



Biacore

取り扱い説明会

基礎セミナー

Version 2.0

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測定の基本的条件設定 ……34

アッセイ系構築のポイント

特異的な結合をどのように判断するか

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

低分子、抗体の測定における注意点

3. 汎用性の高い測定ワークフロー例 ……51

Biotin CAPture Kit によるワークフロー

4. 解析 ……56

Kinetics解析、Affinity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

5. メンテナンス ……66

機器メンテナンスと、センサーチップの保存方法

6. アミンカップリング法 ……72

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

7. サポート情報の入手先 ……77

Biacoreコンシエルジュ（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 ……81

固定化以降、KD値算出までのワークフローについて

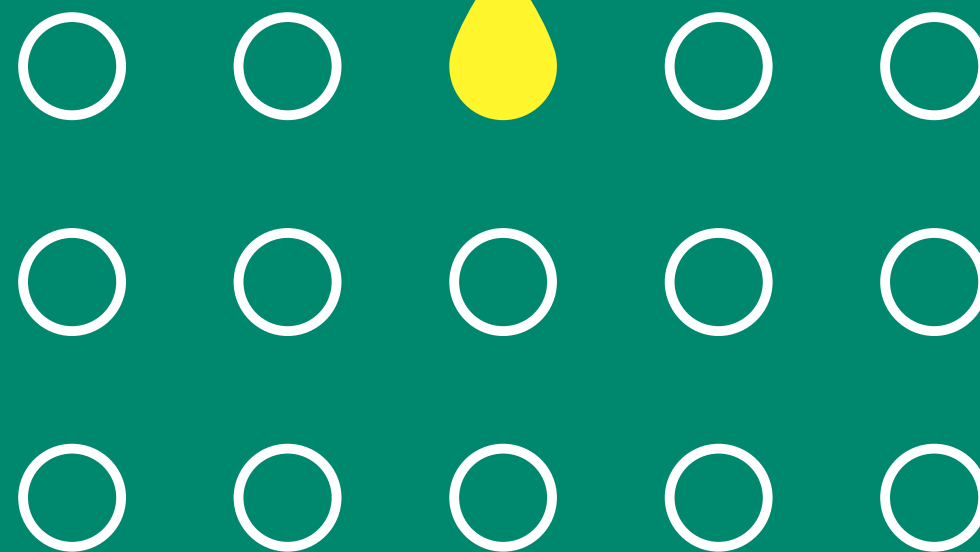
適合96/384プレート、フویل、セプタ

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

様々なインジェクション方法

1. Biacore概略・原理 および各種固定化方法





1 - 1 . Biacore概略・原理

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やエピトープマッピングの測定に採用
- ・ ファ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とマスペクトロメトリーを接続することで同定される可能性



1990 Biacore™ 誕生
世界で初めてSPRを応用
して作られた分析機器



1998 Biacore™ 3000

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Alefcept、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に



2007 Biacore™ X100



2010 Biacore™ T200

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

- ・ FBDDで開発された最初の医薬品の発売
- ・ 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



2016 Biacore™ 8K
2018 Biacore™ 8K+

2023 ●



Biacore™ 1K



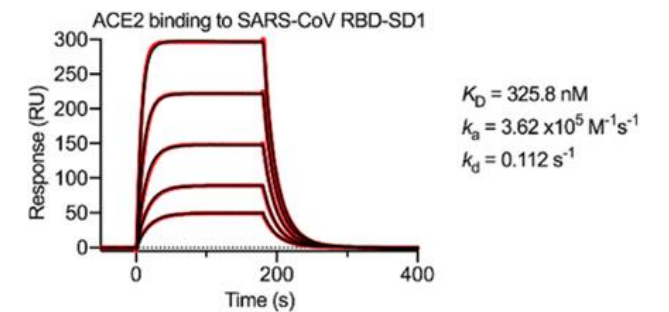
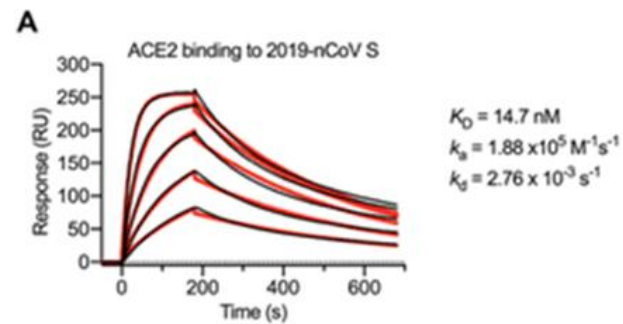
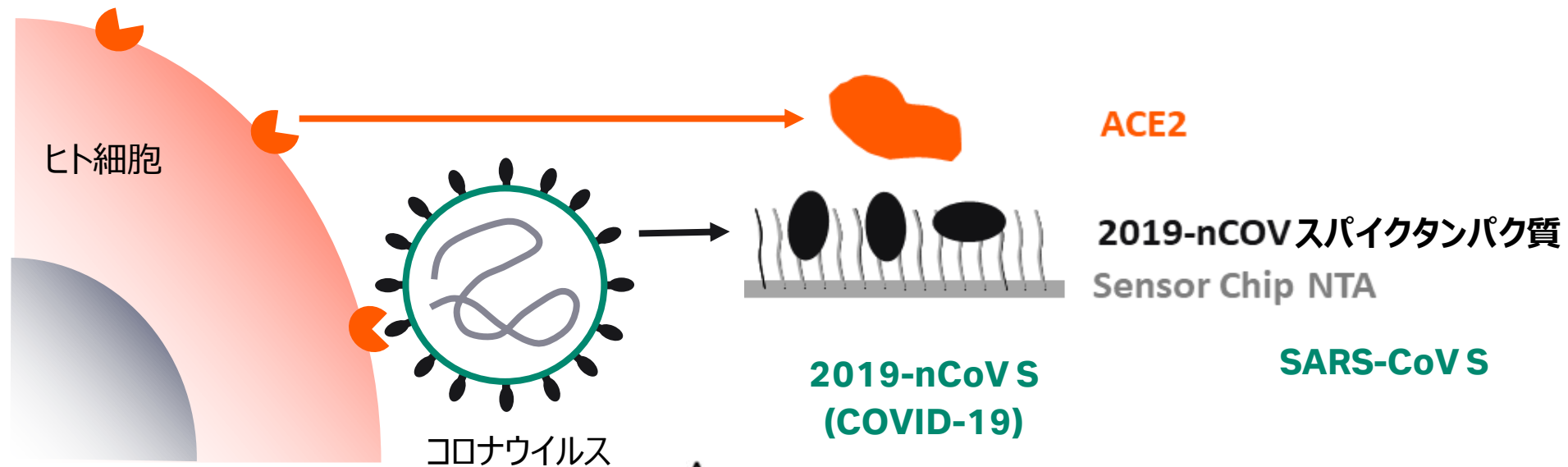
Biacore™ 1K+



Biacore™ 1S+

【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



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™ ラインナップ

Biacore™ X100



Biacore™ 1K



アップグレード可

Biacore™ 1K+



Biacore™ 1S+



Biacore™ 8K/ Biacore™ 8K+



2

専用

<0.1RU

Cytiva

6

ニードル数

1

フローセル数

6 (より多様な添加設定)

ソフトウェア

共通 (Biacore™ Insight software / SQL データベース)

感度 (ノイズ)

<0.03RU (Biacore T200相当)

<0.01RU

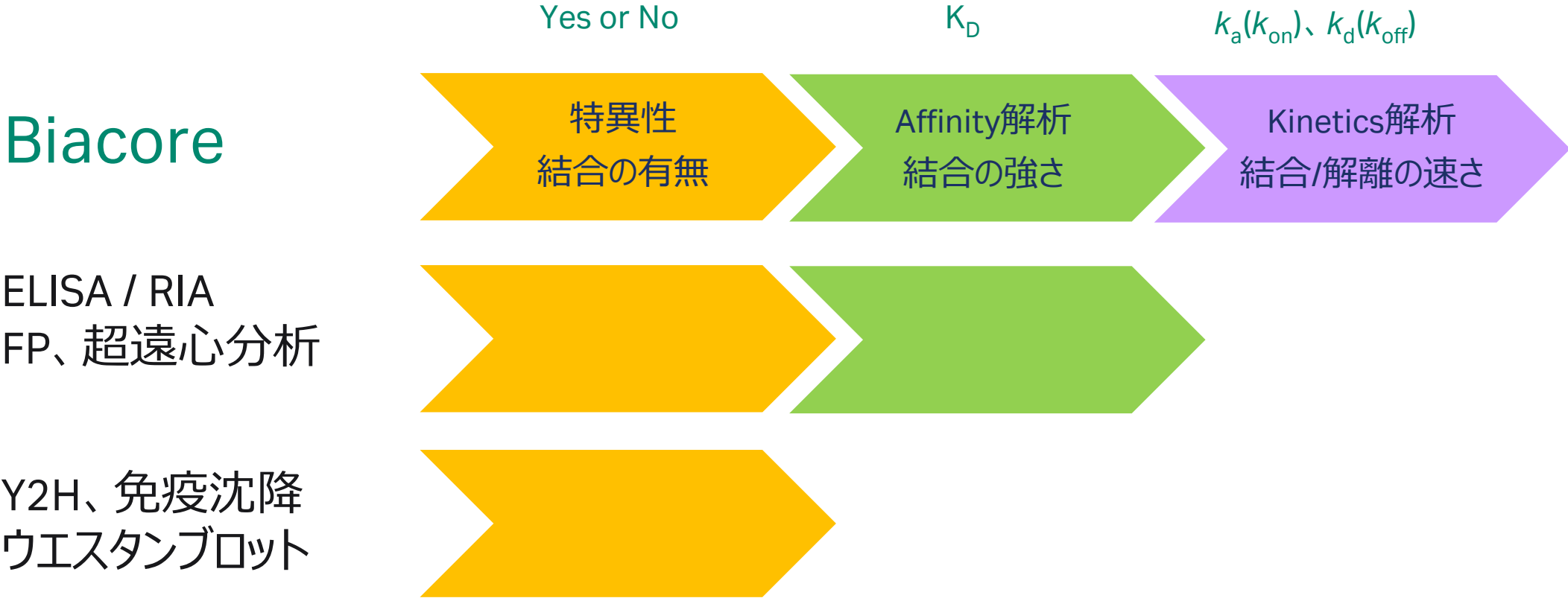
<0.02RU

8

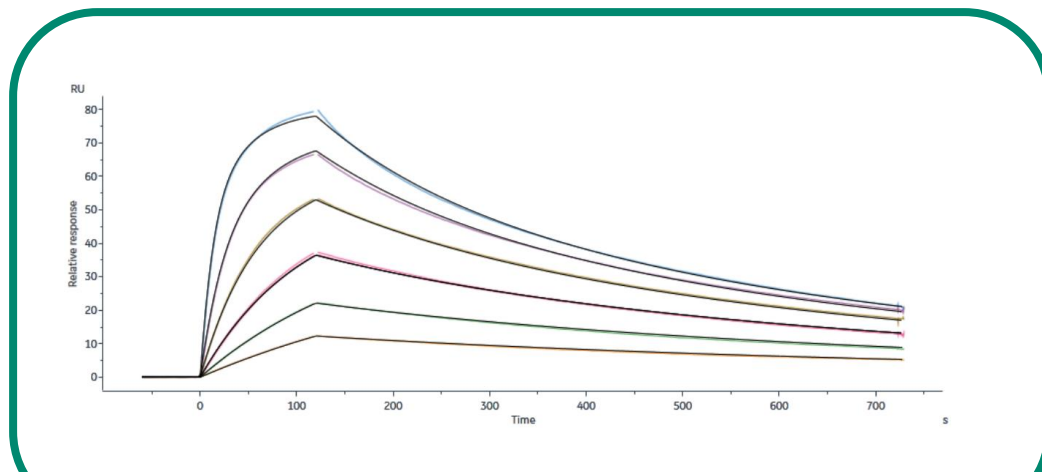
16



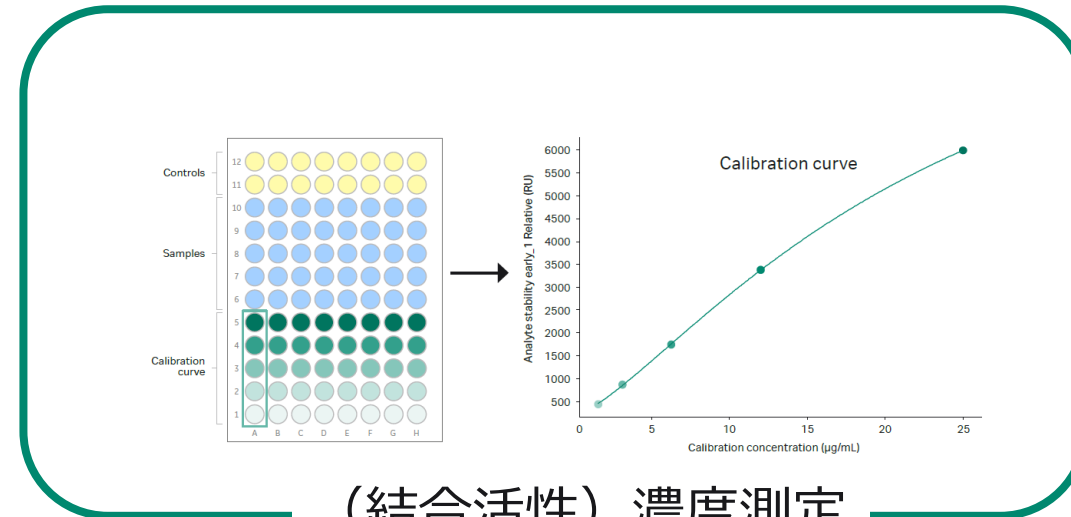
分子間相互作用測定 技術区分



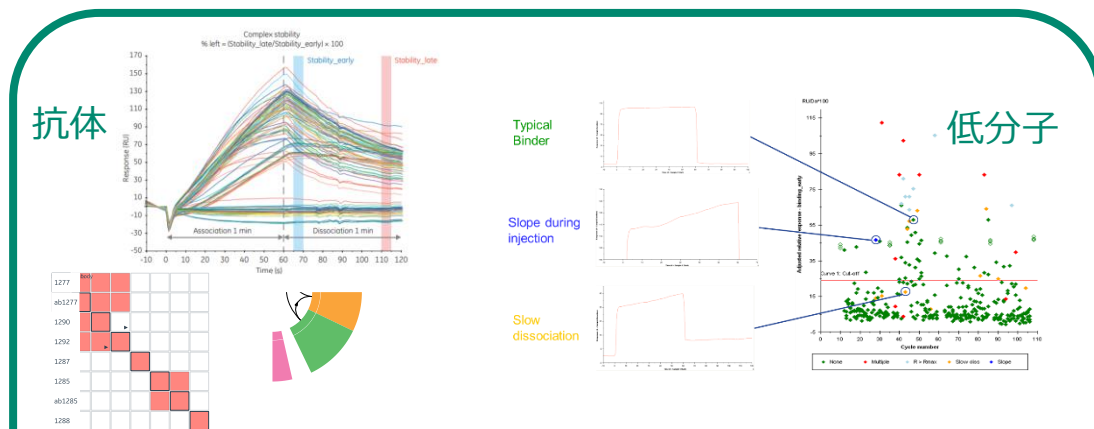
Biacoreの使用例 (アプリケーション)



反応速度論的解析 (キャラクタリゼーション)



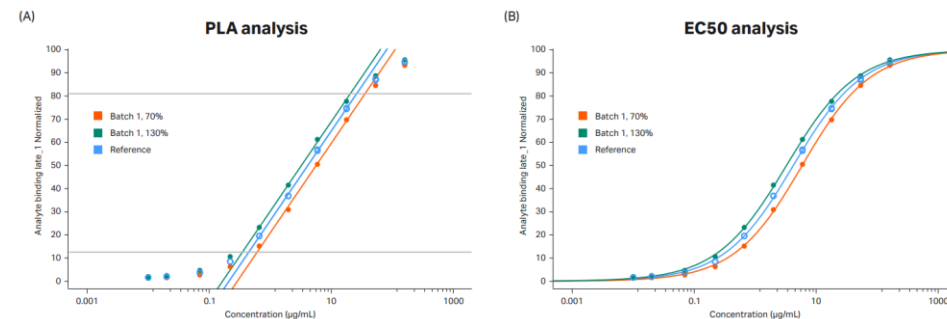
(結合活性) 濃度測定



Epitope binning

*Biacore X100はあまり向いていません

スクリーニング



*Biacore X100はあまり向いていません

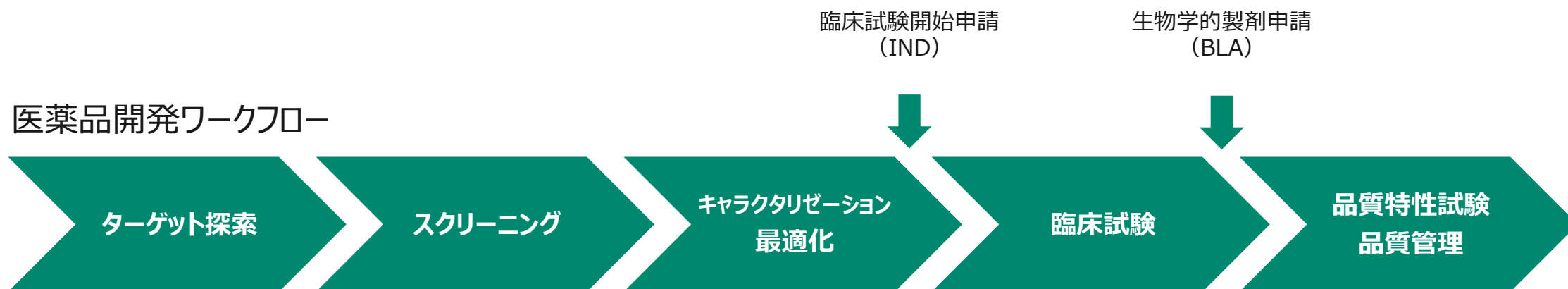
ポテンシーアッセイ

Biacoreの使用例（分子種）

- ✓ タンパク質、ペプチド
- ✓ 低分子化合物
- ✓ 核酸
- ✓ 糖
- ✓ 脂質（リポソーム）
- ✓ ウイルス、AAV
- ✓ （細胞）



医薬品開発でのBiacoreの適応範囲



モダリティ別適用範囲



ビアコアの測定方法

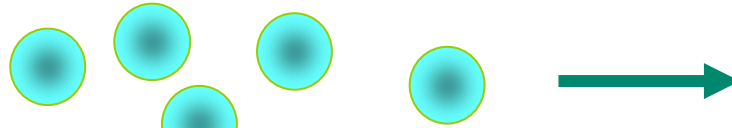
標準的な使用量

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



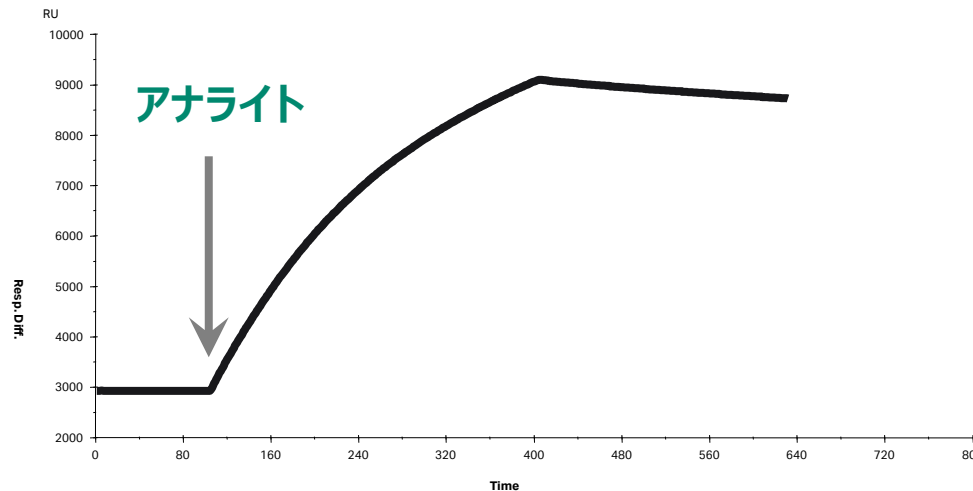
リガンド

Sensor Chip

センサーグラム

Resonance Unit (RU)

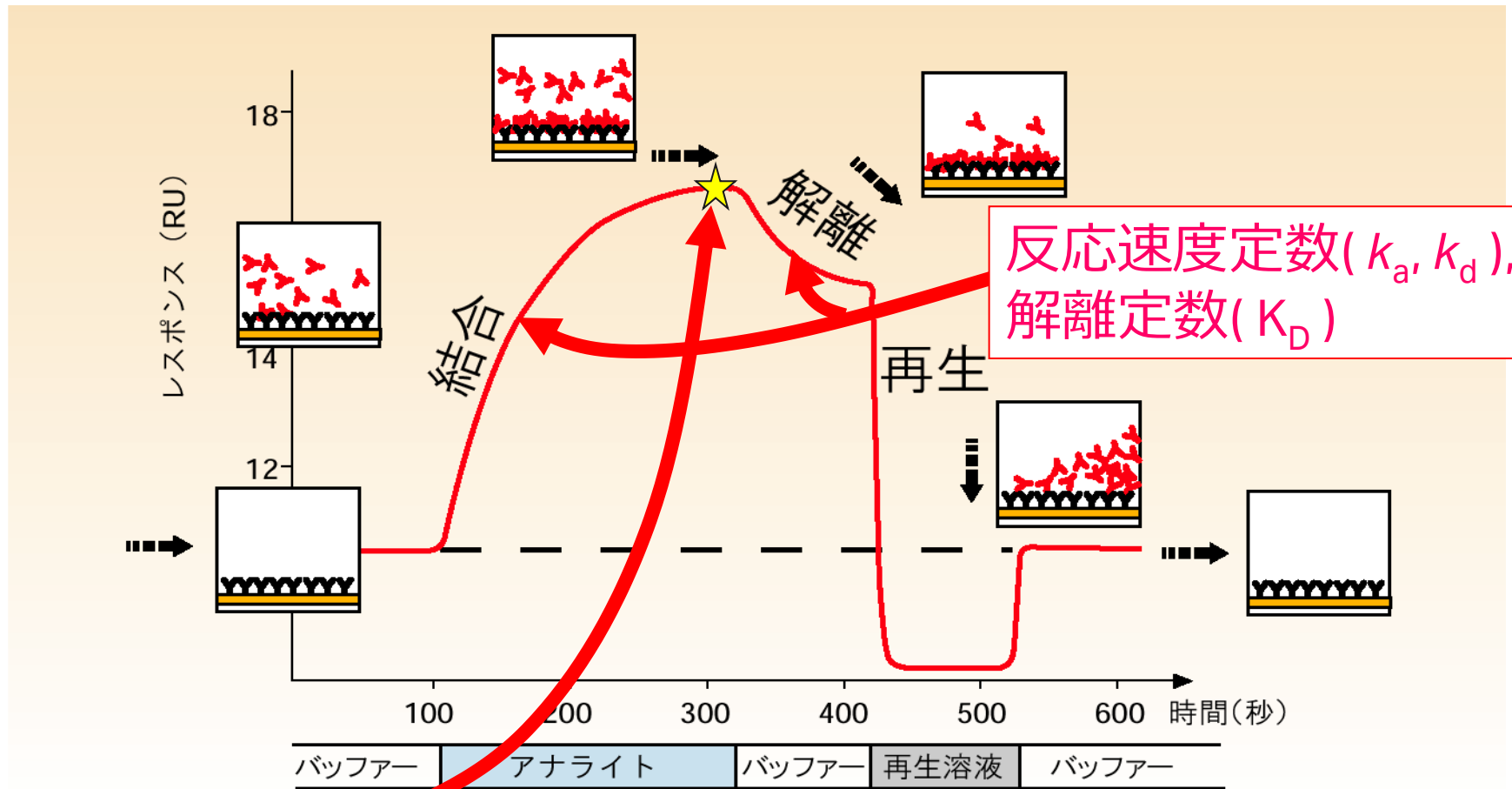
密度



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

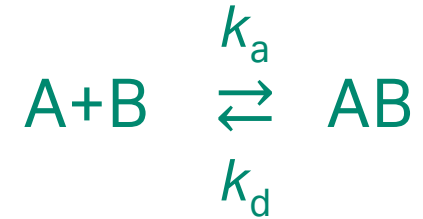
濃度測定

反応速度定数(k_a, k_d),
解離定数(K_D)

Y : リガンド
Y : アナライト

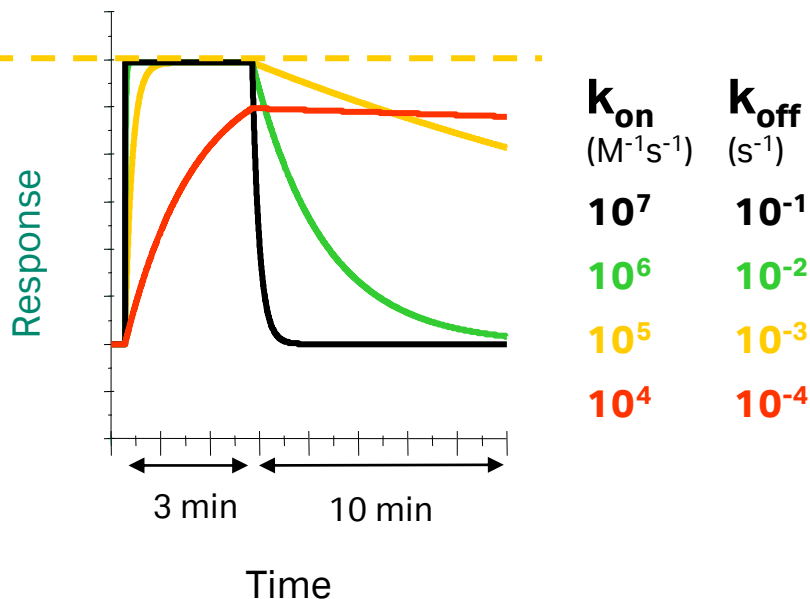
Affinityが同じでも、速度定数の組み合わせは無限にあります。

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



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

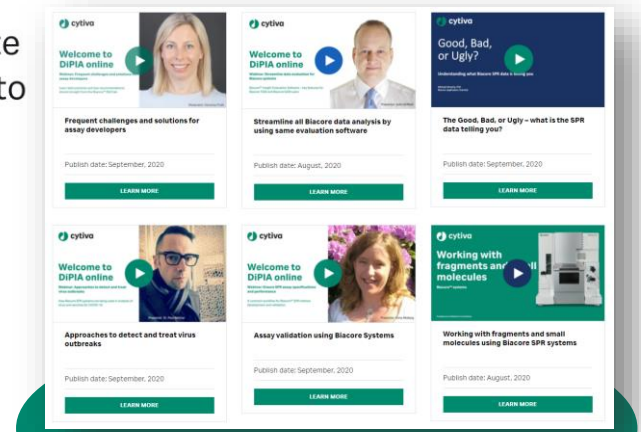
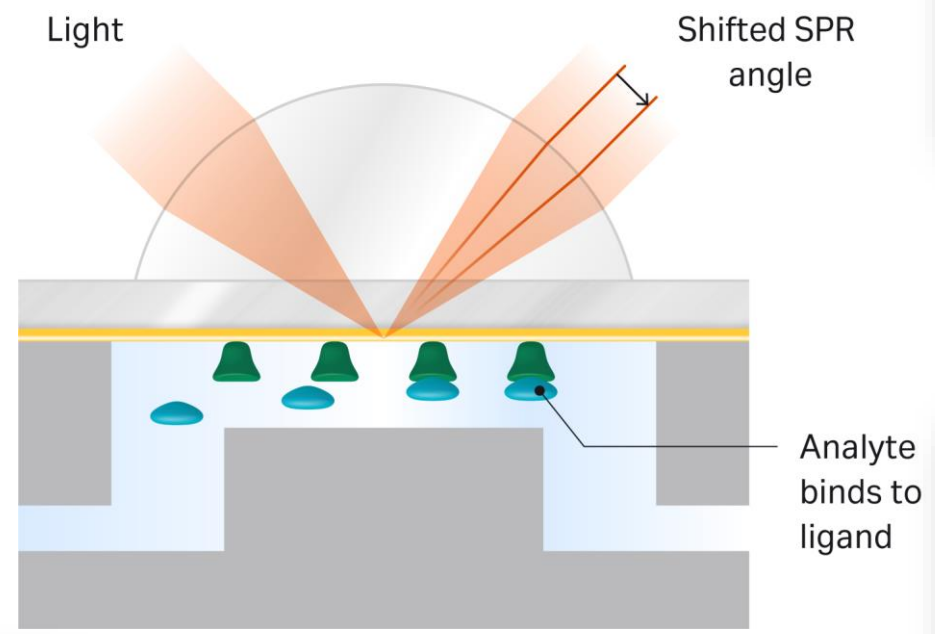
Affinityが同じ4つの医薬品で比較する ($K_D = 10 \text{ nM} = 10^{-8} \text{ M}$)



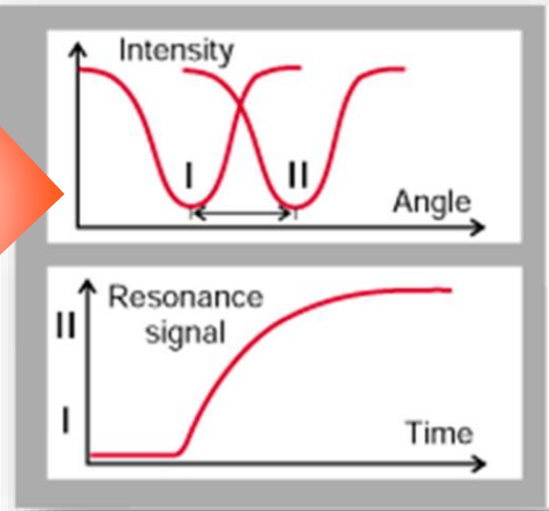
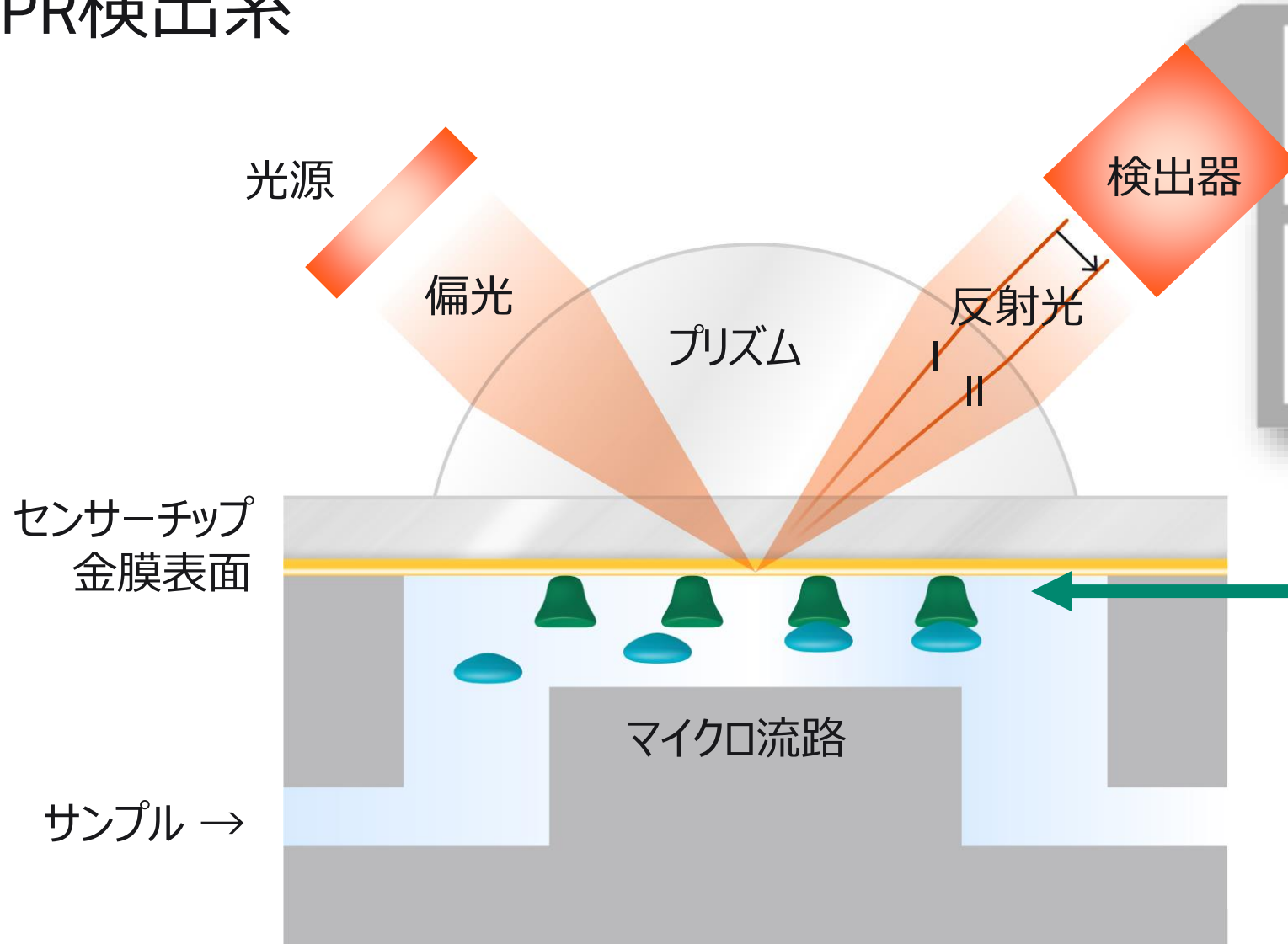
Kinetics (この場合は解離速度) の重要性

医薬品の標的分子への結合をイメージすると、 $K_D = 10^{-4}/10^4$ は血中濃度が0になってもしばらく標的分子に結合し続けてより長時間薬効を発揮する可能性を示唆する

ビアコアの技術



SPR検出系



センサーグラム

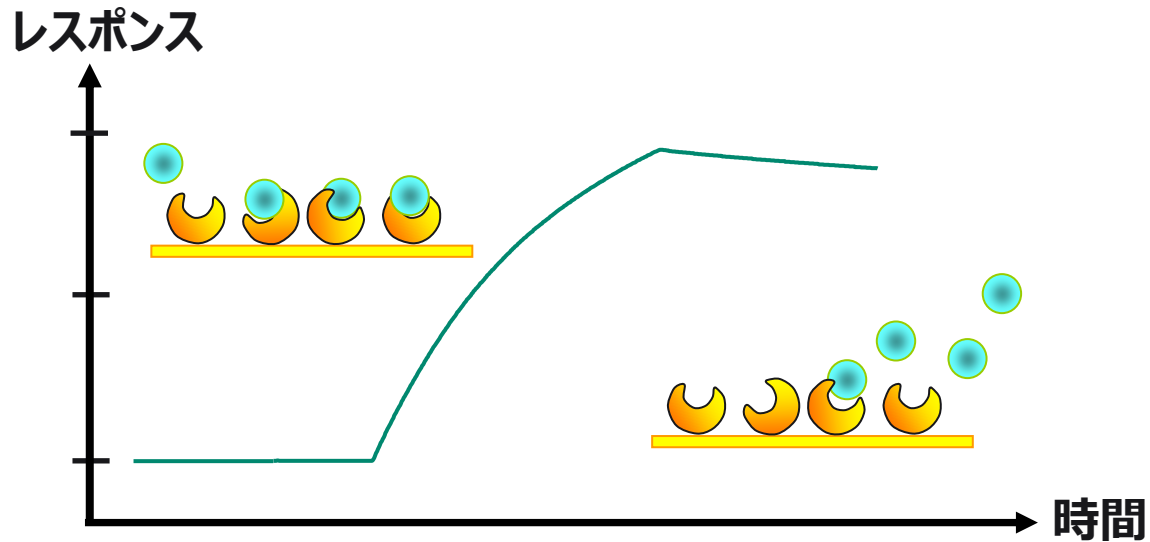
溶液密度変化 \propto 共鳴角

1000 RU = 共鳴角 0.1° の変化

= 1ng/mm^2 の密度変化
(タンパク質の場合)

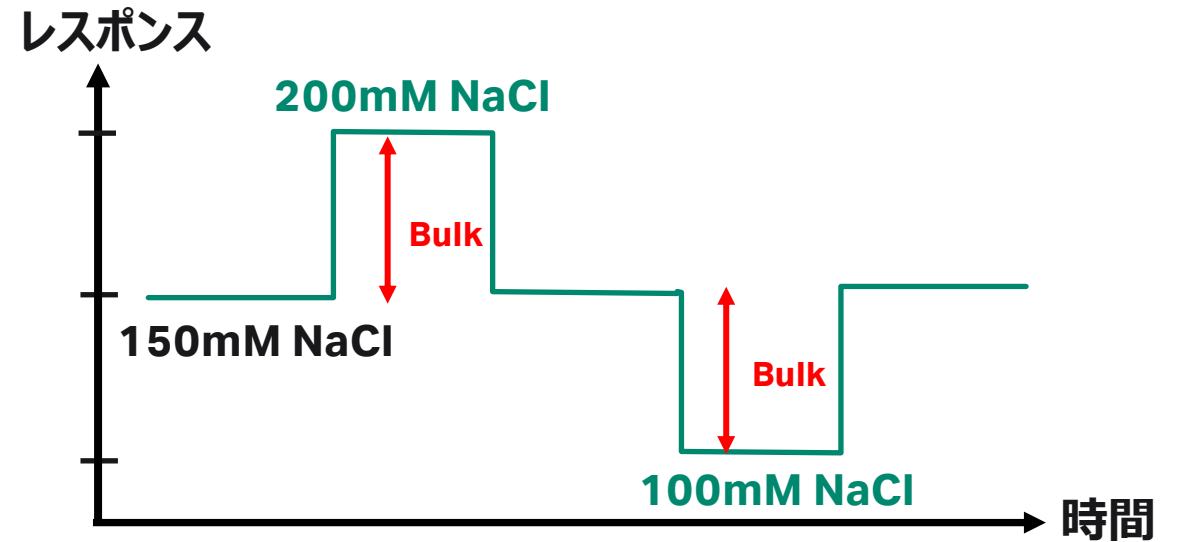
センサーチップ表面の密度変化を及ぼす2つの要素

結合反応



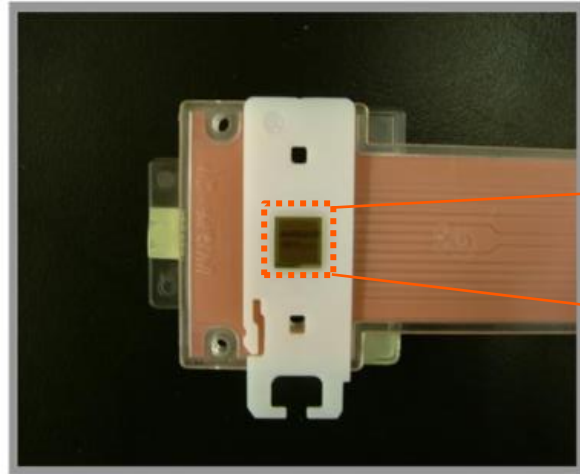
リガンドとアナライトの結合反応により、レスポンスが生じる

溶液効果(Bulk Effect)

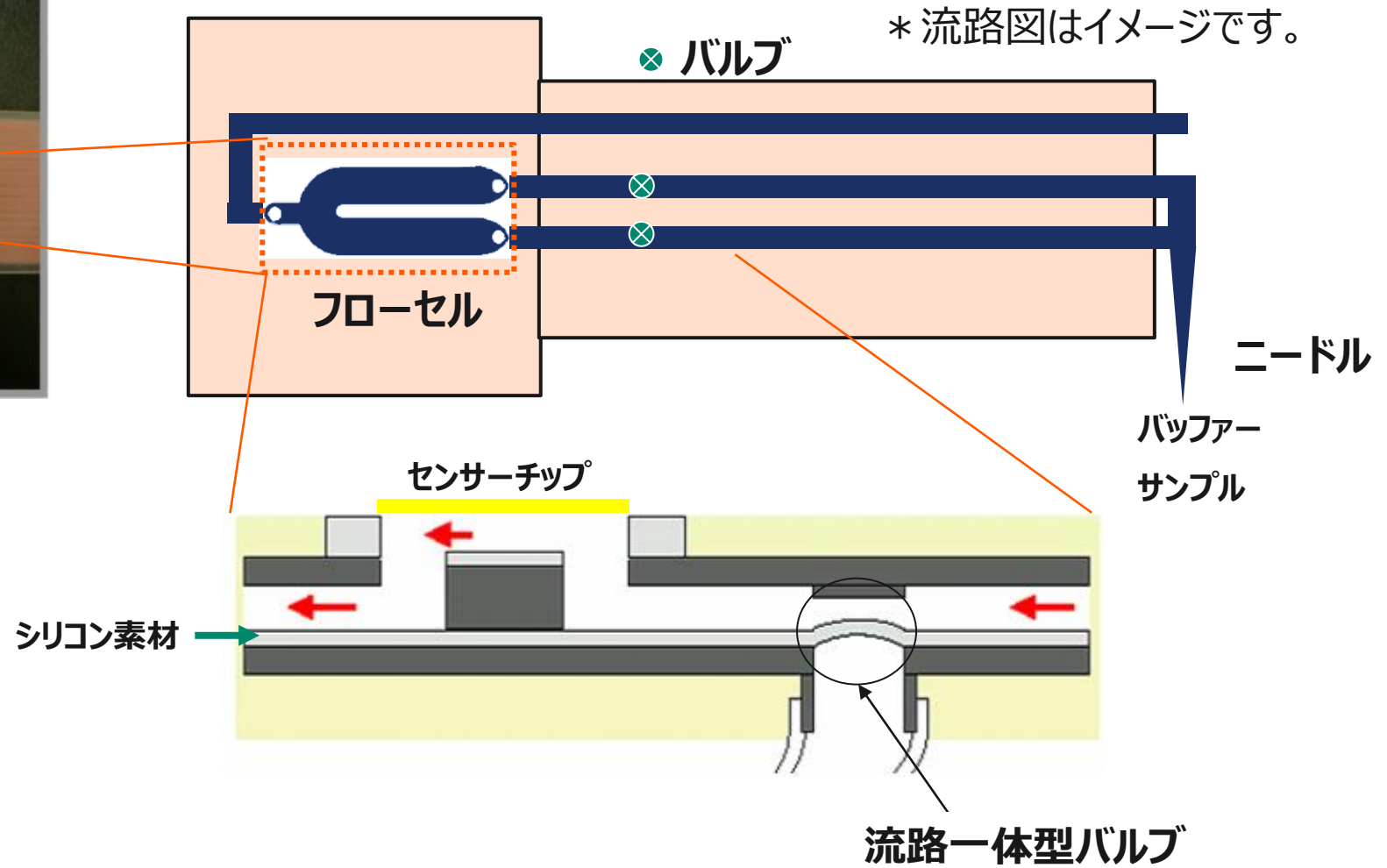


ランニング緩衝液に対して密度の異なる溶液を添加すると、レスポンスが生じる

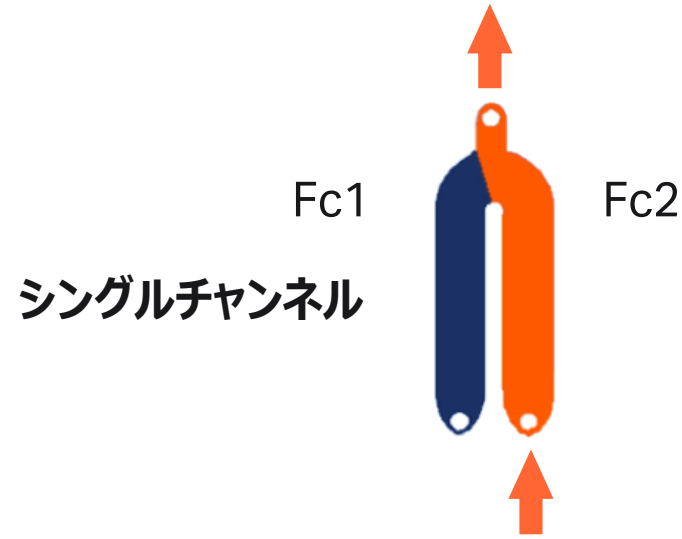
マイクロ流路系



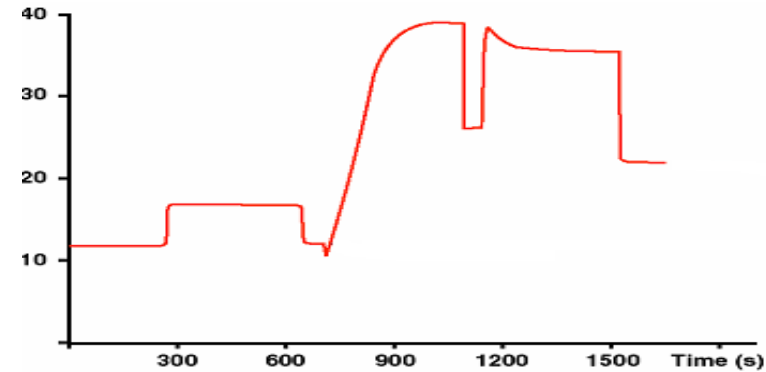
フローセルの形成



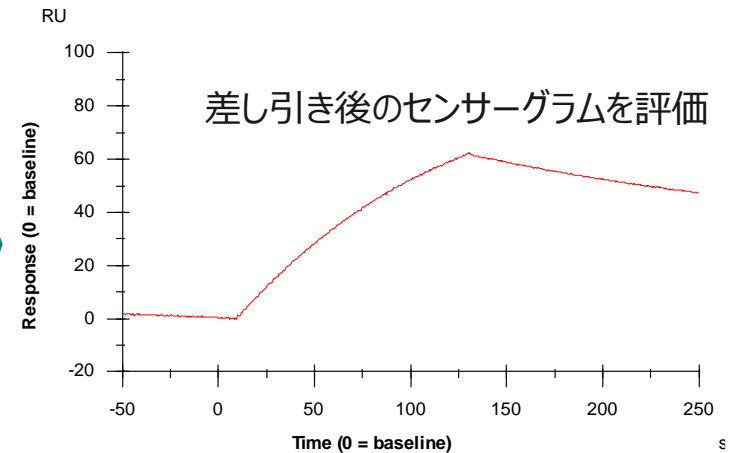
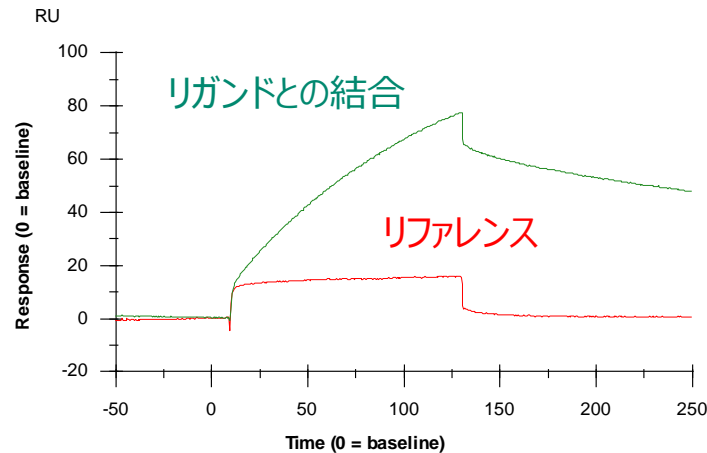
フローセルの送液方法の選択



リガンドの固定化



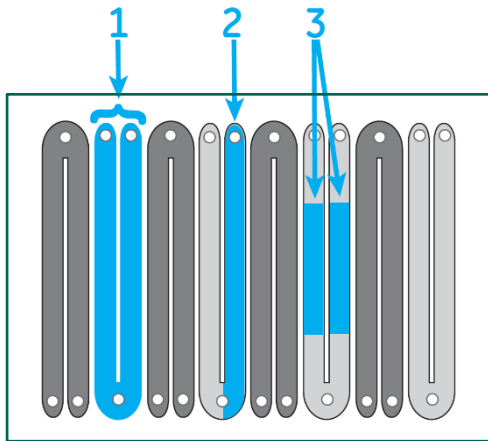
特異的な相互作用の検出



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)

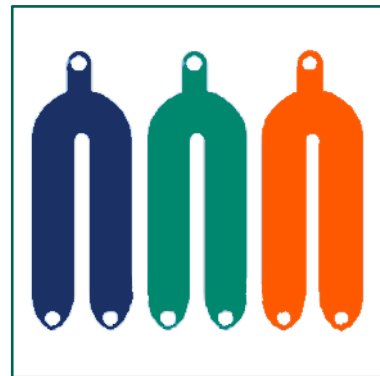


各チャンネルについて、
Active (Fc2) / Reference (Fc1)

Biacore 1K/1K+/1S+

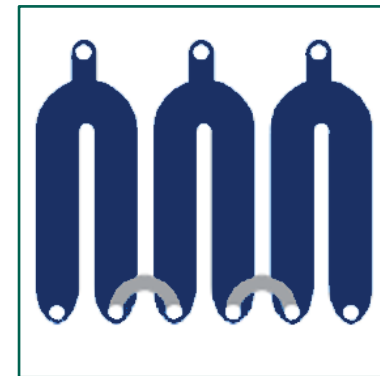
- フローセル (Fc)(6)
検出スポット (6)

ペアフローセル設定
(1K, 1K+, 1S+)



Active (Fc2,4,6)
Reference (Fc1,3,5)

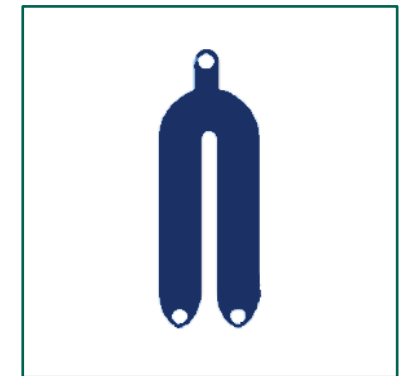
シリアルフローセル設定
(1K+, 1S+)



Active (Fc2,3,4,5,6) / Reference (Fc1)
など、Reference CellがActive Cellより
小さい番号であれば様々な組み合わせが可能

Biacore X100

- フローセル (Fc)(2)
検出スポット (2)



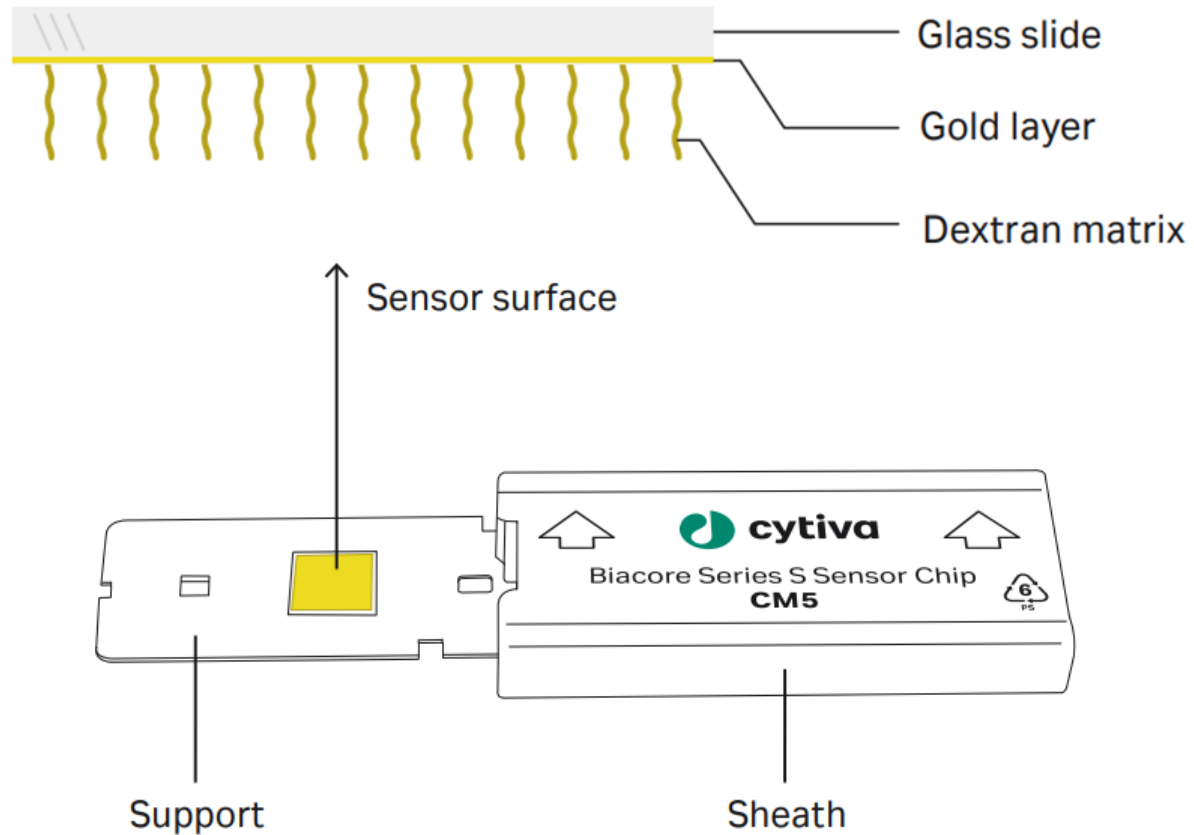
Active (Fc2) / Reference (Fc1)

センサーチップとは

Sensor Chip



Series S Sensor Chip



- ✓ サポート中央、ガラススライド金膜上の各種修飾基板にリガンド分子を固定
- ✓ 親水性が高く、三次元的で分子の可動性が高い
- ✓ 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 . センサーチップ表面処理 (固定化)

センサーチップ表面処理（固定化）

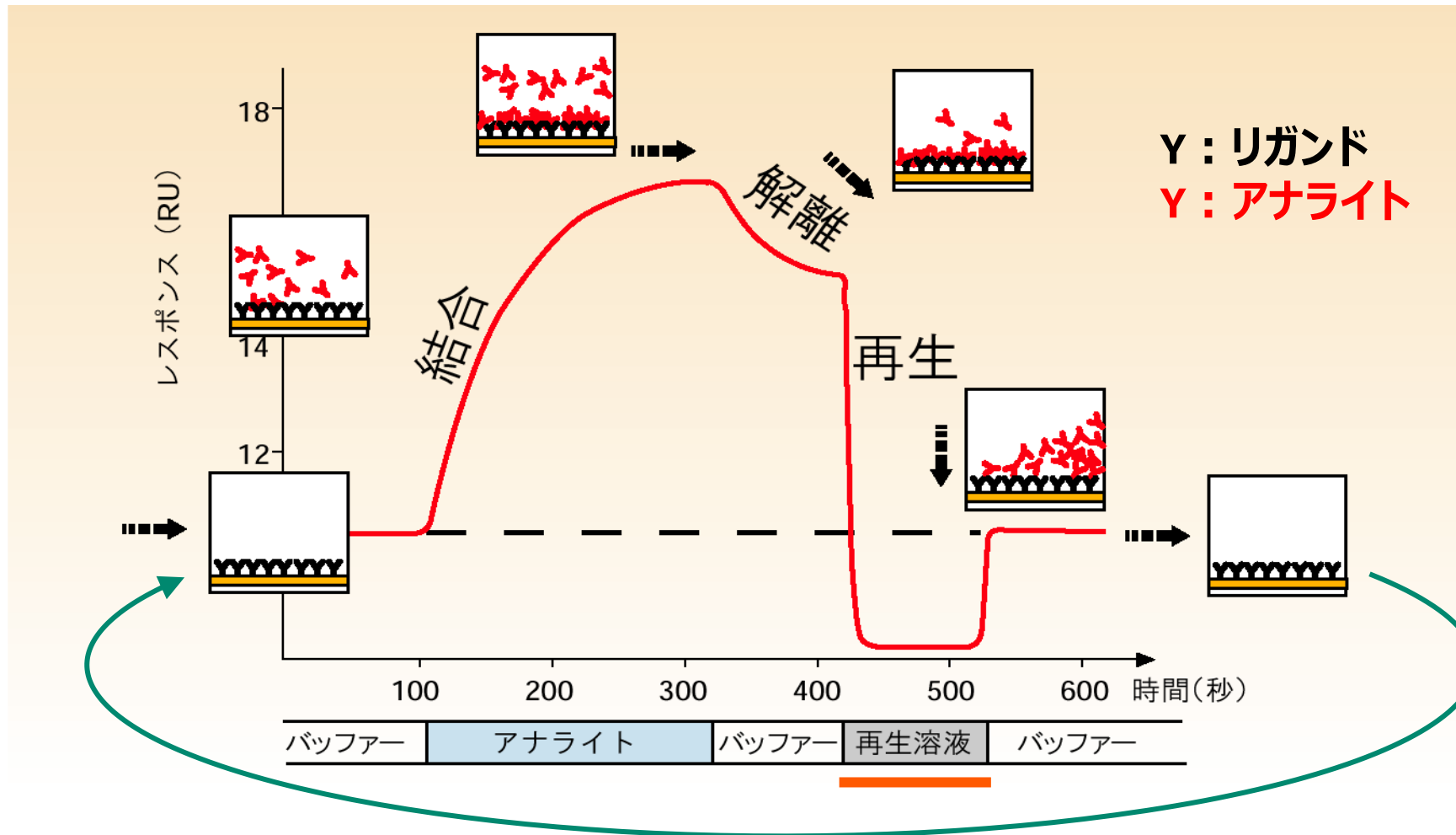
Biacoreのご使用経験のある方へ

既存資料では、リガンドをセンサーチップ上に保持する、という意味で“固定化”という言葉は使われていました。
本資料では以下のように記述します。

【総称】センサーチップ表面処理（固定化）

- ✓これまでの直接法 ➡ 共有結合法
- ✓これまでのキャプチャー法 ➡ キャプチャー法
- ✓これまでの脂質固定化 ➡ 疎水吸着法

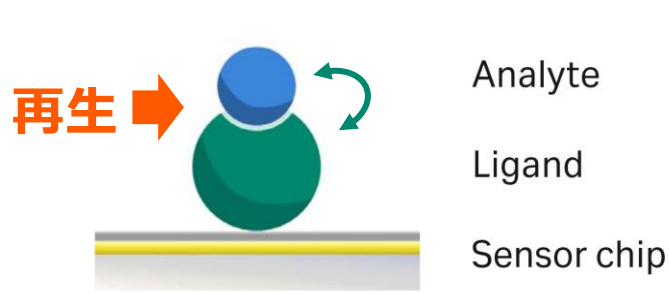
センサーグラムを得るための溶液添加の流れ



再生を行うことによって、センサーチップがはじめの状態にもどり繰り返し測定が可能

⇒複数濃度添加、複数アナライト添加

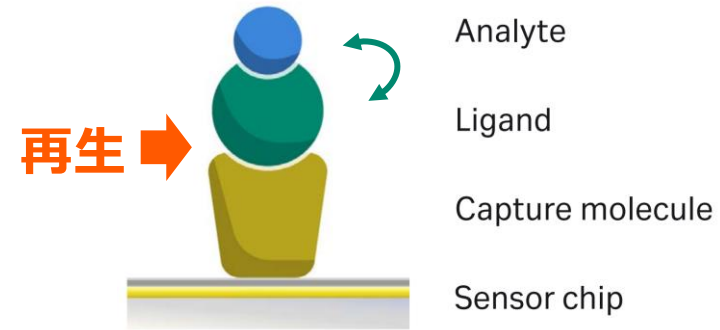
センサーチップ表面処理について：共有結合法とキャプチャー法



↻ : 測定目的の相互作用

• 共有結合法

- 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
- サイクルの度にリガンドごと付け替える

| | 共有結合法（アミンカップリング） | キャプチャー法 |
|------|--|---|
| Pros | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 古典的方法。 ✓ キャプチャー法でCapturing moleculeの共有結合にも使われる。 → 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。 | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 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 | <ul style="list-style-type: none"> ✓ リガンドの固定化時の酸に伴う変性リスク。 ✓ リガンドの活性を維持しつつアナライトのみを完全に解離させる再生条件の検討が必要。見つからないケースもある。 → 実験成功の不確実性。 | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 保持されるリガンド量が少なくなりがちで、アナライトによる相互作用レスポンスが小さくなりやすい（多くの場合問題ない）。 ✓ 共有結合法に比べてリガンドの消費量が多い。 ✓ 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。 |

センサーチップ表面処理について：共有結合法とキャプチャー法



- 共有結合法

- 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
- サイクルの度にリガンドごと付け替える

| 共有結合法（アミンカップリング） | キャプチャー法 |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ✓ Sensor Chip CM5など ✓ Amine Coupling Kitなど | <ul style="list-style-type: none"> ✓ Sensor Chip CM5など ✓ 各種 Capture Kitなど（抗体、Hisタグ、GSTタグ） |
| | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 各種 専用 Sensor Chip（抗体、Biotinタグ、Hisタグ） |

代表的なセンサーチップ表面処理 ～ ビオチン化サンプル

Neutravidin(NA)やStreptavidin(SA)とBiotinの強い親和性を利用したリガンドの保持

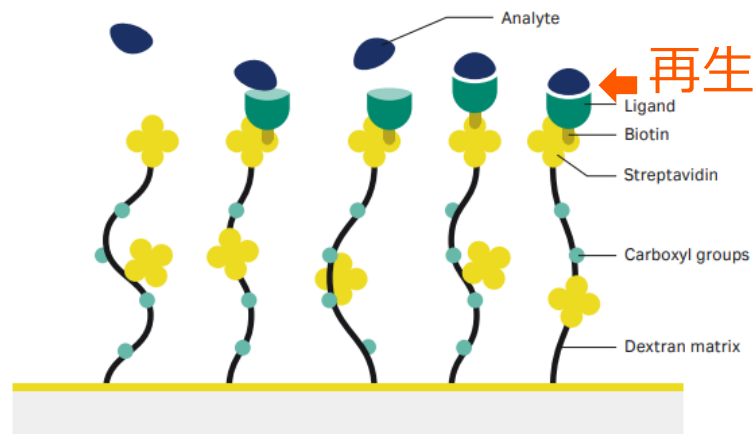
センサーチップNA/SA



リガンド付け替え不可

*NAはSeries Sのみ

- センサーチップにNAもしくはSAがあらかじめアミンカップリングされている
- 事実上、共有結合法と同様に扱える



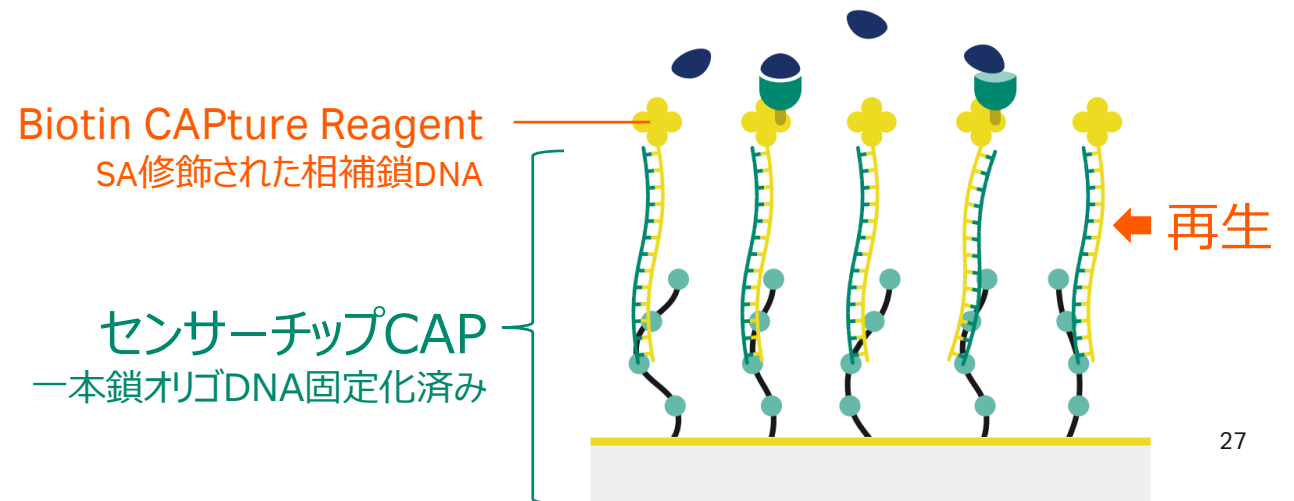
Cytiva

Biotin CAPture Kit



リガンド付け替え可

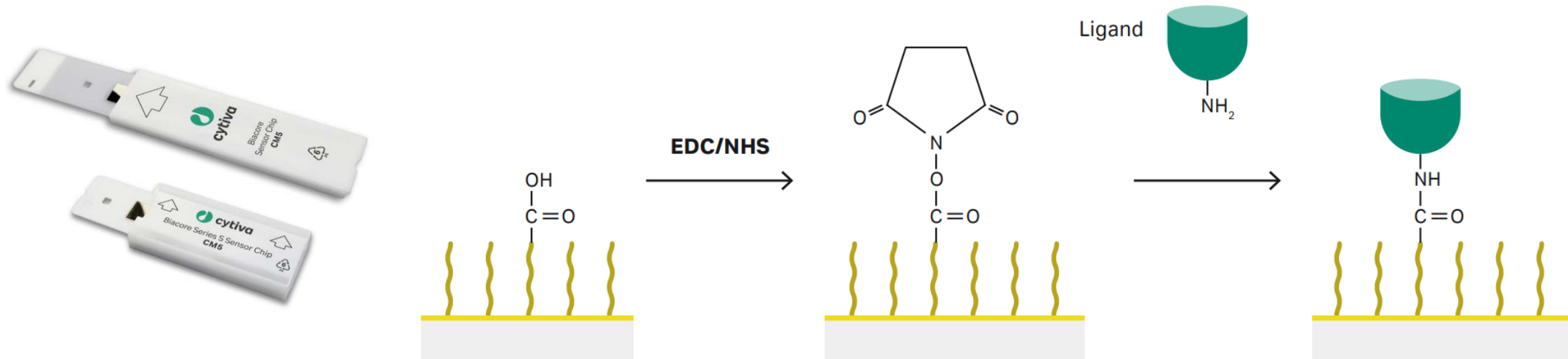
- 一本鎖オリゴDNAがプレイモビライズされたチップとSA修飾された相補鎖DNAを使用
- 二本鎖を一本鎖に再生可能



センサーチップの紹介

センサーチップCM5

共有結合法 (リガンド付け替え不可) / Capture Kitとの組み合わせ (リガンド付け替え可)

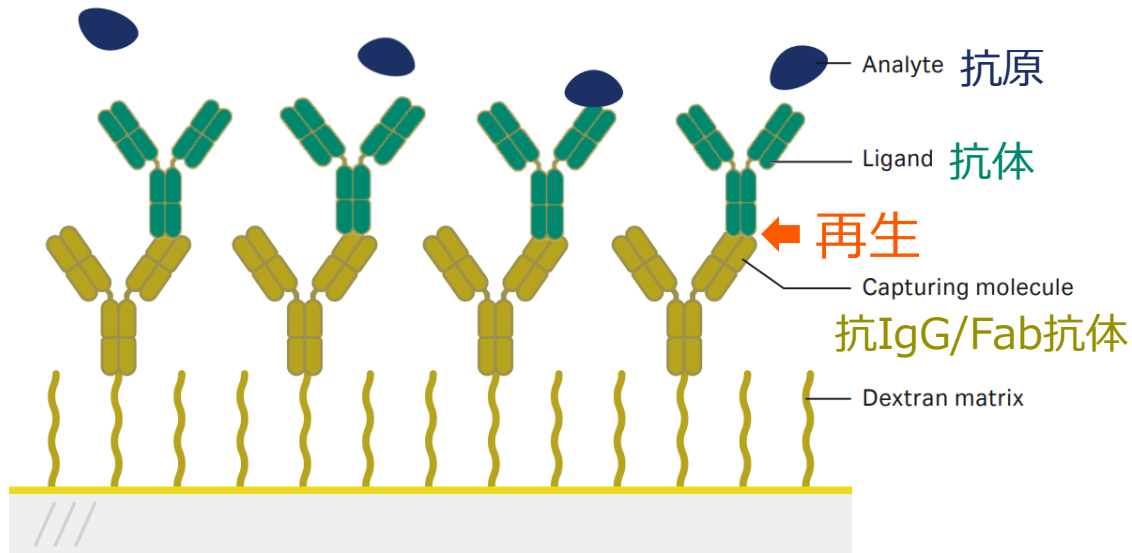


- アミンカップリング法などでリガンド分子を直接共有結合
- あるいはキャプチャー用分子を直接共有結合
- 直鎖デキストラン表面⇒固定化したサンプルの自由度が高い

センサーチップCM5と併用するキャプチャーキットの紹介

抗体用キャプチャーキット

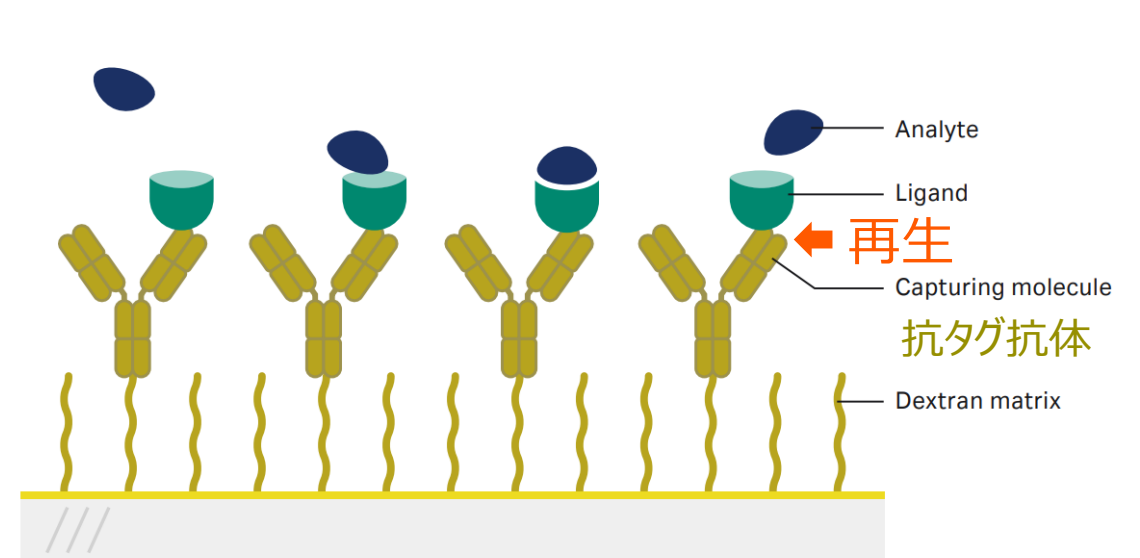
【構成】
抗抗体、固定化バッファー、再生溶液



- Mouse Antibody Capture Kit
- Human Antibody Capture Kit
- Human Fab Capture Kit

タグ用キャプチャーキット

【構成】
抗タグ抗体、固定化バッファー、再生溶液



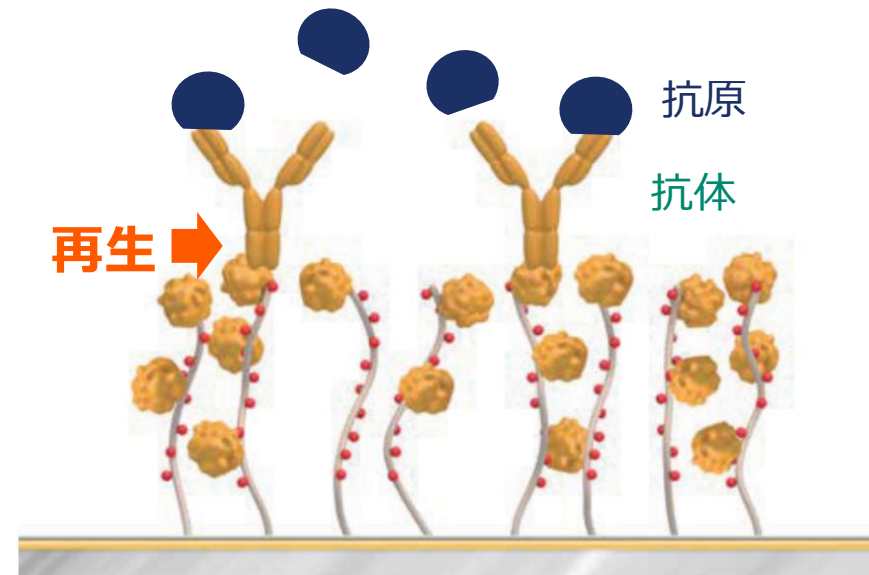
- His Capture Kit
- GST Capture Kit

センサーチップの紹介

抗体用センサーチップ

リガンド付け替え可

- **Sensor Chip Protein A**
- **Sensor Chip Protein G**
- **Sensor Chip Protein L** *)



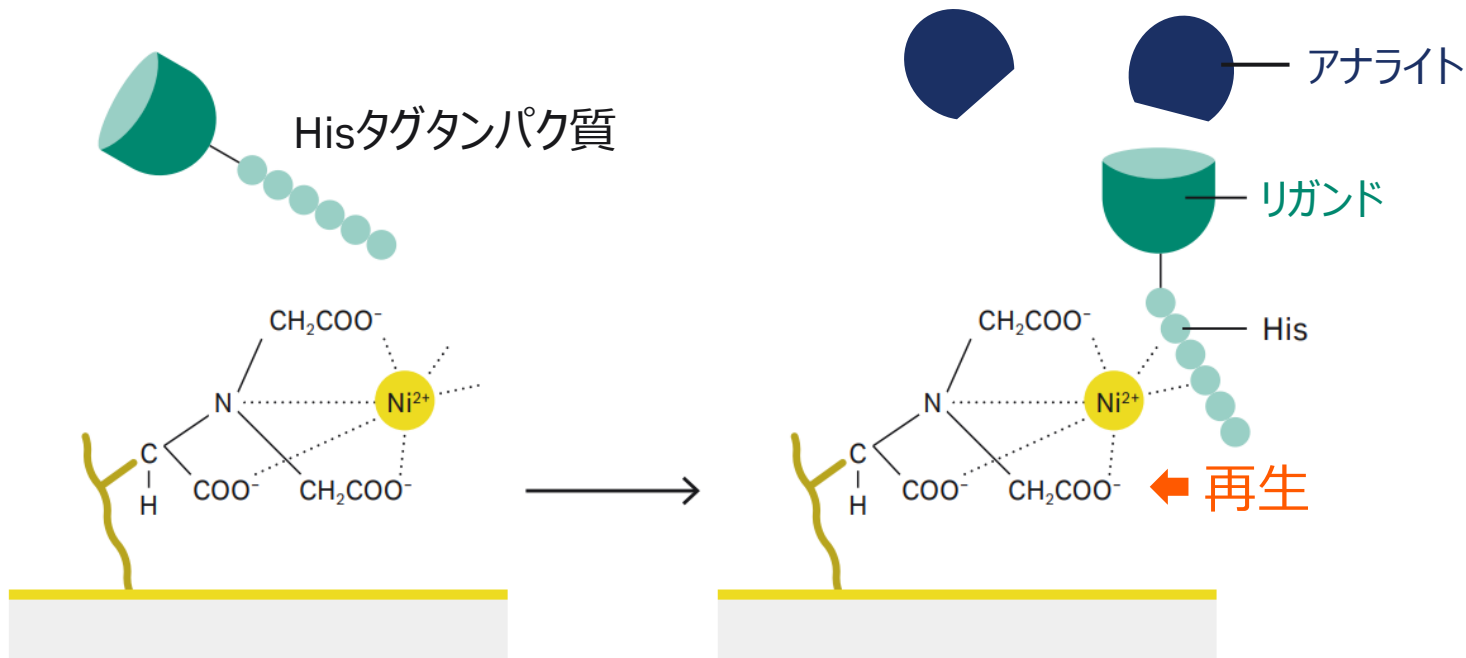
*) 抗原結合に伴い、ベースラインドリフトが生じることがあるため、Kinetics / Affinity解析にはおすすめしません。

センサーチップの紹介

センサーチップNTA

リガンド付け替え可

- CM5センサーチップにNTAがプレイモビライズされている
- NTA Reagent Kitと組み合わせて使用する



NTA Reagent Kit



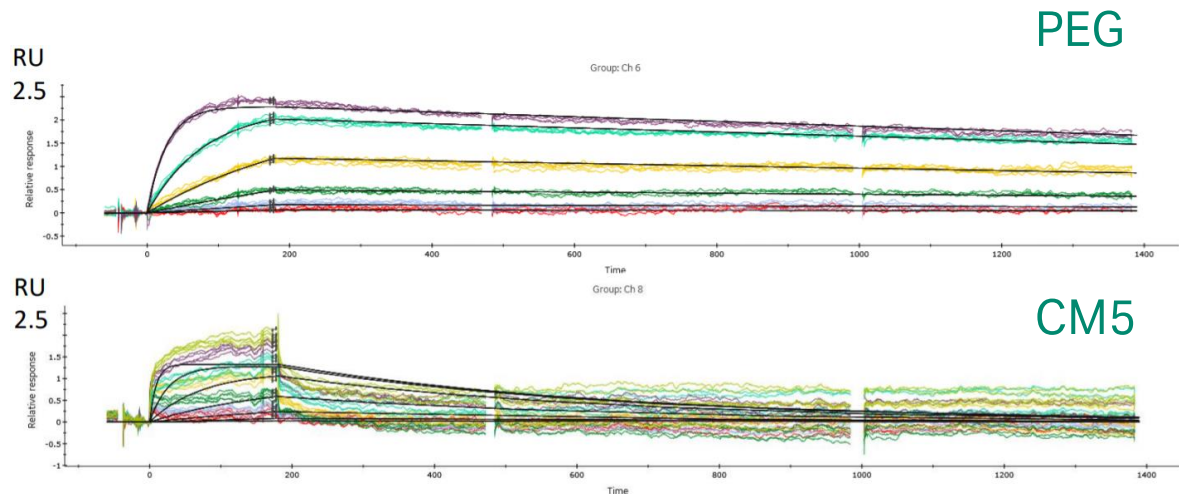
【構成】
0.5 mM NiCl₂ (Ni溶液)
350 mM EDTA (再生溶液)

センサーチップの紹介

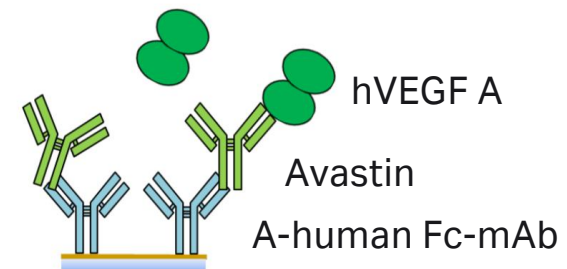
センサーチップPEG

共有結合法（リガンド付け替え不可） / Capture Kitとの組み合わせ（リガンド付け替え可）

- デキストランマトリクス（CM5など）が問題となる場合のセンサーチップ
- 固定化量の最大値はCM5の10%程度



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

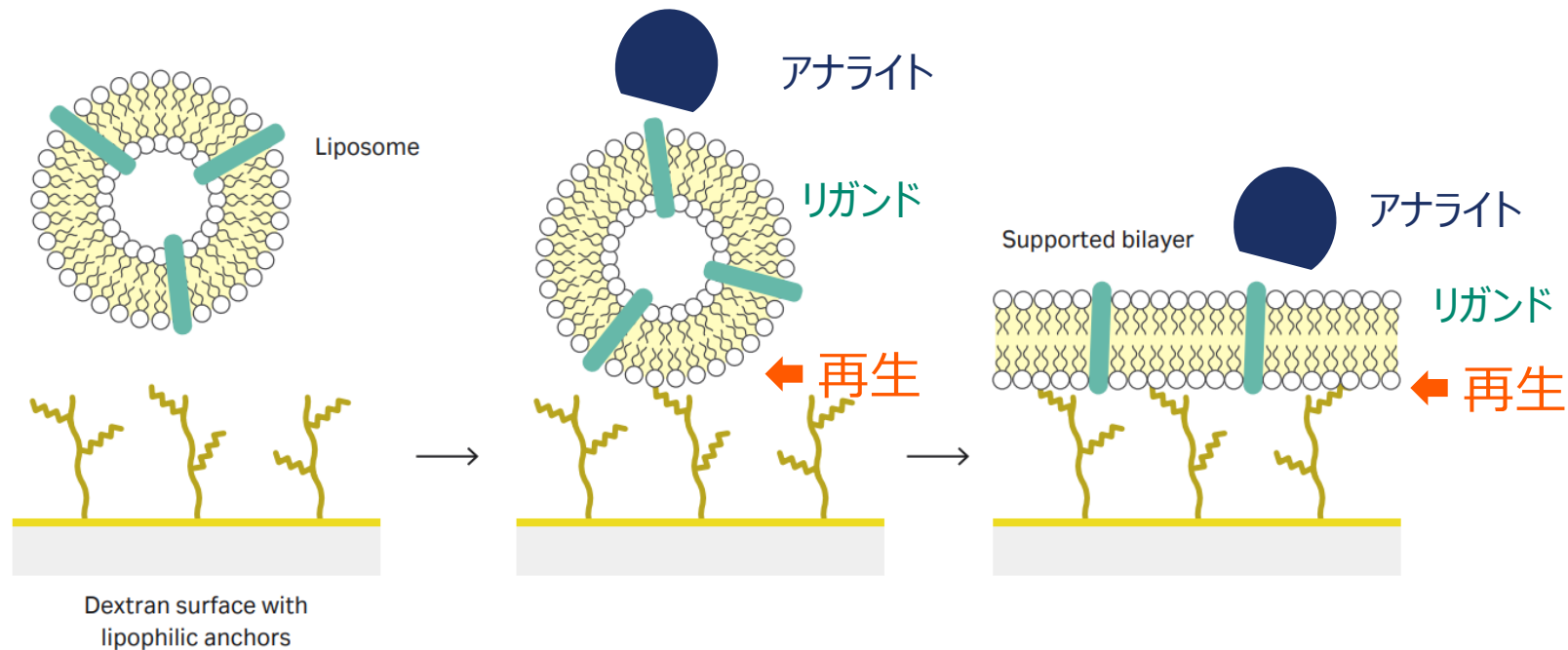


センサーチップの紹介

センサーチップL1

疎水吸着法（リガンド付け替え可）

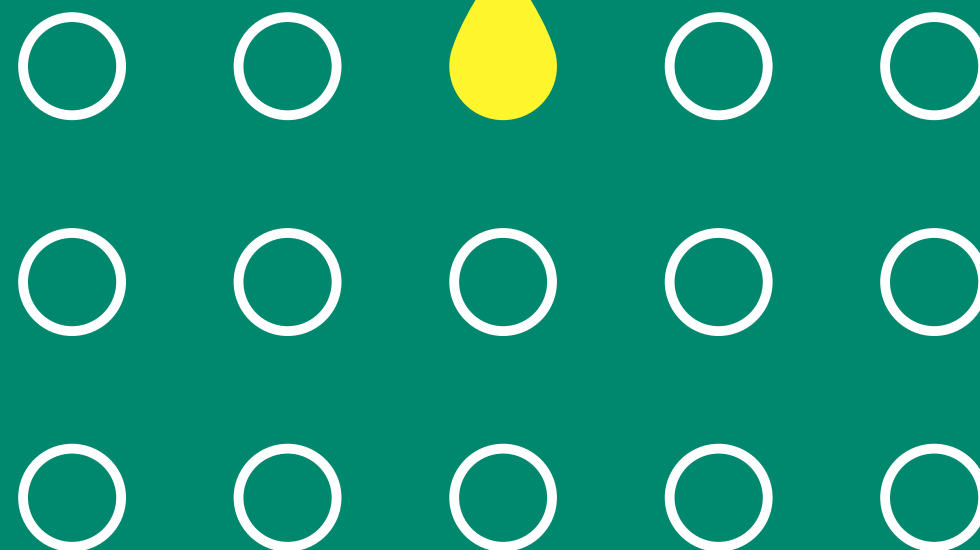
- CM5に長鎖アルカンを導入した親水性と疎水性の混在したセンサーチップ
- リガンドは、糖脂質、リン脂質等二重膜



取り扱うサンプル別測定系のポイント

| サンプル | ポイント |
|-------------|---|
| 抗体 | <ul style="list-style-type: none">✓ 基本的にリガンドとすることを推奨（後述）✓ 各種Antibody capture kitやSensor Chip Protein A or G or Lを介したキャプチャー法を推奨（後述） |
| 低分子 | <ul style="list-style-type: none">✓ 立体障害の問題から基本的にアナライトとすることを推奨✓ 標的タンパク質はリガンドとすることを推奨するが、Biotinタグがあると汎用性が高い |
| タンパク質（タグなし） | <ul style="list-style-type: none">✓ リガンドとしてもアナライトとしても運用する✓ リガンドとする場合は共有結合法か、ビオチンを導入してBiotin CAPture Kitで運用する |
| タンパク質（タグあり） | <ul style="list-style-type: none">✓ リガンドとしてもアナライトとしても運用する✓ Hisタグを介したキャプチャー法は（リガンドが解離しやすいため）アナライトとの相互作用が見えづらくなりやすいので注意✓ タンパク質リガンドをBiotin化して、Biotin CAPture kitの運用が便利 |
| 核酸 | <ul style="list-style-type: none">✓ 基本的にリガンドとすることを推奨✓ Biotinを導入した核酸をSensor Chip SAに固定化✓ 相補鎖を利用したキャプチャー法も可能（Biotin-poly dT15などを固定化） |
| 脂質（リポソーム） | <ul style="list-style-type: none">✓ Sensor Chip L1に吸着 |

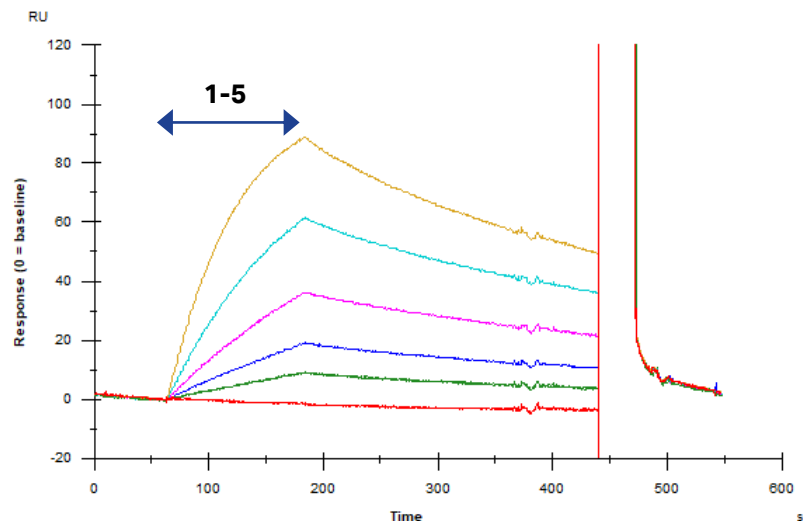
2. Biacore測定の基本的前提条件 設定



【測定方法】Multi cycle 法とSingle cycle 法

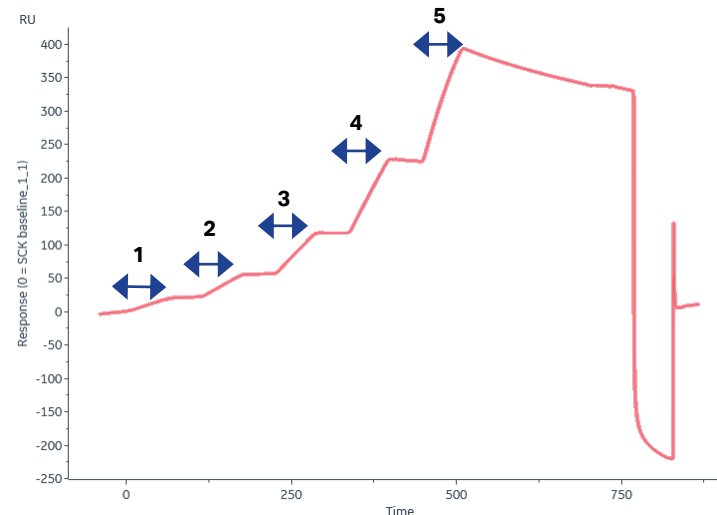
メリットが多いため
使用されるケースが多い

Multi cycle 法



アナライト添加

Single cycle 法



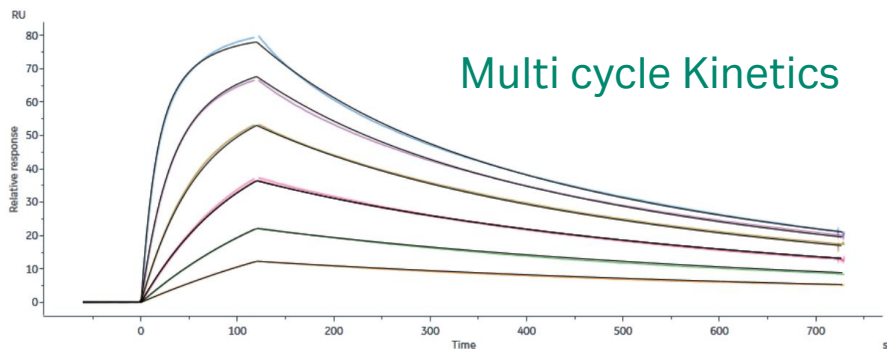
| Multi cycle 法 各濃度は個別サイクルで測定する | | Single cycle 法 各濃度は同一サイクルで測定する | |
|----------------------------------|---|---|--|
| Pros | <ul style="list-style-type: none"> 古典的方法。 Affinity解析にはよく使われる | <ul style="list-style-type: none"> 解離が遅いサンプルでより正確かつ短時間で測定ができ有利 キャプチャー法におけるリガンド消費量が少ない 1 RUNの時間短縮で、リガンド失活の影響を受けにくい 再生困難なリガンドにも適用可能 | |
| 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) | |

【 k_a , k_d , K_D 算出方法】Kinetics解析とAffinity解析

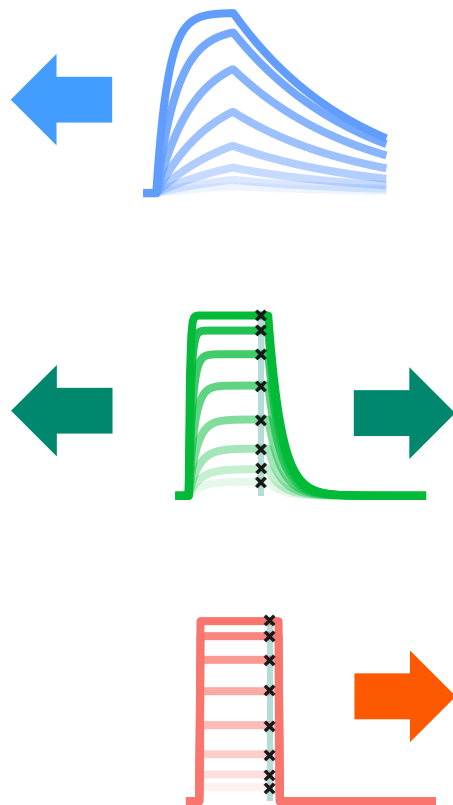
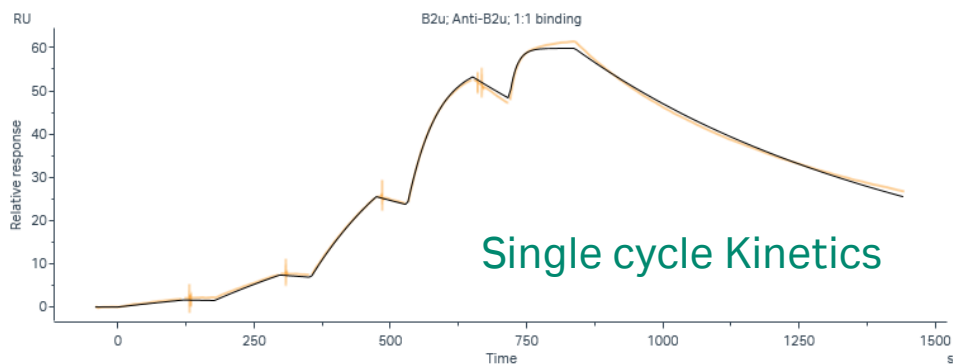
Kinetics解析

k_a , k_d , K_D が求められる

Multi cycle Kinetics

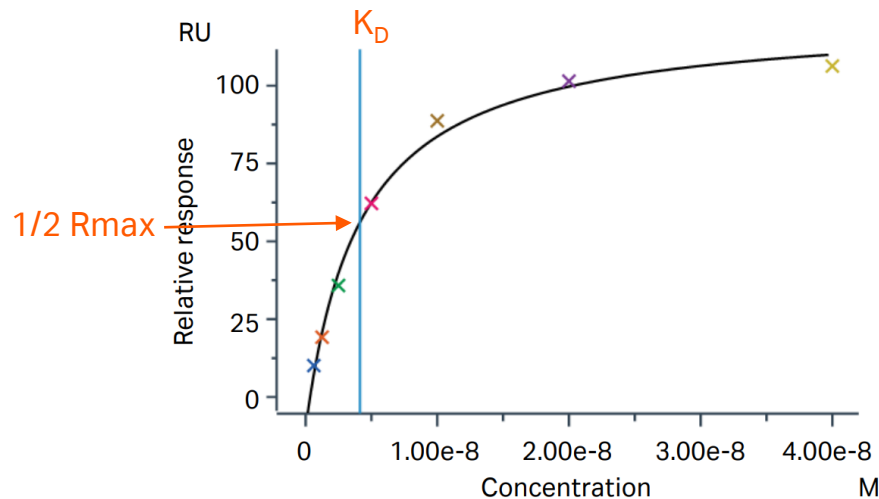


Single cycle Kinetics



Affinity解析

K_D のみ求められる

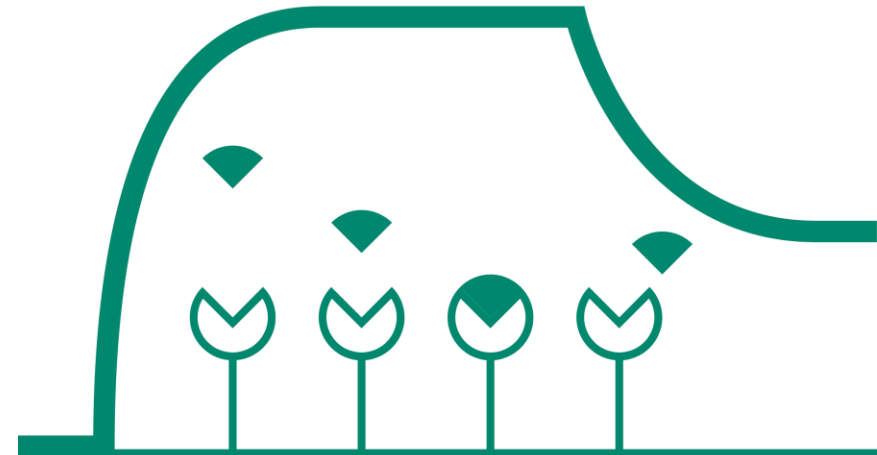


K_D : 1/2 Rmax (RU)となるアナライト濃度に相当

* 各濃度平衡値に達していること。

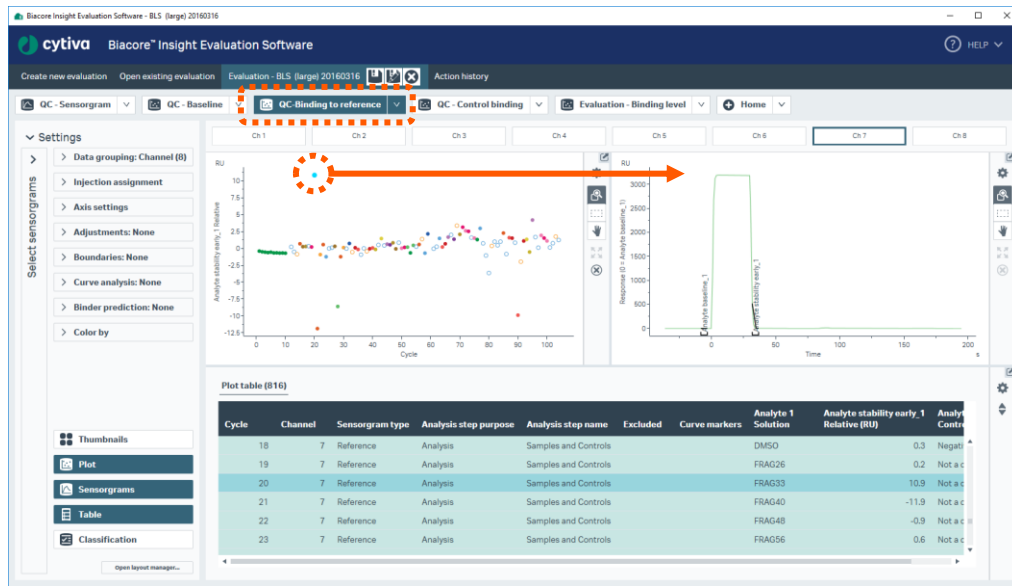
アッセイ系構築のポイント

1. 結合特異性確認
 - ・リファレンスセルに結合しない
 - ・結合部位特異性の確認
2. リガンド量の設定
3. 最適アナライト濃度の確認



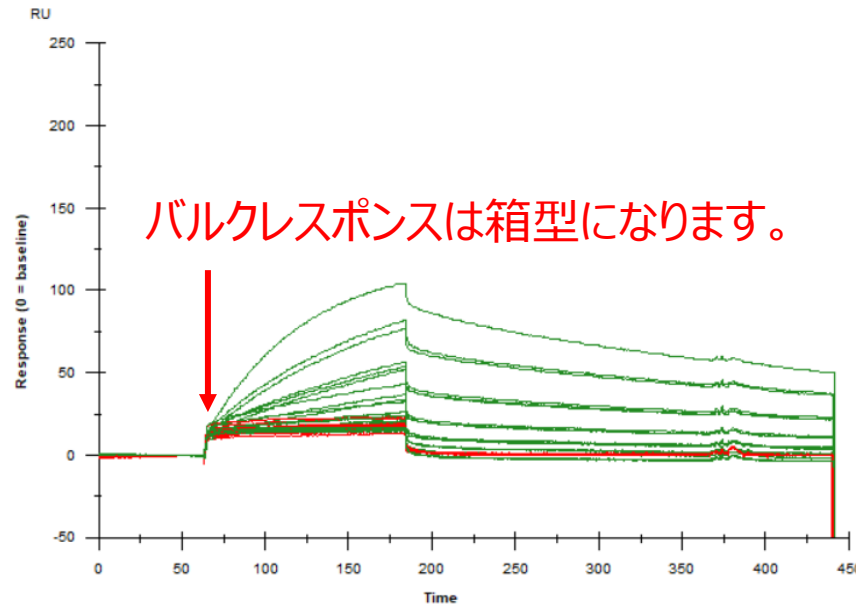
【重要】リファレンスセルに非特異的結合がないこと リファレンスセルの非特異的結合は正確に差し引くことはできない。

QCプロットの確認 (QC - Binding to Reference)



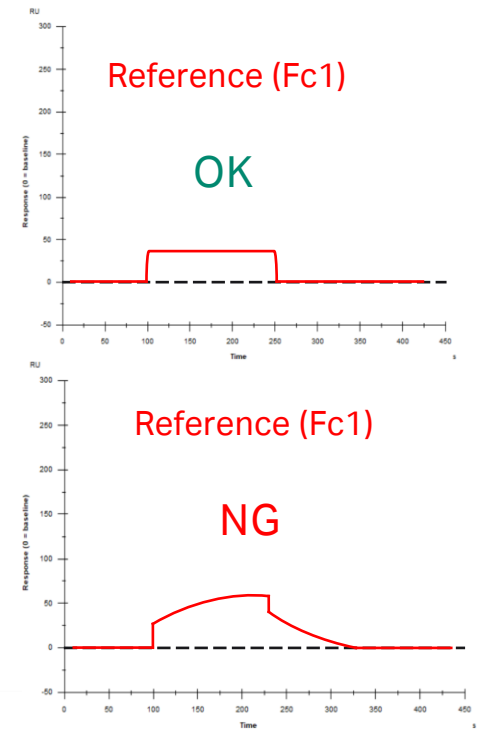
Plotを選択しSensorgramを確認

センサーグラムの確認



バルクレスポンスは箱型になります。

Reference (Fc1) / Active (Fc2)



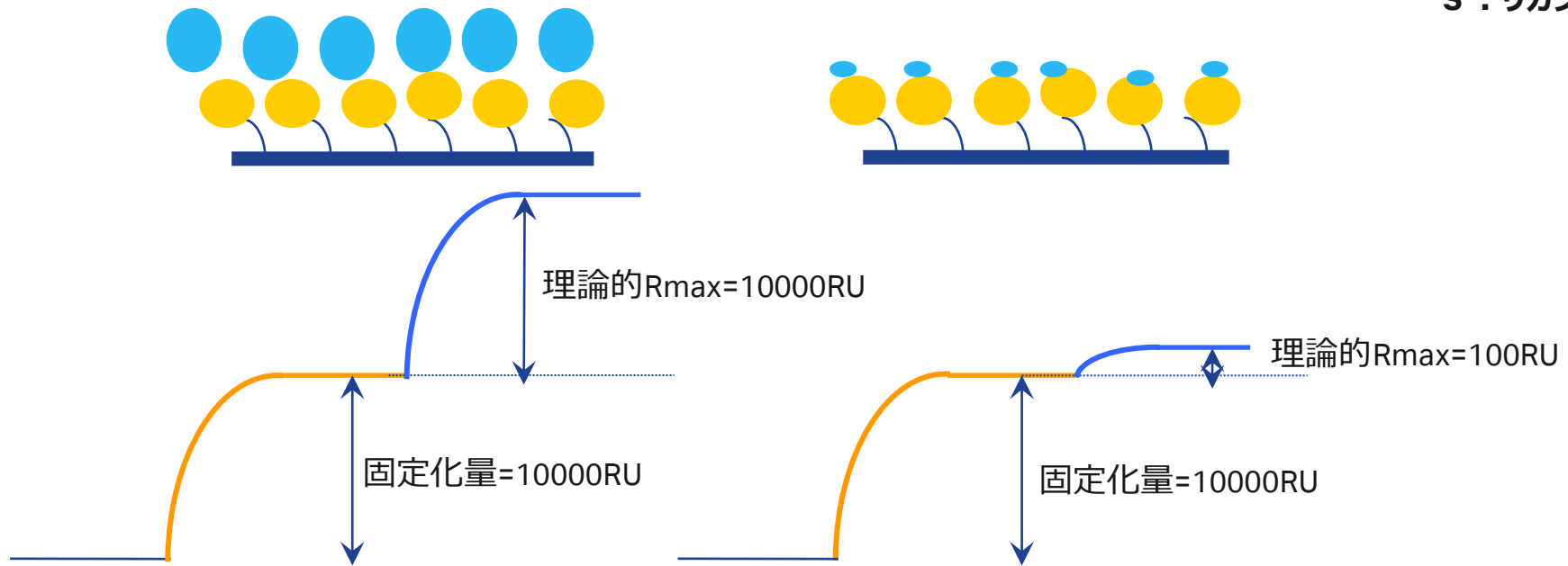
【Tips】結合部位特異性の確認に重要なパラメーター 理論的Rmaxの算出方法

理論的Rmax : 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



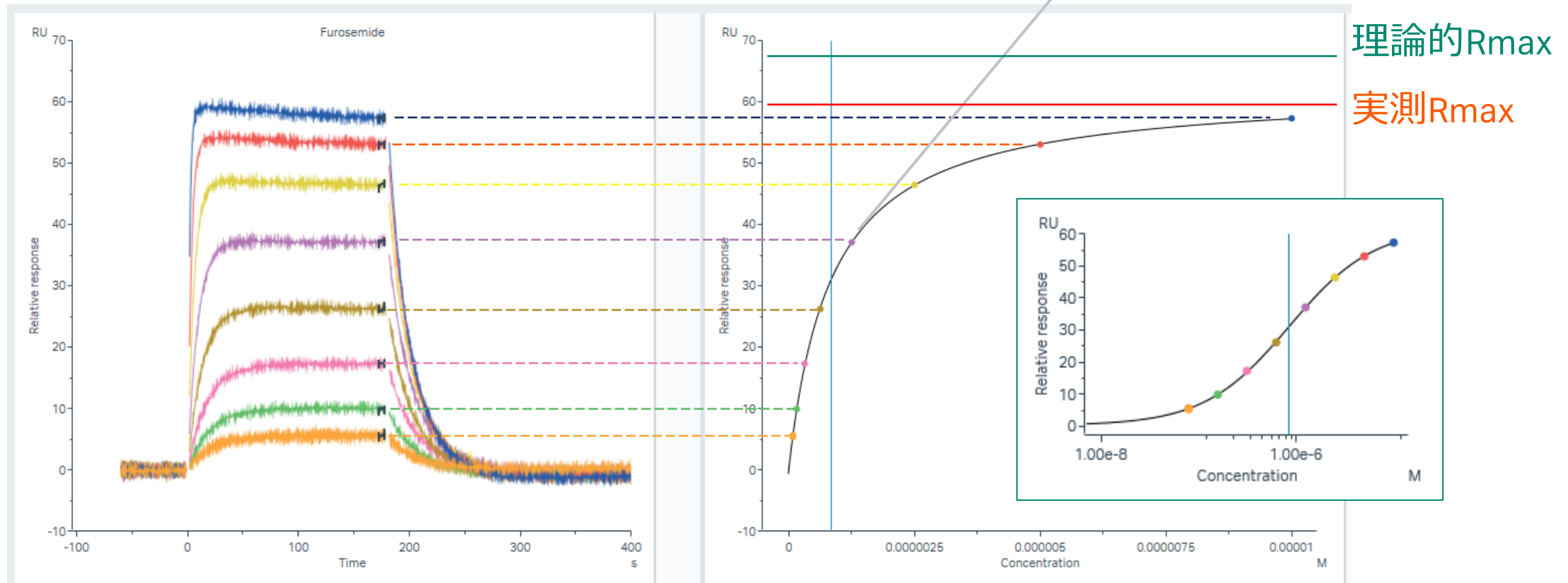
【重要】結合部位特異性の確認

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った時、理論的Rmax以下でレスポンスが飽和すること

実測 Rmax \leq 理論的 Rmax

レスポンス (RU)



アナライト濃度 (M)

リガンド量の設定の考え方 (Tips Rmaxの算出方法のページ参照)



Kinetics解析においては、リガンド量をなるべく下げます。

アナライトの分子量や相互作用プロファイルなどにもよりますが、弊社ハンドブックでは典型的にRmax 10～30 RUになります*。

*Application guides: Kinetics and affinity measurements with Biacore systems

【例】

リガンド： Carbonic anhydrase (30 kDa)

アナライト： Furosemide (330 Da)

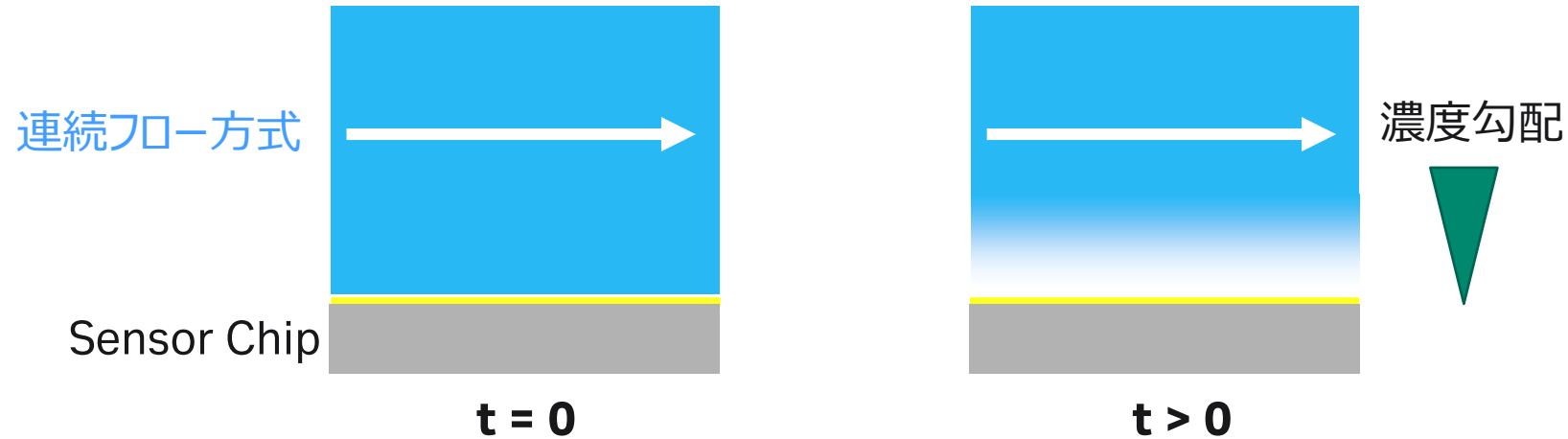
リガンドが100%結合活性を保持している前提で、Rmax=20RUとなる場合...

$$\text{リガンド量(RU)} = \frac{20 \text{ (RU, Rmax)}}{1 \text{ (結合比*)}} \times \frac{30,000 \text{ (Da)}}{330 \text{ (Da)}} = 1,819 \text{ RU}$$

* Interaction stoichiometry (analyte/ligand)

【Tips】なぜkinetics解析の場合リガンド量を下げるとするのか？

マスランスポートリミテーション (MTL) の影響を最小限にするためです。



マスランスポートリミテーション (MTL)

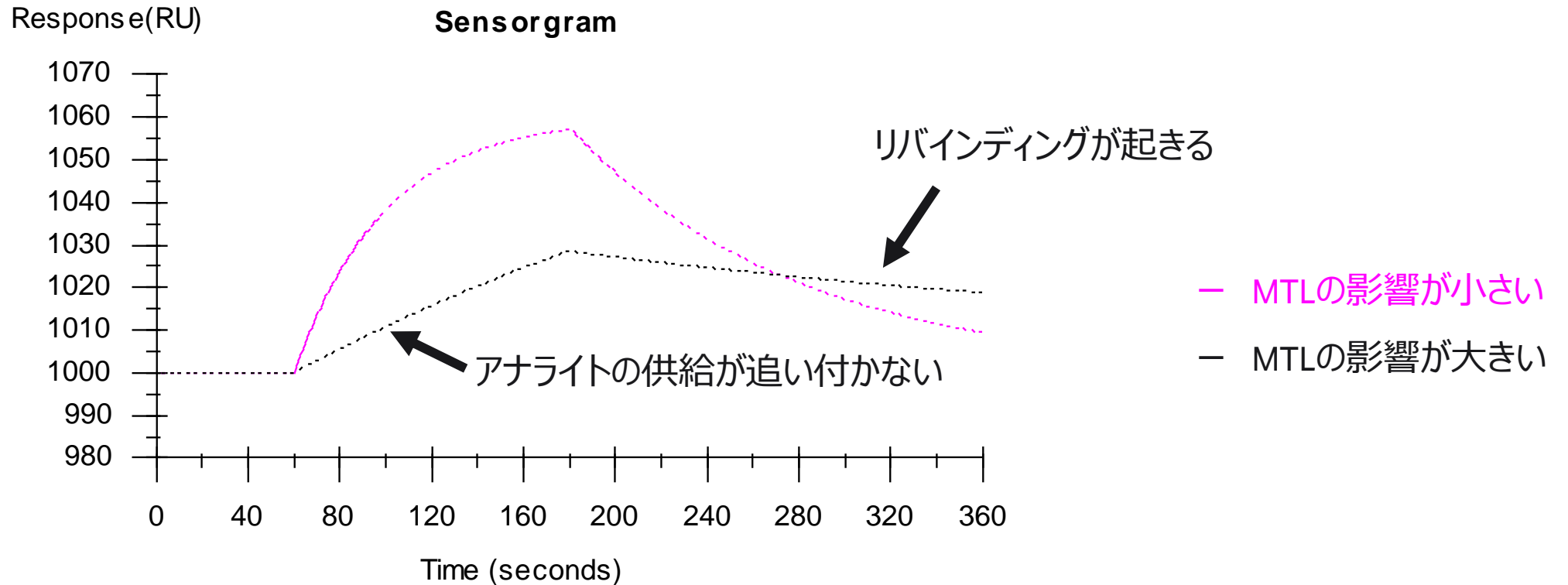
アナライトの供給が追いつかず、消費速度が上回った結果センサーグラムが変形する現象

正確なKinetics情報を得るためには、なるべくMTLの影響を小さくすることが重要

1. リガンド量を下げること
2. アナライトは高流速 (30 μ l/min) で送液すること

*リガンド量を下げるとは、相互作用の不均一性 (heterogeneity) も抑えます

【Tips】なぜkinetics解析の場合リガンド量を下げるのか？



リガンド量が多いと MTLの影響によるセンサーグラム変形が生じ、 k_a 、 k_d 値の信頼性が下がる。

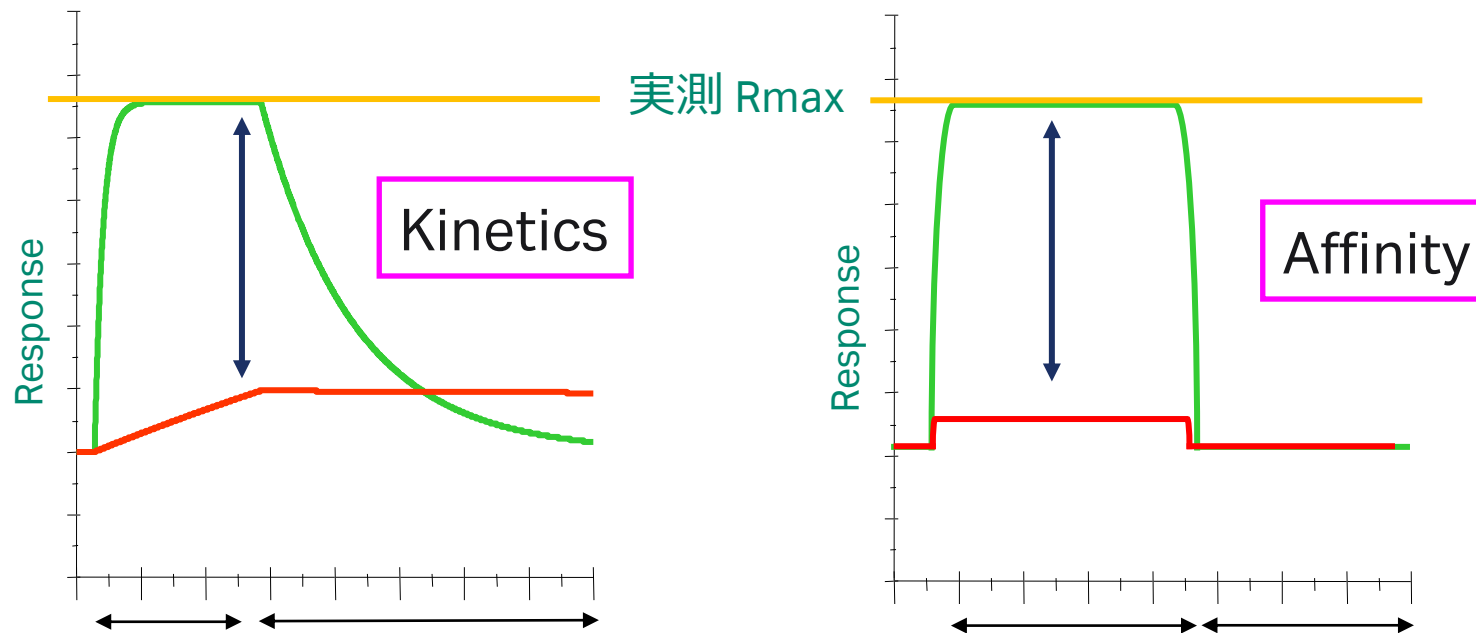
⇒感度が向上したことで、固定化量を極力減らしても検出可能になり、正確な k_a 、 k_d 値解析が可能となる。

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。

条件検討の方法

- ✓ 1K/1K+/1S+/X100 :
Interactive Run/Manual Runでチェックする。
- ✓ 8K/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 : 10~90 min 箱型に近いセンサーグラム : 1~2 min | 不要 |
| 濃度点数 | 3倍希釈で5点程度 | 2倍希釈で8点程度 |

Kinetics測定の一般的ガイダンス

1. 低いリガンド量に調節する

2. 高流速で測定する

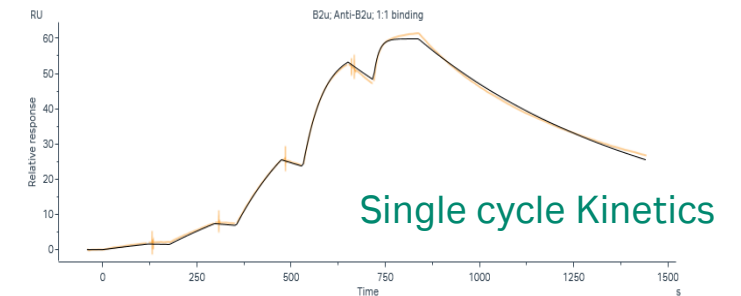
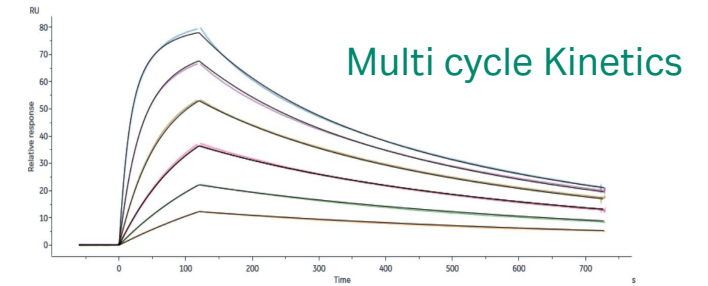
30 $\mu\text{l}/\text{min}$ 以上

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) サイクルも必ず用意



Affinity測定の一般的ガイダンス

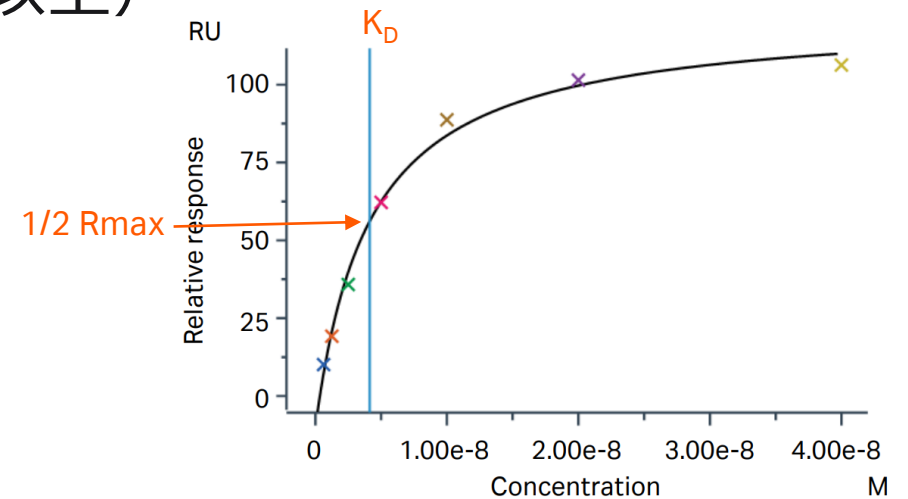
1. リガンド量は必要十分な結合レスポンスが得られる量

2. 適切なアナライト濃度・時間を用いる

Rmax近くから3桁程度の添加濃度レンジ。
(最高濃度は低くとも2倍のKD値以上)

3. アナライト濃度は8段階以上ふる

4. 0濃度 (blank) サイクルも必ず用意

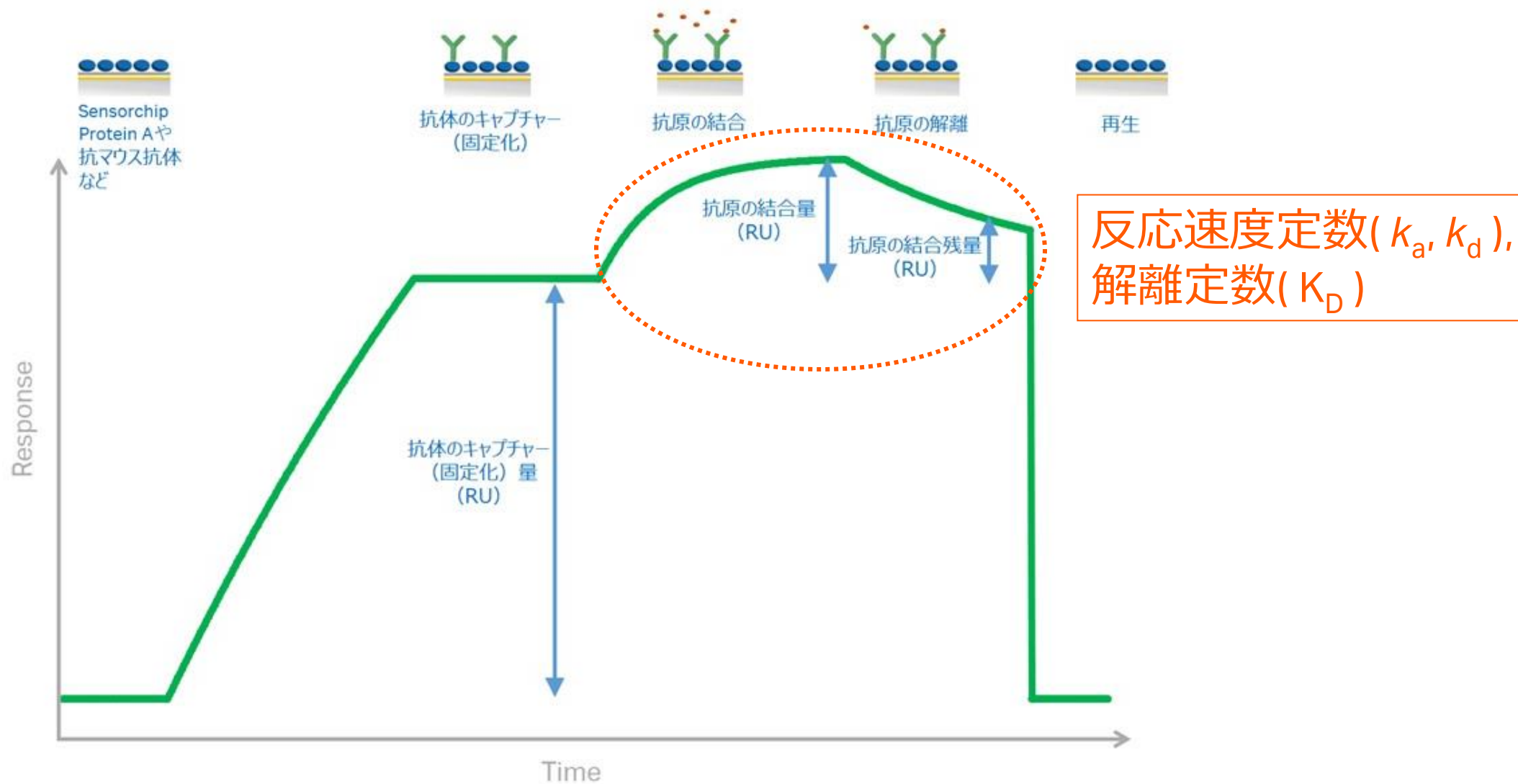


K_D : 1/2 Rmax (RU)となるアナライト濃度に相当

抗体、低分子における代表的な測定測系

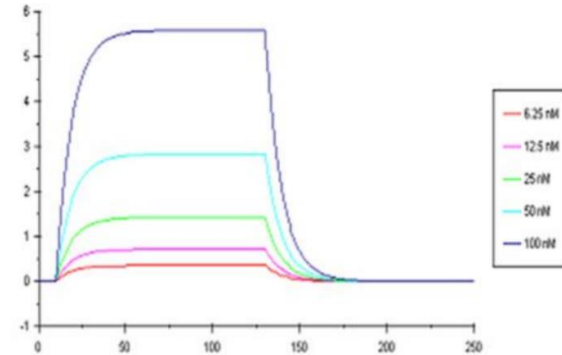
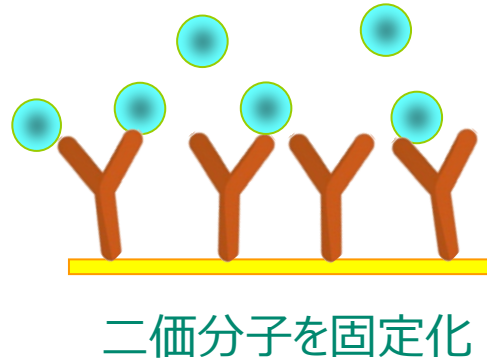
| | スクリーニング | キャラクタリゼーション |
|-----|--|--|
| 抗体 | <p>濃度1点 Yes/No ランキング 複合体安定性 抗体をリガンドとする</p> | <p>Kinetics解析 抗体をリガンドとする</p> |
| 低分子 | <p>濃度1~3点 Yes/No ランキング 溶媒補正</p> | <p>Affinity解析 Biotin CAPture kit Kinetics解析 溶媒補正</p> |

抗体測定では、抗体をリガンドとする

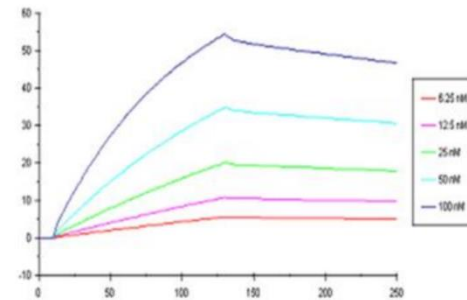
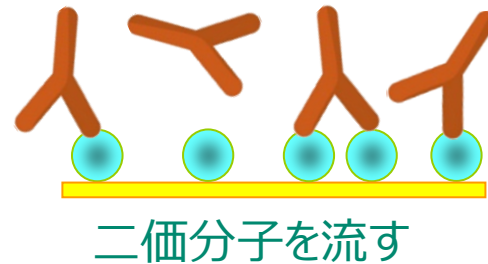


【Tips】なぜ抗原をリガンドとすることが第一選択でないのか？ AffinityとAvidityの違い

Affinity



Avidity



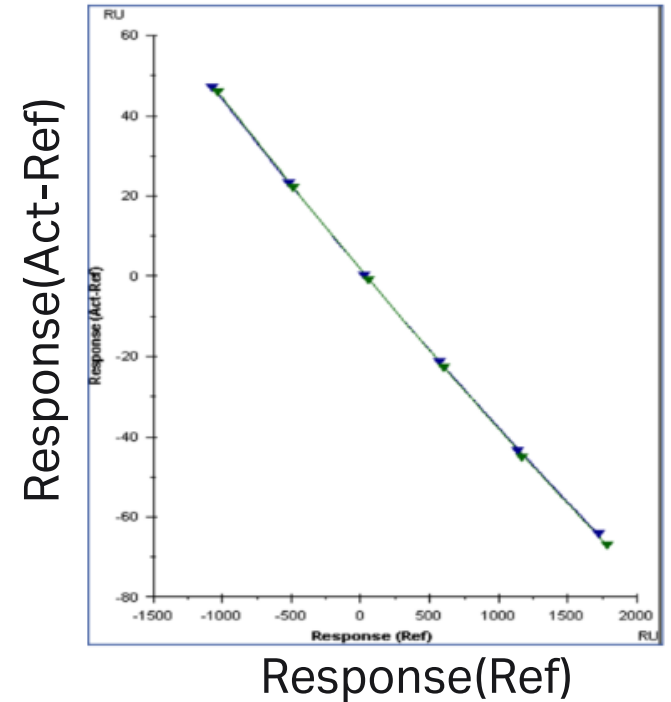
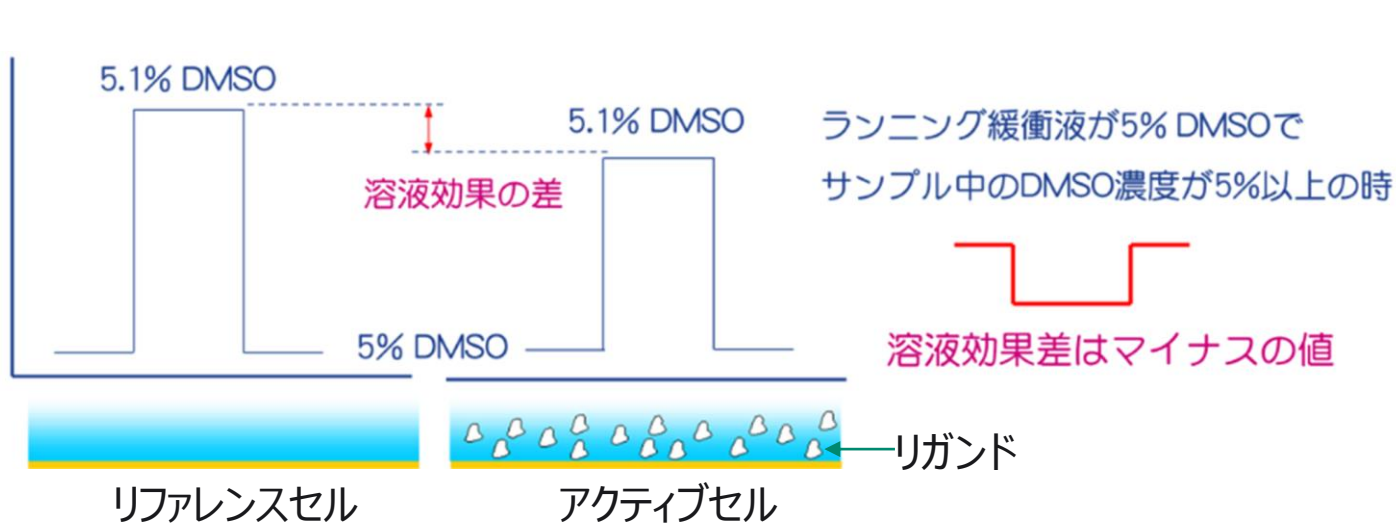
K_D 値

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。

DMSOにストックされた低分子を測定する時は

Fc2-1で差し引いて、バルクレスポンスが0にならないので補正します。

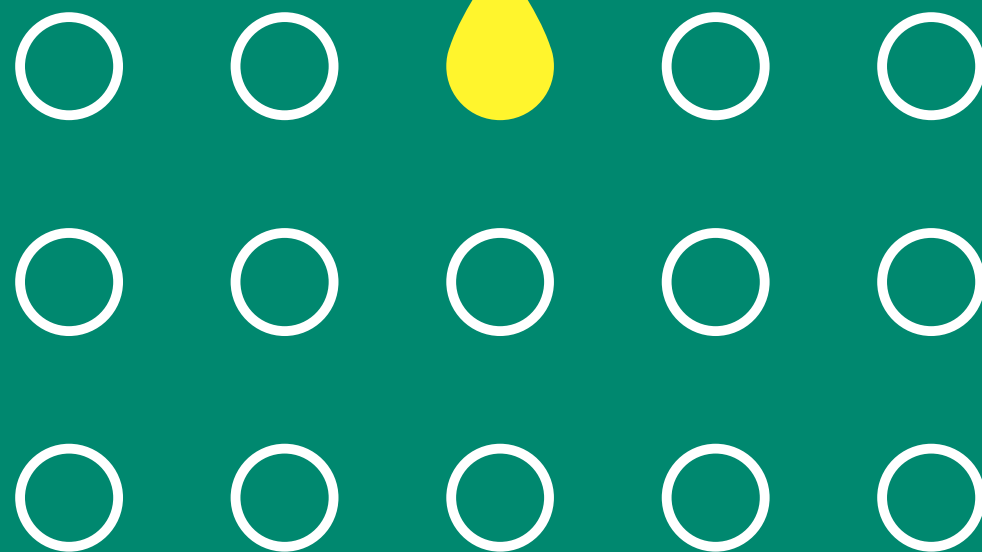


検量線を利用して自動補正

アクティブ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、アクティブセルよりも大きい。

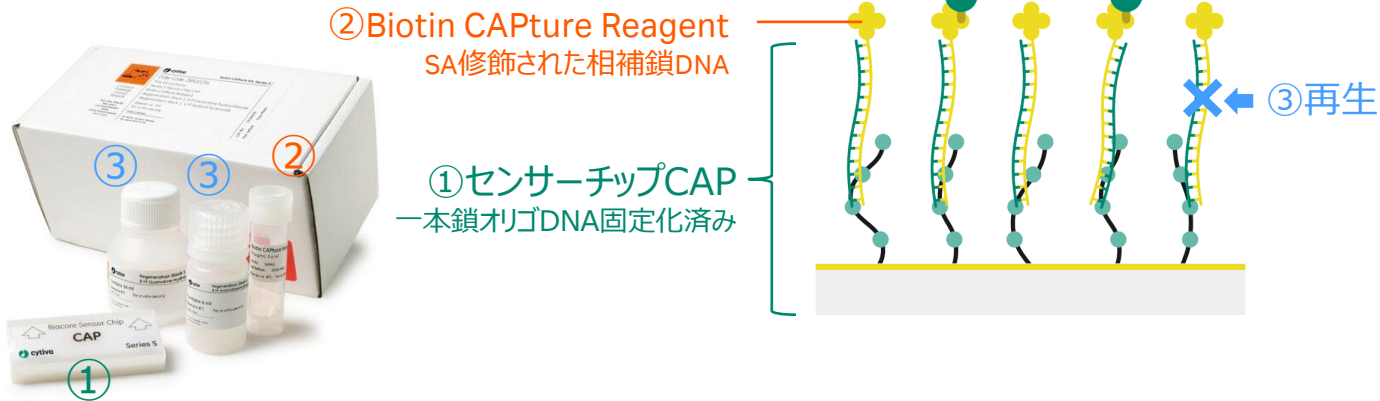
3. 汎用性の高い測定ワークフロー例

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

様々なサンプルで成功確率が高い測定方法



- 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可能。
- Biotin CAPture Reagent（相補鎖DNA-SAコンジュゲート）の単品販売。

| 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。 ✓ 各サイクルでフレッシュなリ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"> ✓ 共有結合法と比べ、固定化量が少ない（多くの場合問題にならない）。 ✓ 共有結合法と比べ、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非推奨。 ✓ 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)、1K/1K+/1S+ (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

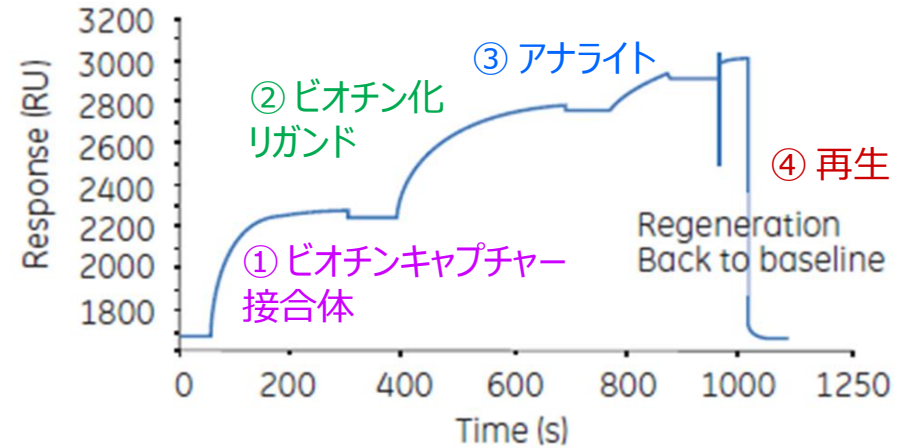
- 前日からセンサーチップCAPをBiacoreにセット。超純水やバッファーで Standby flow。

測定/解析

- 固定化/再生条件検討ほぼ不要。右図参照。

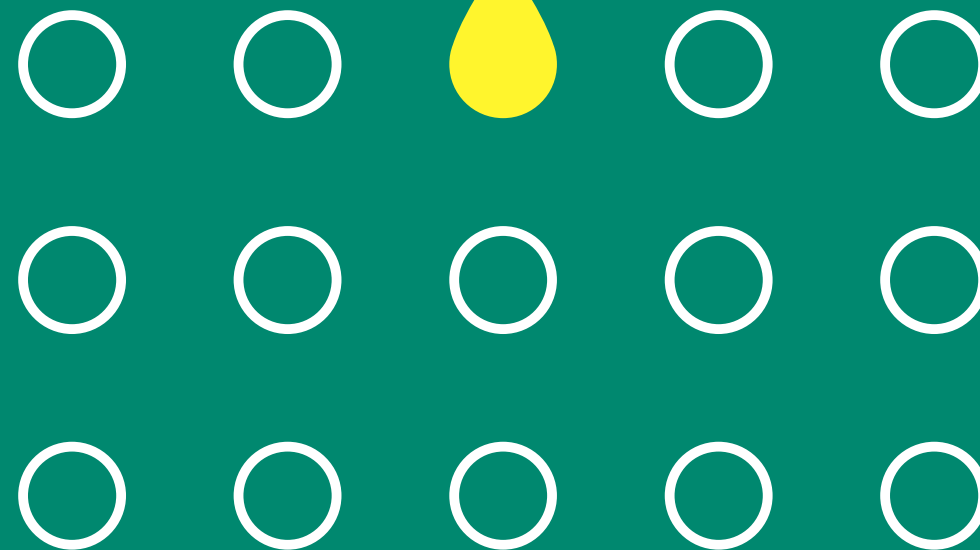
センサーチップCAPの保存

- 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1か月間の保存。
- 150サイクルまでの使用を推奨。



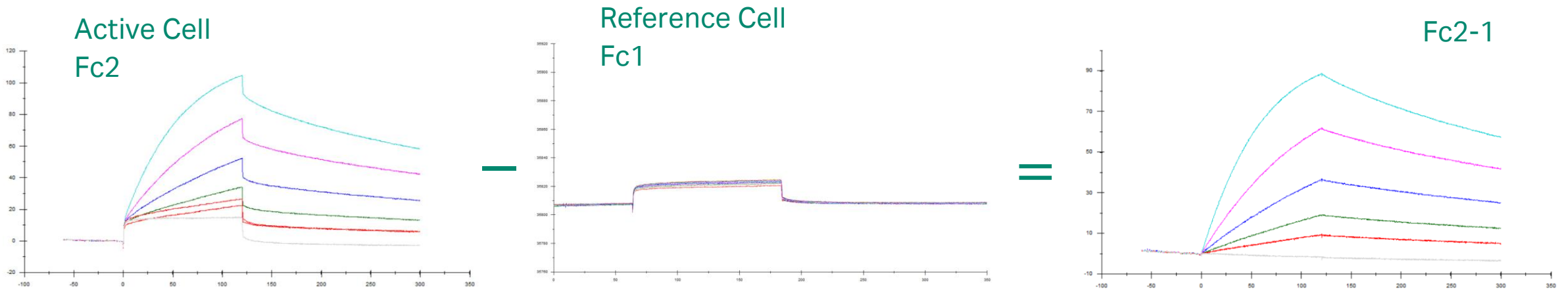
- ① Biotin CAPture Reagentをインジェクションして、ハイブリダイズ
- ② ビオチン化したリガンドをインジェクションして、キャプチャー
- ③ アナライトをインジェクションして、アナライトとリガンドとの相互作用を確認
- ④ DNAを開裂させることで再生

4. 解析

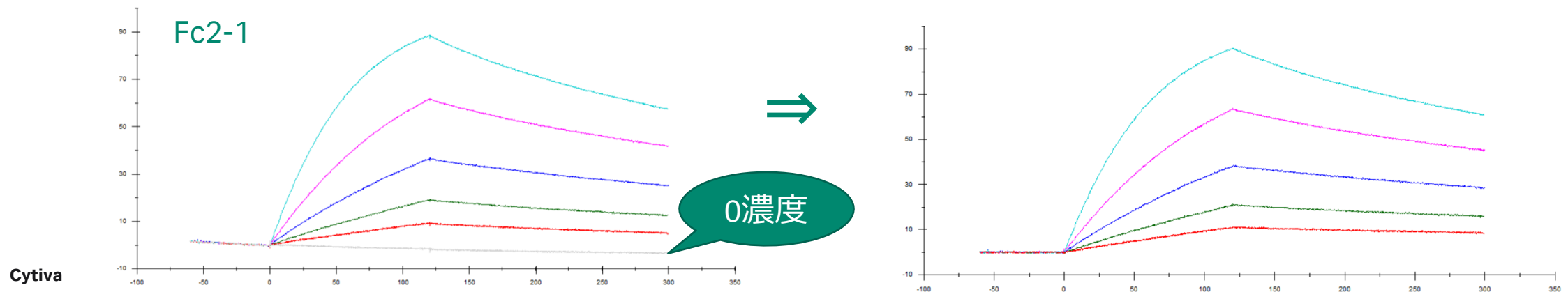


生データから解析対象データへの変換 -ダブルサブトラクションの考え方-

① リファレンス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

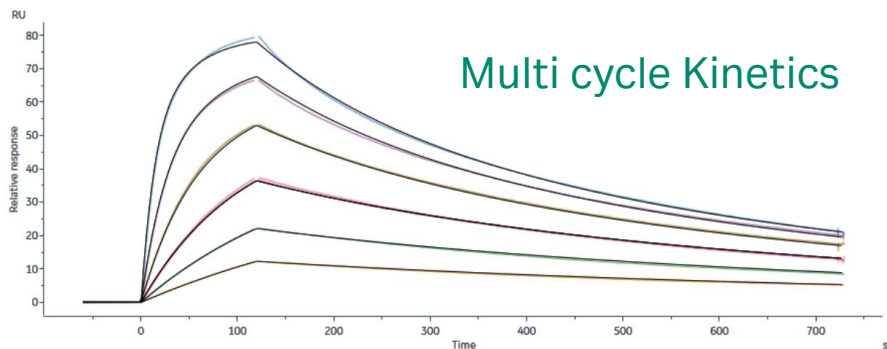


【 k_a , k_d , K_D 算出方法】Kinetics解析とAffinity解析

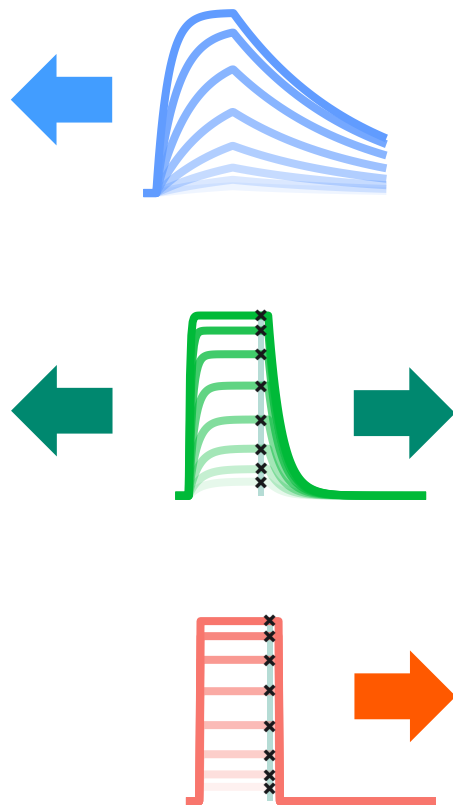
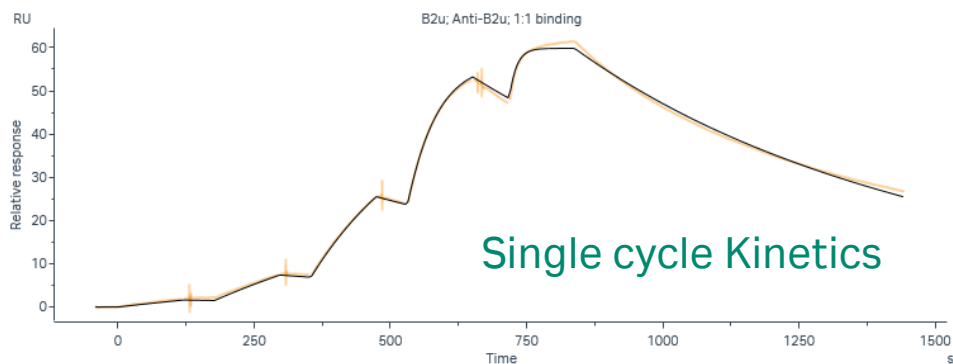
Kinetics解析

k_a , k_d , K_D が求められる

Multi cycle Kinetics

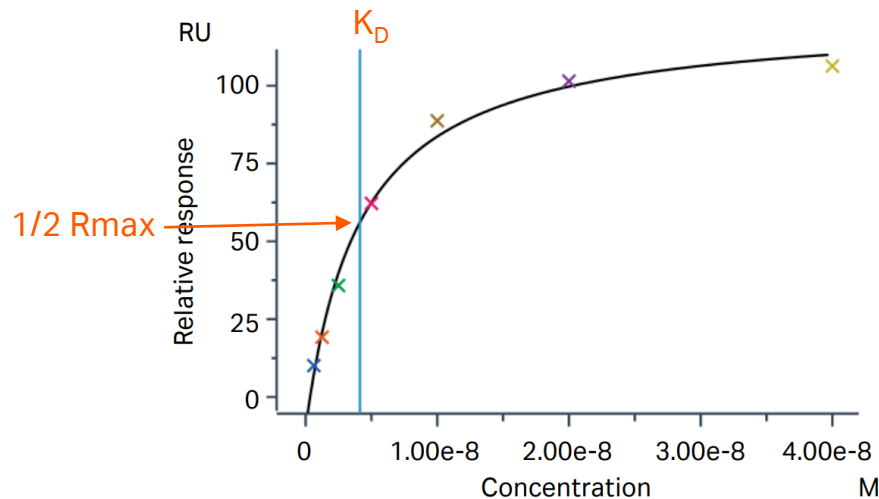


Single cycle Kinetics



Affinity解析

K_D のみ求められる



K_D : 1/2 R_{max} (RU)となるアナライト濃度に相当

* 各濃度平衡値に達していること。

Kinetics解析の流れ

センサーグラムの形

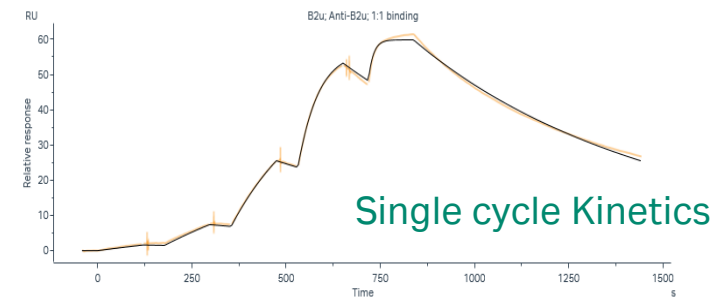
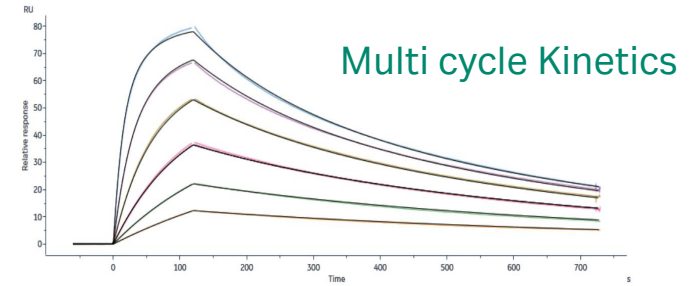
カーブフィッティング

反応速度定数 (k_a, k_d)

$$K_D = k_d / k_a$$

解離定数 (K_D)

Kinetics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。)

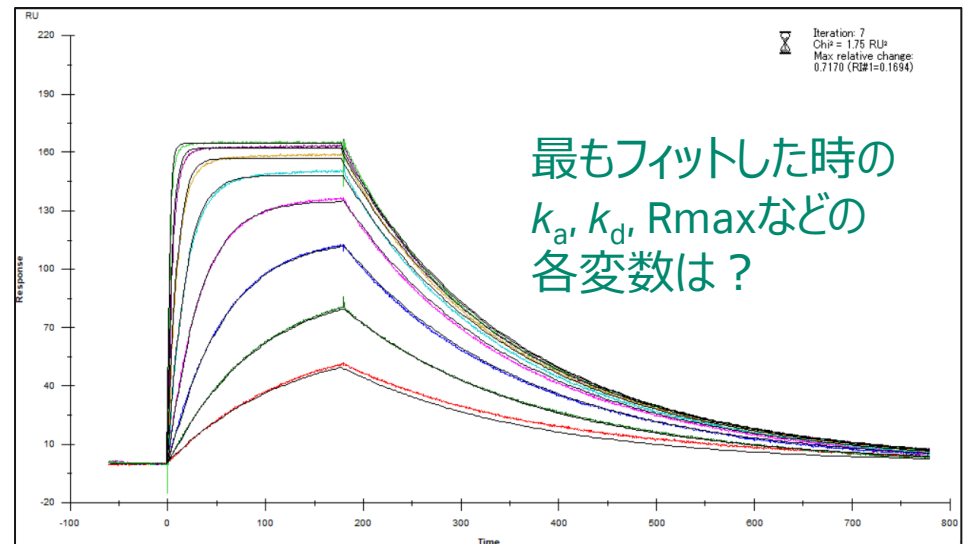
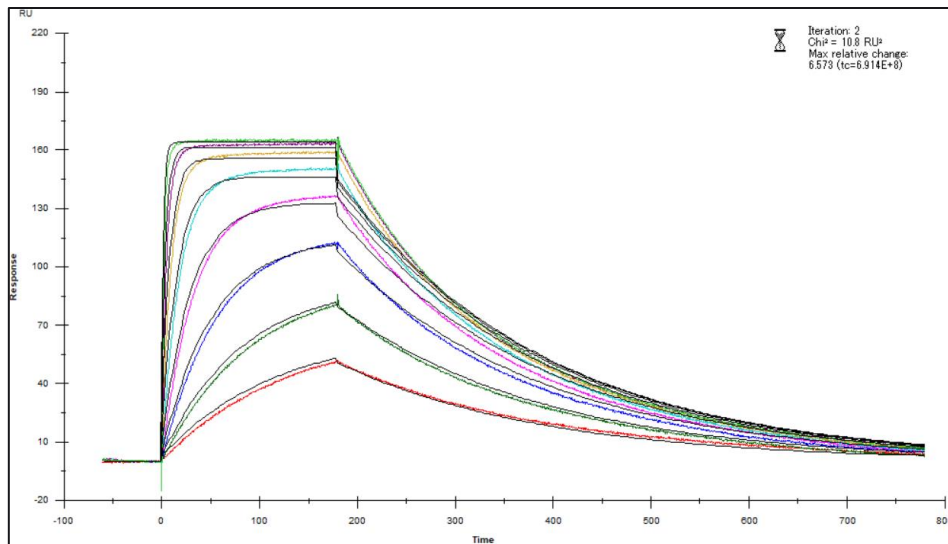
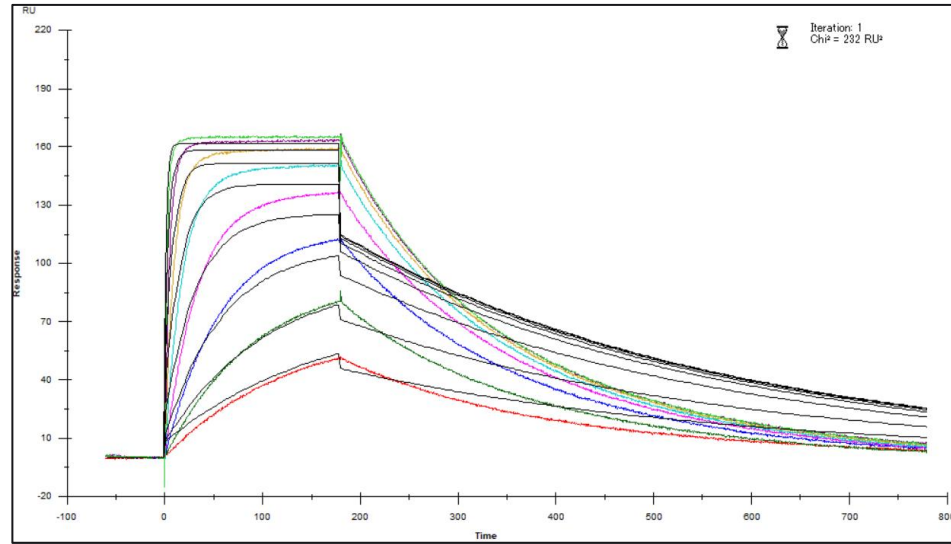
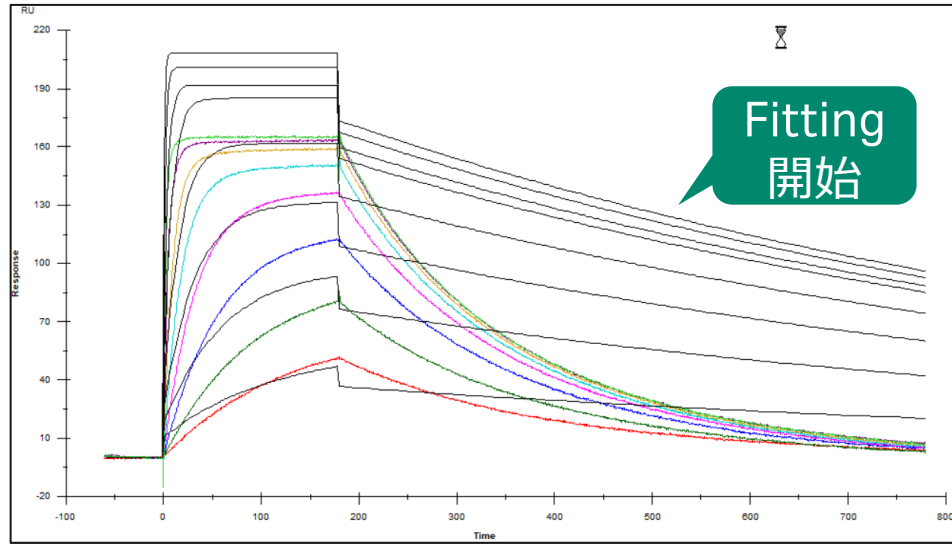


“センサーグラムの形”を使って解析
平衡状態に達している必要は無い

カーブフィッティングとは

色付き：実測のセンサーグラム

黒：モデル式に k_a , k_d , Rmaxなどを代入して描画したセンサーグラム



Kinetics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。

1:1 Dissociation



解離相のみにフィッティングを実施する場合に使用。

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 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。

Kinetics解析 クォリティーコントロール(1)

Sample table Parameters Residuals Blanks Quality control References

- ① ✔ Kinetic constants are within instrument specifications.
- ② ✔ Kinetic constants appear to be uniquely determined.
- ③ i Bulk contributions (RI) were not evaluated. The RI parameter is set to constant.
- ④ i Check that sensorgrams have sufficient curvature.
- ⑤ i 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？ 十分範囲内であれば青信号。

| | 8K/8K+ | 1K/1K+ | 1S+ | X100 |
|-----------|--|--|--|--------------------|
| ka (1/Ms) | Protein : $\sim 10^9$ LMW : $\sim 10^7$ | Protein : $\sim 3 \times 10^9$ LMW : $\sim 5 \times 10^7$ | Protein : $\sim 3 \times 10^9$ LMW : $\sim 5 \times 10^7$ | $10^3 \sim 10^7$ |
| kd (1/s) | $10^{-6} \sim 0.5$ | $10^{-6} \sim 1$ | $10^{-6} \sim 6$ | $10^{-5} \sim 0.1$ |

②各パラメータが独立して算出されているか？ 十分独立しているものが青信号。

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。

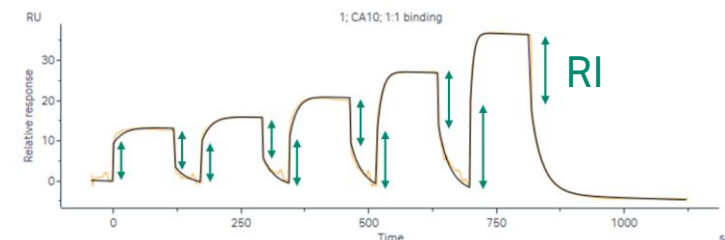
マストランスポートリミテーション下で測定した結果は、 k_a 、 k_d に相関性が見られる。

③溶液効果の値 (RI) の妥当性

インジェクション前後の段差。十分小さければ青信号。

Insight Softwareの場合：デフォルトで固定値0にしているため評価対象外。

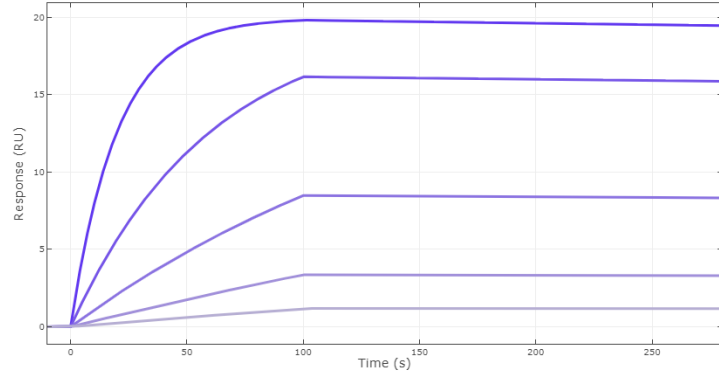
X100の場合：デフォルトで変数のため評価対象。



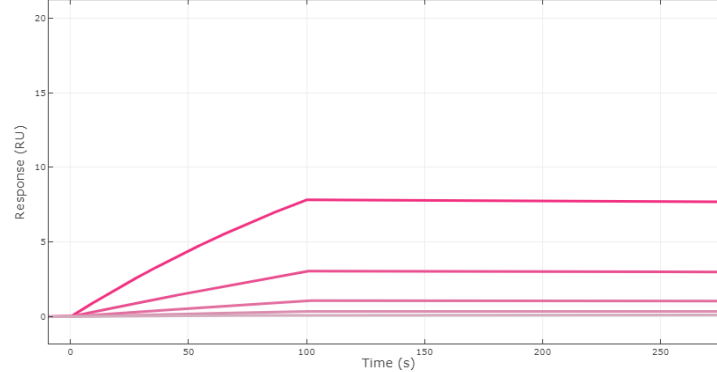
Kinetics解析 クォリティーコントロール(2)

④センサーグラムはカーブを描いているか？：高濃度帯の結合相に注目して目視確認

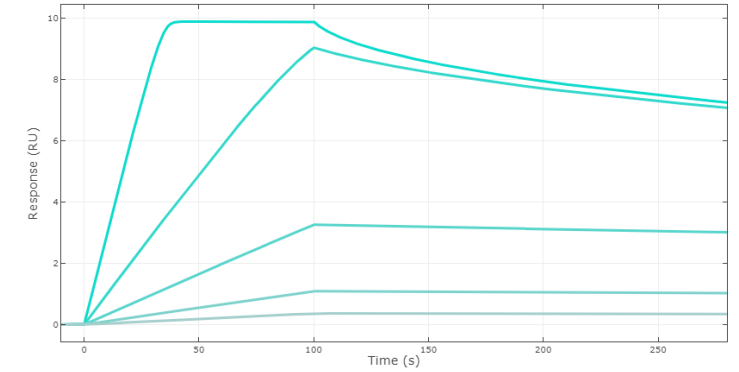
理想的



アナライト低濃度帯に偏っている



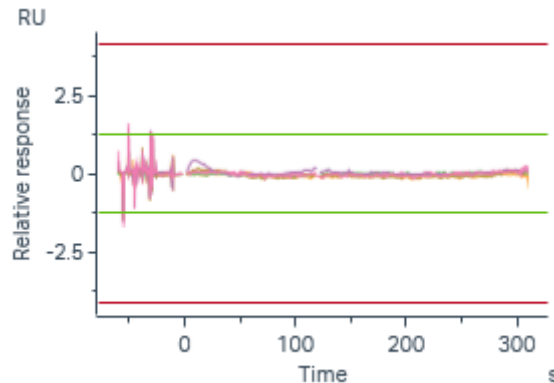
マストランスポートリミテーションの影響が強い



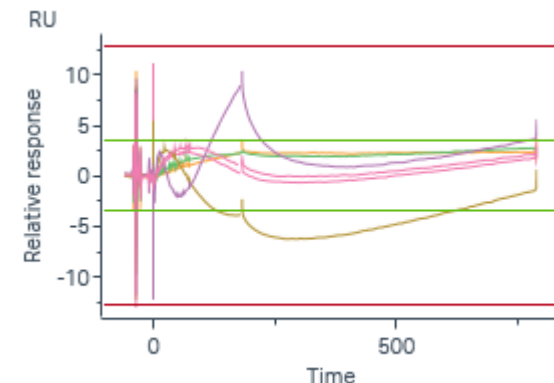
⑤フィッティングカーブに対する測定プロット（残差プロット）がランダムに分散しているか？目視確認

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

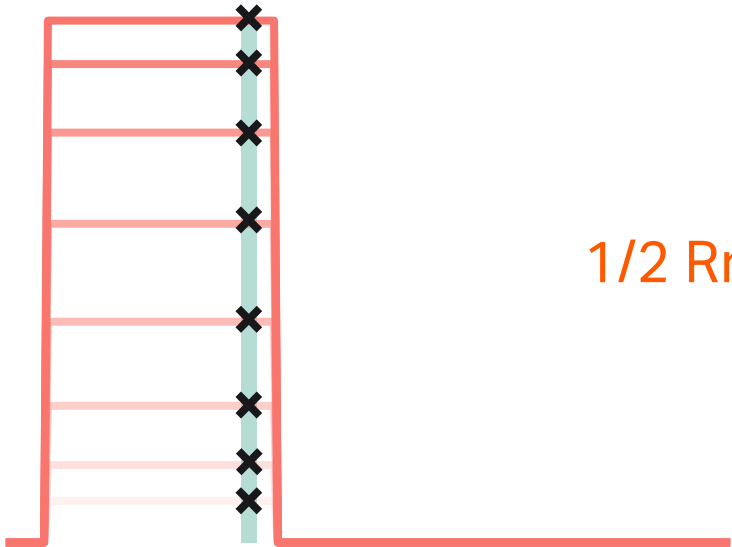


Kinetics解析 各種パラメーター

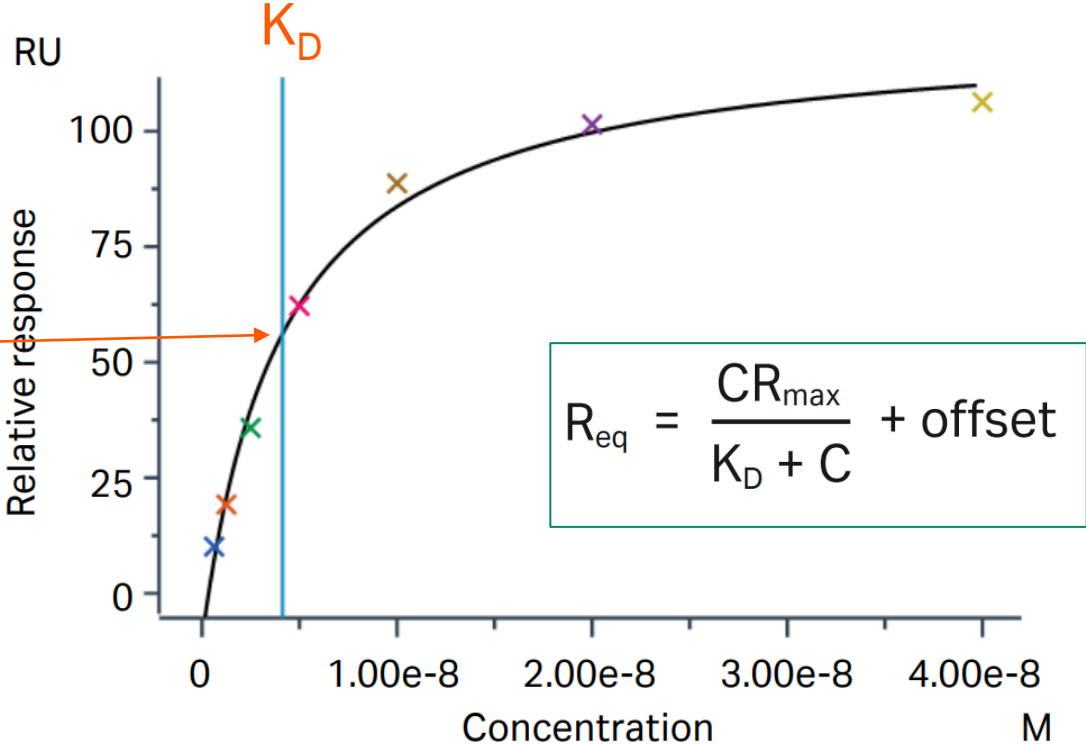
| | | 単位 | 説明 |
|------------------------|------------------|-----------------------------------|---|
| 1:1 binding model 式の変数 | k_a | 1/Ms | 結合速度定数 |
| | k_d | 1/s | 解離速度定数 |
| | K_D | M | 解離定数 |
| | Rmax | RU | アナライトの最大結合レスポンス (RU) |
| | RI | RU | インジェクション前後の段差値。本来は極めて0に近い値をとるべき値。 |
| | tc | $RU \cdot M^{-1} s^{-2/3} m^{-1}$ | $tc = k_t / v^3$ マストランスポート定数 (k_t) の流速非依存性コンポーネント。 |
| Fitting 解に対する評価パラメーター | Chi ² | RU ² | 測定データとフィッティングカーブ間の二乗平均平方根。値が小さいほど良好なフィッティングを示す。 |
| | U-value | - | 各パラメータが独立して算出されているかを示す (1:1 Binding モデル使用時のみ)。 ≤ 15問題なし。≥ 25算出された値の信頼性は低い。 |
| | SE | - | 各パラメータについて標準誤差を算出。 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。 |

Affinity解析を利用した解離定数の算出

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



1/2 Rmax



K_D : 1/2 Rmax (RU)となるアナライト濃度に相当

Affinity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。
ほとんどのAffinity解析で用いられる。
Biacore X100 Evaluation Softwareでは一択。

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

【参考情報】

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Affinity 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。

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

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

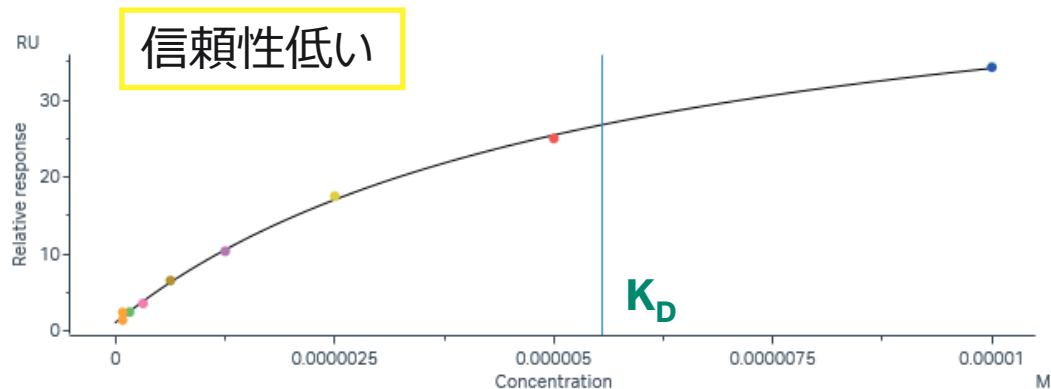
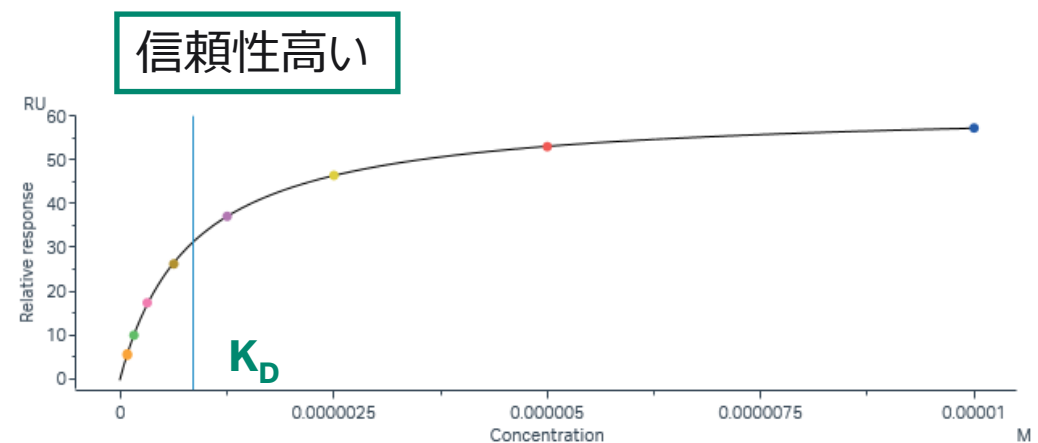
Steady State Affinity (constant Rmax and multi-site)

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。
1つの結合部位には予想される一定のRmax値を入力して解析を行う。

$$R_{eq} = \frac{CR_{max1}}{K_{D1} + C} + \frac{CR_{max2}}{K_{D2} + C} + \text{offset}$$

Affinity解析 クォリティーコントロール 各種パラメータ

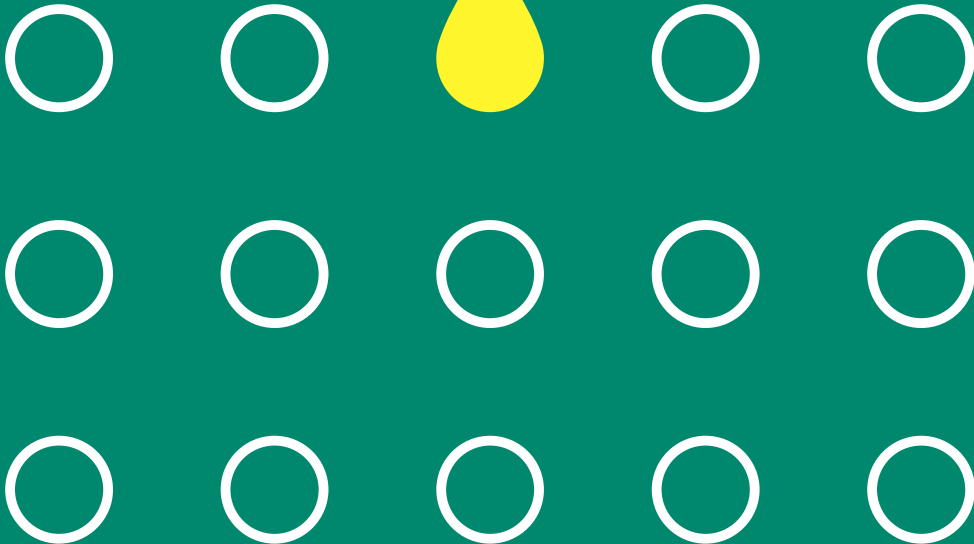
信頼性の高い解析結果
 K_D 値の2倍以上の添加濃度



Cytiva

| | 単位 | 説明 |
|-----------------------------------|--|---|
| Steady State Affinityの 変数 | K_D M | 解離定数 |
| | Rmax RU | アナライトの最大結合レスポンス (RU) |
| | 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二乗平均平方根。 値が小さいほど良好なフィッティングを示す。 |

5. 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 3 | 29229054 | 8K/8K+、1K/1K+/1S+ |
| Desorb kit | BR100823 | 共通 500mL Desorb solution 1 and Desorb solution 2 |

センサーチップの保存

システム内で保管

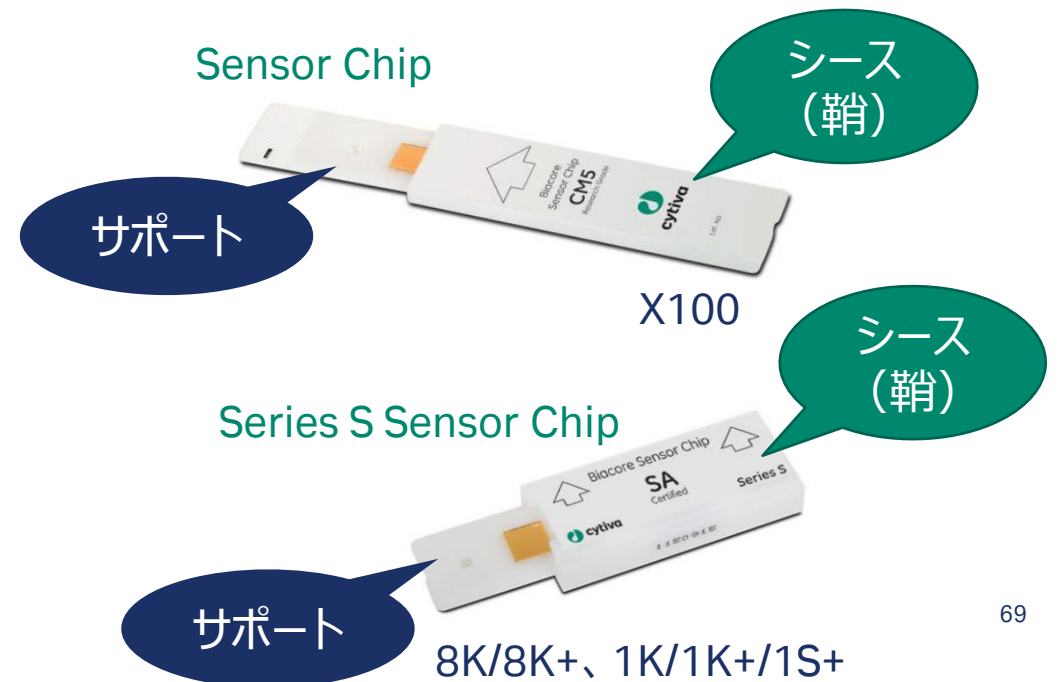
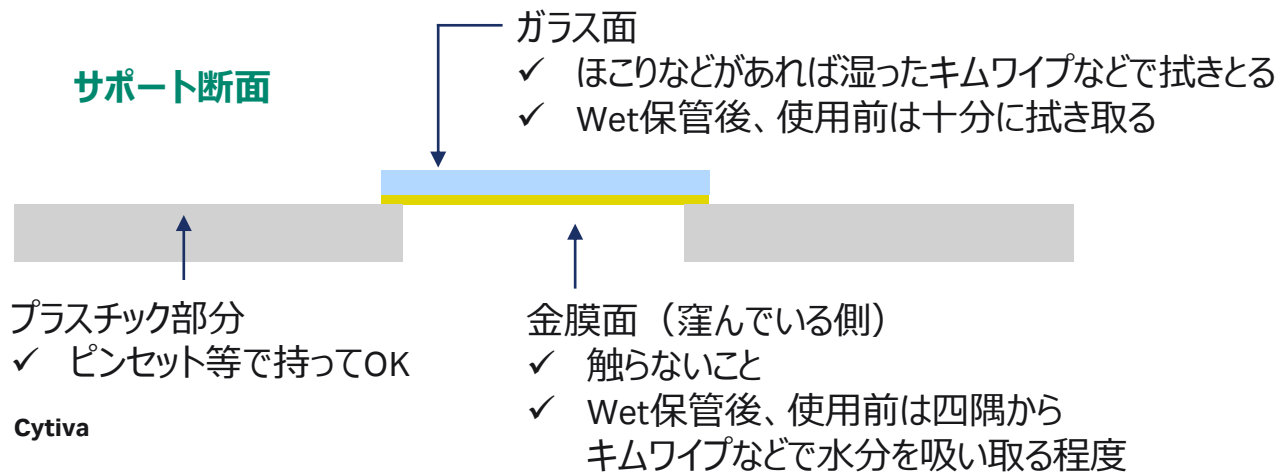
Standby flowのままBiacore本体の中で保管。連続7日間のStandby flowが可能。

Wetで保管

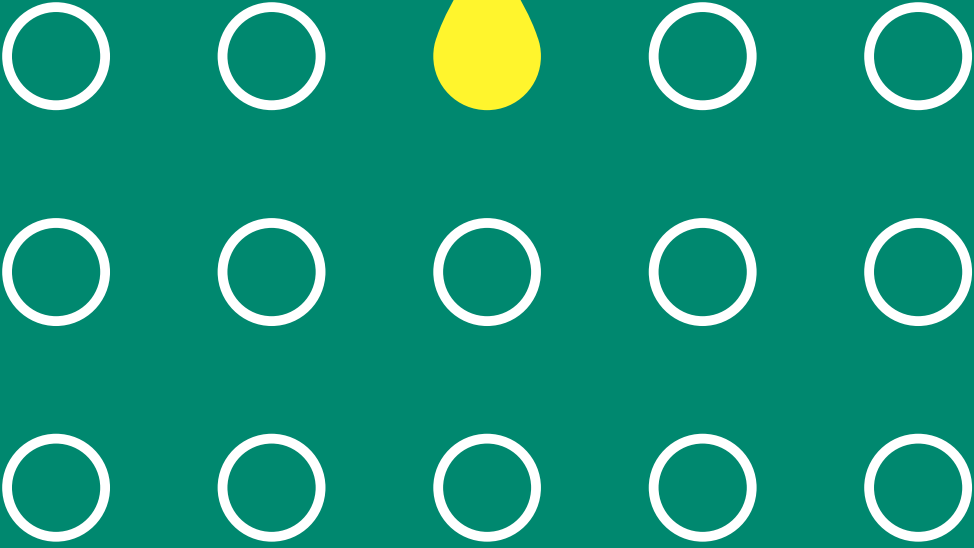
センサーチップのサポート部分をカバーから抜き取り、サポートだけを容器（50 ml のふた付きプラスチック遠心チューブ等）に分注した HBS-EP+などの緩衝液に浸し、4 °C で保存。

Dryで保管

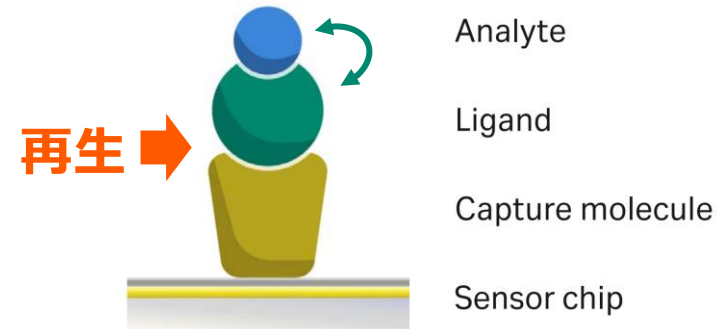
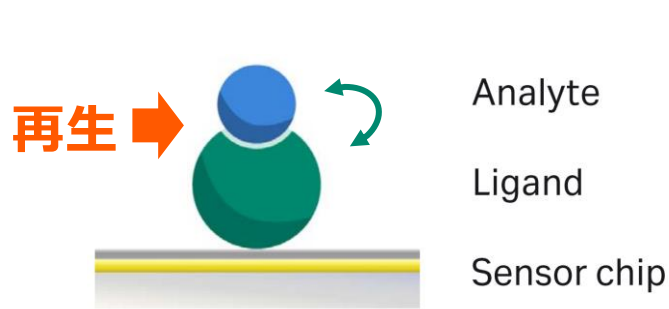
取り出したセンサーチップにパラフィルムを巻いて 4°C で保存。
安定なサンプルを固定したセンサーチップの保存に。



6. 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？



• 共有結合法

- 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
- サイクルの度にリガンドごと付け替える



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

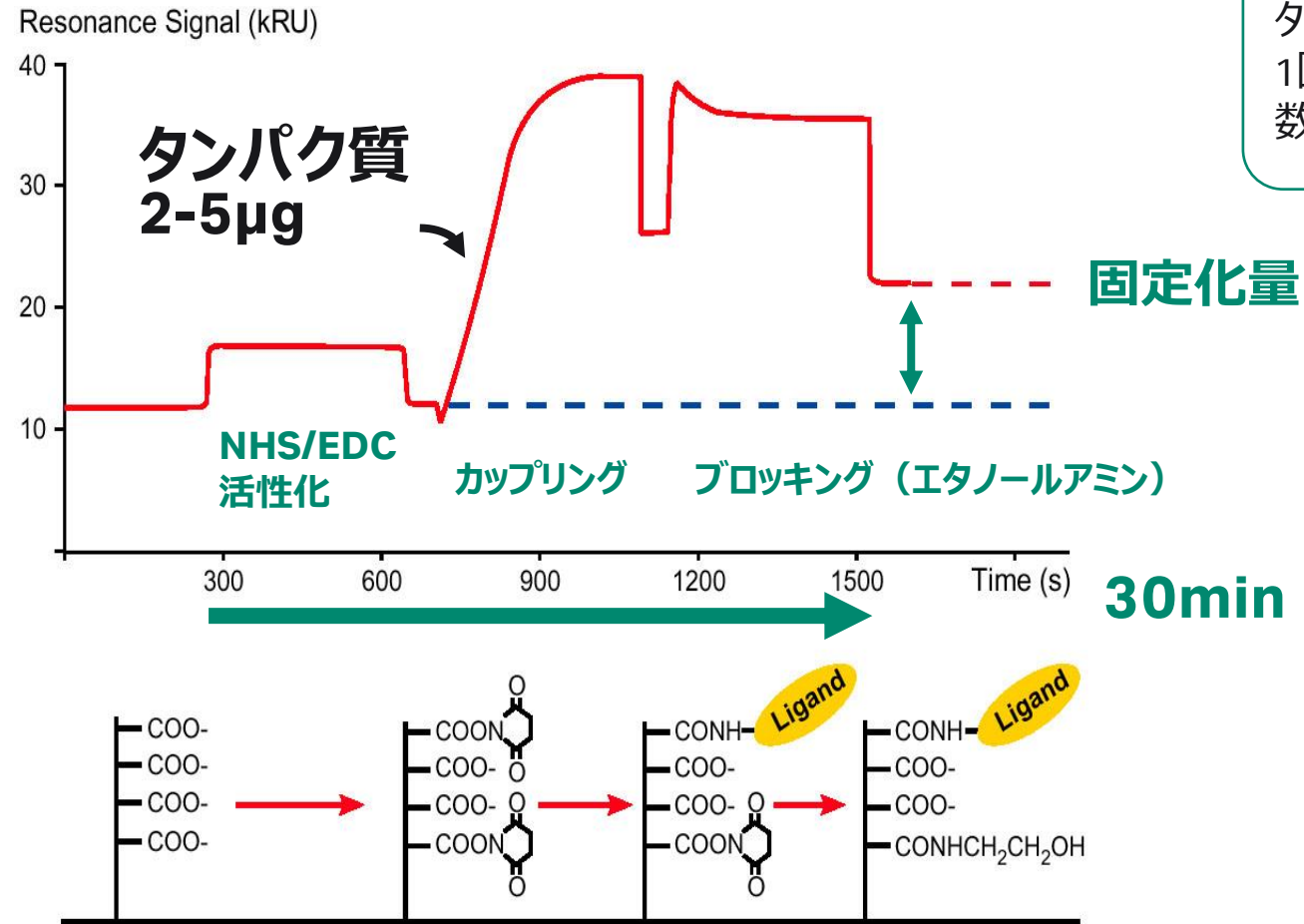
NHS, EDC, Ethanol Amineがセットになっています
(約50固定化分)

* NHS, EDCは超純水で溶解後、小分けにして-18°C以下で保存

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

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



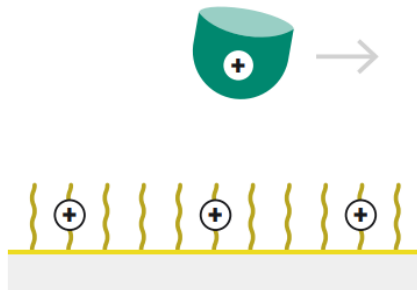
アミンカップリングの前に pH scouting

リガンドを溶解する酢酸バッファーのpH条件検討

* kit 中のcapturing moleculeの場合この条件検討は不要 (適切な固定化バッファーが同梱)

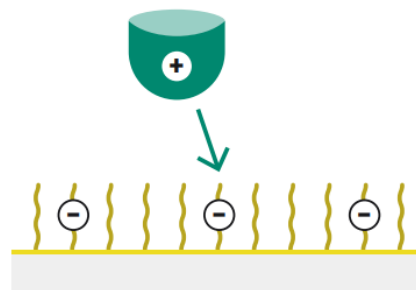
リガンドの等電点より0.5~2.0低いpHの緩衝液で希釈すると、センサーチップ表面近傍でリガンド濃度が上昇する。(プレコンセントレーション効果の利用)

(A) pH < 3.5



- ✓ 中性タンパク →
- ✓ 塩基性タンパク →
- ✓ 酸性タンパク →

(B) 3.5 < pH < pI

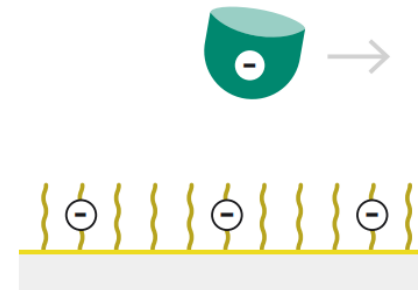


10mM Acetate (pH5.5, 5.0, 4.5, 4.0)

非アミン系の中性緩衝液

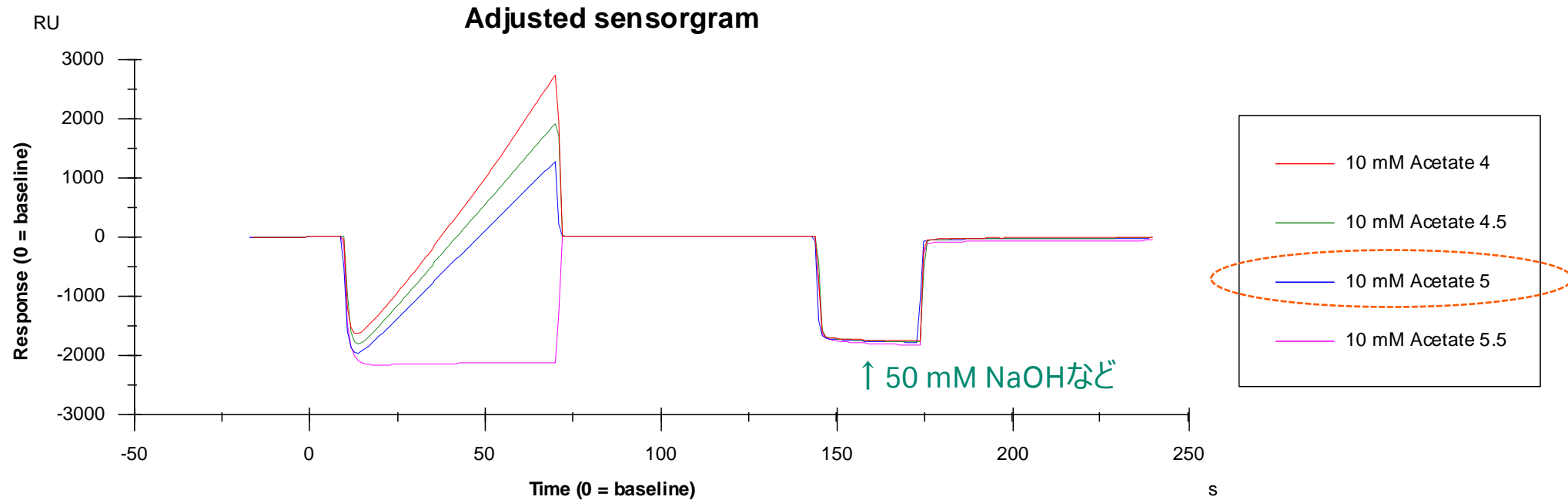
アミンカップリングは困難 → ビオチン化

(C) pH > pI



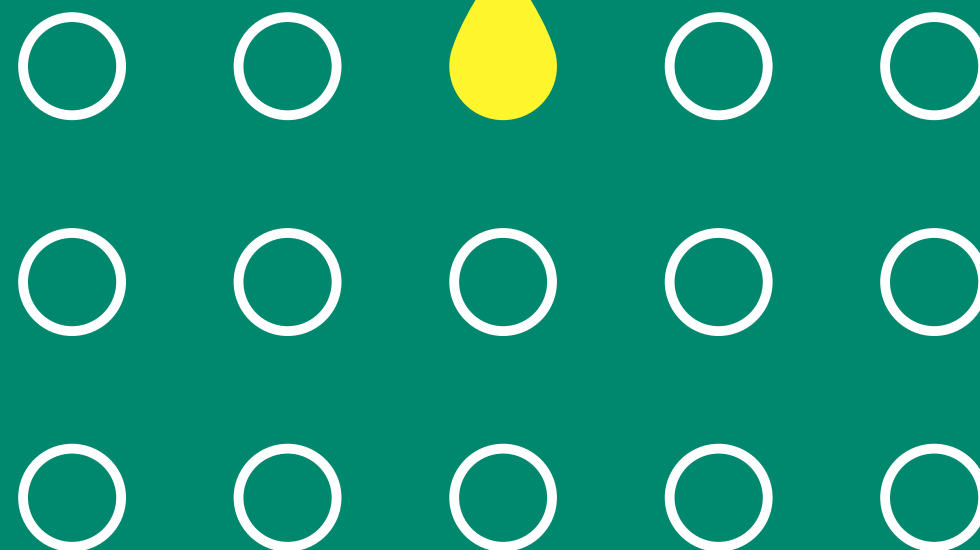
カップリングバッファのpH条件検討 (pH scouting)

EDC/NHS添加前に行う。



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

7. 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

レスポンスがマイナスになるのはどうして？

2022年3月号
Biacoreでデータを取得したら、センサーグラムがマイナスになりました。これを解析することはできますか？...

キャプチャー法でアナライต์だけ剥がせる？

2022年4月号
(キャプチャー法を使う前提で) アナライต์を剥がす方法について教えてください...



鯉沼

コンシェルジュ



高田

コンシェルジュ



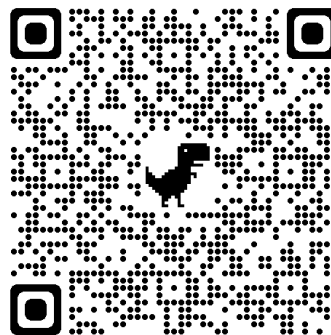
山縣

コンシェルジュ

READ MORE

READ MORE

ご登録はこちら



On-off rate chart 使っていますか？

2023年9月号
標的分子に対して比較的多くの解析分子を測定することも多い、Biacore™ 8 series、1...

READ MORE



侯

デスク

徹底討論：Single cycle kineticsとMulti cycle kinetics

2023年8月号
日々みなさまのお問合せを拝見しておりますと、MC法で実施されている方をしばしば目にします。SC法はMC法と比べて多くのメリットがあり...

READ MORE



三谷

編集長

Quality Assessment のミカタ①

2023年8月号
Kinetics解析のフィッティング計算をした後に出る、緑・黄・赤の信号機マーク、どのように使っていますか？ 緑ならOK、赤ならダメ、黄ならちよ...

READ MORE

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

Learning

The screenshot shows the Japanese Biacore portal. At the top, there is a navigation bar with the Cytiva logo and menu items: Applications, Products, Service & Support, and Our Company. Below this is a search bar with the text '検索のヘルプ'. The main header features the text 'Biacoreポータル' and '生体分子相互作用解析' next to a graphic of four stylized flowers. A secondary navigation bar includes 'Biacore SPR Products', 'Biacore Software Downloads', 'Knowledge Center', 'Self-Learning', and 'Training'. Below this is a section for '製品マニュアル' (Product Manual). The main content area is divided into three columns: 'DIPIA online' (with a group of people icon), 'Biacore FAQ (日本語)' (with a document icon), and 'SPRアッセイを正しく開始するために' (with a gear icon). Each column contains a brief description of the resource.

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



The screenshot shows the English Biacore online courses page. The navigation bar is identical to the Japanese version. Below the search bar, the page title is 'Life science online courses' with the subtitle 'Browse our learning courses and grow your skills'. A dark blue banner highlights three key features: 'Self-paced learning', 'No hidden cost', and 'Up-to-date courses'. The main section is titled 'Catalog' and includes a search bar, a filter menu (ALL, COURSES, LEARNING PROGRAMS), and a 'Name A-Z' dropdown. On the left, there is a 'CATEGORIES' list with checkboxes for 'Bioprocess manufacturing', 'Buffer preparation and management', 'Cell culture', and 'Cell processing for cell and gene therapy'. Two course cards are displayed: 'Get started with Biacore SPR assay' and 'Get to know SPR kinetics and affinity measurements', both marked as 'FREE'. Each card includes a small graphic representing the course content.

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



Consumables

消耗品セレクションガイド



Selection guide

Biacore™ system consumables



<https://cdn.cytivalifesciences.com/api/public/content/digi-16208-pdf>

センサーチップ・キット説明書一覧



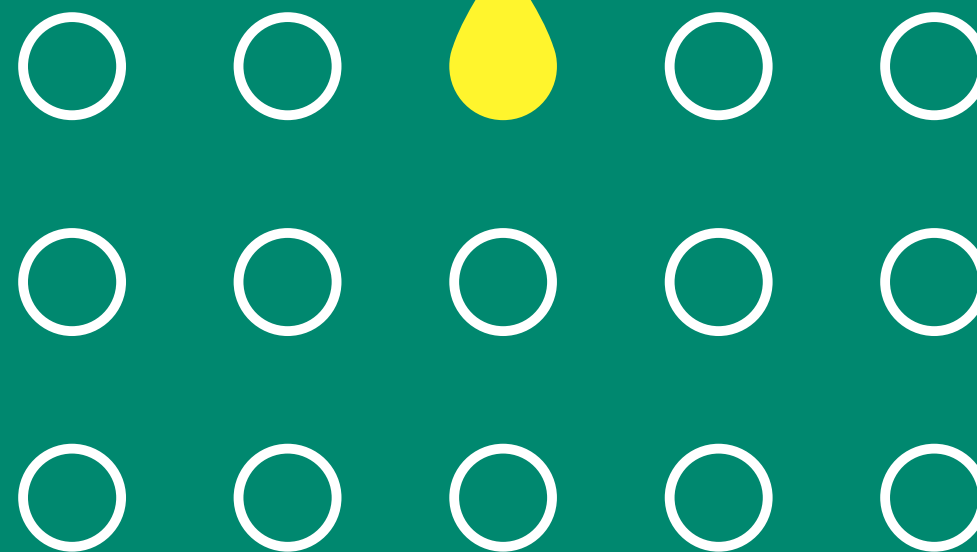
各種センサーチップおよびBiacore™関連キット製品一覧表

Sシリーズ

| 製品名 | 包装数 | コード番号 | IFU |
|--------------------------|-----|----------|-----|
| Series S Sensor Chip CM7 | 3枚 | 29147020 | |
| | 1枚 | 28953828 | |
| Series S Sensor Chip CM5 | 10枚 | 29149603 | |
| | 3枚 | BR100530 | |
| | 1枚 | 29104988 | |
| Series S Sensor Chip CM4 | 3枚 | BR100534 | |
| | 1枚 | 29104989 | |
| Series S Sensor Chip CM3 | 3枚 | BR100536 | |
| | 1枚 | 29104990 | |
| Series S Sensor Chip C1 | 3枚 | BR100535 | |
| | 1枚 | 29104944 | |
| Series S Sensor Chip NTA | 3枚 | BR100532 | |
| | 1枚 | 28994951 | |
| Series S Sensor Chip NA | 3枚 | 29699622 | |
| | 1枚 | 29407997 | |

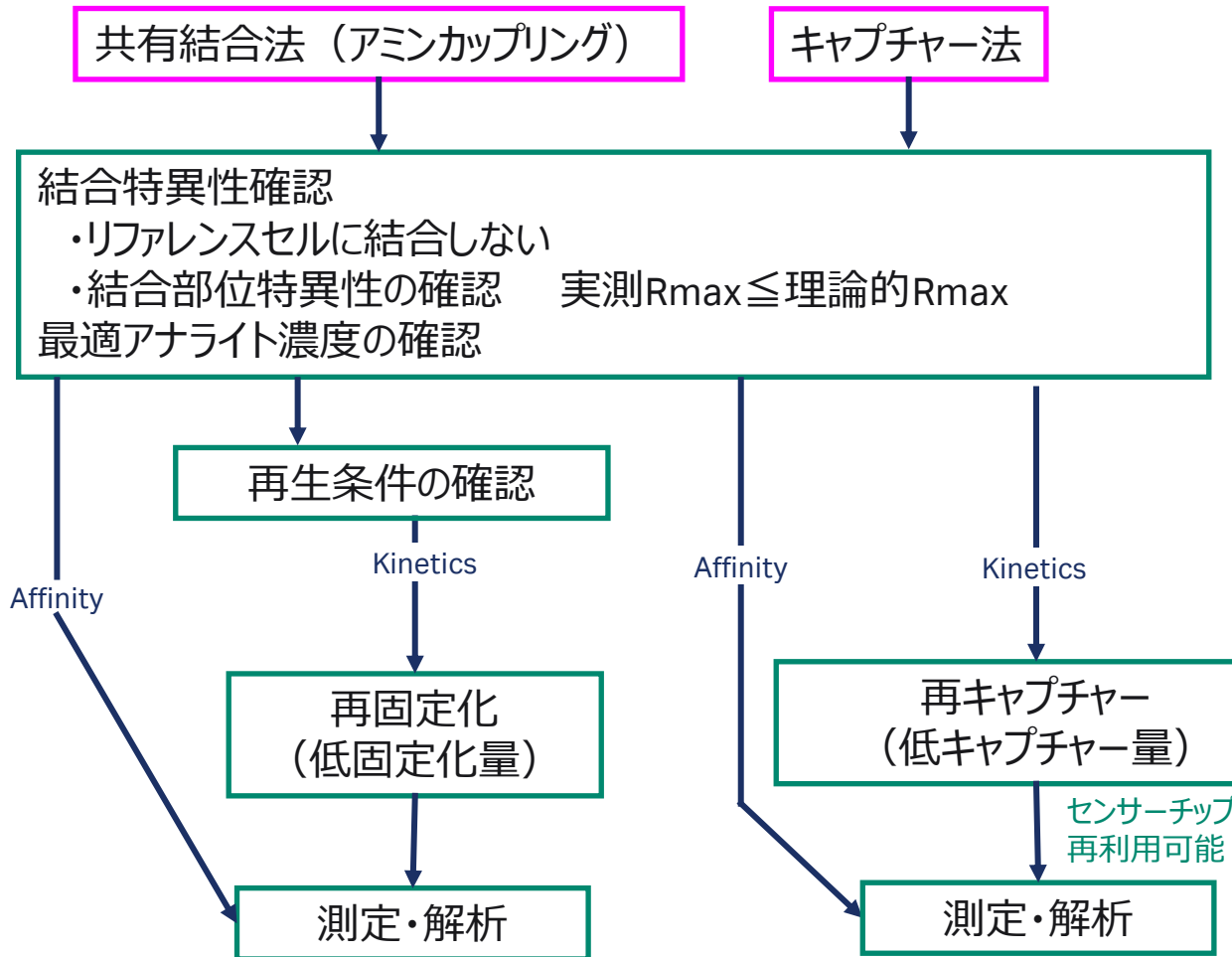
<https://www.cytivalifesciences.co.jp/technologies/biacore/knowledge-center/ifu-list-sensor-chip-kit.html>

Appendix

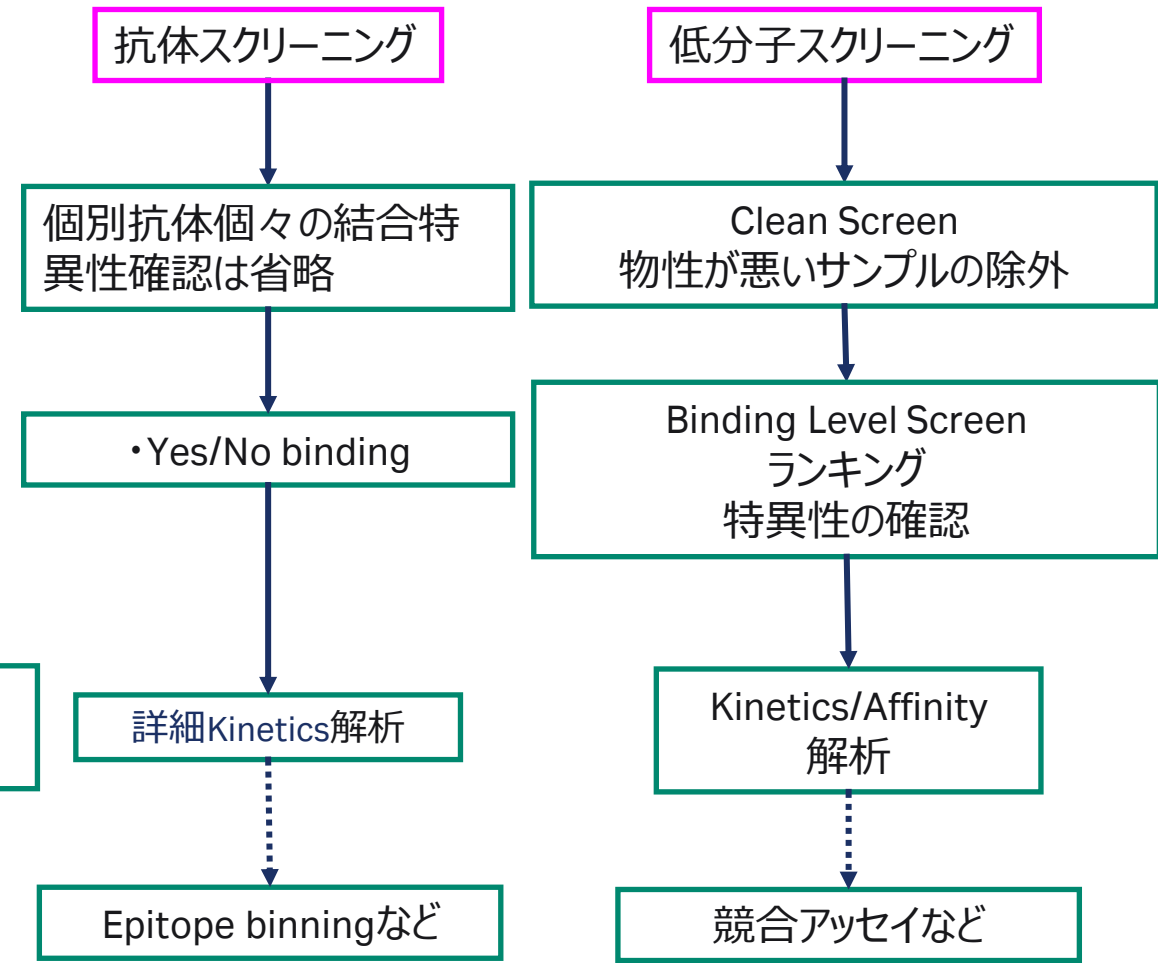


K_D 値算出までの固定化後のワークフロー

検体数が少ない場合

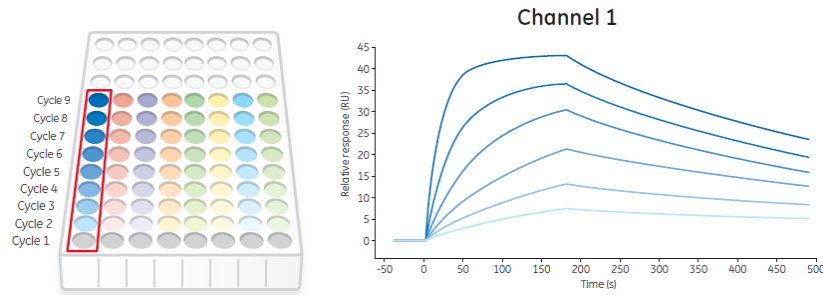


検体数が多い場合 (スクリーニング)



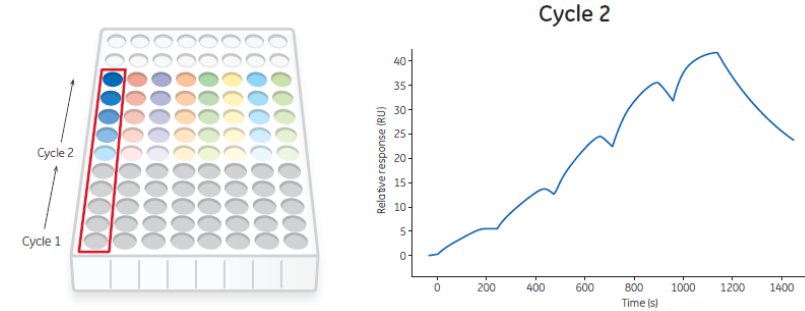
【Tips】Biacore 8K 各種 kinetics 測定方法

- Multi-cycle kinetics



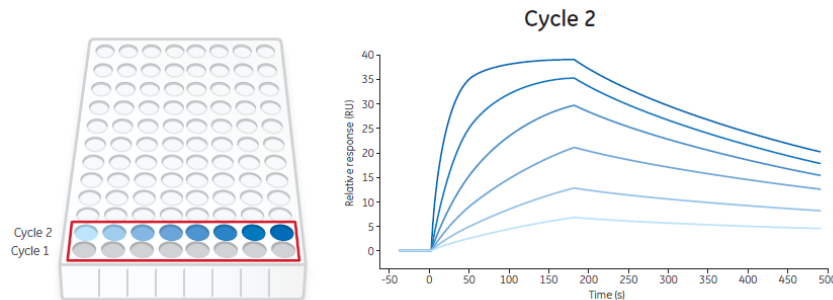
複数アナライトの評価に。

- Single-cycle kinetics



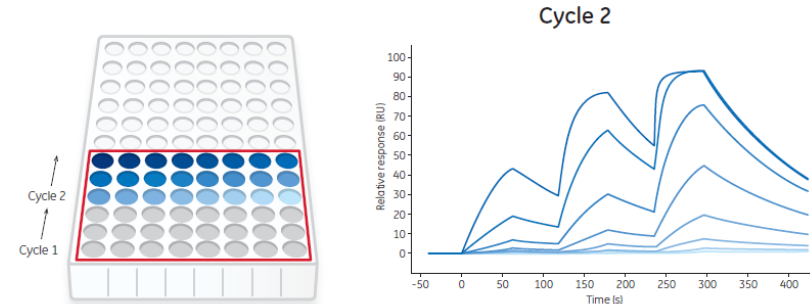
複数サンプルをより早く評価。解離の遅いサンプルも短時間で評価。

- Parallel kinetics



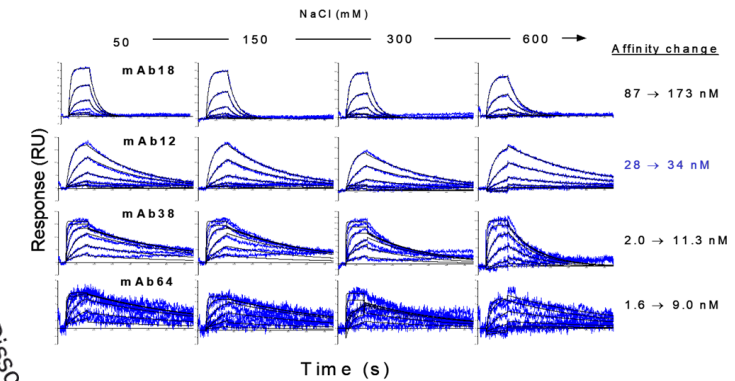
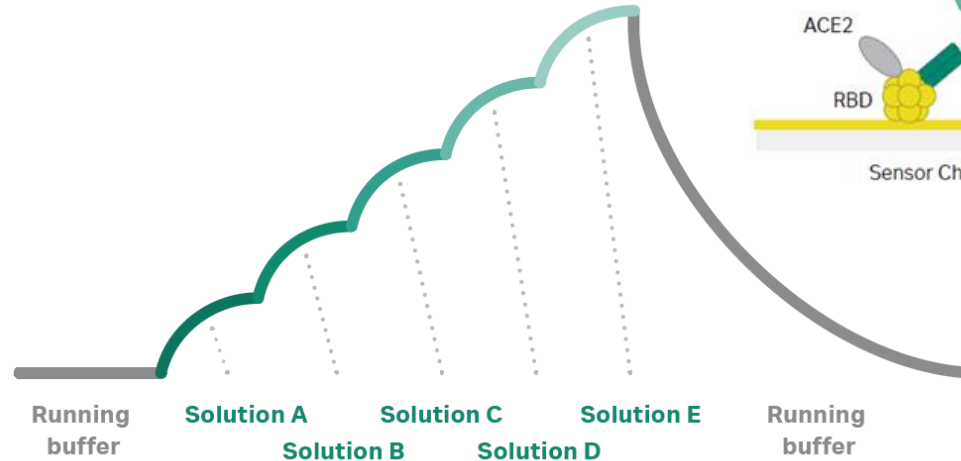
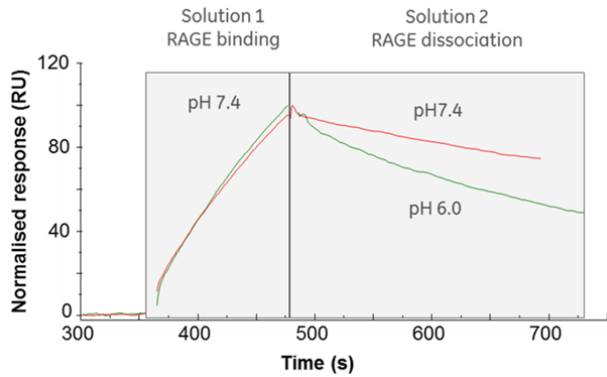
小サンプルを短時間に評価。1種類であれば再生操作不要。
解離の遅いサンプルにも有用。

- 2D-kinetics



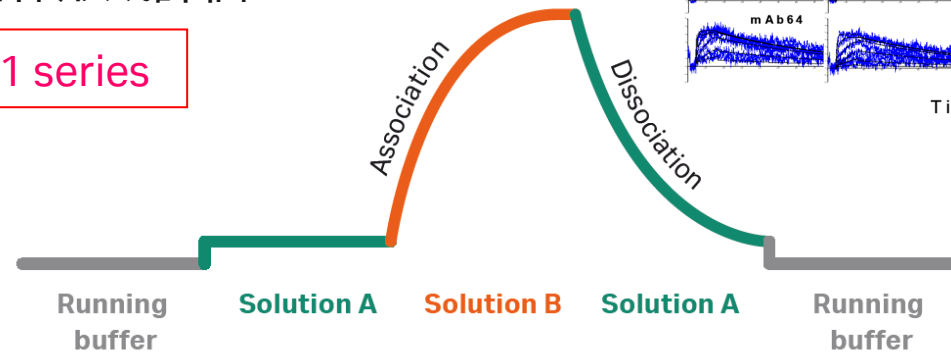
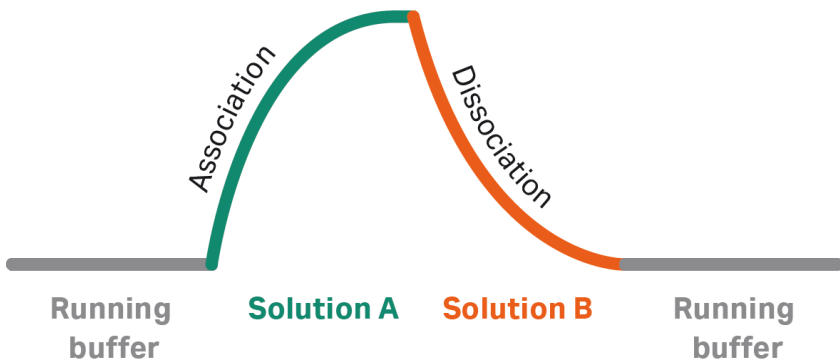
はじめて相互作用を行うサンプルで、広範囲な濃度で一度に評価。

各種インジェクション方法



Poly 複合体形成評価

1 series



Dual pH依存的な解離評価、Epitope binningなど

1 series, 8 series, T200, S200

ABA 複数のバッファー条件検討、アロステリックな結合評価など

1 series, 8 series, S200

【Appendix】適合プレート、フイル、セプタ

| Microplate | Working volume, μL | Foil/Septa | Instrument compatibility | Plate height, mm |
|---|-------------------------------|------------|--------------------------|------------------|
| 96-well, U-bottom, PS, Cytiva, BR100503 | 250 | A/C | 1 to 10 | 14 |
| 96-well, U-bottom, PP, Greiner, 650201 | 250 | A/C | 1 to 10 | 15 |
| 96-well, deep-well, V-bottom, PP, 0.5 mL, Greiner, 786201 | 650 | A/C | 1 to 10 | 27 |
| 96-well, deep-well, U-bottom, PP, 1 mL, Greiner, 780201 | 1000 | A/C | 3 to 10 | 42 |
| 96-well, deep-well, U-bottom, PP, 2 mL, Porvair, 219020MB | 1850 | A/C | 6 to 10 | 45 |
| 96-well, deep-well, U-bottom, PP, 2 mL, Thermo Fisher, 278752 | 1700 | A/C | 6 to 10 | 44 |
| 384-well, V-bottom, PP, Greiner, 781280 | 110 | B | 3 to 10 | 14 |
| 384-well, deep-well, V-bottom, PP, Greiner, 781270 | 200 | B | 3 to 10 | 22 |

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

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

Legend to Instrument compatibility column

| | |
|----|--------------|
| 1 | Biacore 3000 |
| 2 | Biacore C |
| 3 | Biacore 4000 |
| 4 | Biacore T200 |
| 5 | Biacore S200 |
| 6 | Biacore 8K |
| 7 | Biacore 8K+ |
| 8 | Biacore 1K |
| 9 | Biacore 1K+ |
| 10 | Biacore 1S+ |

【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2024年4月現在の希望小売価格です（消費税は含まれておりません）。希望小売価格は単なる参考価格であり、弊社販売代理店が自主的に設定する販売価格を何ら拘束するものではありません。掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。

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

したがって、当資料上の掲載内容に誤りがあった場合でも弊社は責任を負いかねます。



Thank you

