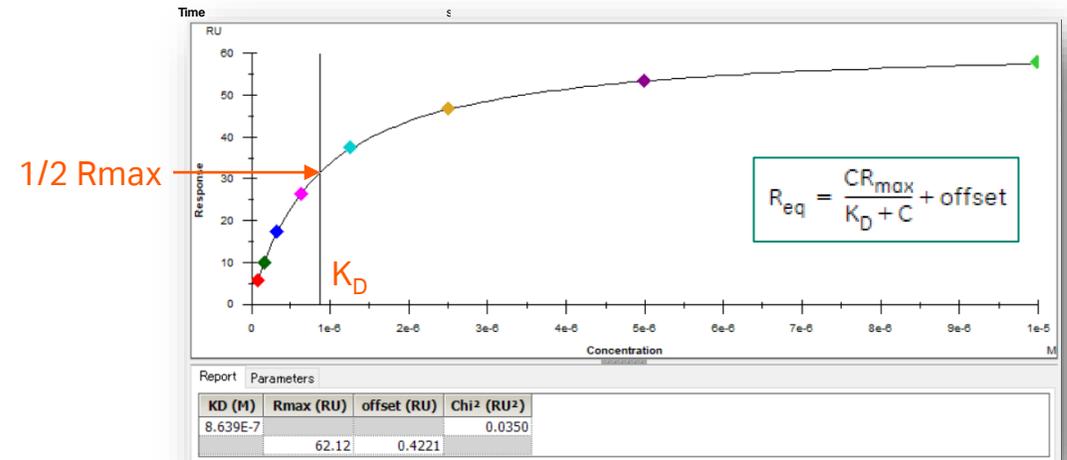
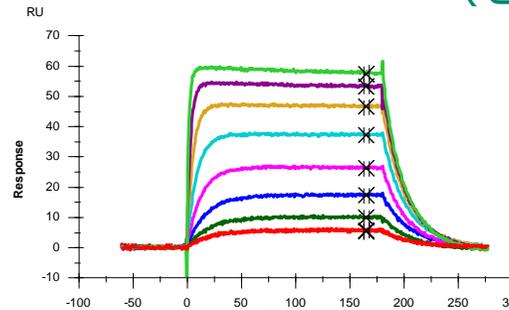
カインेटクス解析

k_a, k_d, K_D が求められる

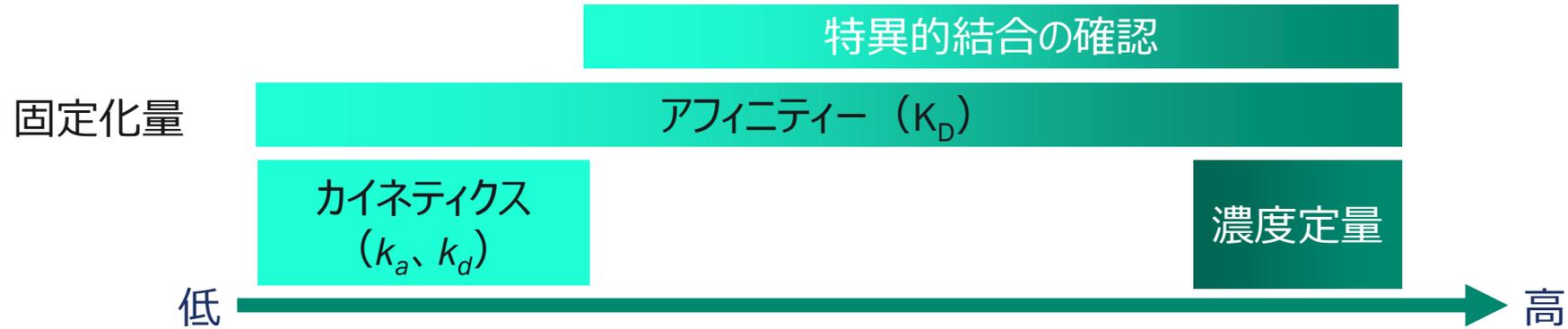


アフィニティ解析 (センサーグラムが箱型の場合)

K_D のみ求められる



固定化量の設定の考え方 (Tips Rmaxの算出方法のページ参照)



【カインेटイクスにおける目安】

タンパク質アナライト : 実測 Rmax \leq 50 RUになる程度の固定化量
 低分子アナライト : 実測 Rmax \leq 20 RUになる程度の固定化量

リガンド : Carbonic anhydrase (30 kDa)
 アナライト : Furosemide (330 Da)で 20RU を目指すなら...

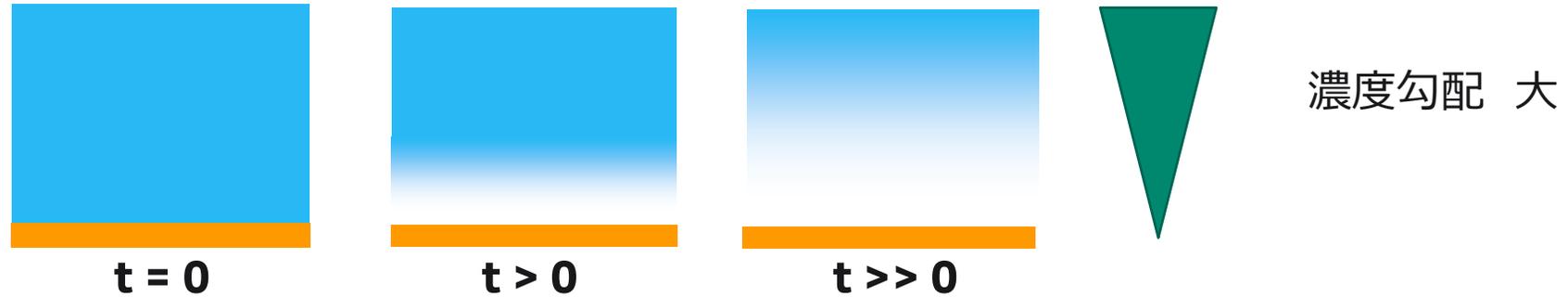
$$20 \text{ RU(Rmax)} = \frac{330 \text{ (Da)}}{30,000 \text{ (Da)}} \times \text{リガンドの固定化量(RU)} \times 1$$

$$\text{リガンドの固定化量} = 1,819 \text{ RU}^*)$$

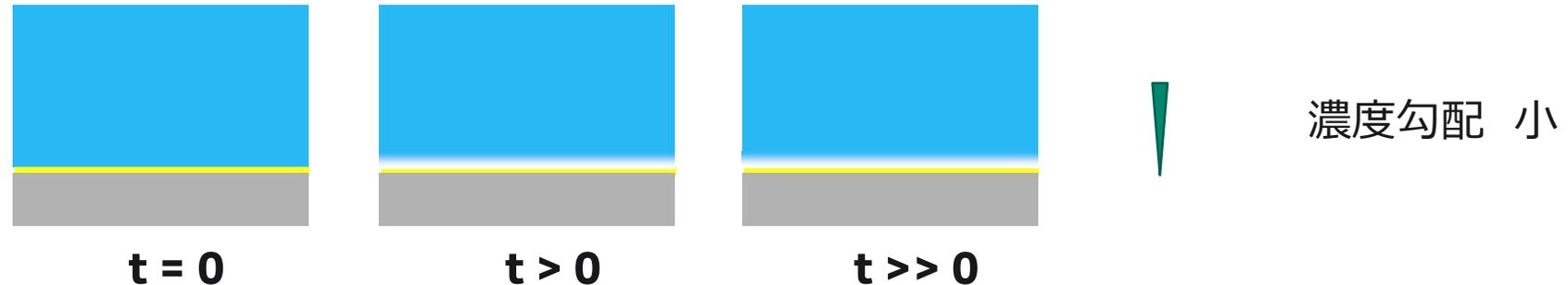
*) リガンドが100%結合活性を保持している前提のもと

【Tips】なぜkinetics解析の場合固定化量を下げるのか？

ELISA (キュベット方式でミキシング無しの場合)

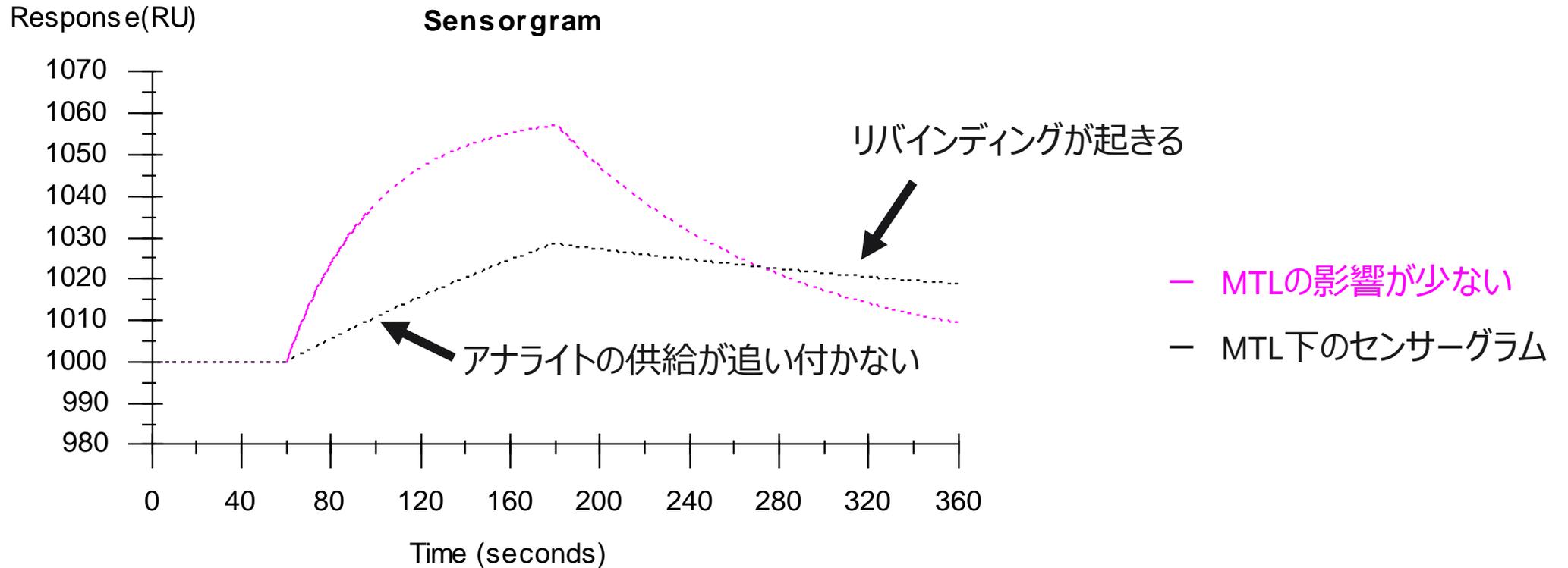


Biacore (連続フロー方式)



マストランスポートリミテーション (MTL、アナライトの供給が追いつかず、消費速度が上回る現象) をなるべく小さくするため。
⇒固定化量を下げるとともに流速も高流速 (30 μ l/min) にします。

【Tips】なぜkinetics解析の場合固定化量を下げるのか？



リガンドの固定化量が多いと MTLによるセンサーグラムの変形が生じ、 k_a 、 k_d 値の信頼性が下がる。

⇒ 感度が向上したことで、固定化量を極力減らしても検出可能になり、正確な k_a 、 k_d 値解析が可能となる。

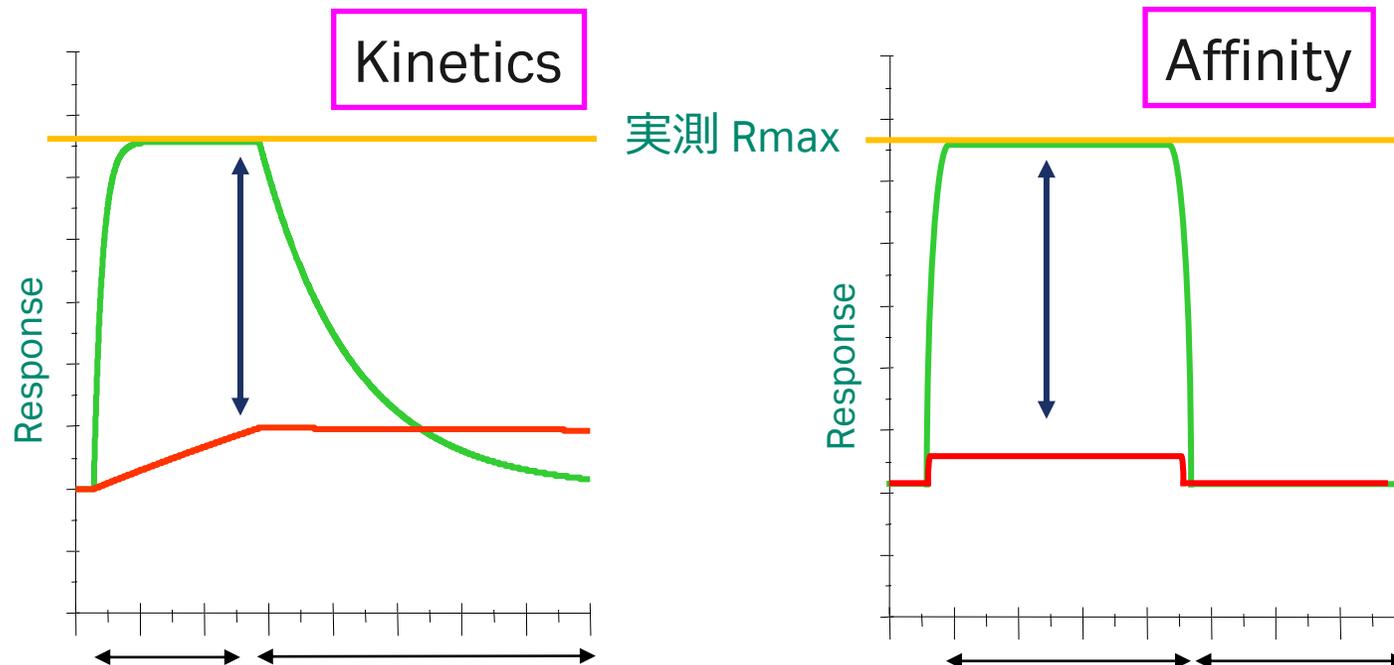
アナライト添加濃度・時間の設定の目安

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。

(例) 3倍希釈で5点。

条件検討の方法

- ✓ T200/S200/X100 : Manual Runでチェックする。
- ✓ 8K : 2D kinetics で幅広く測定。



| | 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 : 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 |
| 濃度点数 | 5 | 8程度 |

カインティクス解析を目的とした至適測定条件

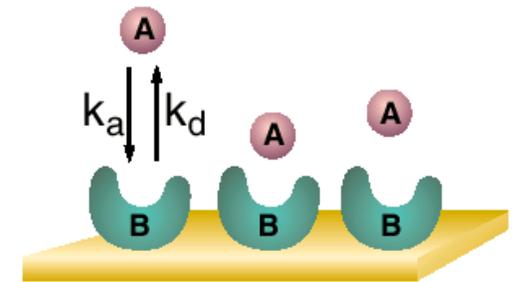
1. 低い固定化量に調節する
2. 高流速で測定する

30 $\mu\text{l}/\text{min}$ 以上

3. 適切なアナライト濃度・時間を用いる

R_{max} 近くから～3桁程度の添加濃度レンジ。

4. アナライト濃度は5段階以上ふる
5. 0濃度 (blank) も必ず測定



アフィニティー解析を目的とした至適測定条件

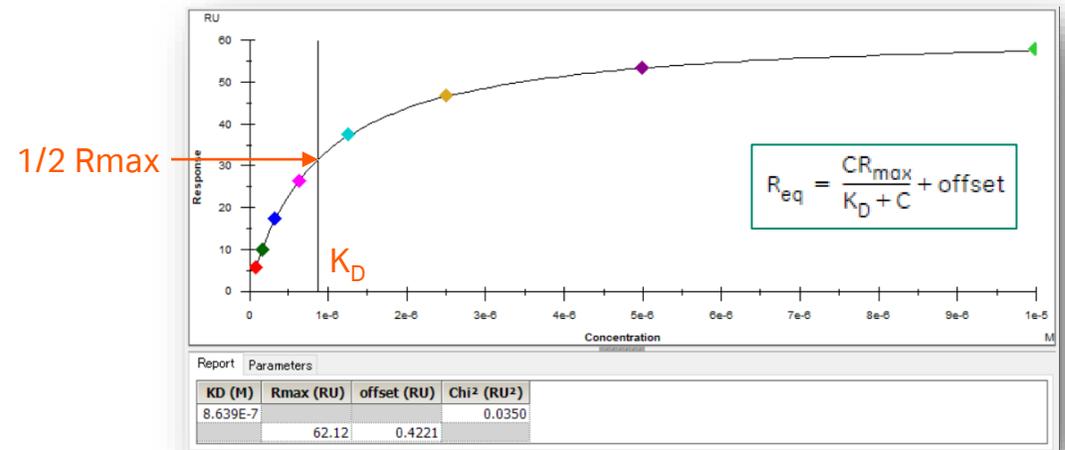
1. 固定化量は必要十分な結合レスポンスが得られる量

2. 適切なアナライต์濃度・時間を用いる

1/10 ~ 少なくとも2×K_D値付近、できれば10×K_D値付近

3. アナライต์濃度は8段階以上ふる

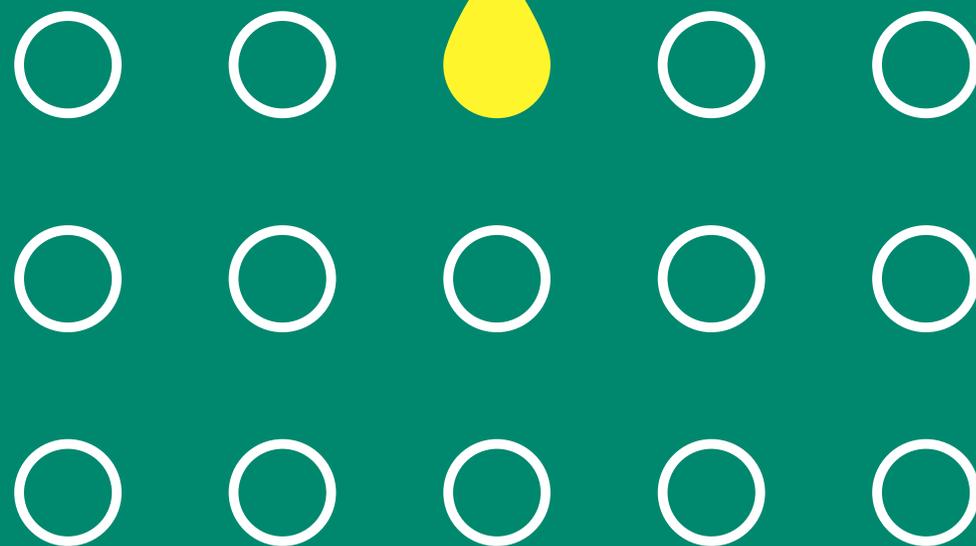
4. 0濃度 (blank) を必ず測定



K_D : 1/2 Rmax (RU)となるアナライต์濃度に相当

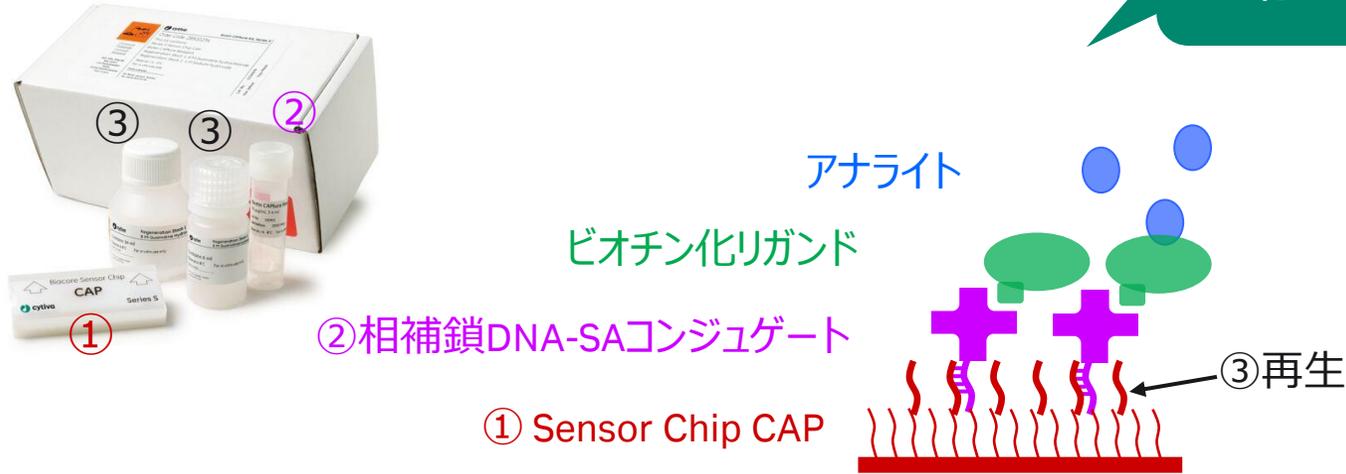
4. 汎用性の高い測定ワークフロー例

汎用性が高い=広範なサンプル分子において成功確率が高い



Biotin CAPture Kit 概要

条件検討に時間を使いたくない皆様へ。
様々なサンプルで成功確率が高い固定化法の第一選択。



- 一本鎖オリゴDNAがプレイモビライズされたチップ、ストレプトアビジン修飾された相補鎖DNAを使用。
- ビオチン-ストレプトアビジンの強い結合であってもKit付属の再生溶液で、チップを再利用することができます。
- Biotin CAPture Reagent（相補鎖DNA-SAコンジュゲート）の単品販売もはじまりました。

| Biotin CAPture Kit | |
|--------------------|--|
| Pros | <ul style="list-style-type: none"> ✓ ビオチン - ストレプトアビジンの高い親和性。 K_Dは10^{-15} (M)。 ✓ ビオチン化されたりガンドを用意すれば固定化方法の条件検討が不要。 ✓ 他のキャプチャー法に比べ、長時間測定によるダウンドリフトが少ない。 ✓ 固定化によるリガンドの失活リスクがほとんどない。 ✓ 各サイクルでフレッシュなりガンドによる測定ができる。 ✓ 再生条件の検討不要。 |
| Cons | <ul style="list-style-type: none"> ✓ アミンカップリングと比較すると固定化量が少ない（多くの場合問題にならない）。 ✓ リガンドの消費量が多い。 ✓ 核酸の親和性、開裂を利用した系なので、核酸を測定する場合にはおすすめしません。 ✓ 準備・測定時間がやや長い |

| 製品 | コード番号 | 対応機種 (Injection回数) |
|------------------------------|----------|------------------------------------|
| Biotin CAPture Kit | 28920233 | X100 (80) |
| Biotin CAPture Kit, Series S | 28920234 | 8K/8K+ (100)、T200 (100)、S200 (100) |
| Biotin CAPture Reagent | 29423383 | 全機種 |

Biotin CAPture Kit によるワークフロー

リガンドのBiotin化

- NHS-biotin試薬 (EZ-Linkなど) によるビオチン化
- Avi-Tag などによるビオチン化タンパク質の発現

センサーチップCAPのRehydration

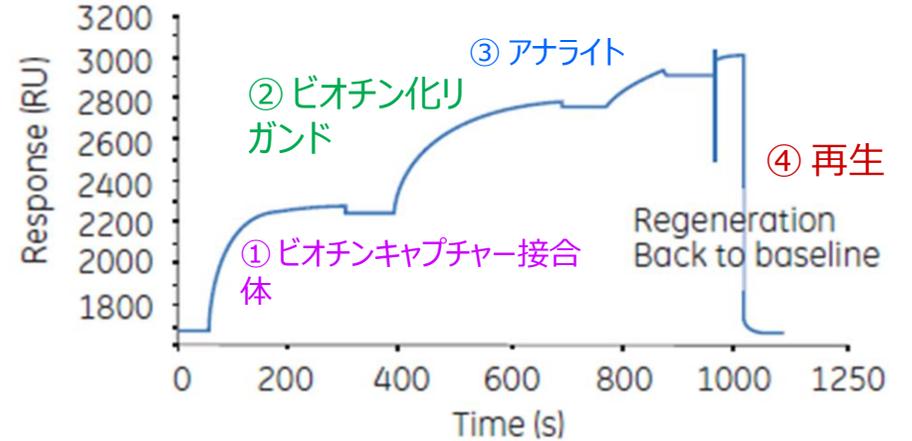
- 前日からセンサーチップCAPをBiacoreにセット。超純水やバッファーで Standby flow。

測定/解析

- 固定化/再生条件検討ほぼ不要。右図参照。

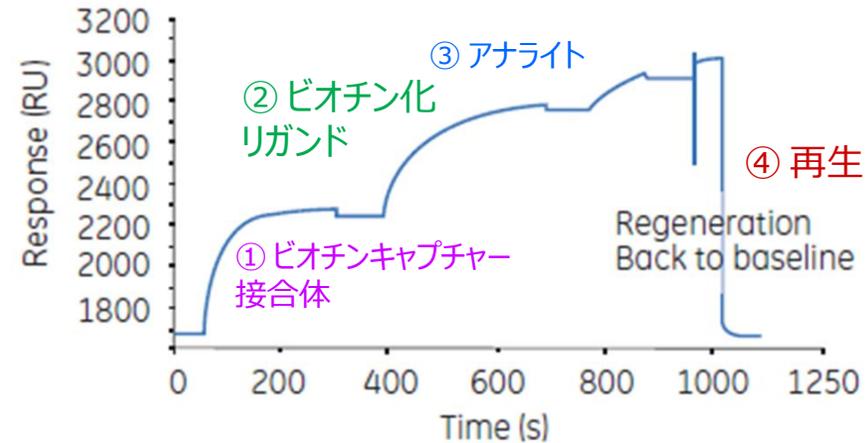
センサーチップCAPの保存

- Standby flow のままシステム内で保管。
- 50 ml 遠沈管でHBS bufferに浸した状態で保管。4~8°C で2か月間の保存。



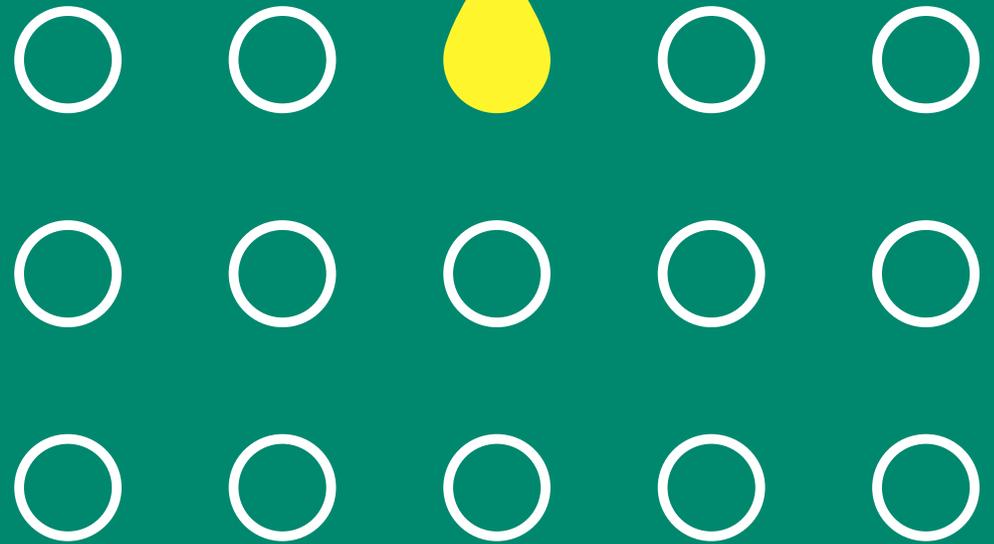
- ① Biotin CAPture Reagentをインジェクションして、ハイブリダイズ
- ② ビオチン化したリガンドをインジェクションして、キャプチャー
- ③ アナライトをインジェクションして、アナライトとリガンドとの結合を見ます
- ④ DNAを開裂させることで再生

Biotin CAPture Kit による測定方法 (injection sequence)



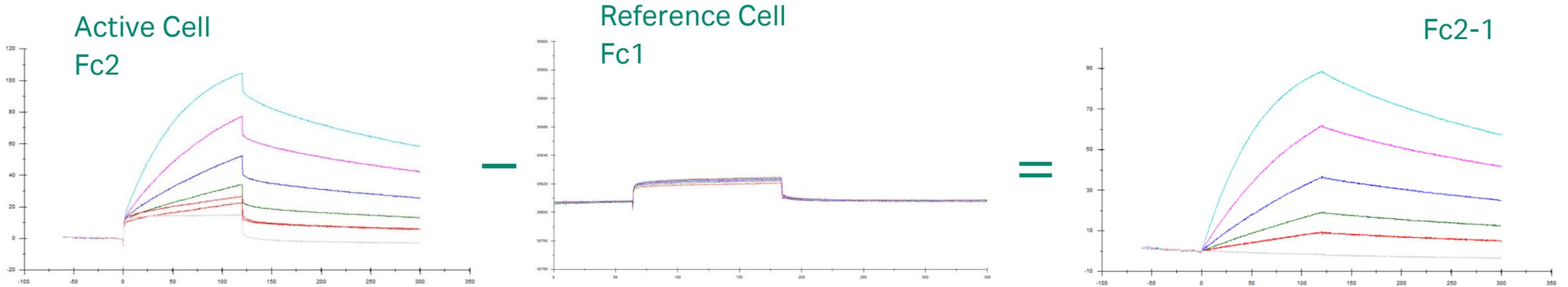
- ① ビオチンキャプチャー接合体 : キット付属のBiotin CAPture Reagent使用、希釈不要、流速2 $\mu\text{l}/\text{分}$ 、コンタクト時間 5 分。標準的に 2,500 ~ 5,000 RU のレスポンスが得られる。
- ② ビオチン化リガンド : 流速 10 $\mu\text{l}/\text{分}$ 、コンタクト時間 90 秒。
- ③ アナライト : アッセイによる。
- ④ 再生 : キット付属のRegeneration solution使用。Stock1とStock2を3:1で混合。流速 10 $\mu\text{l}/\text{分}$ 、コンタクト時間 2 分。

5. 解析

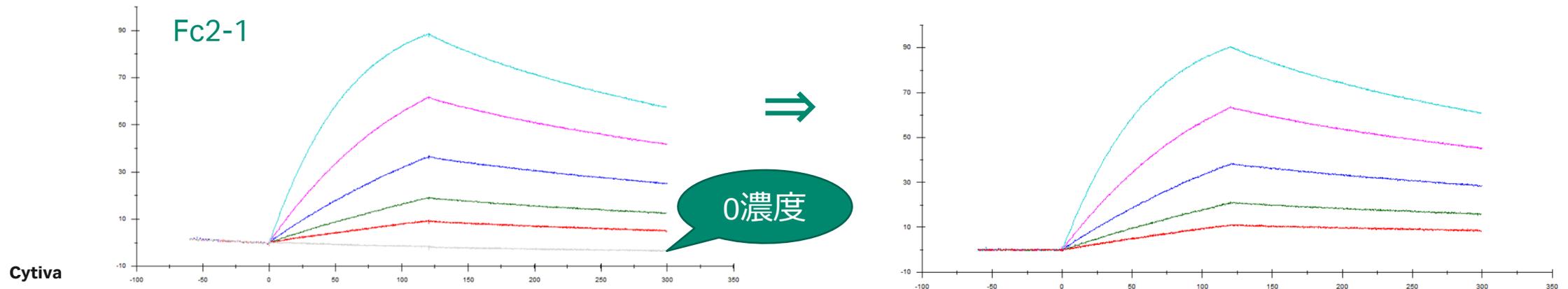


生データから解析対象データへの変換 -ダブルサブトラクションの考え方-

① リガンドをキャプチャー（固定化していない）セルによる溶液効果の補正。



② アナライト 0 濃度によるドリフトの補正



カインेटクス解析の流れ

センサーグラムの形



カーブフィッティング

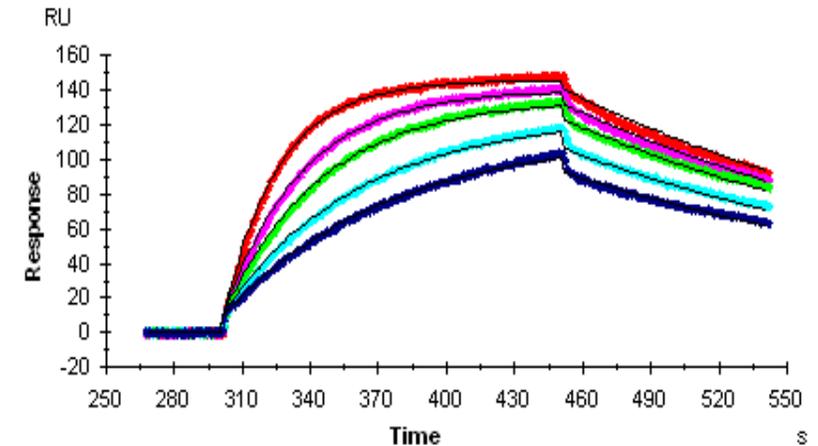
反応速度定数 (k_a, k_d)



$$K_D = k_d / k_a$$

解離定数 (K_D)

カインेटクス解析では、反応速度定数と解離定数両方求めることができる。
(反応速度定数を使って解離定数を求める。)



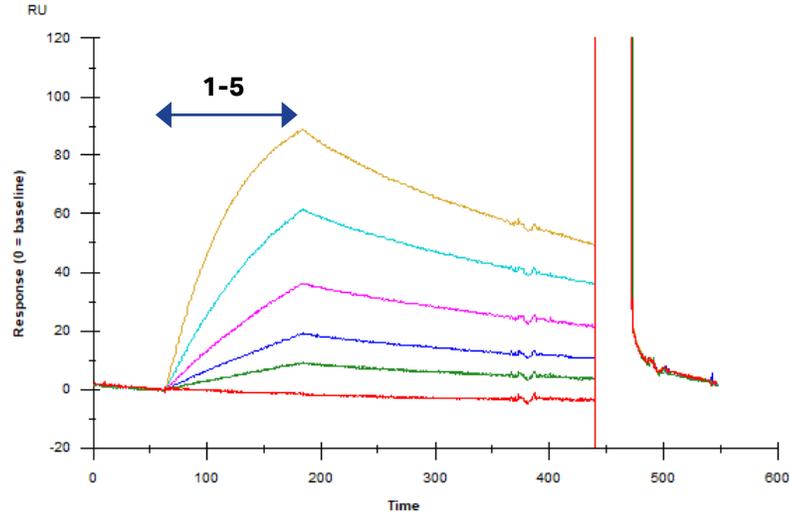
“センサーグラムの形”を使って解析



平衡状態に達している必要は無い

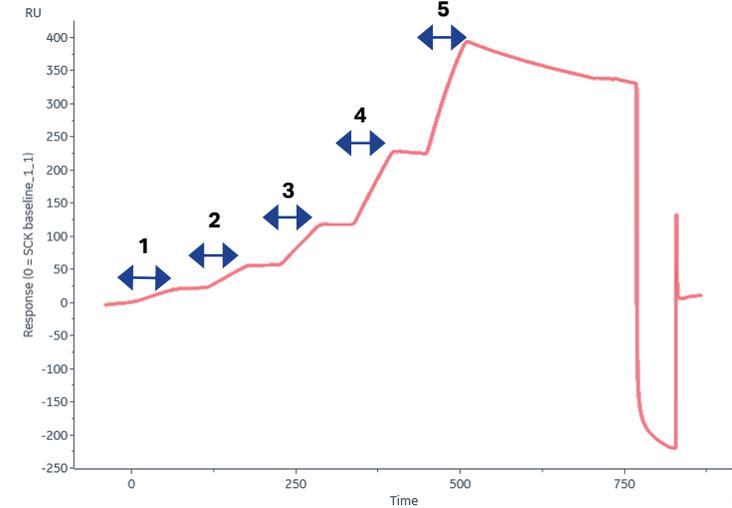
Multi cycle 法とSingle cycle 法の違い

Multi cycle 法



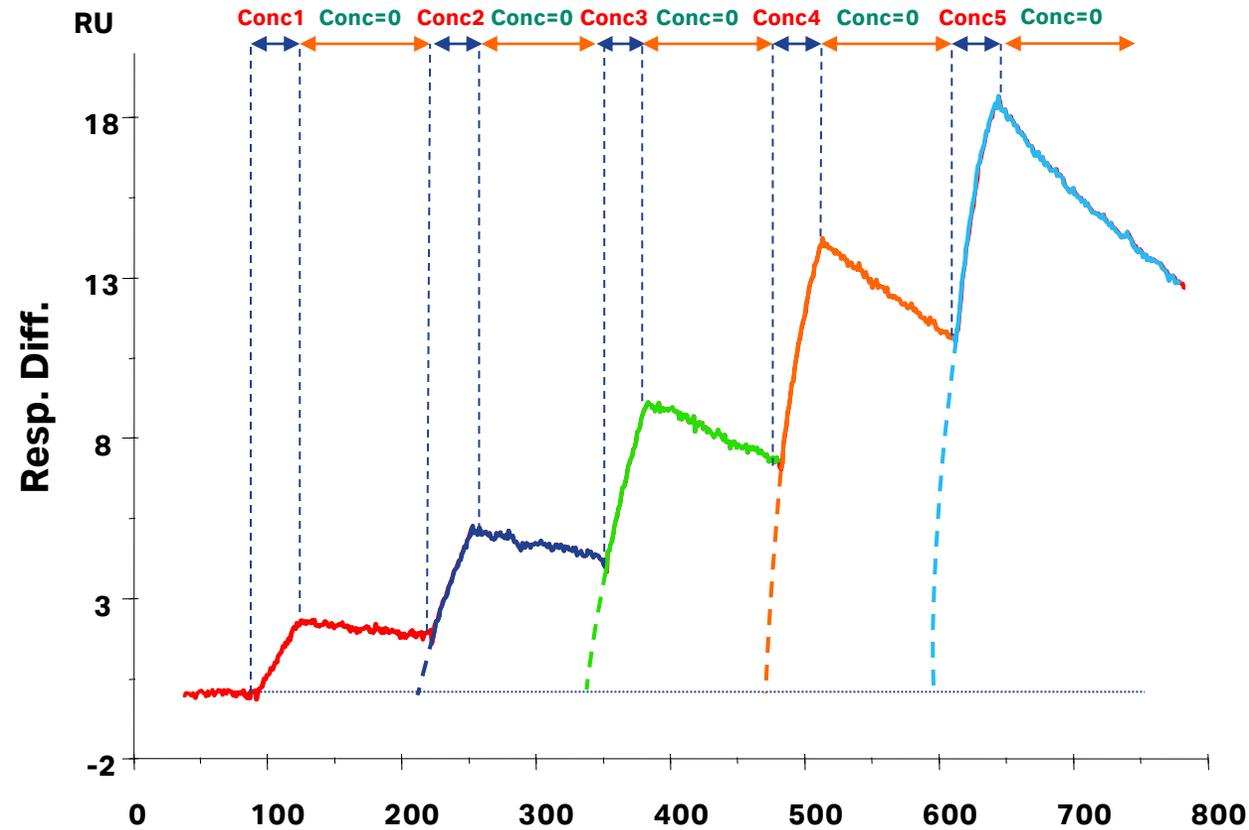
アナライト添加

Single cycle 法



| Multi cycle 法 各濃度は個別サイクルで測定する | | Single cycle 法 各濃度は同一サイクルで測定する | |
|----------------------------------|---|---|--|
| Pros | <ul style="list-style-type: none"> 古典的方法。 アフィニティー解析にはよく使われる | <ul style="list-style-type: none"> 再生操作が不要（再生困難なリガンドにも適用可能） 解離が遅いサンプルでより正確な測定ができ有利 キャプチャー法におけるリガンド消費量が少ない 1 RUNの時間短縮で、リガンド失活の影響を受けにくい | |
| Cons | <ul style="list-style-type: none"> 再生条件の検討が必要 再生困難なサンプルに適用不可 解離の非常に遅いサンプルで不利 | <ul style="list-style-type: none"> キャプチャー後のベースラインドリフトが安定でないと困難（Biotin CAPture kitおすすめ） | |

シングルサイクルキネティクス解析



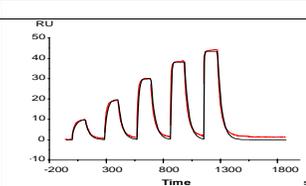
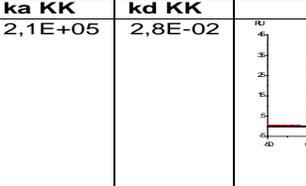
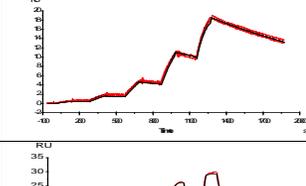
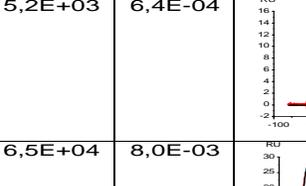
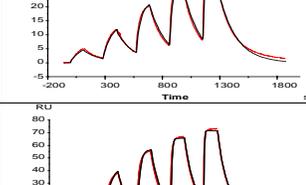
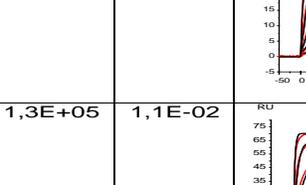
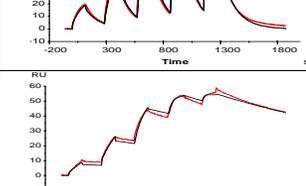
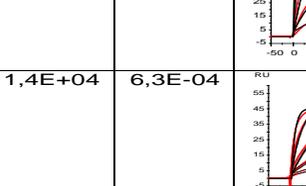
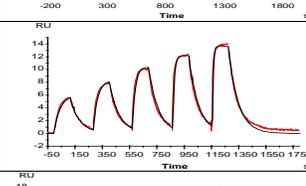
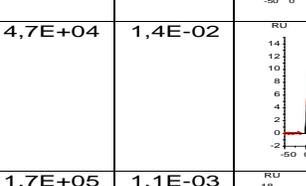
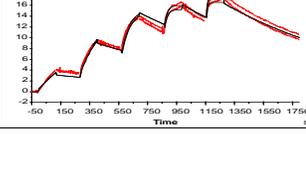
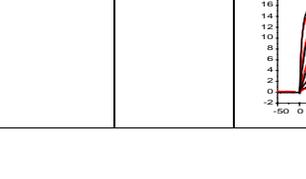
結合領域 (Conc 1~Conc 5) : $R(t) = R_{eq} \times (1 - \exp\{- (k_a \cdot C + k_d) \cdot t\})$

解離領域 (Conc = 0) : $R(t) = R_0 \times \exp(-k_d \cdot t)$

各濃度の添加時間に対応して、
濃度パラメーターを変えてカーブフィッティングをおこなう

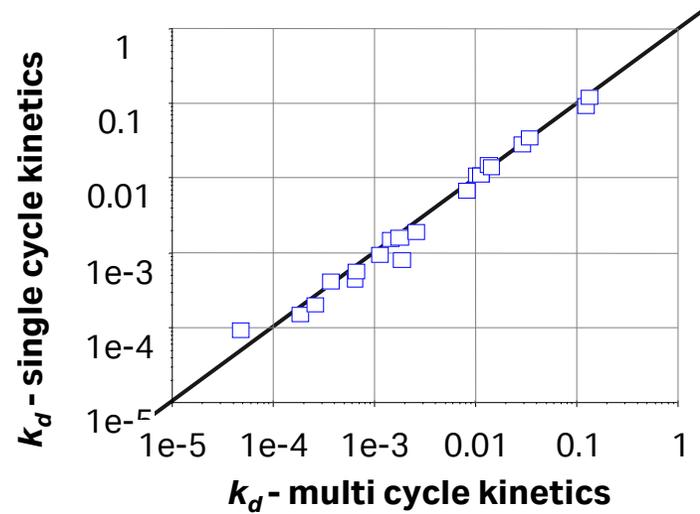
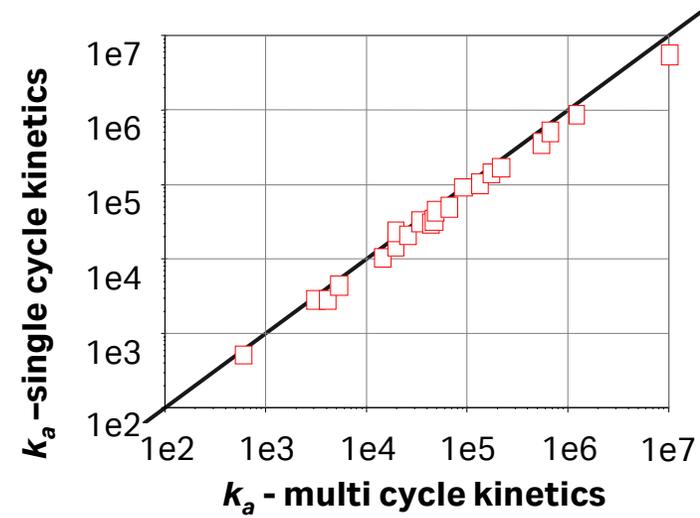
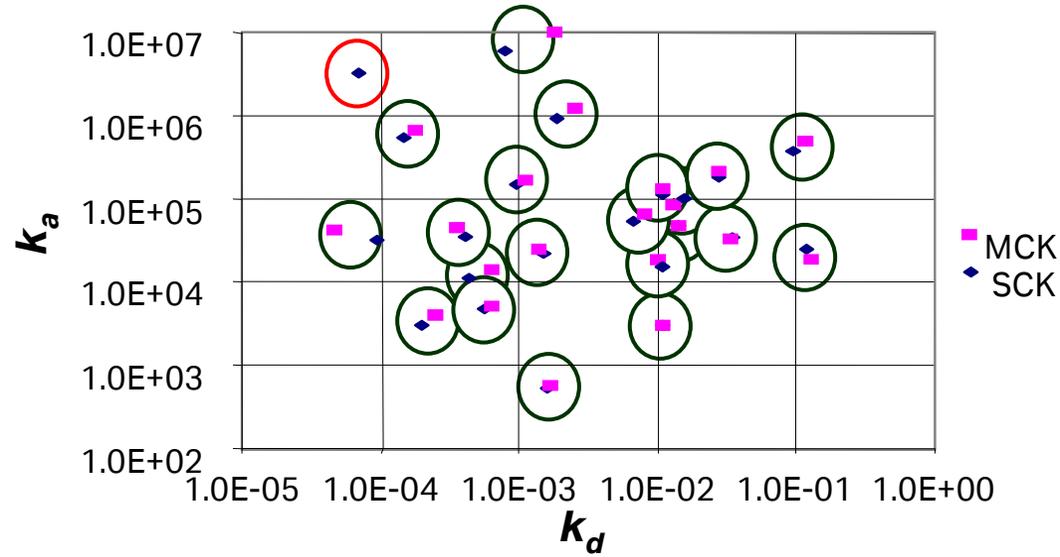
シングルサイクル vs. マルチサイクルカインेटクス比較

Single domain antibody binding to Lysozyme

| Analyt | ka TK | kd TK | | ka KK | kd KK | |
|--------|---------|---------|--|---------|---------|---|
| TR fAb | 1,8E+05 | 2,8E-02 |  | 2,1E+05 | 2,8E-02 |  |
| QP fAb | 4,7E+03 | 5,6E-04 |  | 5,2E+03 | 6,4E-04 |  |
| RT fAb | 5,3E+04 | 6,7E-03 |  | 6,5E+04 | 8,0E-03 |  |
| TN fAb | 1,1E+05 | 1,1E-02 |  | 1,3E+05 | 1,1E-02 |  |
| TP fAb | 1,1E+04 | 4,4E-04 |  | 1,4E+04 | 6,3E-04 |  |
| TM fAb | 4,7E+04 | 1,4E-02 |  | 4,7E+04 | 1,4E-02 |  |
| TH fAb | 1,5E+05 | 9,4E-04 | | 1,7E+05 | 1,1E-03 | |

シングルサイクル vs マルチサイクルカインेटクス比較

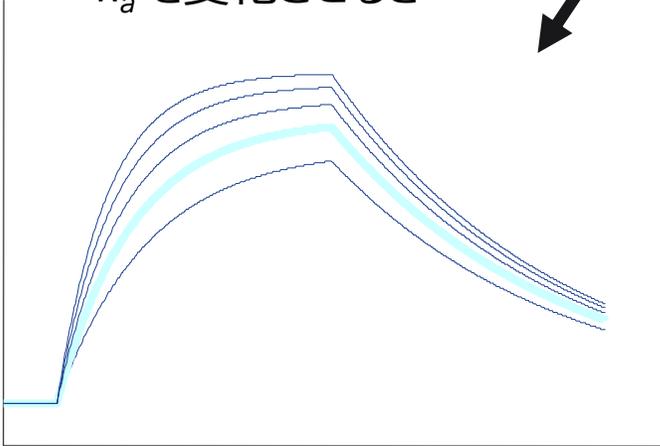
Single domain antibody binding to Lysozyme



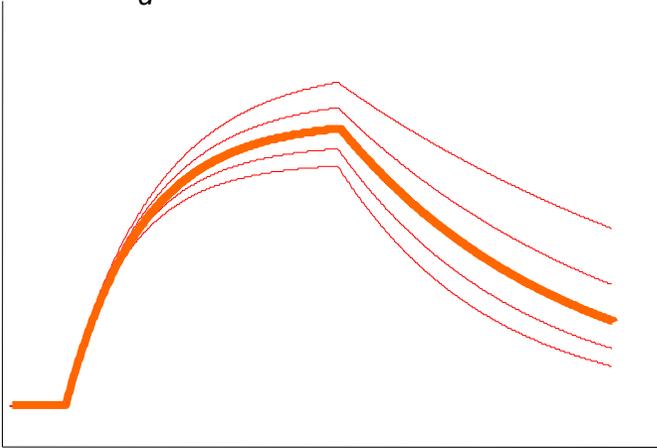
反応速度定数の算出

$$dR/dt = f(k_a, k_d, Rmax, conc, \dots)$$

k_a を変化させると



k_d を変化させると



非線形最小二乗近似法を用いた解析

変数を代入してきながらセンサーグラムにFittingをさせる。

カインेटクス解析の反応モデル

1:1 Binding



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。

Bivalent Analyte



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



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



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



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。

* 可能な限り **1:1 Binding** のアッセイ系を構築する。

カイネティクス解析 クォリティーコントロール(1)

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

①速度定数がシステムのスペック範囲内か？

| | 8K/8K+ | T200 | S200 | X100 |
|--------------|--------------------|------------------|------------------|--------------------|
| k_a (1/Ms) | $\sim 10^9$ | $10^3 \sim 10^9$ | $10^3 \sim 10^9$ | $10^3 \sim 10^7$ |
| k_d (1/s) | $10^{-6} \sim 0.5$ | $10^{-5} \sim 1$ | $10^{-5} \sim 2$ | $10^{-5} \sim 0.1$ |

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 Rmax の間には相関性がなく、独立した値となる。

マストランスポートリミテーション下で測定した結果は、 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

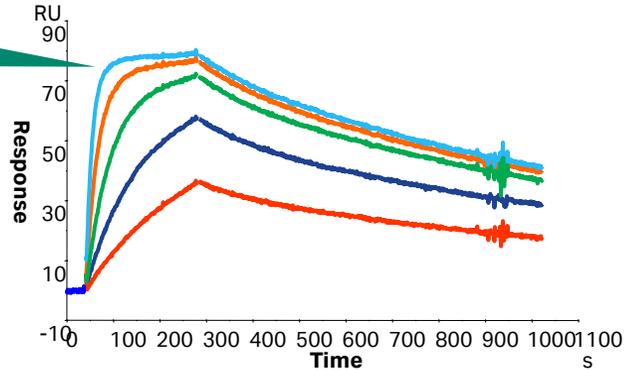
リファレンスセルおよびアナライトのゼロ濃度を差し引き ⇒ RI はゼロに近い値となるはず。

カインेटクス解析 クォリティーコントロール(2)

④センサーグラムはカーブを描いているか？

センサーグラムの結合・解離領域が直線的 ⇒ Fitting結果の信頼性は低い。

高濃度サンプルに注目

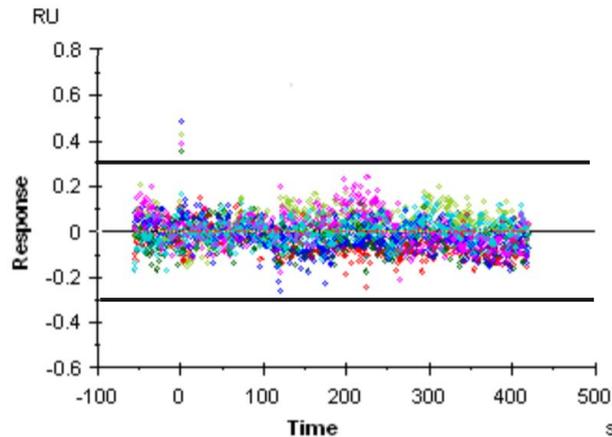


⑤フィッティングカーブに対して測定プロットがランダムに分散しているか？

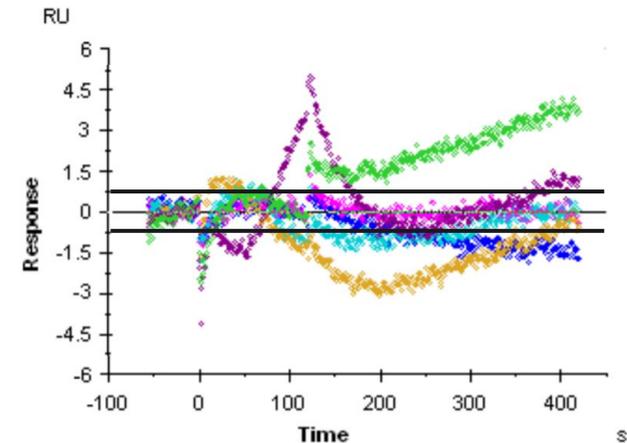
良好なフィッティング

- 1) Y軸のゼロ近傍で、ランダムにプロットが分散
- 2) ほとんどのプロットがガイドライン内

Residuals for a good fit



Residuals for a poor fit

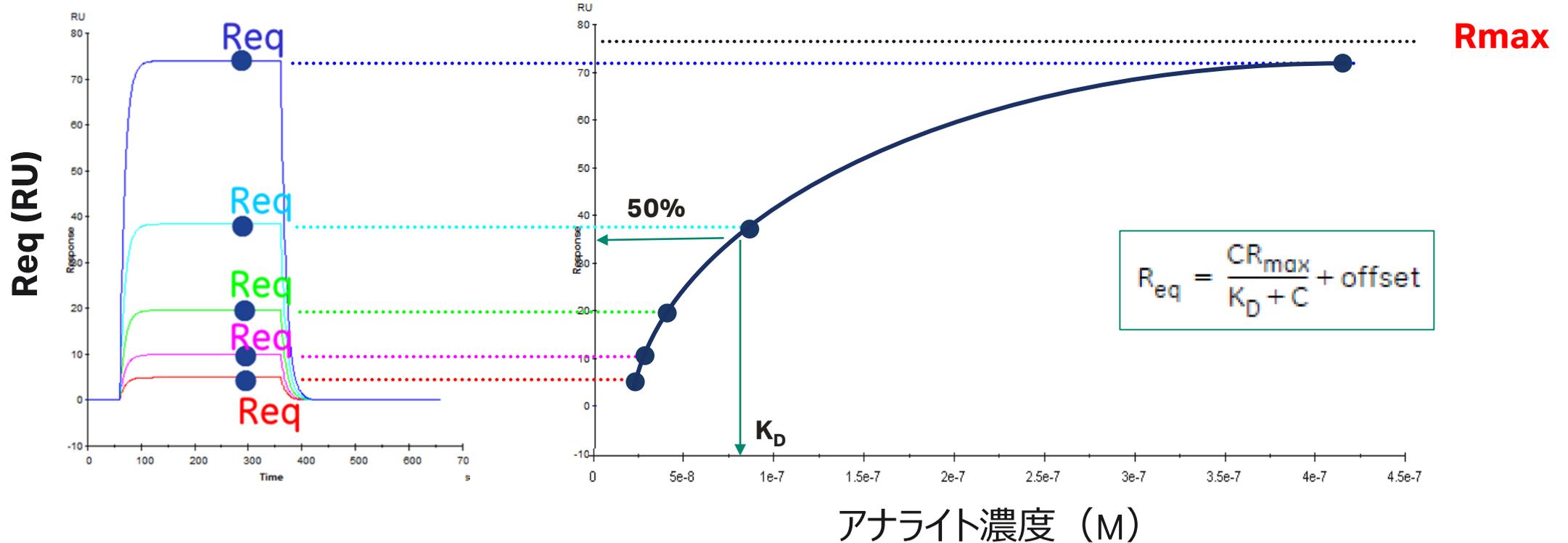


カインेटクス解析 各種パラメータ

| | 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。 kd= 0.01 s ⁻¹ = 1% 1秒当たり複合体が1%解離する。 |
| | 解離定数 KD | 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 | RU・M ⁻¹ s ^{-2/3} m ⁻¹ tc=kt ³ √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。 |

アフィニティー解析を利用した解離定数の算出

Fit to model $A + B \rightleftharpoons AB$ at steady state



K_D : 1/2 Rmax (RU)となるアナライต์濃度に相当

アフィニティー解析の反応モデル

Steady State Affinity

1:1 Binding モデルで、Rmax は Fitting パラメータ。

$$R_{eq} = \frac{CR_{max}}{K_D + C} + offset$$

Steady State Affinity Constant Rmax

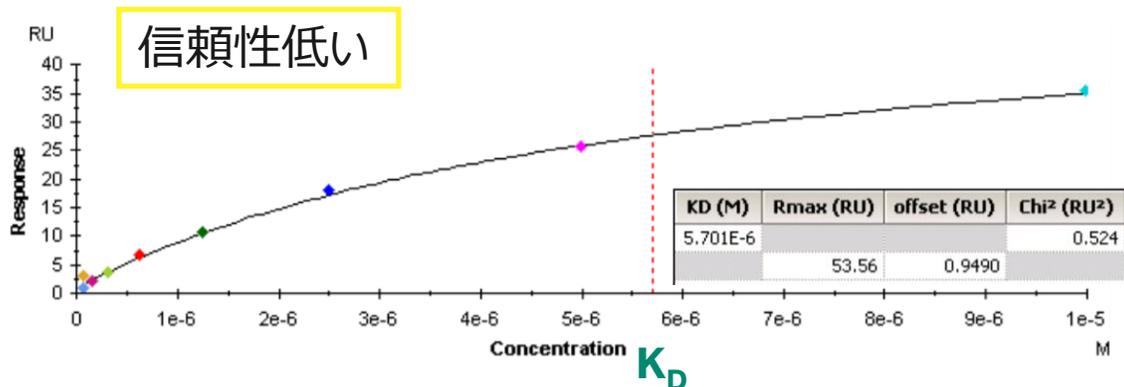
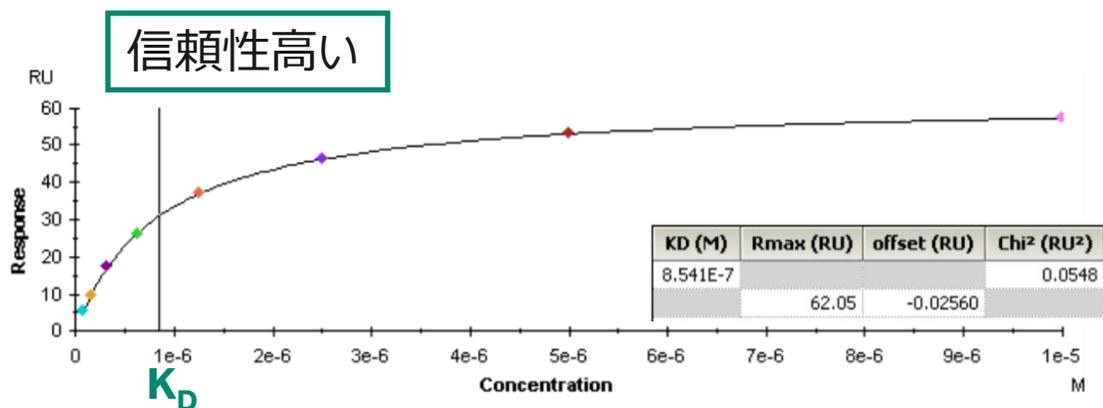
1:1 Binding モデルの平衡値解析で、ポジコンのレスポンスから計算されたRmax を入力して、解析を行う。
低アフィニティー 相互作用で、高濃度側のアナライト濃度のデータポイントを取得できない場合に使用。

$$R_{eq} = \frac{CR_{max}}{K_D + C} + offset$$

$$R_{max_{analyte}} = R_{max_{control}} \times \frac{MW_{analyte}}{MW_{control}}$$

アフィニティー解析 クォリティーコントロール 各種パラメータ

信頼性の高い解析結果
 K_D 値の2倍以上の添加濃度

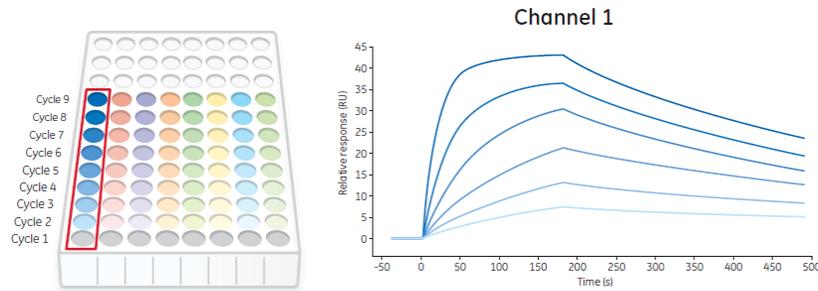


Cytiva

| | 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量。実際にアナライト添加した時、結合量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。 |

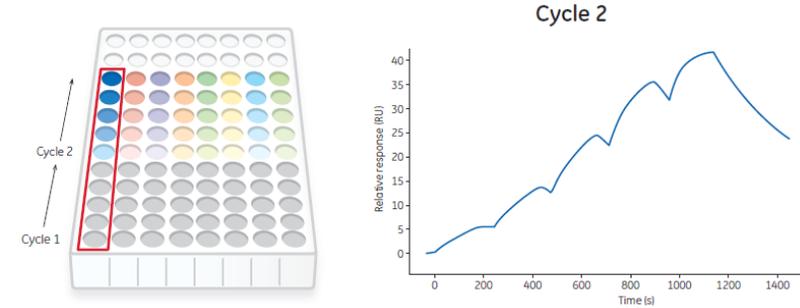
【Tips】Biacore 8K 各種 kinetics 測定方法

- Multi-cycle kinetics



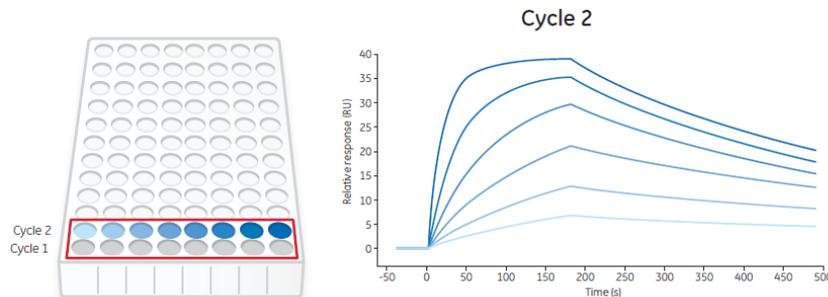
複数アナライトの評価に。

- Single-cycle kinetics



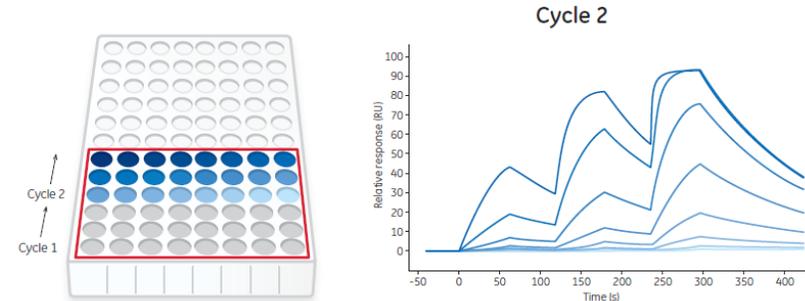
複数サンプルをより早く評価。解離の遅いサンプルも短時間で評価。

- Parallel kinetics



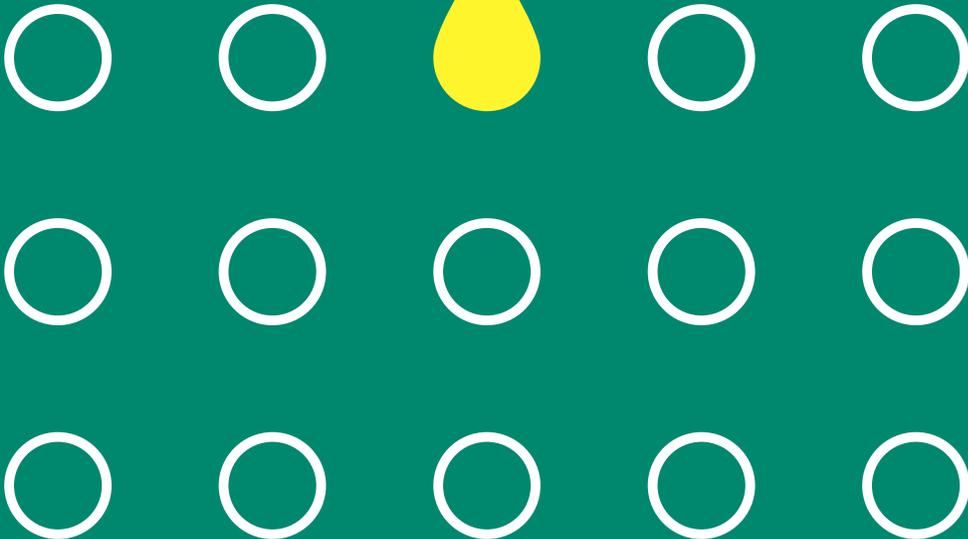
小サンプルを短時間に評価。1種類であれば再生操作不要。
解離の遅いサンプルにも有用。

- 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. メンテナンス



メンテナンス

Desorb 週1回

IFC およびサンプルチューブを洗浄するプログラム。
Maintenance Kit 付属の Sensor chip Maintenance 使用。

Desorb and Sanitize 月1回

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。
Maintenance Kit 付属の Sensor chip Maintenance 使用。
別途 0.6～1.0% 次亜塩素酸ナトリウムを用意。

システムチェック 装置の不調を疑う時

装置の診断をおこなうプログラム。
Desorb and Sanitize 後に実行。
新品の Sensor chip CM5 使用。
* その後、実験に使用可能。

| 製品 | コード番号 | 対応機種 |
|---------------------------------|----------|-----------|
| BIAmaintenance Kit | 29394521 | X100 |
| Biacore Maintenance Kit, type 2 | 29394519 | T200、S200 |
| Biacore Maintenance Kit, type 3 | 29229054 | 8K/8K+ |

センサーチップの保存

システム内で保管

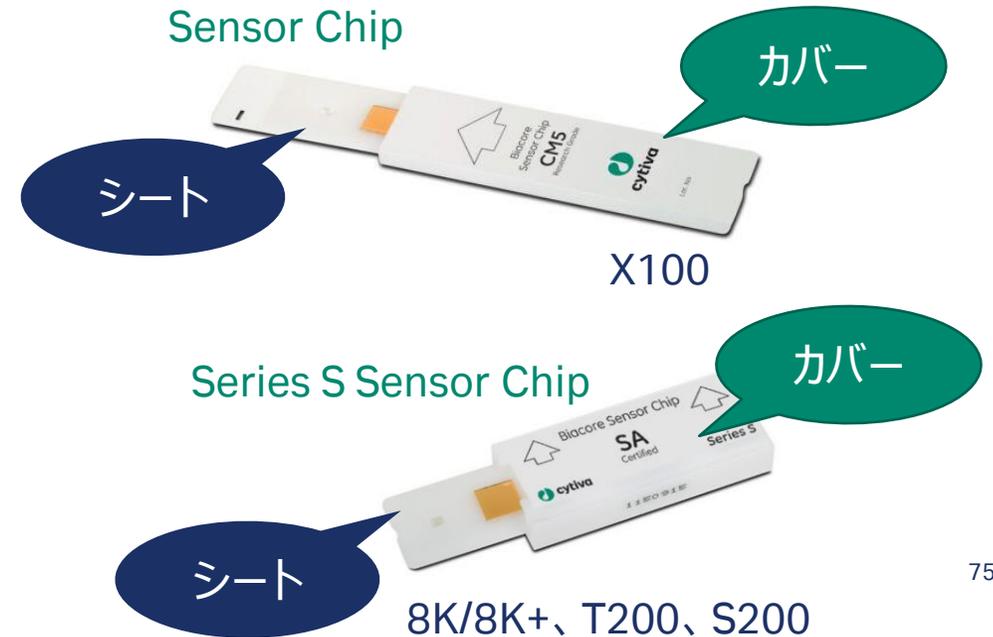
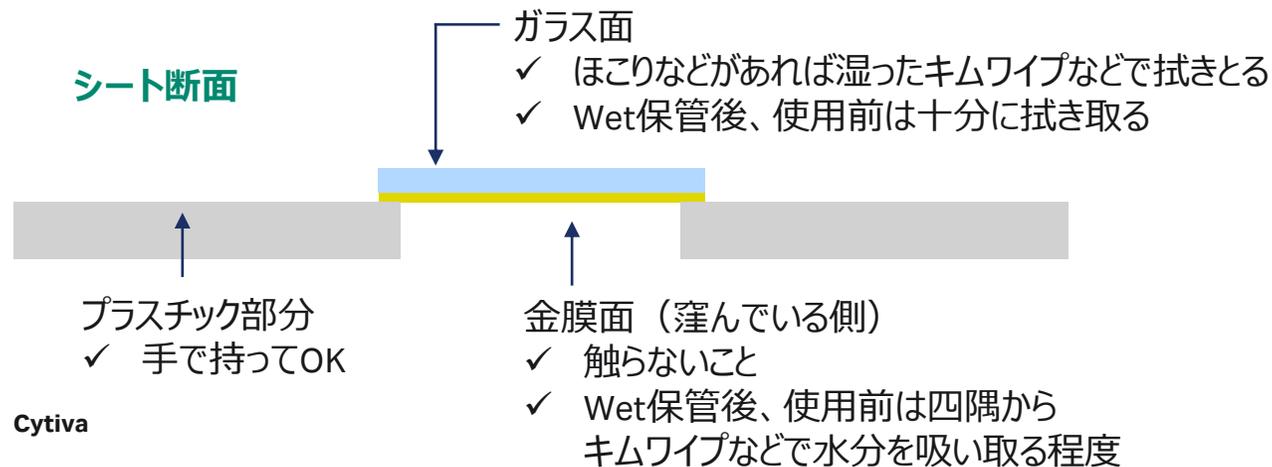
Standby flowのままBiacore本体の中で保管。連続7日間のStandby flowが可能。

Wetで保管

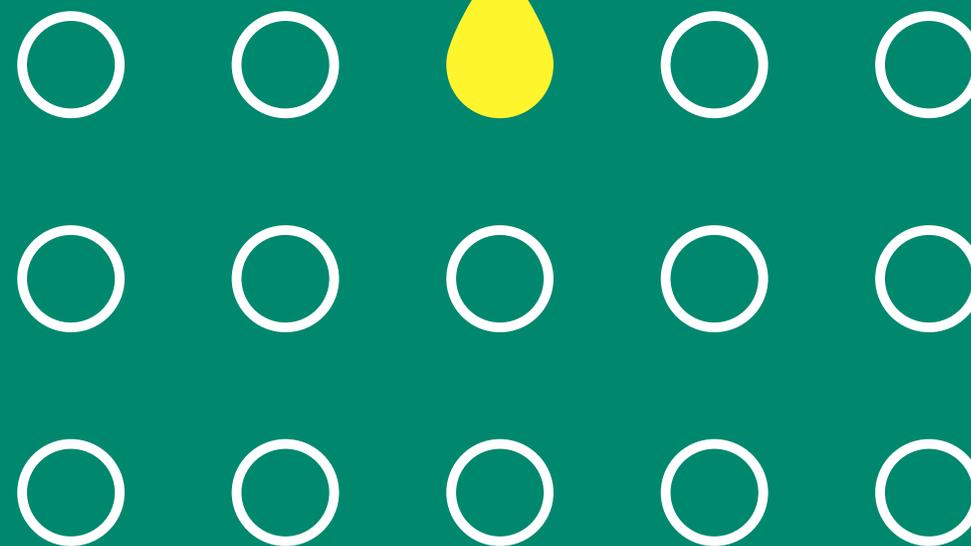
センサーチップのシート部分をカバーから抜き取り、シートだけを容器（50 ml のふた付きプラスチック遠心チューブ等）に分注した HBS-EP+などの緩衝液に浸し、4 °C で保存。

Dryで保管

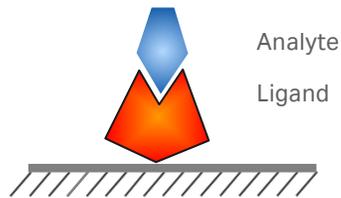
取り出したセンサーチップにパラフィルムを巻いて 4°C で保存。
安定なサンプルを固定したセンサーチップの保存に。



7. アミンカップリング法



アミンカップリングを行うのはどんな時？

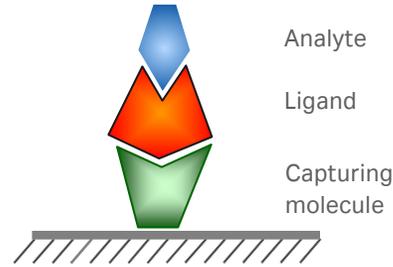


- 直接法

- リガンドをセンサーチップ上に共有結合



ほとんどの場合アミンカップリング



- キャプチャー法

- キャプチャー用分子をセンサーチップ上に共有結合
- リガンドはサイクル毎にキャプチャーさせる

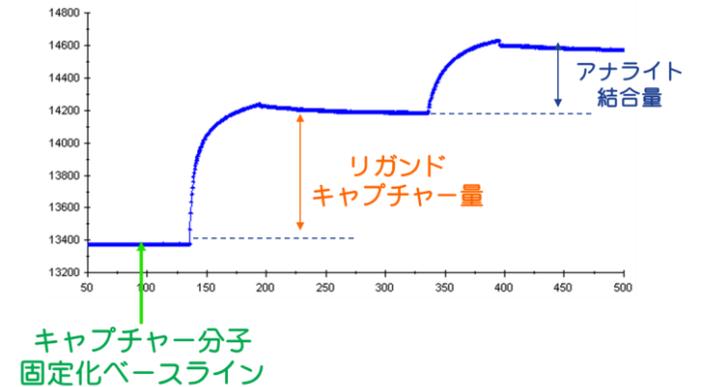


Capturing moleculeの固定化にアミンカップリングを使用するのを前提としているkitがある。

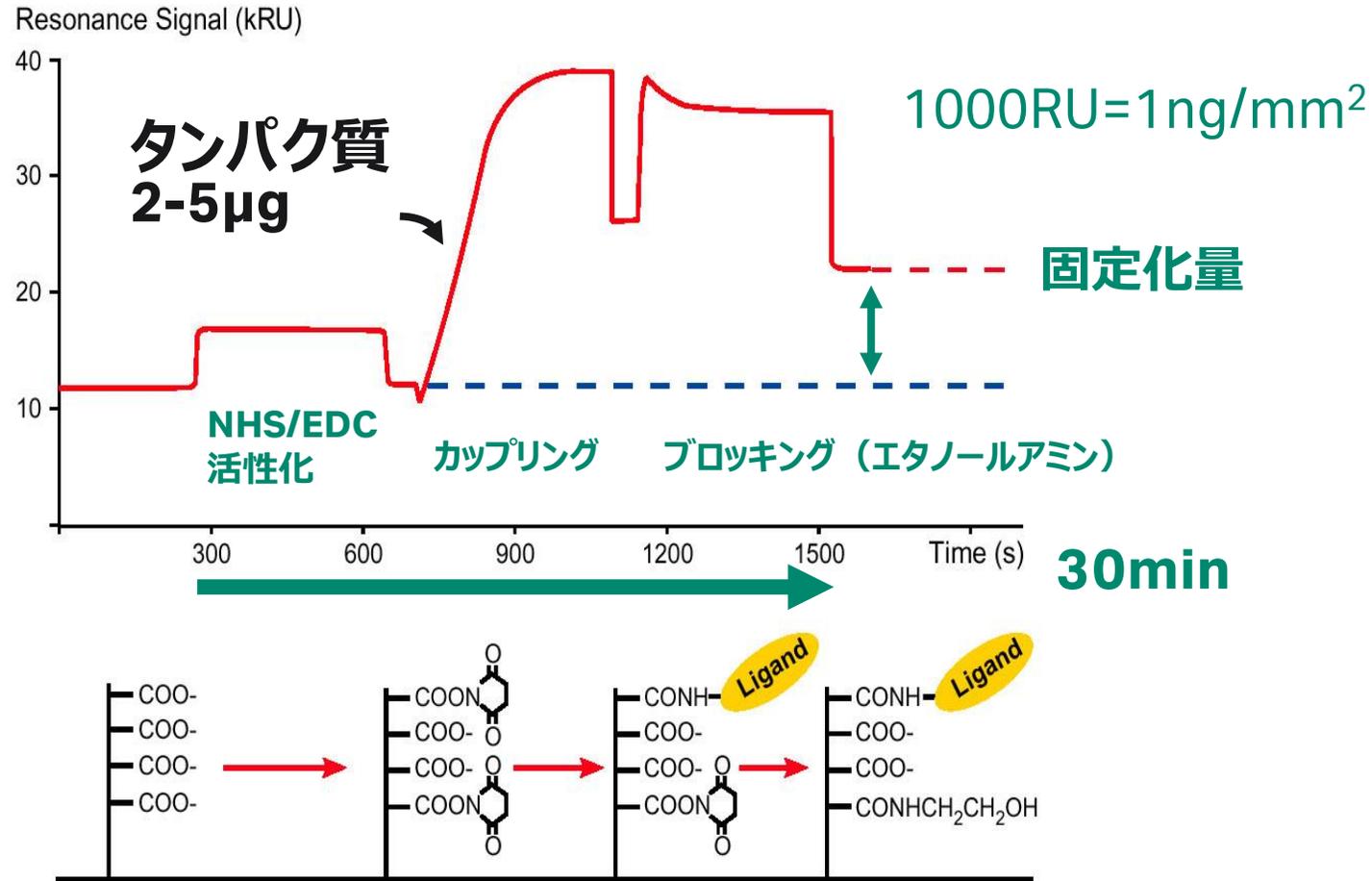
例) His Capture kit, Human/Mouse antibody capture kit、GST capture kit など

Amine coupling kit

NHS, EDC, Ethanol Amineがセットになっています
(約50固定化分)



アミンカップリング法によるリガンド (またはCapturing molecule) の固定化

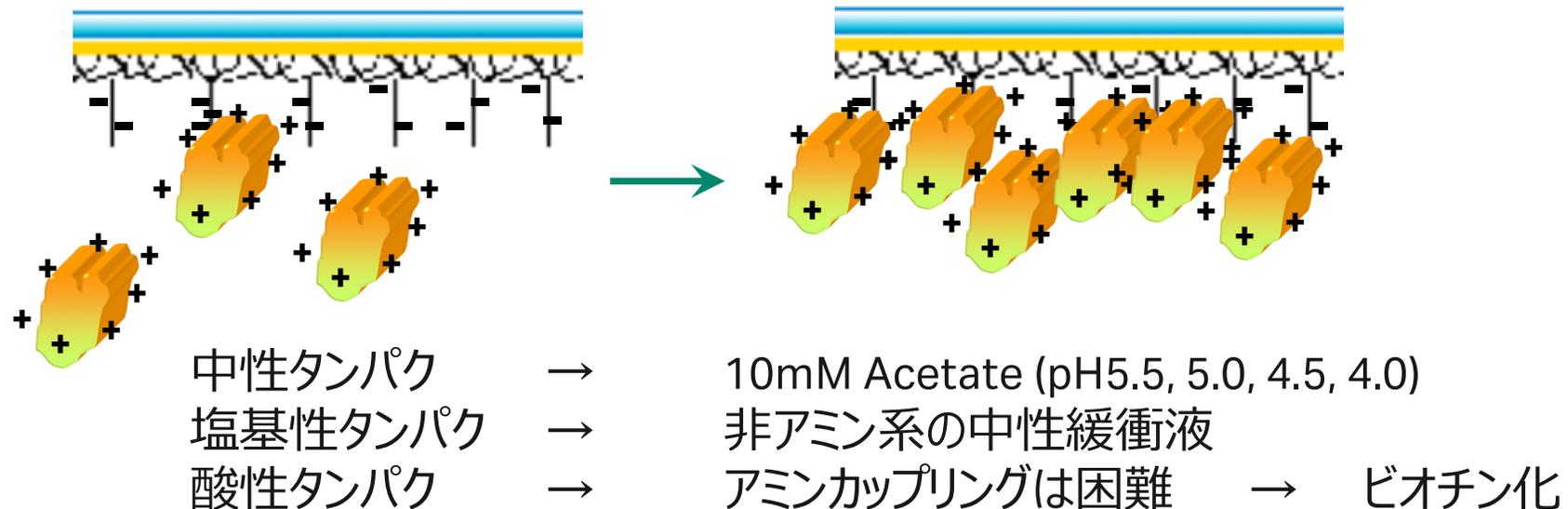


pH scouting

リガンドを溶解する酢酸バッファのpH条件検討

* kit 中のcapturing moleculeの場合この条件検討は不要です。

リガンドの等電点より0.5～2.0低いpHの緩衝液で希釈すると、センサーチップ表面近傍でリガンド濃度が上昇する。(プレコンセントレーション効果の利用)

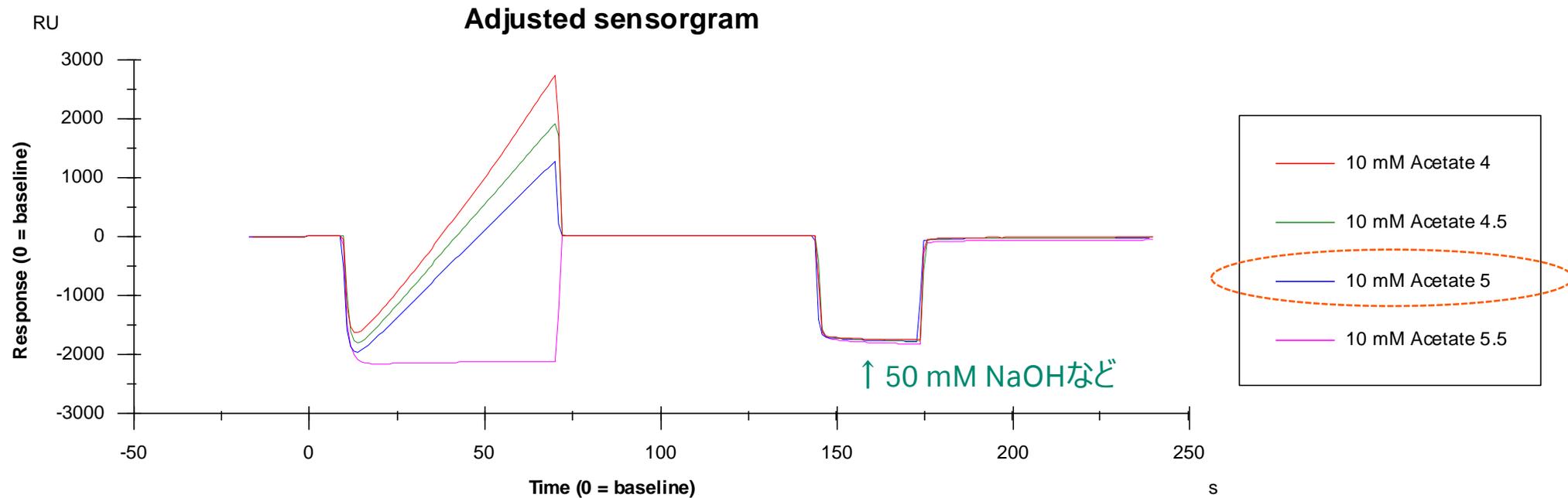


事前実験としてアミンカップリング実施前にプレコンセントレーション効果が得られるpHを検討する⇒次ページ

カップリングバッファのpH条件検討 (pH scouting)

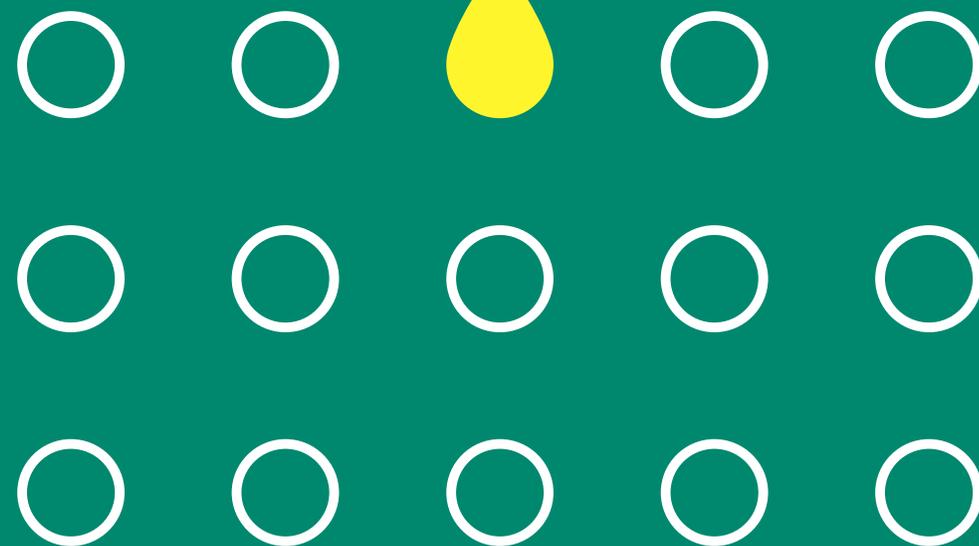
EDC/NHS添加前に行う。

各種Capture kit中のCapturing molecule (抗体) に対しては、既に検討済みのCoupling bufferがあるので検討不要。



適切なプレコンセントレーション効果が見られるバッファのうち
最も高いpHのバッファを選択する

8. サポート情報の入手先



People & Knowledge

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



Tips-FAQs 至適固定化量のホント のところ

ka、kd測定時にはマニュアル等の至適固定化量基準値・計算式を適用して大体問題無いのですが、実は統一的な基準値を作ることなんて出来ないんです。だから“私の固定化量これで大丈夫？”を考えるコツをご紹介します。

[Learn More](#)

論文紹介 新型コロナウイルスの結 合親和性

NIHワクチンリサーチセンターによる、Biacore X100 を用いた新型コロナウイルスのスパイクタンパク質と細胞膜上のACE2タンパク質との結合親和性を評価した論文がScience誌に掲載されました。

[Learn More](#)

Cytiva Webinar Biacoreで粒子を測定 する

ウイルス（特にインフルエンザウイルスやAAV）や診断薬で利用される粒子などの相互作用を検討したい方向けの講座です。大きなものを流すと流路が詰まると考えられがちですが、実際には多くの使用例があり、有用性も確認されています。

[Learn More](#)



鯉沼

コンシェルジュ1



渡辺

デスク



高田

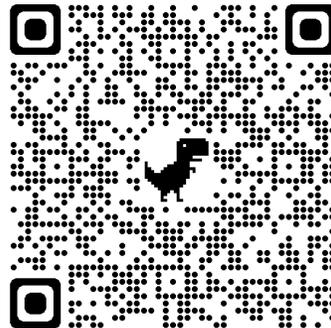
コンシェルジュ2



三谷

編集長

ご登録はこちら



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共通で使い、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](#)

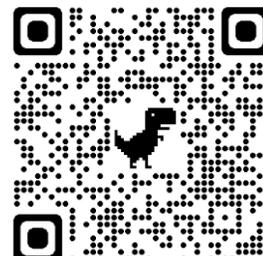
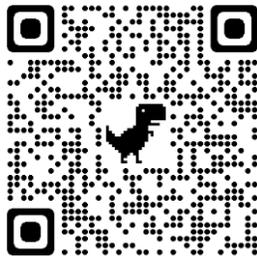
<https://www.cytivalifesciences.co.jp/technologies/biacore/concierge/index.html>

Learning

<https://www.cytivalifesciences.co.jp/technologies/biacore/>

<https://www.cytivalifesciences.co.jp/tech-support/webinar/>

<https://www.cytivalifesciences.com/en/se/education/online-learning/courses>



Consumables

消耗品説明書 (英語, 各製品ページ内 Related Document)

消耗品日本語一覧・定価

SPR法による生体分子の相互作用解析



特長・原理・応用分野

[View Products](#)

分子間相互作用解析装置

[View Products](#)

センサーチップ

[View Products](#)

試薬・バッファー

[View Products](#)

アクセサリ・交換部品

[View Products](#)

ラック・バイアル・キャップ

[View Products](#)

受託解析サービス

[View Products](#)

カスタマーサポート

[View Products](#)

Cytiva

<https://www.cytivalifesciences.co.jp/catalog/?cc1=15&cc2=69>

PRODUCTS Categories Special Offers Returns Financing And Leasing

SPR Consumables

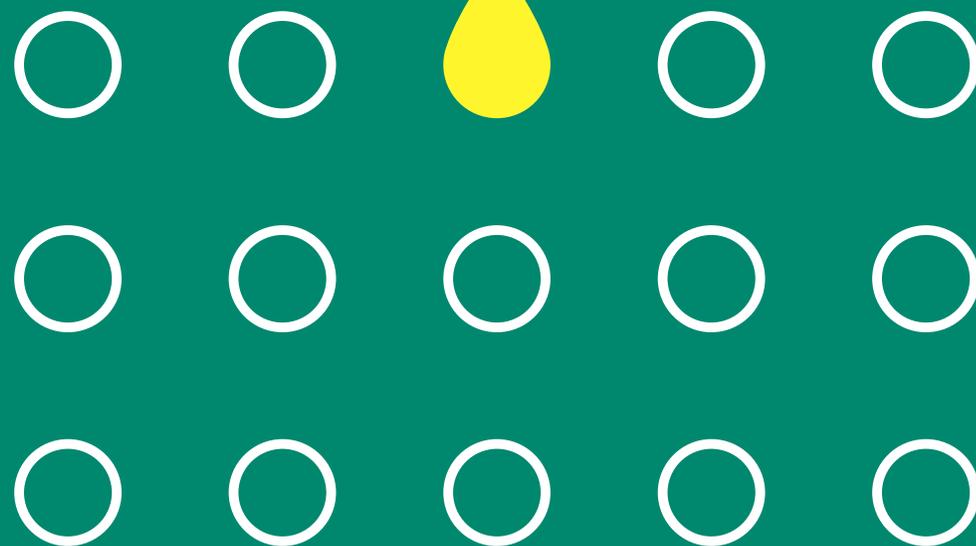
Shop Protein Analysis Equipment & Supplies SPR Label-Free Analysis SPR Consumables

REFINE BY CATEGORY

- Capture reagents [View Products](#)
- Accessories caps [View Products](#)
- Accessories microplates and foil [View Products](#)
- Accessories vial [View Products](#)
- Additives [View Products](#)
- Getting Started Kits [View Products](#)
- Immobilization reagents [View Products](#)
- Maintenance kits [View Products](#)

<https://www.cytivalifesciences.com/en/se/shop/protein-analysis/spr-label-free-analysis/spr-consumables>

Appendix



【Appendix】適合プレート、フイル、セプタ

| Microplate type | Microplate | Foil | Septa | Instrument compatibility | Plate height (mm) |
|---|--|------|-------|--------------------------|-------------------|
| 96-well, normal, U-bottom, polypropylene | Microplate 96-well, 650201, Greiner | A | B | 8K, 8K+, T200, S200 | 15 |
| 96-well, deep-well, V-bottom, polypropylene, 650 µL | Microplate 96-well, 786201, Greiner | A | B | 8K, 8K+, T200, S200 | 27 |
| 96-well, deep-well, U-bottom, polypropylene, 1 mL | Microplate 96-well, 780201, Greiner | A | B | 8K, 8K+ | 42 |
| 96-well, deep-well, U-bottom, polypropylene, 2 mL | Microplate 96-well, 219020, Porvair | A | B | 8K, 8K+ | 44 |
| 384-well, V-bottom, Polypropylene | Microplate 384-well, 781280, Greiner | C | - | 8K, 8K+, T200, S200 | 14 |
| 384-well, deep-well, V-bottom, polypropylene | Microplate 384-well, 781270, Greiner | C | - | 8K, 8K+, T200, S200 | 22 |
| 96-well, standard, polystyrene, U-bottom | Microplate 96-well, BR100503, Cytiva 100-pack | A | B | 8K, 8K+, T200, S200 | 14 |
| 96-well, standard, polystyrene, U-bottom | 96-well Microplate and Foil, BR100383, Cytiva 50-pack, aluminum foils for 48 wells (perforated for 6 strips for 8 wells each) | - | - | 8K, 8K+, T200, S200 | 14 |

Foil : 通常のプレートシール (Pooling 不可)

Septa : シリコン製シール (Pooling 可)

A Microplate Foil (96-well), 28975816, Cytiva, 100-pack, plastic foil

B Microplate Septa (96 well), 29192561, Cytiva, 10-pack, plastic/elastomer cover

C Microplate Foil (384-well), BR100577, Cytiva, 100-pack, plastic foil

【Appendix】抗体や各種タグ融合タンパク質の固定化/キャプチャー

| リガンド固定化法 | リガンド | Sensor Chip | Kit | その他消耗品 |
|----------|----------------|---|--|-------------|
| キャプチャー法 | ヒト抗体 | Sensor Chip CM5など | •Amine Coupling Kit •Human Antibody Capture Kit | - |
| | | Sensor Chip Protein A | - | Glycine 1.5 |
| | マウス抗体 | Sensor Chip CM5など | •Amine Coupling Kit •Mouse Antibody Capture Kit | - |
| | | Sensor Chip Protein G | - | Glycine 1.5 |
| | His tag融合タンパク質 | Sensor Chip CM5など | •Amine Coupling Kit •His Capture Kit | - |
| | | Sensor Chip NTA | •NTA Reagent Kit | - |
| | GST tag融合タンパク質 | Sensor Chip CM5など | •Amine Coupling Kit •GST Reagent Kit | - |
| | Biotin 標識タンパク質 | Sensor Chip CAP (Biotin CAPture Kit構成) | Biotin CAPture Kit | - |
| | 核酸 | Sensor Chip NA or SA | - | イソプロパノール |
| | | Sensor Chip NA or SA | - | イソプロパノール |
| 直接固定化法 | 塩基性～中性タンパク質 | Sensor Chip CM5など | Amine Coupling Kit | * |

* リガンド希釈バッファー、再生溶液など
Biacore消耗品ページをご参照ください。

<https://www.cytivalifesciences.co.jp/catalog/1283.html>

【Appendix】EZ-Link™ によるBiotin化 例

【Biotin化試薬】

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

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

【リガンドタンパク質の準備】

0.1～1.0 mg/ml in HBS-N buffer

【リガンドタンパク質のBiotin化】

リガンド : biotin化試薬 = 1 : 1.5 (モル濃度)、例) 90 μ l リガンド + 10 μ l biotin化試薬 = 全量100 μ l で混和
25°Cで1時間、または4～8°Cでオーバーナイト

【余剰なbiotin化試薬の除去】

PD SpinTrap G-25 (28918004) Sample Volume 100～180 μ l

- 1 min at 800 \times g で保存溶液除去
- 1 min at 800 \times g で平衡化 (HBS-N) x 5回
- 100 μ l Biotin化リガンド添加、140 μ lになるようにBuffer 追加 (推奨) 、2min at 800 \times g で精製 x 1回)

Procedure : Biotinylation for streptavidin/neutravidin-biotin capture on Biacore sensor chips

<https://cdn.cytivalifesciences.com/dmm3bwsv3/AssetStream.aspx?mediaformatid=10061&destinationid=10016&assetid=36980>

【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

e-mail: tech-jp@cytiva.com

<https://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9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。



Thank you

