

9月号

スクリーニング：抗体編

- ◆ 準備
 - 実験に必要なサンプル情報
 - センサーチップや消耗品
- ◆ 測定系セットアップ
 - センサーチップの準備（キャプチャー分子固定化）
 - サンプルの前処理・希釈、測定条件の設定
- ◆ 抗体スクリーニングの実施
- ◆ センサーチップの保管・装置のシャットダウン



はじめに

9月号は、はじめて抗体スクリーニングを行う場合の実験ノートです。ハイブリドーマ培養上清などのライブラリから、抗原に対する結合の有無を指標にヒット抗体を選抜する（Report point-based screening）の手順書となっています。

抗体の K_D 、 k_a 、 k_d 値の算出を目的とする場合、5月号「抗原—抗体の相互作用」をご参考にしてください。抗体スクリーニングを行う場合、再生条件検討が不要になる、ハイブリドーマ培養上清から目的の抗体が簡易精製できるといった理由から、抗体をリガンドとしたキャプチャー法を用いていただくことが一般的となります。本稿は、キャプチャー法を用いた抗体スクリーニングのガイドとなります。



抗体スクリーニング～抗原—抗体の相互作用の詳細に関しては、こちらの Webinar もご参考にしてください。

イチから始める Biacore™での抗体スクリーニング

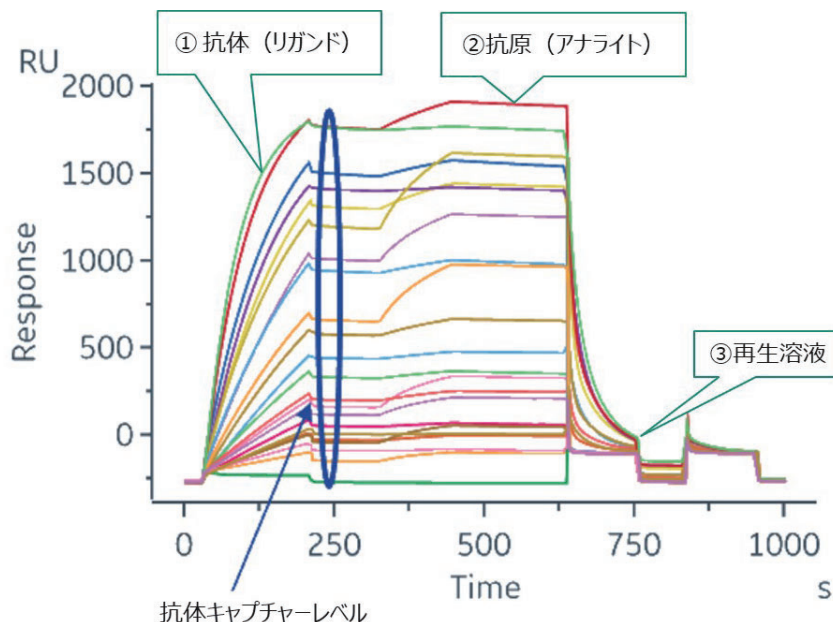
<https://www.cytivalifesciences.co.jp/contact/ondemand/ondemand-antibody-screening-biacore.html>



Biacore X100 は設置できるバイアル数が 15 本と限られるため、多検体スクリーニングには不向きです。

本測定で得られるセンサーグラムおよびプロット

キャプチャー法による抗体スクリーニングでは、以下のようなセンサーグラムが得られます。①リガンドである抗体がキャプチャーされます。②アナライトである抗原を添加します。③再生溶液で①②の全てを外してベースラインに戻ります。

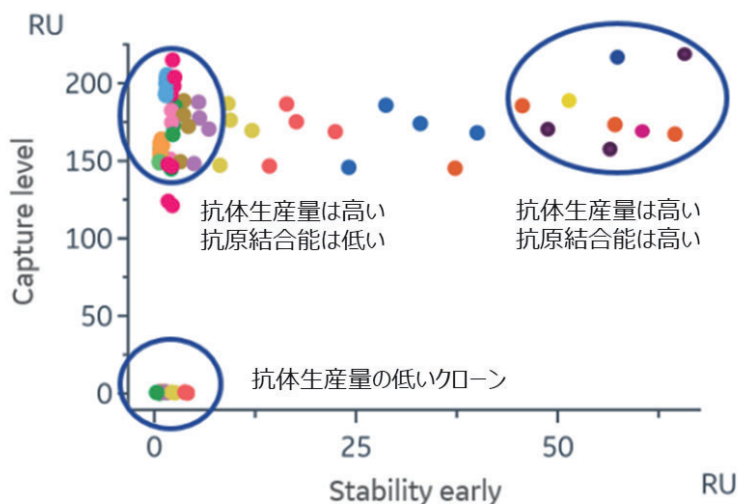


MEMO

多検体の結合レスポンスを比較する場合、Evaluation Software を用いて以下のようなスキャタープロットを作成して、データを評価します。

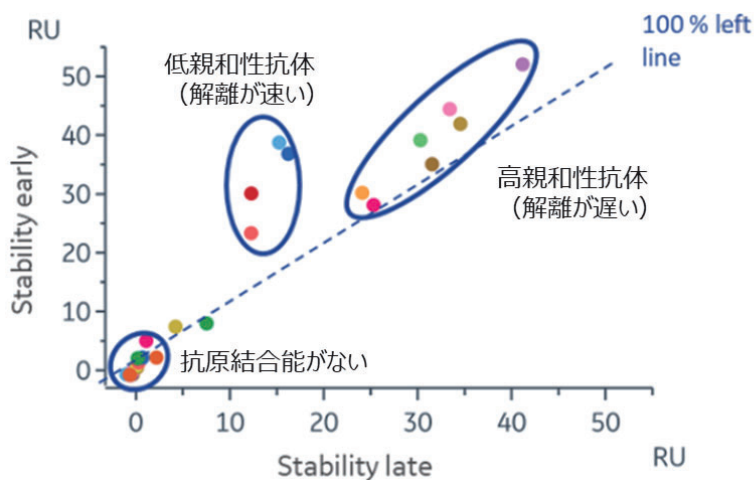
Stability early vs Capture Level

X 軸に Stability early（抗原アナライトインジェクション終了直後）のレスポンス、Y 軸に Capture Level（抗体リガンドインジェクション終了後）のレスポンスを設定します。Capture Level のレスポンスが見られない場合、そもそも抗体生産量が低い（無い）クローンと評価します。Capture Level が得られた中でも、Stability early のレスポンスが高いほどターゲット抗原に対する結合能を持った抗体が産生されていると評価します。



Stability early vs Capture Level

続いて、X 軸に Stability late（抗原アナライトインジェクション終了数分後）のレスポンス、Y 軸に Stability early（抗原アナライトインジェクション終了直後）のレスポンスを設定します。Stability early のレスポンスが見られない場合、ターゲット抗原に対する結合能が低い（無い）クローンと評価します。Stability early が得られた中でも、Stability late のレスポンスが高いほどターゲット抗原に対する親和性が高い（解離が遅い）抗体が産生されていると評価します。



MEMO

準備

1. 実験に必要なサンプル情報

リガンドとアナライト

抗体スクリーニングを実施する場合、抗体をリガンドとしたキャプチャー法を用いていただくことが、第一選択です。

抗体の種類

抗体をリガンドとしてキャプチャーして抗体スクリーニングを実施する場合、Protein A、Protein G、Protein L、抗ヒト抗体、抗マウス抗体などをキャプチャー分子とします。そのため、抗体の動物種やアイソタイプを明らかにしてください。

1) Sensor Chip Protein A、Sensor Chip Protein G、Sensor Chip Protein L を用いる場合

Protein A や G や L が pre-immobilize されたチップで、遠心あるいはフィルトレーション済みの培養上清などをそのまま添加することで抗体はキャプチャーされます。大体これで問題ないですが、培養液中の FCS (Fatal Calf Serum) と非特異的結合することがあります。

Sensor Chip	抗体種
Sensor Chip Protein A	Human IgG1, IgG2 and IgG4 mammalian IgG mouse IgG1 との親和性は低く kinetic 測定には不向きです。
Sensor Chip Protein G	Human, rat, mouse, rabbit, sheep, goat, pig, cow, horse IgG chicken IgG, human IgA, IgD, IgE and IgM には結合しません
Sensor Chip Protein L	Kappa light chain subtypes 1,3 and 4 bovine immunoglobulins には結合せず、血清入り培地に便利です。

2) 各種 Antibody Capture Kit を用いる場合

Sensor Chip CM5 にキャプチャー用分子をアミンカップリングする必要があります。弊社では、Mouse antibody capture kit、Human antibody capture kit、Human Fab capture kit を取り扱っておりますが、その他の動物種についてはご用意いただきます。通常 Reference cell にもキャプチャー用分子を固定化しますがタンパク質フリーにしたい場合、あえて固定化しない選択肢もあります。Protein G は FCS と結合するためキャプチャーキットが選ばれることもあります。mouse IgG1 が含まれる場合もキャプチャーキットをお勧めします。



抗体用の各種センサーチップおよびキットの使い分けに関しては、こちらの記事もご参考にしてください。

Series S Sensor Chip PrismaA どんなセンサーチップ？

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



MEMO

分子量とストック濃度

抗原タンパク質のストック濃度は、数 mg/ml など可能な限り高濃度なものをご用意ください。

抗体の濃度情報や分子量情報は必須ではありません。

【実験メモ】

	分子種／分子名	分子量	ストック濃度	結合価数
抗原				
抗体				

2. 実験に必要なセンサーチップや消耗品

抗体スクリーニングで必要となるセンサーチップや消耗品を下記にまとめました。

にチェックを入れながら準備を進みえていただくと確実です。

実験全体を通じて用意するもの

- 超純水 ……バッファーの希釈、洗浄水など
- 紙製のウエス（キムワイブなど）
- ピンセット
- マイクロピペット・チップ・マイクロチューブ類

センサーチップ・キット

抗体のキャプチャー法には、大きく分けて下記 1)、2) の 2 種類の方法があります。

選択基準は、前述「1.実験に必要なサンプル情報」の「抗体の種類」をご覧ください。

1) Sensor Chip Protein A、Sensor Chip Protein G、Sensor Chip Protein L を用いる場合

- Series S Sensor Chip Protein A (3 枚 : 29127556、1 枚 : 29127555)
- Series S Sensor Chip Protein G (1 枚 : 29179315)
- Series S Sensor Chip Protein L (1 枚 : 29205138)
* Biacore 8K,8K+,T200,S200 の場合、上記いずれかを用います。
- Sensor Chip Protein A (3 枚 : 29127558、1 枚 : 29127557)
- Sensor Chip Protein G (1 枚 : 29179316)
- Sensor Chip Protein L (1 枚 : 29205137)
* Biacore X100 の場合、上記いずれかを用います。



MEMO

2) 各種 Antibody Capture Kit を用いる場合

- Series S Sensor Chip CM5 (10枚 : 29149603、3枚 : BR100530、1枚 : 29104988)
* Biacore 8K,8K+,T200,S200 の場合
- Sensor Chip CM5 (10枚 : 29149604、3枚 : BR100012、1枚 : BR100399)
* Biacore X100 の場合
- Amine Coupling Kit (BR100050)
* Biacore 8K,8K+,T200,S200,X100 で共通
- Human Fab Capture Kit (28958325)
- Human Antibody Capture Kit (BR100839)
- Mouse Antibody Capture Kit (BR100838)
* Biacore T200,S200,X100 の場合、上記いずれかを用います。
- Human Fab Capture Kit, type 2 (29234601)
- Human Antibody Capture Kit, type 2 (29234600)
- Mouse Antibody Capture Kit, type 2 (29215281)
* Biacore 8K,8K+の場合、上記いずれかを用います。



各種 Antibody Capture Kit に加えて、Sensor Chip CM5、Amine Coupling Kit が必要です。

ランニングバッファー

- HBS-EP+ 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA and 0.05% v/v Surfactant P20 (Tween 20)
- HBS-P+ 10 mM HEPES, 150 mM NaCl and 0.05% v/v Surfactant P20 (Tween 20)



第一選択は HBS-EP+ です。弊社では 10x 濃度の HBS-EP+, 10x、HBS-P+, 10x を取り扱っております。超純水で要時調製してください。Biacore X100 Base package または Biacore 3000 以前の機種をご使用の場合、脱気が必要です。

再生溶液

- 10 mM Glycine-HCl, pH 1.5 (BR100354) * Sensor Chip Protein A、Sensor Chip Protein G 共通
- 10 mM Glycine-HCl, pH 1.7 * Sensor Chip Protein L



10 mM Glycine-HCl, pH 1.7 は、下記のように混合することでも作成できます。

4.6 ml, 10 mM Glycine-HCl pH 1.5 (BR100354) + 5.4 ml, 10 mM Glycine-HCl pH 2.0 (BR100355)



各種 Antibody Capture Kit を使用するの場合、再生溶液はキットに付属します。



上記は第一選択の手法です。再生が十分でない場合、IFU の Alternative regeneration procedures をご参照ください。

MEMO

サンプル

- リガンド：抗体ライブラリ（ハイブリドーマ培養上清など）
- アナライト：抗原

■製品情報

製品	包装	コード番号
Series S Sensor Chip Protein A	3 枚	29127556
Series S Sensor Chip Protein A	1 枚	29127555
Series S Sensor Chip Protein G	1 枚	29179315
Series S Sensor Chip Protein L	1 枚	29205138
Series S Sensor Chip CM5	10 枚	29149603
Series S Sensor Chip CM5	3 枚	BR100530
Series S Sensor Chip CM5	1 枚	29104988
Sensor Chip Protein A	3 枚	29127558
Sensor Chip Protein A	1 枚	29127557
Sensor Chip Protein G	1 枚	29179316
Sensor Chip Protein L	1 枚	29205137
Sensor Chip CM5	10 枚	29149604
Sensor Chip CM5	3 枚	BR100012
Sensor Chip CM5	1 枚	BR100399
Amine Coupling Kit	1 キット	BR100050
Human Fab Capture Kit	1 キット	28958325
Human Fab Capture Kit, type 2	1 キット	29234601
Human Antibody Capture Kit	1 キット	BR100839
Human Antibody Capture Kit, type 2	1 キット	29234600
Mouse Antibody Capture Kit	1 キット	BR100838
Mouse Antibody Capture Kit, type 2	1 キット	29215281
Glycine 1.5	1×100 ml	BR100354
Glycine 2.0	1×100 ml	BR100355

MEMO

3. ランニングバッファの準備

Biacore 使用時には常にランニングバッファを流し続けます。抗体スクリーニングでは、第一選択は HBS-EP+ です。HEPES ベースに、静電的吸着を抑える NaCl、疎水結合を抑える Surfactant P20 (Tween 20)、2 価の金属イオンによるタンパク質凝集を抑える EDTA が添加されています。EDTA を除きたい場合、HBS-P+を用います。

- HBS-EP+ 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA and 0.05% v/v Surfactant P20 (Tween 20)
- HBS-P+ 10 mM HEPES, 150 mM NaCl and 0.05% v/v Surfactant P20 (Tween 20)



弊社では 10x 濃度の HBS-EP+, 10x、HBS-P+, 10x を取り扱っております。超純水で要時調製してください。Biacore X100 Base package または Biacore 3000 以前の機種をご使用の場合、脱気が必要です。



終夜運転で 1 測定を行う場合、以下のバッファ量を目安にご用意ください。

- Biacore 8K/8K+ … 500 ml
- Biacore T200/S200 … 200 ml
- Biacore X100 … 150 ml



自作のバッファもご使用いただけますが、粉末から作成した場合、0.22μm フィルターろ過を行います。



各機種における Standby Flow 時のランニングバッファ消費量は以下の通りです。数日（7 日間以内）Standby Flow で置いておく際など、バッファの残量に気を付けてください。

- Biacore 8K/8K+ … 260 ml/ 24 時間
- Biacore T200/S200 … 65 ml/ 24 時間
- Biacore X100 … 200 ml/ 7 日間

■ 製品情報

製品	包装	コード番号
HBS-EP+, 10x	1×1,000 ml	BR100669
HBS-EP+, 10x	4×50 ml	BR100826
HBS-P+, 10x	1×1,000 ml	BR100671
HBS-P+, 10x	4×50 ml	BR100827

MEMO

🔧 キャプチャー分子（抗 IgG 抗体など）の固定化

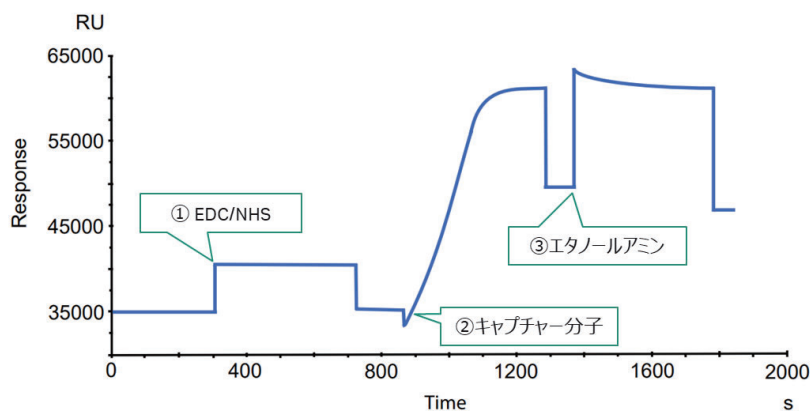
各種 Antibody Capture キットを用いる場合、はじめのステップとして Sensor Chip CM5 にキャプチャー分子（抗 IgG 抗体など）の固定化します。固定化にはアミンカップリング法を用います。

アミンカップリング法で得られるセンサーグラム

アミンカップリング法によるキャプチャー分子の固定化では、以下のようなセンサーグラムが得られます。

- ① NHS/EDC 添加によりセンサーチップのカルボキシル基が活性化します。
- ② キャプチャー分子を添加します。
- ③ エタノールアミンで、活性化したカルボキシル基の残りをブロッキングします。

ベースラインに対する高さの変化が固定化量です。



1. Amine Coupling Kit の準備

Sensor Chip CM5 へのキャプチャー用抗 IgG 抗体の固定化するにはアミンカップリング法を用います。Amine Coupling Kit は 3 つのボトルで構成されます。

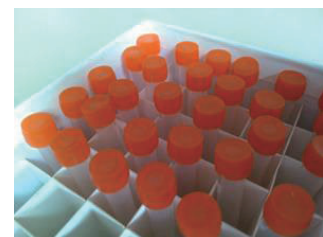


- N-Hydroxysuccinimide (NHS), 115 mg
- 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC), 750 mg
- 1 M Ethanolamine hydrochloride-NaOH pH 8.5 (Ethanolamine), 10.5 mL

NHS、EDC は、はじめ 10 ml の超純水に溶解します。

i 溶解後の NHS、EDC は、-18℃以下で凍結保存します。100 µl 程度バイアルに小分けにすることをお勧めします。Biacore 8K/8K+の場合、PCR 8 連チューブが便利です。Ethanolamine 溶液は 2-8℃の冷蔵保存です。

! NHS、EDC は超純水に溶解すると、凍結保存していても 2 か月程度経過すると徐々に最大固定化量が減少してきます。



MEMO

2. センサーチップおよびシステムの準備

Sensor Chip のドック

Sensor Chip CM5 は、機種によってご使用いただくセンサーチップ形状が異なります。バッファーストリンクに適切なランニングバッファを準備して、Sensor Chip CM5 をドックします。



Series S Sensor chip CM5

* Biacore 8K,8K+,T200,S200 の場合



Sensor chip CM5

* Biacore X100 の場合

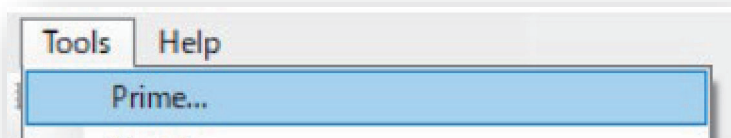
システムのバッファ置換

測定をはじめの前には、使用するランニングバッファでシステム内の溶液置換を行います。バッファ用チューブがボトルにセットされていることを確認し、以下を実行します。

Biacore 8K の場合 : Instrument Control タブから Change Solutions を選択



Biacore T200, S200, X100 の場合 : メニューバーから Tools → Prime を選択



MEMO

3. キャプチャー分子（抗 IgG 抗体など）の固定化

各種 Antibody Capture Kit に付属している Immobilization buffer でキャプチャー分子（抗 IgG 抗体など）を希釈し、各機種の方法を用いて固定化を行います。各キットの使用方法是各種 IFU をご参照ください。

Immobilization buffer による抗 IgG 抗体の希釈

各キット付属のキャプチャー分子と Immobilization buffer、および、希釈方法は以下の通りです。

- Human Fab Capture Kit (28958325)
- Human Fab Capture Kit, type 2 (29234601)
 - ・ Human Fab Binder, 0.5 mg/ml in 0.15 M NaCl
 - ・ Immobilization buffer: 10 mM sodium acetate pH 5.020 µg/ml Human Fab Binder に希釈します。

(例) 5 µl Human Fab binder stock solution + 120 µl immobilization buffer

- Human Antibody Capture Kit (BR100839)
- Human Antibody Capture Kit, type 2 (29234600)
 - ・ Anti-Human IgG (Fc) antibody: 0.5 mg/ml in 0.15 M NaCl
 - ・ Immobilization buffer: 10 mM sodium acetate pH 5.025 µg/ml Anti-Human IgG (Fc) に希釈します。

(例) 5 µl Anti-Human IgG (Fc) stock solution + 95 µl immobilization buffer

- Mouse Antibody Capture Kit (BR100838)
- Mouse Antibody Capture Kit, type 2 (29215281)
 - Anti-Mouse antibodies: 1 mg/ml in 0.15 M NaCl
 - Immobilization buffer: 10 mM sodium acetate pH 5.030 µg/ml Anti-Mouse antibodies に希釈します。

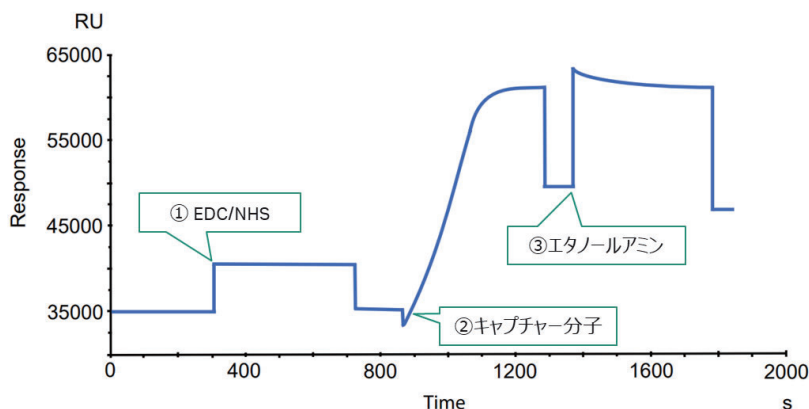
(例) 5 µl Anti-Mouse antibodies stock solution + 162 µl immobilization buffer



MEMO

アミンカップリングによる固定化

およそ 5,000 RU 以下になるように、キャプチャー用抗体の固定化を目指します。固定化量が高くなると、特にハイブドーマ培養上清などのクールドなサンプルの場合、夾雑物が非特異的結合を起こす可能性があります。アミンカップリングによる固定化には、機種ごとのメソッドを用いてください。各システムの使用方法は各種マニュアルをご参照ください。



i 各種 Antibody Capture kit 付属の IFU の Procedure に沿って固定化を行った場合、Sensor Chip CM5 使用時の固定化量は以下が目安となります。およそ 5,000 RU 以下の固定化量を目指すため、キャプチャー分子のコンタクト時間などを調整してください。

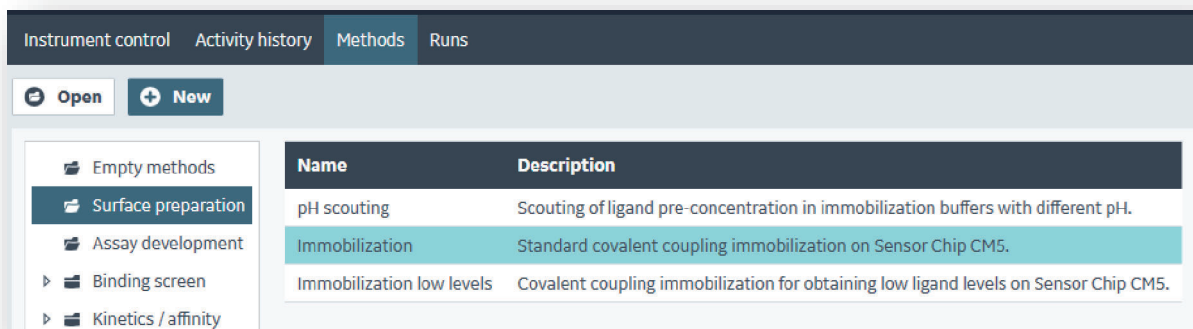
- Human Fab Capture Kit (28958325) ... 9,000 to 13,000 RU
- Human Fab Capture Kit, type 2 (29234601) ... 7,000 to 13,000 RU
- Human Antibody Capture Kit (BR100839) ... 9,000 to 14,000 RU
- Human Antibody Capture Kit, type 2 (29234600) ... 7,000 to 14,000 RU
- Mouse Antibody Capture Kit (BR100838) ... 9,000 to 14,000 RU
- Mouse Antibody Capture Kit, type 2 (29215281) ... 7,000 to 14,000 RU

! キャプチャー分子は、必ずアクティブセルおよびリアレンスセルの両方に固定化します。

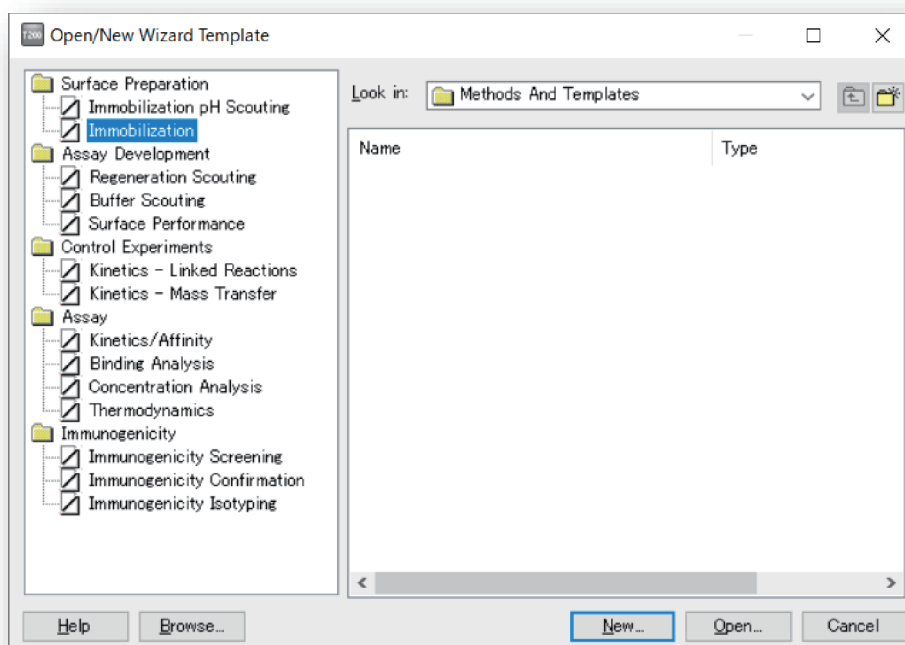
T キャプチャー分子の固定化量を極力揃えたい場合、2 回のランに分けて実施します。

MEMO

Biacore 8K の場合 : Method タブの New より、Surface preparation→Immobilization を選択

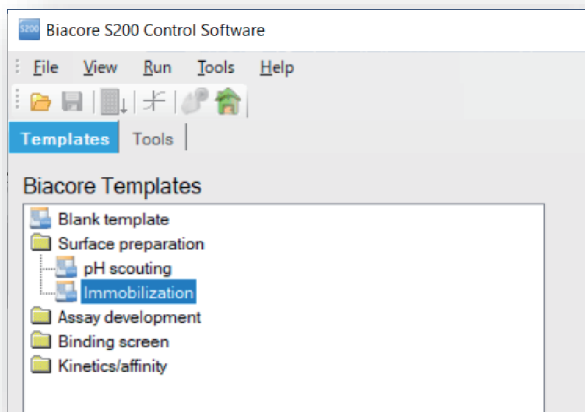


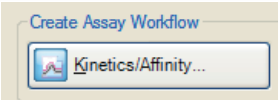
Biacore T200 の場合 : Wizards より、Surface preparation→Immobilization→New を選択

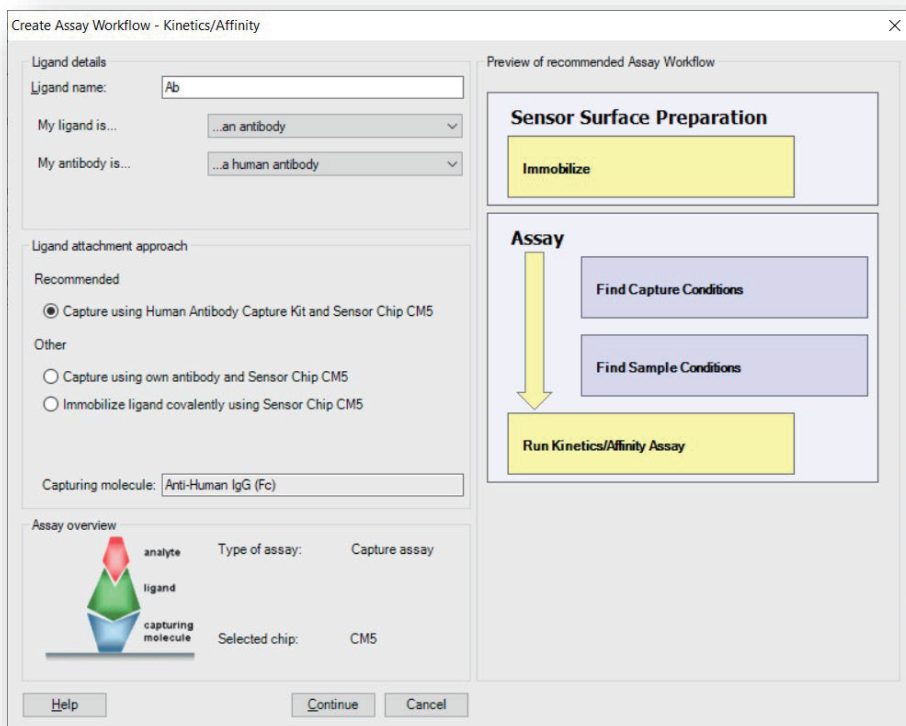


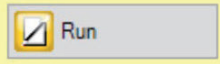
MEMO

Biacore S200 の場合 : **Templates** Template タブより、Surface preparation→Immobilization を選択



Biacore X100 の場合 :  Create Assay Workflow の Kinetics/Affinity より下図のように抗体用のワークフローを作成します。

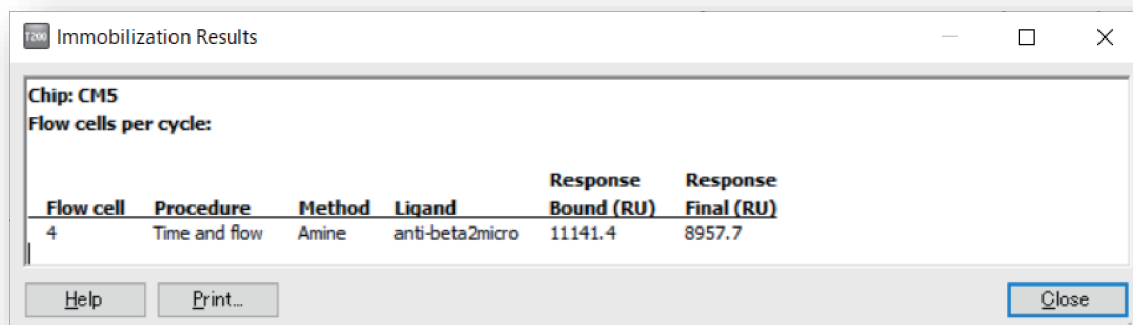


作成した Workflow から、Surface preparation→Immobilization→  Run を選択
MEMO

固定化量の確認

固定化量として Response Bound と Response Final の 2 種類が表示されます。
レスポンスが小さい方を固定化量として採用します。

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



Flow cell	Procedure	Method	Ligand	Response Bound (RU)	Response Final (RU)
4	Time and flow	Amine	anti-beta2micro	11141.4	8957.7

i リガンドがアグリゲーションしている場合やセンサーチップ表面に吸着する場合は、エタノールアミンを添加することにより、非共有結合でセンサーチップ表面に残ったリガンドは洗い流されるため、Final のレスポンスは Bound より小さくなる。また、極めて固定化量が少ない場合は、NHS 化した部分の大半に（一部はリガンドが導入されている）エタノールアミンが導入されるため、Final のレスポンスは Bound より大きくなることもある。いずれの場合も、レスポンスが小さい方を固定化量として採用する。

MEMO

【実験メモ : Biacore 8K,8K+】

	キャプチャー分子固定化量 (RU)							
	Ch1	Ch2	Ch3	Ch4	Ch5	Ch6	Ch7	Ch8
Fc1								
Fc2								

【実験メモ : Biacore T200,S200】

	キャプチャー分子固定化量 (RU)
Fc1	
Fc2	
Fc3	
Fc4	

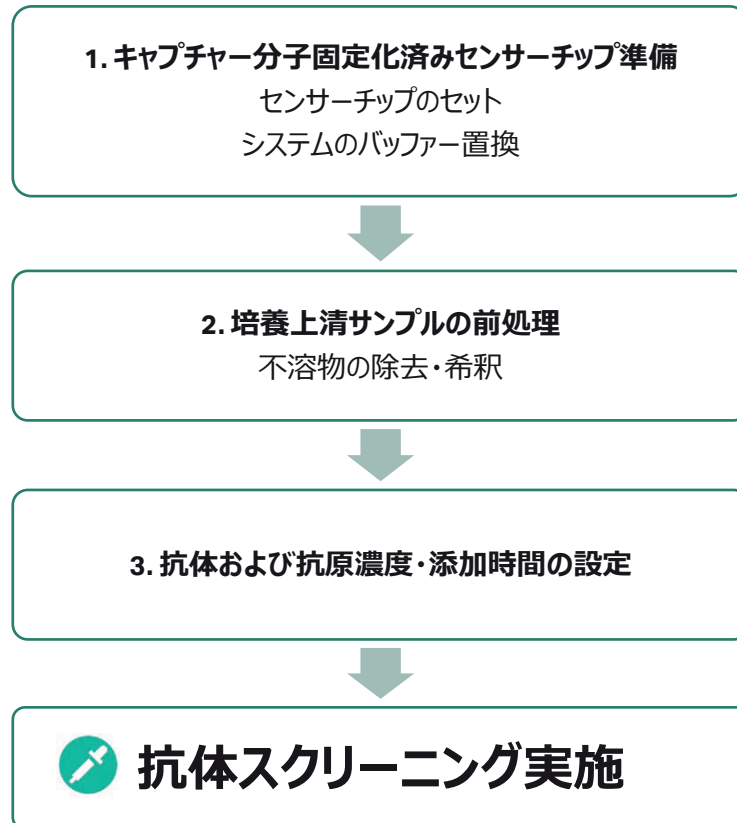
【実験メモ : Biacore X100】

	キャプチャー分子固定化量 (RU)
Fc1	
Fc2	

MEMO

キャプチャー法による測定系セットアップ ～固定化以降

抗体スクリーニングを実施する際、培養上清などのクールドサンプルを用いる場合には適切な前処理が必要です。また、抗体（リガンド）、抗原（アナライト）の添加濃度・添加時間といった測定条件を設定していきます。概略は以下の通りです。



MEMO

1. キャプチャー分子固定化済みセンサーチップ準備

各種 Antibody Capture kit を用いる場合、前章『キャプチャー分子（抗 IgG 抗体など）の固定化』をご覧ください。Sensor Chip Protein A、Sensor Chip Protein G、Sensor Chip Protein L を用いる場合、前章のうち『2. センサーチップおよびシステムの準備』のみを実施します。

測定時のランニングバッファーは固定化時と同じもので構いません。キャプチャー分子固定化済みの Sensor Chip を新たにドックした場合には、システムのバッファー置換を行います。

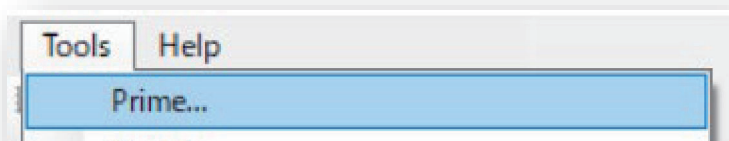
システムのバッファー置換

測定をはじめの前には、使用するランニングバッファーでシステム内の溶液置換を行います。バッファー用チューブがボトルにセットされていることを確認し、以下を実行します。

Biacore 8K の場合 : Instrument Control タブから Change Solutions を選択



Biacore T200, S200, X100 の場合 : メニューバーから Tools → Prime を選択



MEMO

2. 培養上清サンプルの前処理

ハイブドーマや大腸菌など培養上清サンプルには、不溶物や非特異的結合を引き起こす物質が多く含まれていることがあります。そのため、サンプルの前処理として以下の点を考慮します。溶液が透明であればそのまま希釈して使用して構いません。

不溶物の除去

- 遠心分離機で上清のみを回収する。10,000 x g で 10 分など。
- フィルターろ過を行う。0.45 μm フィルタープレートなど。



非特異的結合の抑制

- ランニングバッファーによる希釈。可能であれば～20 倍程度。

! ハイブドーマ培養上清が十分に希釈できず、夾雑物がセンサーチップのデキストランに結合する場合、CM デキストランをプレミックスして非特異的結合する分子に吸収させる方法があります。NSB Reducer (BR100691) を終濃度 1mg/mL となるようプレミックスしてください。

MEMO

3. 抗体および抗原濃度・添加時間の設定

抗体サンプル（リガンド）の希釈

前述「2.培養上清サンプルの前処理」の通り、サンプル溶液に不溶物が含まれて濁っている場合、遠心分離やフィルトレーションを行い、測定時に使用するランニングバッファー（主に HBS-EP+）で、2～20 倍程度希釈します。濃度（希釈率）は通常 1 点です。

抗原サンプル（アナライト）の調整

アナライトとなる抗原は精製済みのタンパク質を用意します。抗体スクリーニングの場合、抗原濃度は 1 点で構いません。通常、ランニングバッファーで希釈して 100 nM 程度に調整します。

【実験メモ】

	分子量 (Da)	希釈率／濃度
抗原		希釈率 =
抗体		濃度 =



測定時に、分子量や濃度情報は必須ではありません。抗原の濃度は揃えるようにしてください。

サンプル添加・解離時間の目安

Report point-based screening を行う場合の、目安は以下の通りです。

- 抗体サンプル（リガンド）
流速：10 μ l/min.
添加時間：60 秒～180 秒程度
- 抗原サンプル（アナライト）
流速：30 μ l/min.以上
添加時間：60 秒
解離時間：120 秒

MEMO


抗体スクリーニング実施

1. 本測定

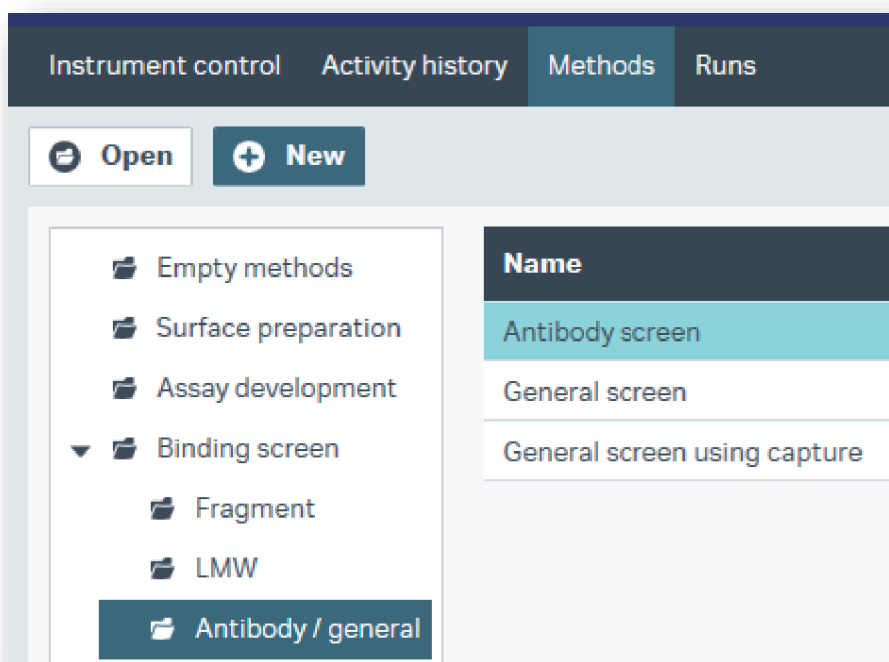
条件が整えば、本測定に移ります。通常、希釈率 1 点でキャプチャー法による Binding Screen を実施します。

【実験メモ】


	希釈率／濃度	添加時間（秒）	解離時間（秒）
抗原			
抗体			

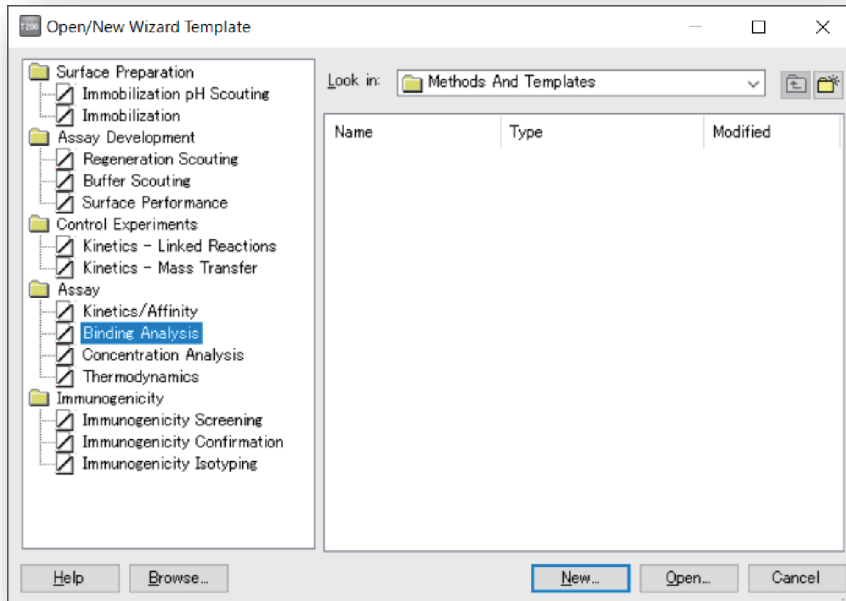
 Binding Screen を用いた本測定には、機種ごとのメソッドを用いてください。本測定では、Startup（3 回以上）に続いて各サンプルを測定します。Report point-based screening においては、定期的にコントロールおよび 0 濃度（Blank）を測定することは必須ではありません。各システムの使用方法は各種マニュアルをご参照ください。


Biacore 8K の場合：Method タブの New より、Binding screen→Antibody / general→Antibody screen を選択

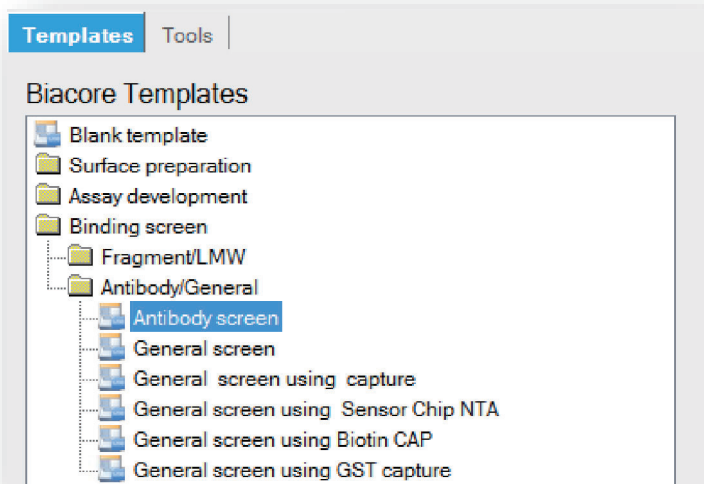


MEMO

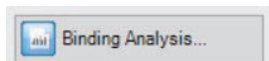
Biacore T200 の場合 :  Run Wizard→Assay→Binding Analysis を選択します。



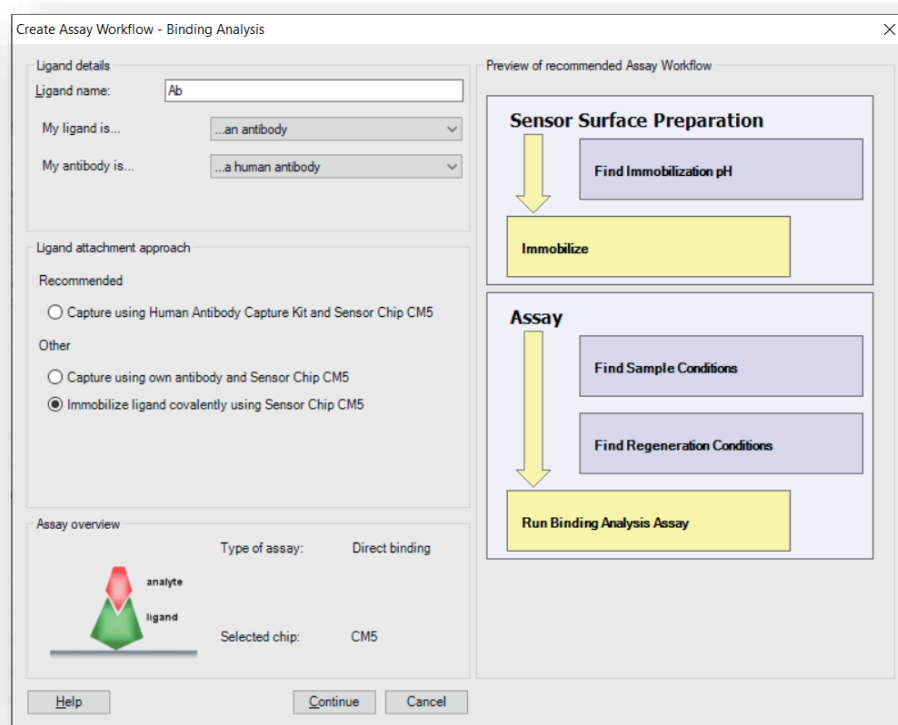
Biacore S200 の場合 :  Templates→Binding screen→Antibody/General→Antibody screen を選択



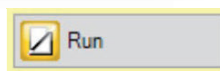
MEMO



Biacore X100 の場合： Create Assay Workflow の Binding Analysis...より下図のようにワークフローを作成します。



作成した Workflow から、Assay→Run Binding Analysis Assay→



Run を選択

2. 抗体スクリーニングの評価 ～データ解析

データ解析にはシステム付属の Evaluation Software を用います。

「はじめに」の章に記載された「本測定で得られるセンサーグラムおよびプロット」をあらためてご確認ください。図のようなプロットを作成して、目的のクローンを選抜します。**各 Evaluation Software の使用方法は各種マニュアルをご参照ください。**

MEMO

センサーチップの保管・装置のシャットダウン

使用済みの Sensor Chip は、システムから取り出した後も再使用が可能です。測定後のセンサーチップや装置の管理にはいくつか方法があります。

1. センサーチップの保管

スタンバイ状態で維持

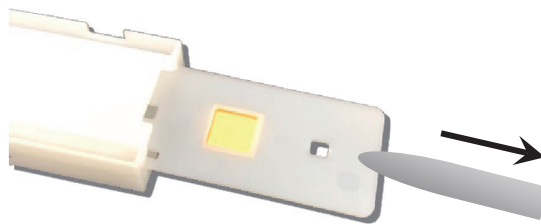
次回、7 日以内に使用する場合、Sensor Chip をシステムにセットしたまま、Standby flow で維持しておくことも可能です。バッファボトルは測定時のランニングバッファのまま構いません。

! 各機種における Standby Flow 時のランニングバッファ消費量は以下の通りです。終夜測定を行う際などバッファの残量に気を付けてください。

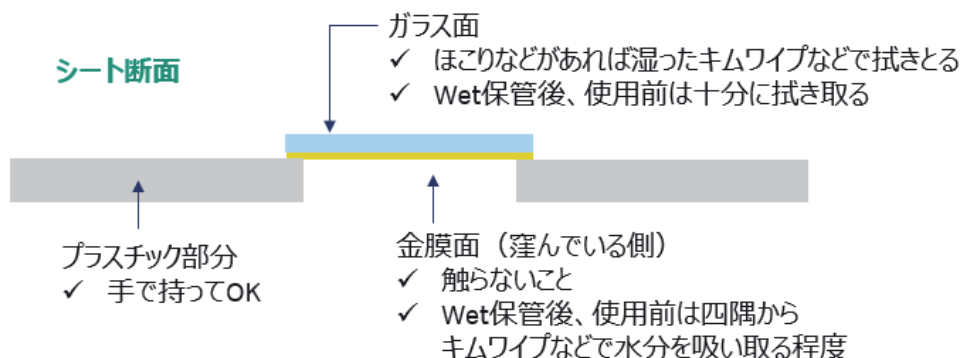
- Biacore 8K/8K+ …… 260 ml/ 24 時間
- Biacore T200/S200 …… 65 ml/ 24 時間
- Biacore X100 …… 200 ml/ 7 日間

ウェット状態での保存

取り出したセンサーチップのシート部分をカバーから抜き取り、シートだけを容器（50 ml のふた付きプラスチック遠心チューブ等）に分注したランニングバッファに浸し、4 °C で保存します。



i 保管していたセンサーチップを再使用する際は、緩衝液に浸していたシートをカバーに収めます。シートの水分を取り除いてからカバーに収めてください。その際、拭き取り方に注意してください。



MEMO

2. 装置のシャットダウン

Sensor Chip を装置に入れたままスタンバイで維持する際には、上記、ランニングバッファの消費量にご注意いただき、Control Software を立ち上げたまま、装置の電源は ON にしておいてください。

クールドなサンプルを測定した場合、電源を切る前には、Desorb and Sanitize を実施してください。

- 測定に使用した Sensor Chip を取り出す
- Sensor Chip Maintenance をセットする
- Desorb and Sanitize を実施
- Standby flow の状態で 3～4 時間放置、もしくは、超純水で溶液置換を 3 回実施
 - Biacore 8K の場合：Instrument Control タブから Change Solutions を選択
 - Biacore T200,S200, X100 の場合：メニューバーから Tools →Prime を選択
- Sensor Chip Maintenance を取り出す
- Control Software を閉じる
- PC および装置のシャットダウン



バッファボトルを置き換える際、バッファチューブを紙製のウエスで軽く拭い、極力持ち込みをおさえます。

Biacore を安心してお使いいただくために定期的なメンテナンスが必要です。

- Desorb 週 1 回
- Desorb and Sanitize 月 1 回

メンテナンス方法の詳細は各種マニュアルをご参照ください。

そのほかご不明点などございましたら、次ページのバイオダイレクトラインまでお問い合わせください。

MEMO

■ 総合お問合せ窓口

TEL : 03-5331-9336

● 機器アフターサービス

(営業日の 9:00～17:30、音声案内に従い①を選択)

FAX : 03-5331-9324 (常時受付)

● 製品技術情報に関して

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

音声案内に従い②を選択後、対象の製品別の番号を押してください。

① : ÄKTA、クロマトグラフィー関連製品

② : ビアコア関連製品

③ : 電気泳動関連製品、画像解析装置

④ : ワットマン製品、その他製品

e-mail : Tech-JP@cytiva.com (常時受付)

● 納期／在庫お問合せ

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

注) お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。

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

www.cytivalifesciences.co.jp

論文に掲載いただく際の名称・所在地

Cytiva / Tokyo, Japan

グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ : バイオダイレクトライン

TEL : 03-5331-9336

e-mail : Tech-JP@cytiva.com

掲載されている内容は 2022 年 3 月現在のもので予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。お問い合わせに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。