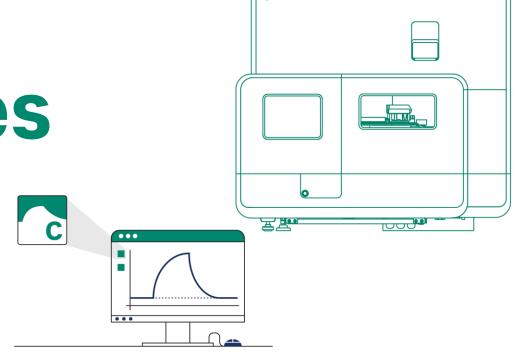


BiacoreTM 1 series

アプリケーション別操作手順書 Biacore™ cap-tag capture kit編

Version 1 2025/10



もくじ

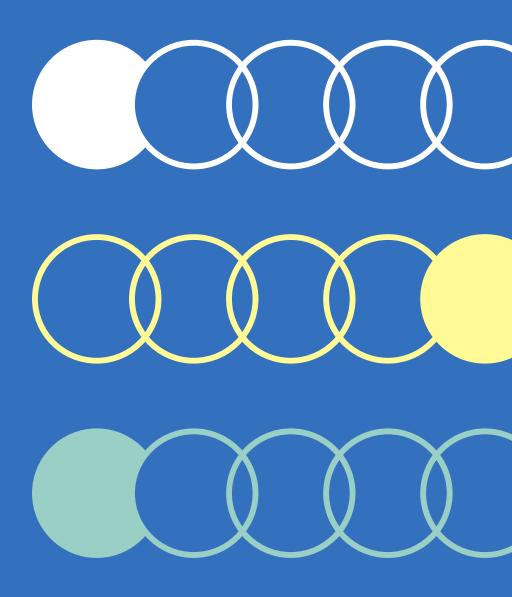
1.	実験をはじめる前に	••• 3
2.	Biacore TM cap-tag capture kitによるKinetics解析	••• 22
3.	各種メンテナンスおよび測定後の管理方法	••• 55
4.	サポート情報	••• 59

Cytiva

2

1.

実験をはじめる前に



1. 本章の内容

- 1-1. システムの起動
- 1-2. システムの概観
- 1-3. Biacore™ Insight Control Software概略
- 1-4. センサーチップの取り扱いについて
- 1-5. チップのドック~バッファー置換
- 1-6. Flow cellの構成
- 1-7. Flow pathとReference cellの設定
- 1-8. ランニングバッファーについて
- 1-9.サンプルトレイ・サンプルラックについて
- 1-10. 対応プレート・Foil/Septaについて

- 1-11.専用バイアル・キャップについて
- 1-12.各種Methodへのアクセス
- 1-13. Method作成画面の基本構造
- 1-14.解析ソフトウェアの起動・解析の開始
- 1-15.データエクスポート
- 1-16.そのほかHome画面でできること

1-1.システムの起動

使用する1時間前には電源を入れて温度を安定にさせます。使用する Sensor chip も室温に戻します。

1. 本体背面 電源ON



2. PC起動、Windowログイン

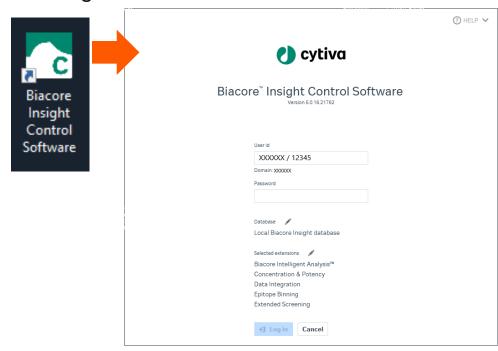
納品設置時 Biacore 1K/1K+

ユーザー名: Biacore1K、パスワード: Biacore1K

納品設置時 Biacore 1S+

ユーザー名: Biacore1S、パスワード: Biacore1S

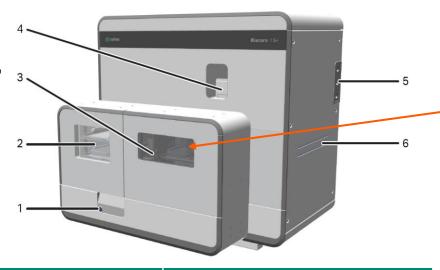
3. Insight Control Softwareの起動・ログイン



納品設置時はWindowsログインと共通(変更可)

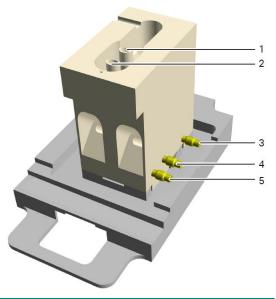
1-2.システムの概観

本体の概観



リキッドサプライブロック

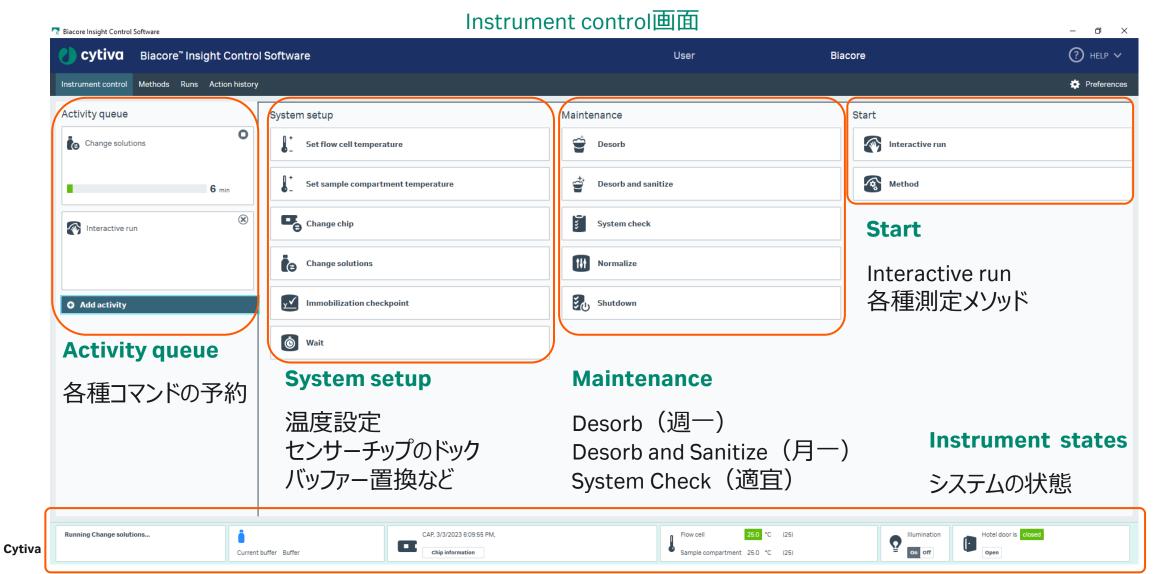
IFCへバッファー供給 ニードルの洗浄 廃液の処理



	名称	備考
1	Hotel door release button	ホテルドアを開けます
2	Sample hotel door with window	サンプルラックをセットします
3	Sample compartment with window	ニードル、リキッドサプライブロック、サンプ ルラックの動作が確認できます
4	Sensor chip port	センサーチップをセットします(手動)
5	Tubing panel	バッファーや超純水のボトルに挿入された チューブは内部のポンプで送液されます
6	Rail for accessory holders	ボトル用のホルダなどを取り付けます

	名称	備考
1	Buffer supply	筒からランニング緩衝液があふれており、適宜ニードル が挿入・吸引しています
2	Water supply	筒から超純水があふれており、適宜ニードルが挿入・ 吸引しています
3	Waste outlet port	1,2からあふれた溶液をペリスタポンプで廃液ボトルへ 送液しています
4	Buffer inlet port	バッファーチューブからバッファーが供給されます
5	Water inlet port	超純水チューブから超純水が供給されます

1-3. Biacore™ Insight Control Software概略



1-4. センサーチップの取り扱いについて

測定を始める前にセンサーチップを確認しましょう

- 1. 使用するチップは1時間前には冷蔵庫から出し、室温 に戻します
- 2. バッファーチューブの先端をキムワイプで拭いた後、使用 するバッファーボトルにバッファーチューブをセット チューブがボトルの底についていることを目視確認
- 3. チップは新品であってもカバーからシートをを引き出して ほこりや白いもやなどがないか確認します

Series Series Series Series Series Series Series S

金膜



4. 以下を注意して、チップの確認をします

ガラス面

✓ 新品チップの場合

埃などがあれば湿ったキムワイプで拭き取る またはエアダスターで吹き飛ばす

✓ Usedチップ (再利用) の場合 キムワイプでガラス面の水分を完全に拭き取る

シート断面

プラスチック部分

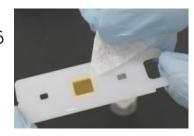
✓ ピンセットで取り出す

金膜面(窪んでいる側)

- ✓ 触らないこと(新品・Usedチップどちらも)
- ✓ 新品チップの場合

埃などがあればエアダスターで吹き飛ばす 汚れやもやなどがあれば写真を撮って tech-ip@cytiva.comまでお送りください。

✓ Usedチップ (再利用) の場合 金膜面には触れず、凹面の四隅から キムワイプなどで水分を吸い取る



1-5.チップのドック~バッファー置換

1. Change chipからOpen chip doorでポートを開ける



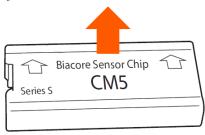
2. センサーチップをポートにセット



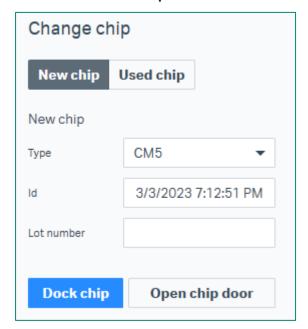




矢印の向きにカバーごとセットします



3. Typeを選択し、Dock chip



1. Change solutionsからReady to start



1-6.Flow cellの構成

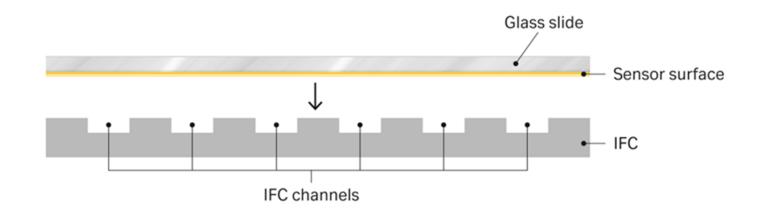
Flow cellの構成

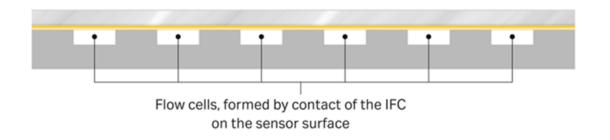
センサーチップの金膜部分は平面の一枚板 IFC channelsによってFlow cellが構成されます

* 1 seriesのFlow cellは6つあります









1-7. Flow pathとReference cellの設定

		Flow path	Reference flow cell (水色)	Biacore ™1K	Biacore™1K+ and Biacore™ 1S+
	Single	1 2 3 4 5 6		√ √ √ √	√ √ √ √
NNA	In pairs	1, 2	ווֹח הווֹח הווּה הוו	√	V
		3, 4	מ ו מות	√	√
		5, 6	חמה	√	√
	In quadruples	1, 2, 3, 4		-	√
		3, 4, 5, 6		-	V
	All together	1, 2, 3, 4, 5, 6		-	V

1-8.ランニングバッファーについて



12

当社では、各種ランニングバッファー(10倍濃縮)の取り扱いがあります。 最新情報はホームページにてご確認ください。

Product	Package	Code	Contents *10倍希釈時濃度	
HBS-EP+ 10X	1×1,000 ml	BR100669	10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA and 0.05% v/v Surfactant P20 (Tween 20)	
HBS-EP+ 10X	4×50 ml	BR100826	pH 7.4	
HBS-P+ 10X	1×1,000 ml	BR100671	10 mM HEPES, 150 mM NaCl and 0.05% v/v Surfactant P20 (Tween 20)	
HBS-P+ 10X	4×50 ml	BR100827	pH 7.4	
HBS-N 10X	1×1,000 ml	BR100670	10 mM HEPES, 150 mM NaCl pH 7.4	
HBS-N 10X	4×50 ml	BR100828		
PBS 10X	1×1,000 ml	BR100672	10 mM phosphate buffer with 2.7 mM KCl and 137 mM NaCl pH 7.4	
PBS-P+ 10X	1×1,000 ml	28995084	20 mM phosphate buffer with 2.7 mM KCl, 137 mM NaCl and 0.05% Surfactant P20 (Tween 20) pH 7.4	

*バッファーを自作する場合、0.22 µmフィルターでろ過してください。

1-9.サンプルトレイ・サンプルラックについて

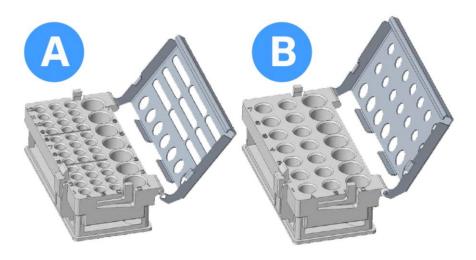
サンプルトレイ

ホテルドアは本体のボタンで開きます。



左に96/384プレート、右にサンプルラックをセットします * A1ポジションが左手前になるようにセット サンプルラック

二種類のサンプルラックがあります



	Vial 種類	本数
Α	Φ 7 mm Vial	36本
	Φ 15 mm Vial	7本
В	Φ 11 mm Vial	14本
	Φ 15 mm Vial	7本

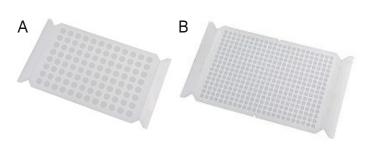
1-10. 対応プレート·Foil/Septaについて

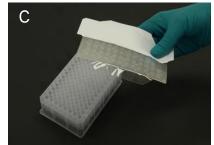
対応プレート

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

Foil/Septa

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





Foil: 各ウェルから1回しか分取しない場合

Septa: 各ウェルから複数回分取する場合

* Poolingする際に使用するゴム製シール

必ず専用のシールをご使用ください。

1-11. 専用バイアル・キャップについて

対応バイアルおよびキャップ



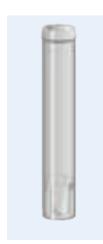
Rubber caps, type 3 BR100502



Rubber caps, type 2 BR100411



Rubber caps, type 5 BR100655



Plastic Vials, 7 mm BR100212 0.8 ml ø 7 mm



Plastic Vials, 1.5 ml, 11 mm BR100287 1.5 ml ø 11 mm



Plastic Vials, 15 mm 29266981 4.0 ml ø 15 mm

必ず専用のバイアルとキャップをご使用ください。

15

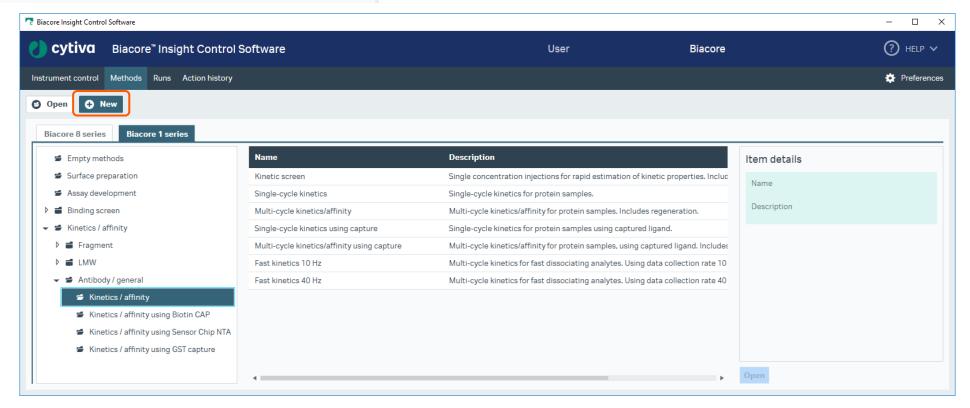
1-12. 各種Methodへのアクセス

Biacoreで測定を開始するには、Biacore Insight Control Software上で測定用のMethodファイルを開き、 測定条件を入力することが必要です。

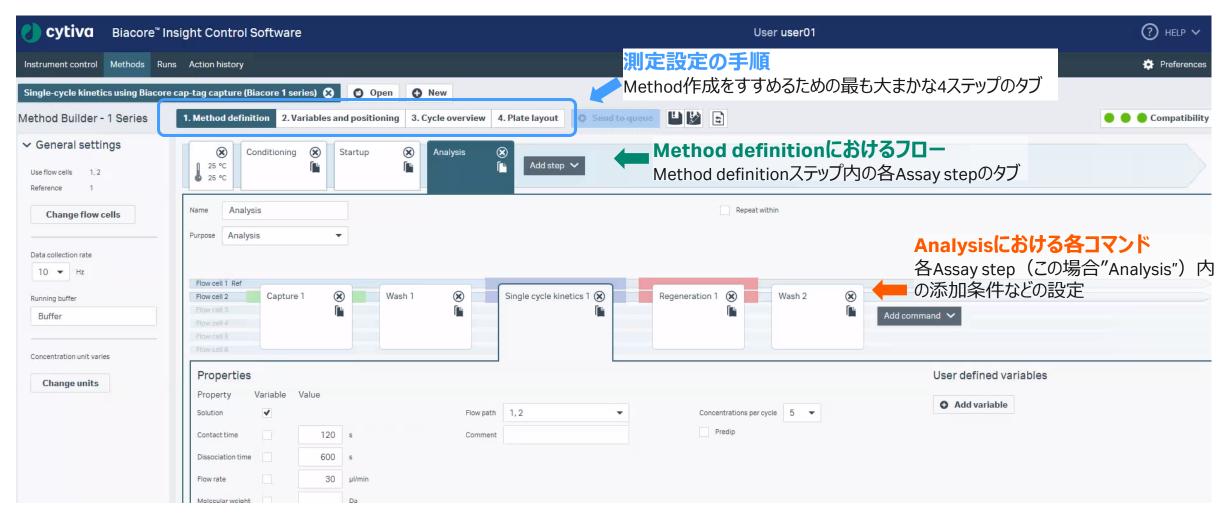
1. Instrument controlタブよりMethodをクリック



2. Methodタブ画面へ移ります。Newからプリセット された各種メソッドテンプレート選択が可能。



1-13. Method作成画面の基本構造

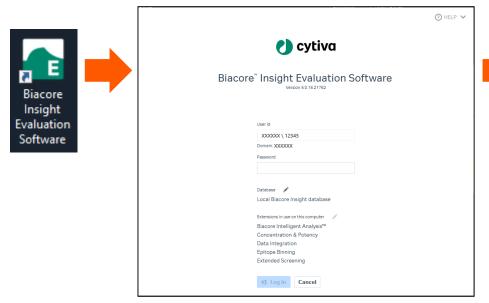


* Insight Softwareは、タブ区切りの階層構造になっています。

1-14.解析ソフトウェアの起動・解析の開始

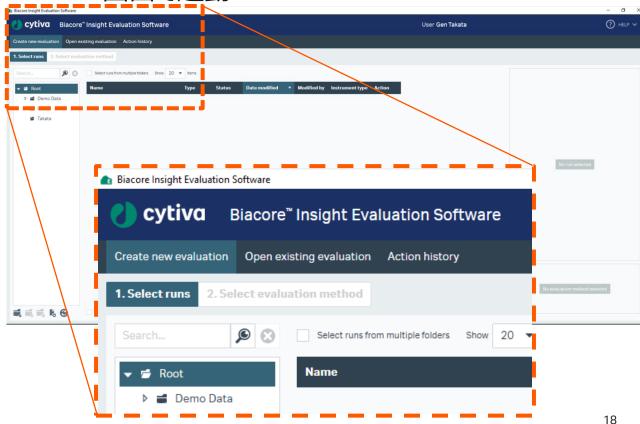
測定終了後、解析ソフトウェア(Biacore Insight Evaluation Software)上でランファイルを開き、 解析方法に合ったEvaluation Methodを選択して解析を始めます。

Insight Evaluation Softwareの起動・ログイン



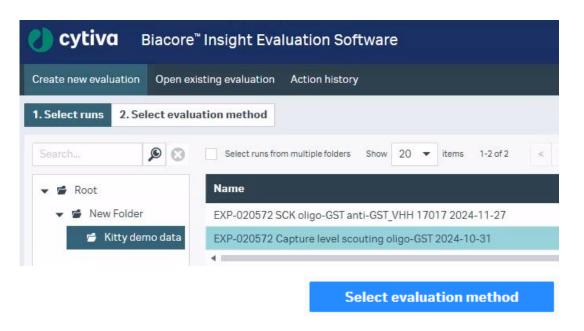
* User id、Passwordは、Insight Control Softwareログインと共通

2. Create new evaluationタブ/Select runsタブ 画面で起動

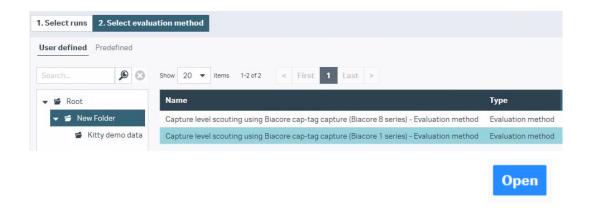


1-14.解析ソフトウェアの起動・解析の開始(続き)

Select runsタブから解析したいデータを選択して、
 Select evaluation methodをクリック



2. 解析方法にあったMethodを選択してOpen



※解析方法詳細については、次セクション以降をご参照ください。

19

1-15. データエクスポート

1. 解析後、Homeをクリック



2. Export toより任意の形式で保存。



Spreadsheet

Excel workbook (*.xlsx): エクセル形式

Presentation

PowerPoint presentation (*.pptx): パワーポイント形式。エクスポート後、パワーポイントで各グラフのスケール、センサーグラムの色や太さなど編集が可能。

PDF

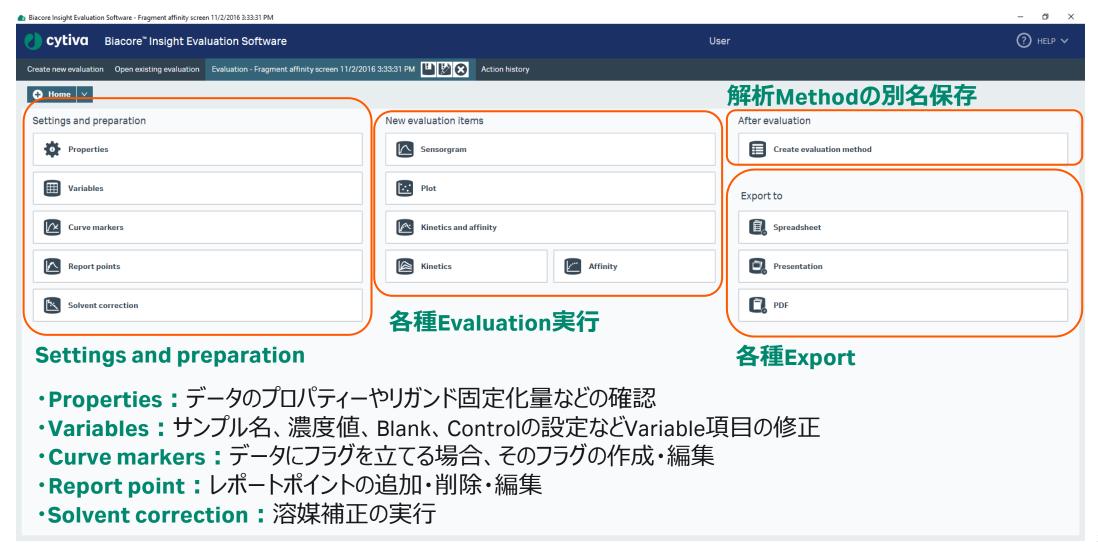
Portable document format (*.pdf): PDF形式

JSON or XML (オプション)

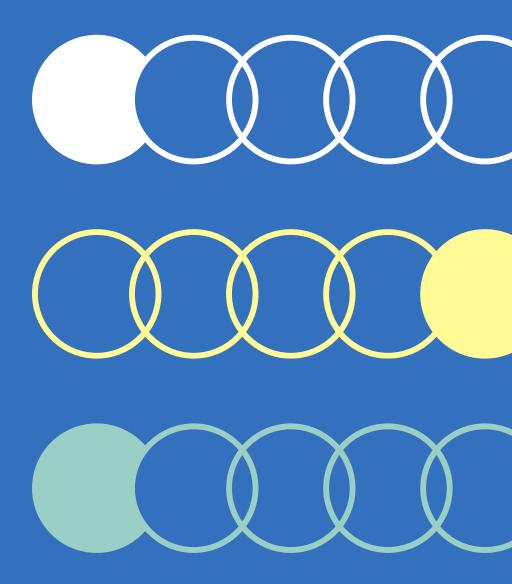
JSON file (*.json)、XML file (*.xml): 電子実験ノート (ELN)形式

20

1-16. そのほかHome画面でできること



2.
BiacoreTM cap-tag capture kit によるKinetics解析



2. 本章の内容

- 2-1. Biacore™ cap-tag capture kit 概要
- 2-2. Biacore™ cap-tag capture kitの構成
- 2-3. Biacore™ cap-tag capture kit測定の流れ
 - (1) リガンドへのBiacore™ cap-tag 導入 ※Biacoreシステム外で行う作業です。
 - (2) 条件検討1:最適なリガンド量の検討 (Capture level scouting)
 - (3) 条件検討2:1st ランで条件最適化のための情報を取得
 - (4) 条件検討3:添加濃度・時間の最適条件の決定(Simul8ツール使用)
 - (5) 本測定: Kinetics (K_D, k_a, k_d) 測定と解析

2-4. Kinetics (K_D, k_a, k_d)解析の詳細

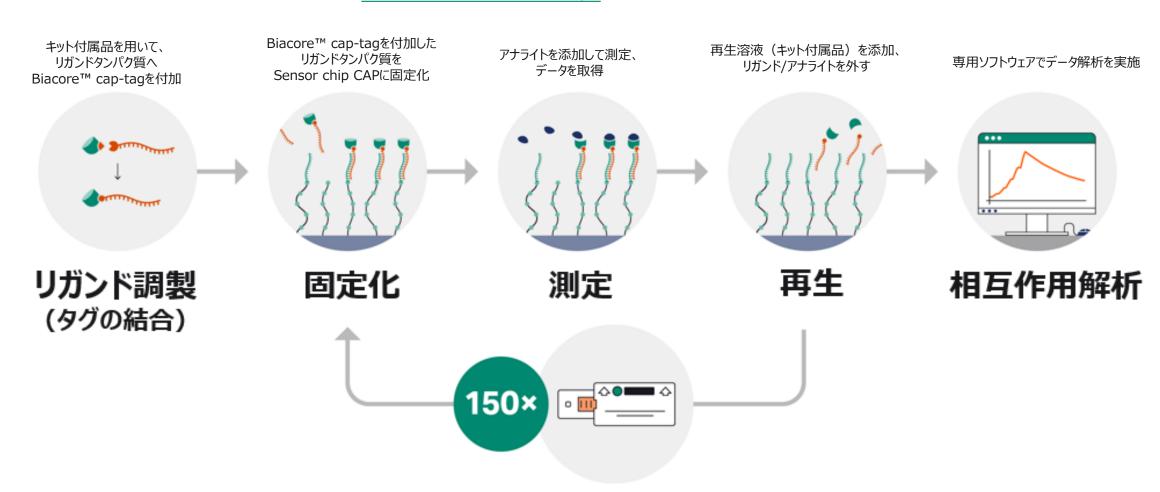
- (1) Settings項目一覧
- (2) Fitting modelsの設定
- (3) Initial valuesの設定
- (4) Quality controlの確認(フィッティング結果の評価)
- (5) Kinetics解析結果と評価パラメーターについて

Cytiva

23

2-1. Biacore[™] cap-tag capture kit 概要

使用するキット、センサーチップのIFU (Instruction For Use) は必ず事前にご確認ください。

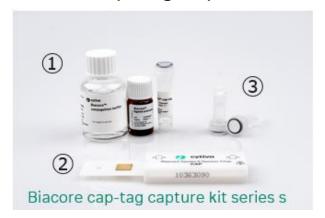


チップの再利用

2-2. Biacore™ cap-tag capture kitの構成

初回は、Biacore™ cap-tag capture kit series s (29873737)、およびBiacore regeneration kit CAP (29805821) の2製品をご購入ください。 構成品①~④が必要です。

Biacore[™] cap-tag capture kit series s (29873737)



構成品	使用用途	製品名	※キット構成品番号
1	Cap-tag 導入の反応 kit	Biacore cap-tag conjugation kit	29805822
2	センサーチップ	Series S Sensor Chip CAP	29805820
3	精製カラム (50本入り)	Amersham MicroSpin G50 columns	27533001

※各キット構成品①-③は単品購入も可能です。上記のキット構成品番号でご注文ください。

Biacore regeneration kit CAP (29805821)



Regeneration stock 1 (8M GuHCI) *グアニジン塩酸塩は低温で沈殿するため、利用前に完全に室温に戻して溶解してから使用してください。

Regeneration stock 2 (1M NaOH)

構成品	使用用途	製品名
4	再生溶液 Regeneration stock 1と Regeneration stock 2を 3:1で混合して使用	Biacore regeneration kit CAP *ordered separately as it contains hazardous goods

2-3. BiacoreTM cap-tag capture kit

測定の流れ

(1) リガンドへのBiacore™ cap-tag 導入
※作業はBiacoreシステム外で実施します。

(2) タ /生は全計 1 ・ 見 済まいしまり、い 見 のは全

(2) 条件検討 1: 最適なリガンド量の検討 (定型メソッド)

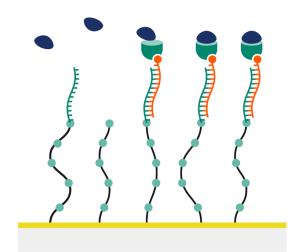
(3) 条件検討 2: 1st ランで条件最適化のための情報を取得 (定型メソッド)

(4) 条件検討 3:添加濃度・時間の最適条件の決定 (Biacore™ Simul8 ツール)

(5) 本測定: k_a, k_d, K_Dを取得





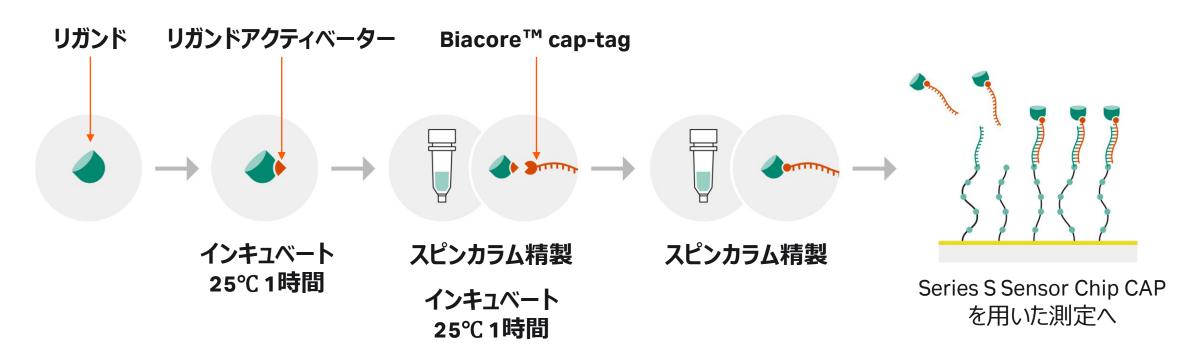


(1) リガンドへのBiacore[™] cap-tag 導入

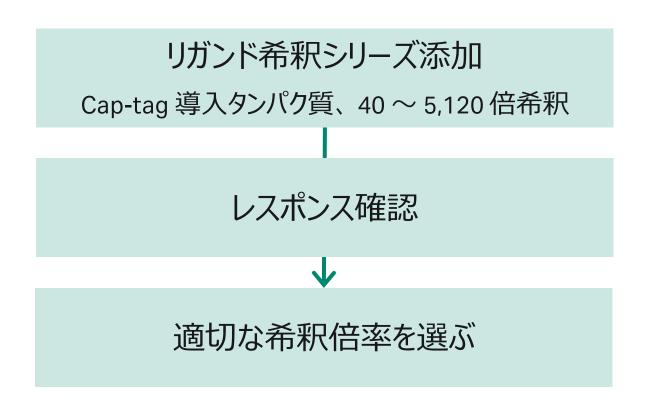
Biacore™ cap-tag導入の作業はBiacoreシステム外で実施します。

具体的な操作手順については、<u>Biacore™ cap-tag capture kitの IFU(Instruction For Use)</u>にてご確認ください。 日本語の参考資料にも記載があります。

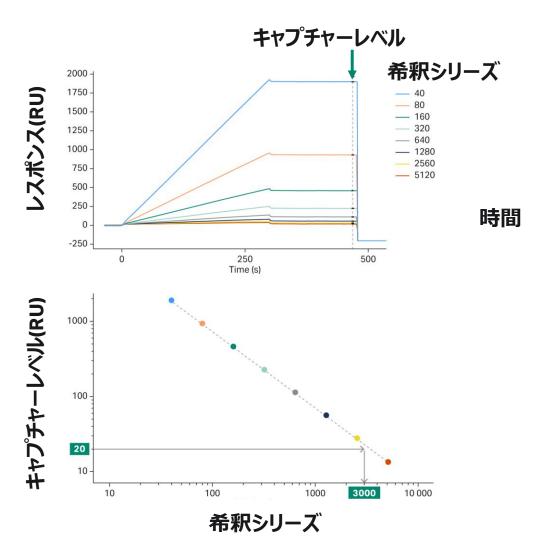
初めてBiacore™実験ノート Biacore™ cap-tag capture kitを用いた相互作用測定



(2) 条件検討1:最適なリガンド量の検討 Capture level scouting



※ Kinetics解析では、リガンド量を抑える方が望ましい



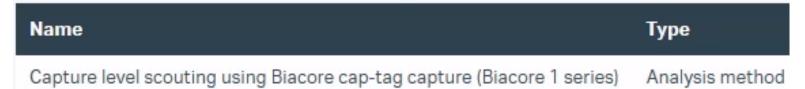
Capture level scouting測定の実施

Capture level scouting専用のMethod (定型のMethodあり) を開き、測定を実施します。

1. Methodをクリック



2. 下記のMethodを選択してOpen



*Capture level scouting専用のMethodは弊社ホームページより無償でダウンロードできます。(Biacore 1 series/8 series) https://www.cytivalifesciences.com/en/us/support/software/biacore-downloads

Cytiva

29

^{*}Biacore™ T200/S200用のCapture level scouting専用Methodは下記ページよりダウンロードできます。
Biacore T200/S200用Biacore cap-tag capture kit測定メソッド | Cytiva

Capture level scouting測定の実施

Method definitionの設定



Capture level scouting測定の実施

Variables and positioningの設定



Capture level scouting測定の実施

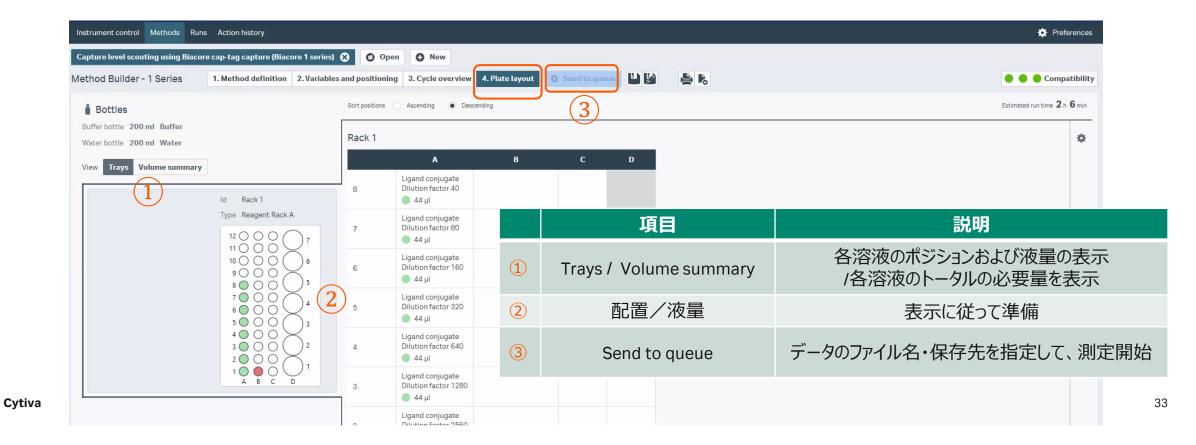
Positioning settings



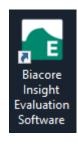
Capture level scouting測定の実施

サンプルをセット、測定開始

- 1. Plate layoutに従って準備
- 2. Send to queue (③) で測定開始 ※Send to queueをクリックして測定開始をすると、元の画面に戻ることはできません。



Capture level scouting結果の確認



BiacoreTM Insight Evaluation Softwareを使用して測定結果を解析 (1-9. 解析ソフトウェアの起動・解析の実施を参照)

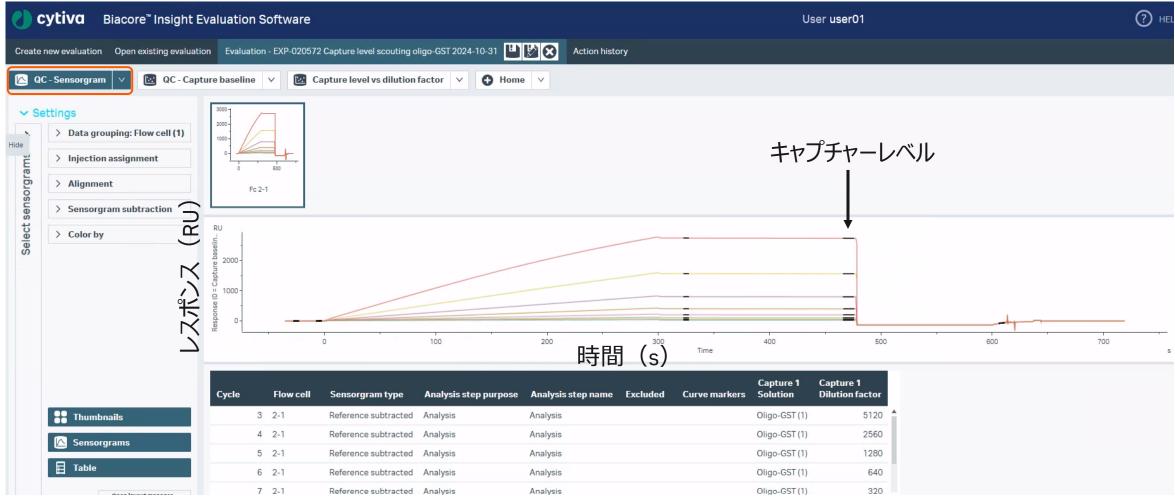
使用するEvaluation Method

Capture level scouting using Biacore cap-tag capture (Biacore 1 series) - Evaluation method Evaluation method

*上記のMethodは弊社ホームページより無償でダウンロードできます。(Biacore 1 series/ 8 series) https://www.cytivalifesciences.com/en/us/support/software/biacore-downloads

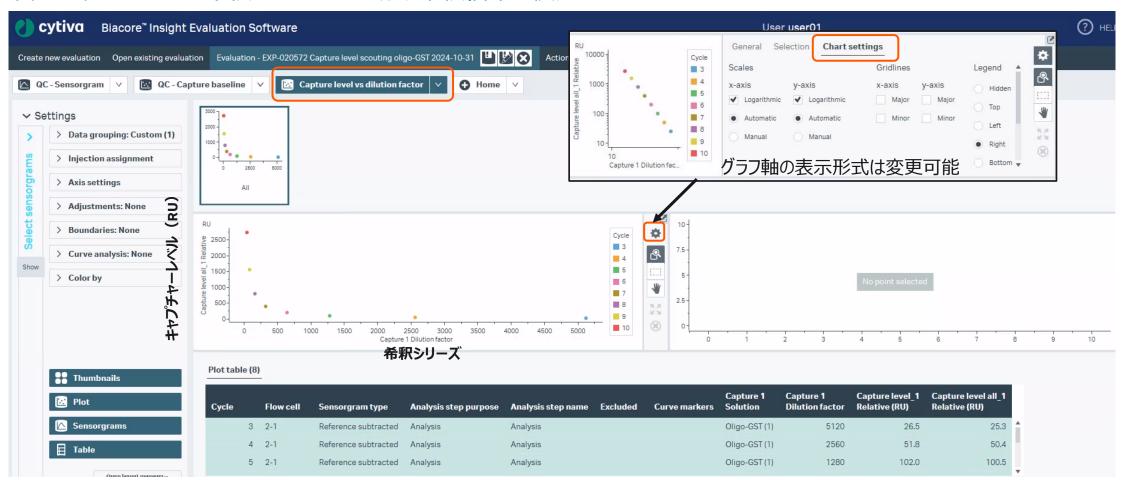
Capture level scouting結果の確認

センサーグラムの確認



Capture level scouting結果の確認

キャプチャーレベル vs 希釈シリーズ:適切な希釈倍率を検討



1st ランの実施

ポイント

- ▶ 定型の測定用のMethodがありますので、1st ランではデフォルト設定のままで測定します。
- ▶ リガンドのキャプチャー量はCapture level scoutingで最適化したリガンド量を適用します。
- ▶ 測定後に解析を実施、ラフな値としてka, kdを取得します。
- 1. Methodをクリック



2. 下記のMethodを選択してOpen

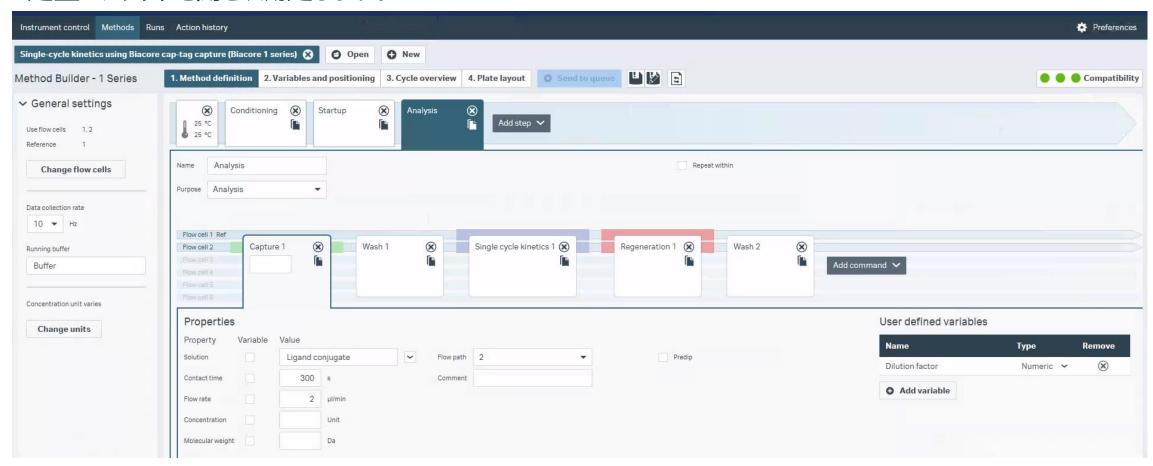
Single-cycle kinetics using Biacore cap-tag capture (Biacore 1 series)

Analysis method

*Biacore cap-tag capture kit用のMethodは弊社ホームページより無償でダウンロードできます。 https://www.cytivalifesciences.com/en/us/support/software/biacore-downloads

1st ランの実施

定型のメソッドを開き、測定します。



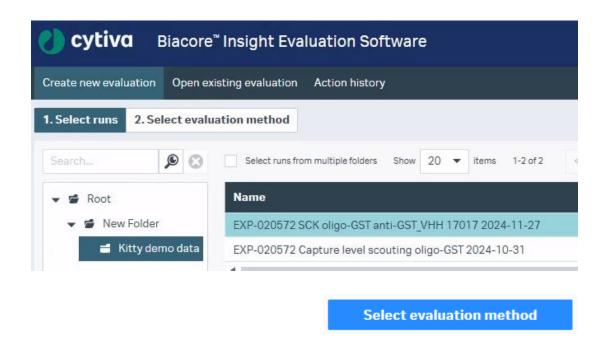
Cytiva

38

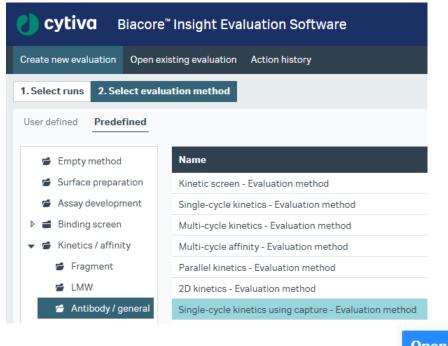


1st ラン結果の確認: Kinetics (K_D, k_a, k_d)解析

1. Select runsタブから1st ランのデータを選択して、 Select evaluation methodをクリック



2. Predefinedタブから、Evaluation methodを選択、Openをクリック

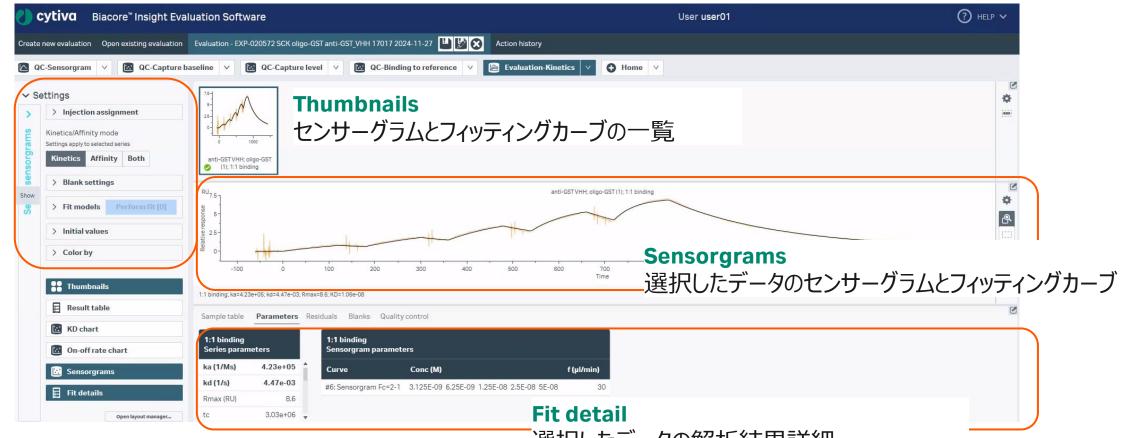


Open

39

Insight Evaluation Software

1st ラン結果の確認: Kinetics (K_D, k_a, k_d)解析



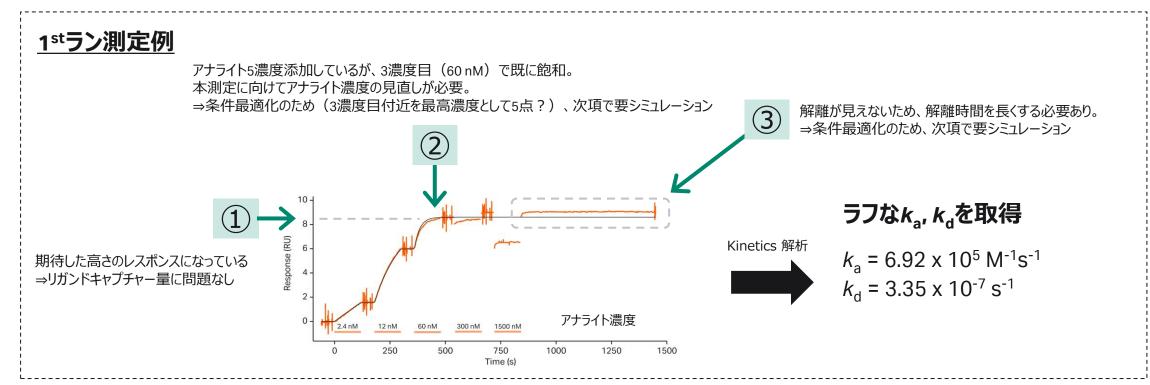
Settings 解析方法 の詳細は 2-4.参照

> 選択したデータの解析結果詳細 k_{a},k_{d} など各種パラメータ、Quality Controlなど

※解析の詳細については2-4、~をご参照ください。

1st ラン結果のチェックポイント

- ①レスポンスの高さは妥当か(理論的Rmaxとの比較)
- ②レスポンスがアナライト濃度依存的に上昇し、飽和しているか
- ③解離相でレスポンスの低下が十分見られているか



(4) 条件検討3:添加濃度・時間の最適条件の決定

(Biacore™ Simul8 ツールを使用)

オンラインツールBiacore™ Simul8 でセンサーグラムをモデル化

1st ランの結果 (ラフな値として取得したka, kd) を元にシミュレーションを行い、アナライトの添加濃度・添加時間の最適条件を決定する。

手順:

①Biacore™ Simul8を開く(無料で利用可能)

https://apps.cytivalifesciences.com/spr/

- *参考資料 Biacore Simul8 user guide
- ② Biacore[™] Simul8 で1st ランの結果(ラフな値として取得した k_a , k_d)を入力、センサーグラムのシミュレーションをする
- ③ 設定条件を適宜変更してセンサーグラムを確認、最適の測定条件を決定する

Start menu

Biacore™ Simul8

SPR sensorgram simulation tool

Welcome to **Biacore™ Simul8** — Cytiva's surface plasmon resonance (SPR) sensorgram simulation tool. Learn how interaction kinetics affect sensorgrams generated by our Biacore™ systems. Use Biacore™ Simul8 to:

- · optimize assay parameters
- verify affinity and kinetics constants
- check all optical biosensors publication results

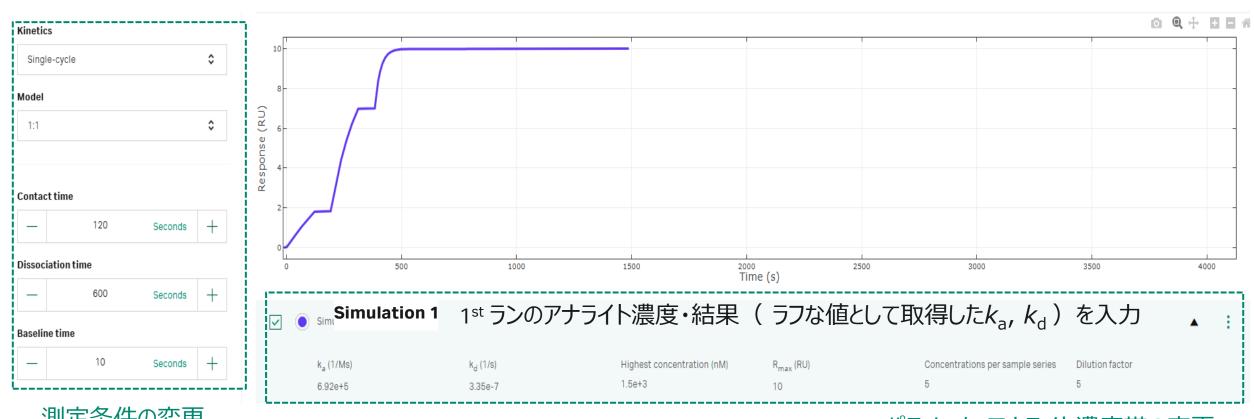
Biacore™ Simul8 creates sensorgrams based on your assay parameters such as injection time, dissociation time and sample concentration — while taking into consideration the selected assay format and binding model.



(4) 条件検討3:添加濃度・時間の最適条件の決定

(Biacore™ Simul8 ツールを使用)

Biacore[™] Simul8 ツールの入力方法



測定条件の変更

パラメータ・アナライト濃度帯の変更

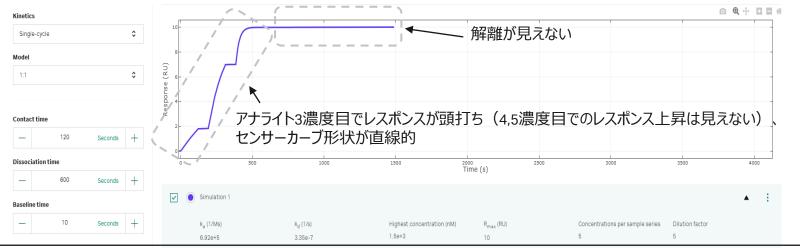
(4) 条件検討3:添加濃度・時間の最適条件の決定

(Biacore[™] Simul8 ツールを使用)

Biacore™ Simul8 ツールを使用したシミュレーション例

Simulation 1

1st ランのアナライト濃度・結果 (ラフな値として取得したk_a, k_d) を入力



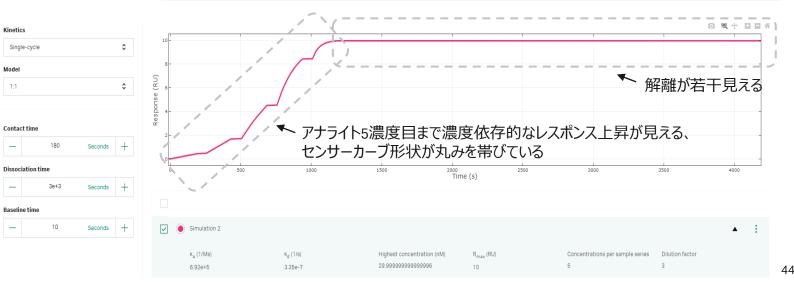
Simulation 2

Simulation 1のセンサーグラムを元に設定条件を適宜変更

- アナライト最高濃度を下げる(1500 nM ⇒ 30 nM)
- ② 希釈濃度帯を変更(1/5希釈で5点 ⇒ 1/3希釈で5点)
- ③ 添加時間を延長(120秒⇒180秒)
- ④ 解離時間を延長(600秒⇒3,000秒)



本測定用の測定条件として採用



(5) 本測定: Kinetics (K_D, k_a, k_d)測定

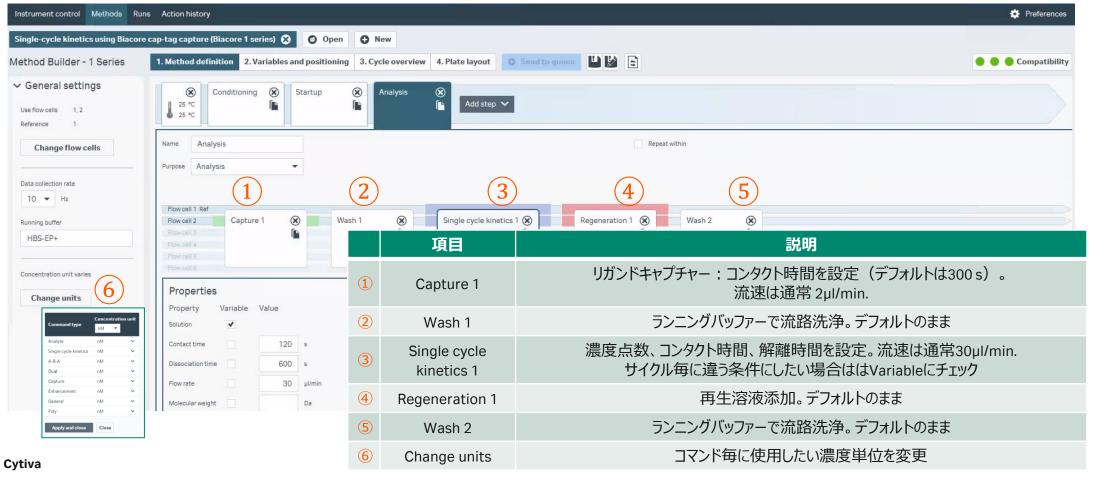
1. 測定用のMethodを開く

Single-cycle kinetics using Biacore cap-tag capture (Biacore 1 series)

Analysis method

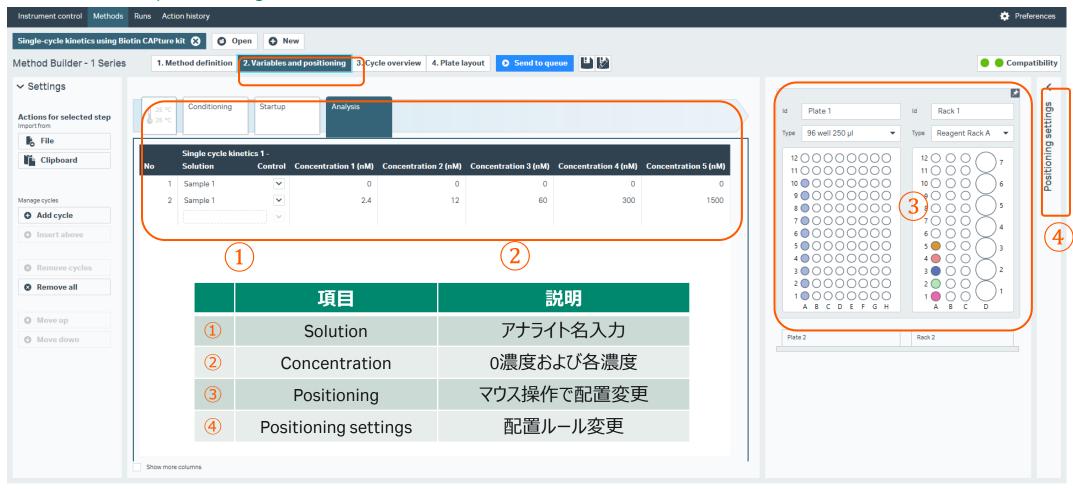
2. ④までの条件検討で最適化した測定条件をMethodに入力

Method definition



(5) 本測定: Kinetics (K_D, k_a, k_d)測定

Variables and positioning



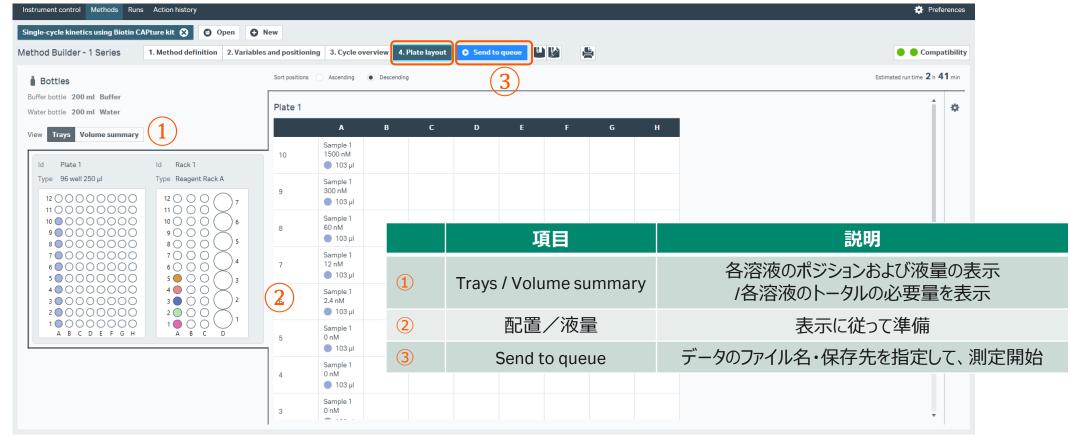
Cytiva

46

(5) 本測定: Kinetics (K_D, k_a, k_d)測定

サンプルをセット、測定開始

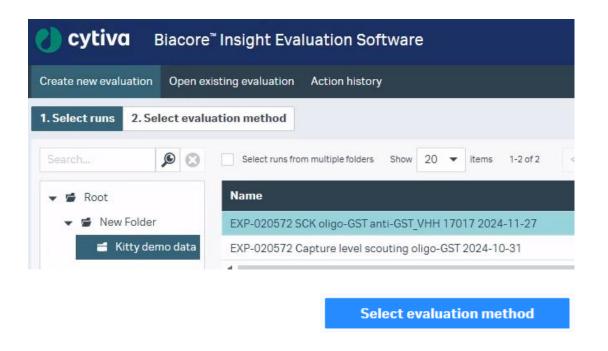
- 1. Plate layoutに従って準備
- 2. Send to queueで測定開始(③)※Send to queueをクリックして測定開始をすると、元の画面に戻ることはできません。



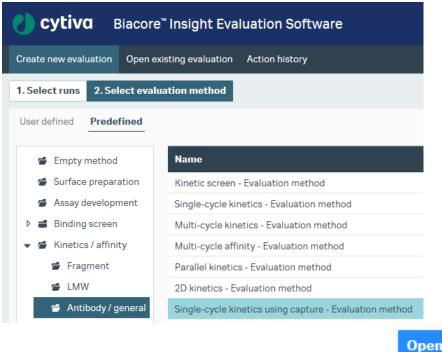
(5) 本測定: Kinetics (K_D, k_a, k_d)解析



Select runsタブから本測定のデータを選択して、 Select evaluation methodをクリック



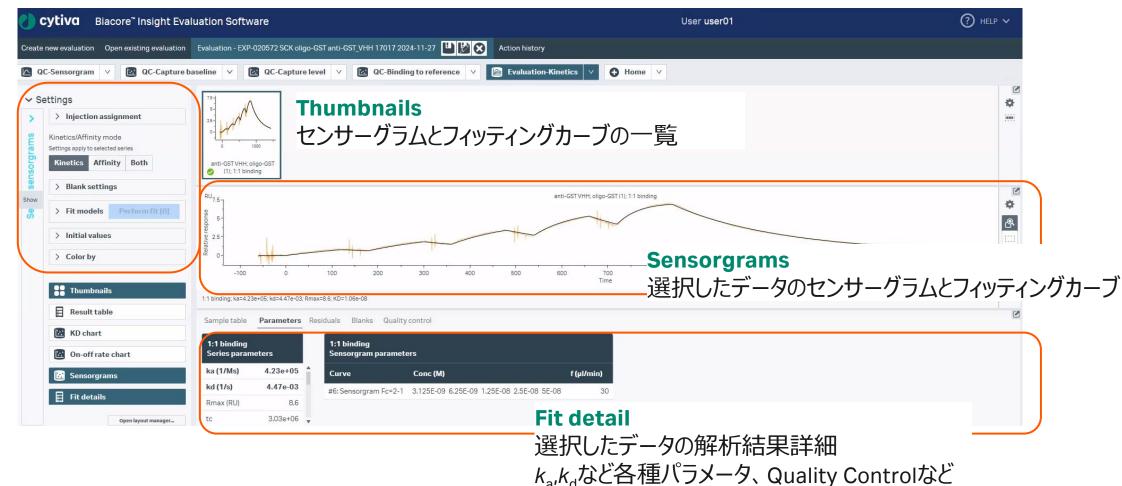
Predefinedタブから、Evaluation methodを選択、 Openをクリック



Open

(5) 本測定: Kinetics (K_D, k_a, k_d)解析

Settings 解析方法 の詳細 次ページ 以降へ

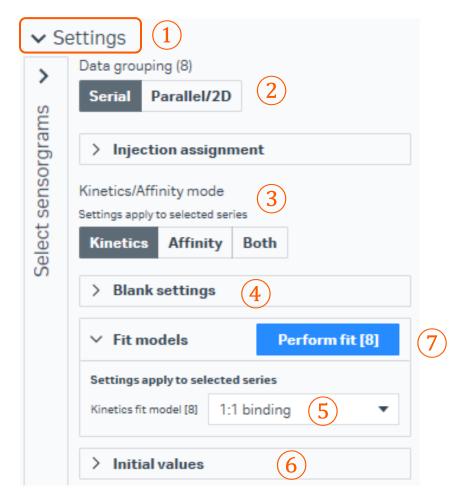


Cytiva

49

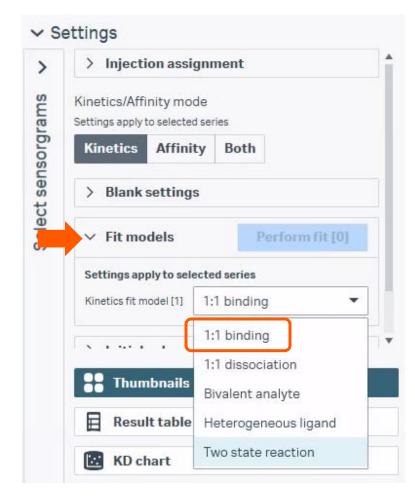
2-4. Kinetics (K_D, k_a, k_d) 解析の詳細

(1) Settings項目一覧



	項目	説明	
1	Settings	設定を変えて再解析ができます。	
2	Data grouping	*8 seriesデータ解析時のみ Serial:マルチサイクル法またはサイクル法 Parallel/2D:パラレル法または2Dカイネティクス法	
3	Kinetics/Affinity mode	Kinetics:カイネティクス解析($k_{a'}k_{d'}K_{D}$ の算出) Affinity:アフィニティー解析(平衡値解析: K_{D} のみ算出) Both:カイネティクス解析、アフィニティー解析の両方を実施	
4	Blank settings	Blank (0濃度) によるドリフト補正。 アナライトと同一名称、直前、直後、直近のサイクルから選択	
5	Fit models	結合様式に従って選択 Kinetics解析では多くの場合1:1 binding *詳細次項	
6	Initial values	フィッティング解析の初期値 まずデフォルトで *詳細次項	
7	Perform fit	設定後、再解析実行	

(2) Fit modelsの設定



Kinetics解析で主に使用するFit models

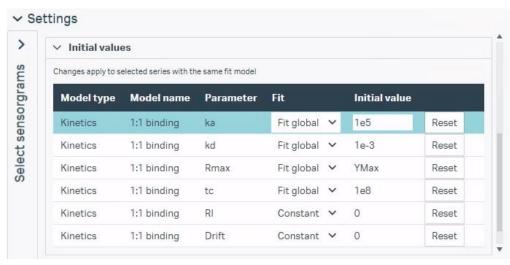
モデル式	説明
1:1 binding	A + B ⇔ AB リガンドとアナライトが 1 分子同士で結合する もっとも単純な反応モデル。

参考: その他のFit models

モデル式	説明
1:1 dissociation	A + B ⇔ AB リガンドとアナライトが 1 分子同士で結合するもっとも単純な反応モデル。 * 解離相のみをフィッティングしてk _d のみを算出
Bivalent analyte	A+B⇔AB, AB+B⇔AB2 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	A + B1 \leftrightarrow AB1 , A + B2 \leftrightarrow AB2 アナライトに対して親和性の異なる 2 つの結合部位を持つリガンドにアナライト が並行して結合する反応モデル。
Two state reaction	A+B⇔AB⇔AB* リガンドとアナライトの 1 分子同士の結合であるが、複合体形成後コンフォメーション変化を起こす反応モデル。

51

(3) Initial valuesの設定



Kinetics解析におけるInitial Value

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

変更を加える場合(多くはデフォルトのまま)

項目			
k _a	多くの場合、変更はしない。		
k_{d}	解離が遅いもので、真値と明らかに異なる値が出た場合、1e-5くらいからはじめることもある。		
Rmax	通常はFit Global。再生が不十分でサイクルごとにRmaxが変わる際、Fit Localを使用するケースがある。		
tc	多くの場合、変更はしない。		
RI	デフォルトでConstant 0。バルクが大きく、ダブルサブトラクションを行ってもアナライトインジェクション前後に段差が残る場合、Fit global、Initial Value=Ymax/5。		
Drift	デフォルトでConstant 0。ドリフトが大きく、ダブルサブトラクションを行ってもベースラインが傾いている場合、Fit global、Initial Value=0。		

(4) Quality controlの確認(フィッテイング結果の評価)

1:1 binding modelを用いたKinetics解析結果について、はじめに画面下部にあるQuality controlタブの各項目を確認します。

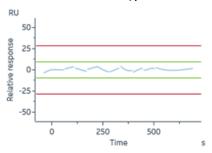
Sample t	didio.	Parameters	Residuals	Blanks	Quality control	References
Kinet	tic con	stants are with	in instrumen	t specificat	tions.	(1
/ Kinet	tic con	stants appear	to be uniquely	y determin	ed.	(2
Bulk	contri	butions (RI) we	re not evaluat	ted. The RI	parameter is set to	constant.
Chec	k that	sensorgrams h	nave sufficien	t curvature	э.	$\overline{4}$
Exan	nine th	e residual plot	Pay attention	n to systen	natic and non-rand	om deviations. 5

②	(緑)	クオリティーアセスメントにパスしています。
----------	-----	-----------------------

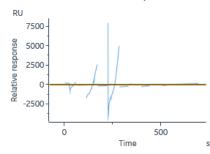
- (橙) クオリティーアセスメントの許容限界に近いです。
- (赤) クオリティーアセスメントにパスしていません。
- (灰) 測定者が確認します。

	項目	説明
1	速度定数がシステムの スペック範囲内か?	k_a =~3e9(タンパク質)、~5e7(低分子化合物) k_d =1e-6~1(Biacore 1K/1K+)、1e-6~6(Biacore 1S+)
2	各パラメータが独立して 算出されているか?	k_a 、 k_a および Rmax の間に相関性はない。 マストランスポートリミテーション下で k_a 、 k_a に相関性が見られる。
3	溶液効果の値(RI) の妥当性	デフォルトで0にしているが、アナライト添加直後に急激なレスポンス変動が起きてから特異的な結合カーブが出現していないことを目視確認する。
4	センサーグラムはカーブ を描いているか?	高濃度サンプルに注目。センサーグラムの結合・解離領域が直線的な場合、Fitting結果の信頼性は低い。
5	フィッティングカーブに対 して測定プロットがランダ ムに分散しているか?	Residualsタブを確認。良好なフィッティングでは、データがランダムに分散し、緑色のガイドライン内にほぼ全てのプロットが収まる。 下図参照。

Residuals for a good fit



Residuals for a poor fit



(5) 1:1 binding modelを用いたKinetics解析結果と評価パラメーターについて

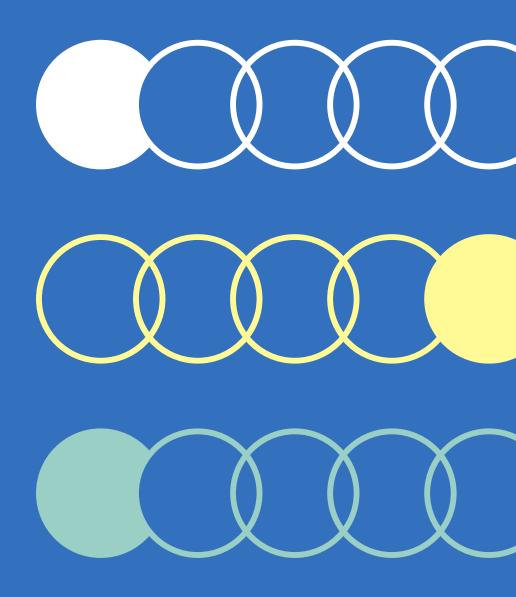
1. 1:1 binding modelを用いたKinetics解析結果

	単位	説明
結合速度定数 <i>k_a</i>	1/Ms	複合体形成速度。1MのAとBを混合した際、1秒間に形成する 複合体の数。
解離速度定数 <i>k_d</i>	1/s	複合体の安定性。複合体が1秒間に解離する割合。 k _d = 0.01 s-1= 1% 1秒当たり複合体が1%解離する。
解離定数 <i>K</i> _D	М	アナライトを添加して平衡状態になった時、リガンドの半分が複 合体を形成している時の濃度を示す。
Rmax	RU	実測のアナライト最大結合量。理論的Rmax (31ページ参照)を 超えた場合、特異的な結合でないことが考えられる。
溶媒効果 RI	RU	デフォルトで0に固定されている。アナライト添加直後に急激なレスポンス変動が起きてから、特異的な結合カーブが出現していないことを目視確認する。
tc値	RU·M-1s ⁻	分子量50kDa程度の球状タンパク質では108程度。 tcが大きい分にはMTLは考慮しなくとも良いと判断できる

2. Fitting 解に対する評価パラメーター

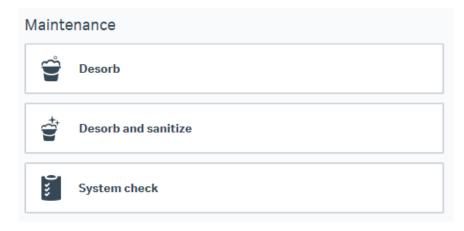
	単位	説明
カイ二乗 Chi ²	RU ²	測定データとフィッティングカーブ間における残差の平均平方値。 良好なフィッティングでは、シグナルノイズの平均平方値に一致。
U-value	-	$k_{\rm a}$ 、 $k_{\rm d}$ の解が連動していないか(uniqueであるか)、測定条件がMTL環境下でないかを評価するために設定されたパラメータ。 \leq 15問題なし。 \geq 25算出された値の信頼性は低い。
標準誤差 SE	-	各パラメータについて SEを算出。 k_a 、 k_a などの解析結果については、一般的に10%以下で問題ないと判定されることが多い。

3. 各種メンテナンス および 測定後の管理方法



3-1.メンテナンス・システムチェック

Instrument Control画面より定期メンテナンスを実行



Biacore Maintenance Kit, type 3 (29229054) メンテナンス・システムチェックには本Kitが必要。

Desorb Kit (BR100823)

Desorb Solution 1, Desorb Solution 2(各500ml)のみ追加購入ができます。

Desorb: 週に1回

Series S Sensor Chip Maintenance *

Desorb Solution 1 * Desorb Solution 2 *

バッファーチューブ:超純水

Desorb and sanitize:月に1回

Series S Sensor Chip Maintenance *

Desorb Solution 1 *
Desorb Solution 2 *

終濃度0.6-1.0%次亜塩素酸ナトリウム 超純水、10~50mM HEPESやTris緩衝液

System Check: 異常を感じた時

Series S Sensor Chip CM5 (Check後、測定使用OK)

56

Biacore test solution ★

バッファーチューブA、C: HBS-EP+ バッファーチューブB、D: 超純水

* キットに含まれるもの

3-2.測定後の管理

7日以内に再度使用する場合

チップを入れたままスタンバイフローが可能

バッファー消費量: 130 ml/24hr

超純水消費量: 95 ml/24hr

Instrument statesで経過時間を確認



システムをシャットダウンする場合

最低限以下の操作を実施します

- 1. バッファーチューブを超純水ボトルヘセット
- 2. Series S Sensor Chip Maintenanceをドック
- 3. Change solution実施
- 4. Series S Sensor Chip Maintenanceをアンドック

57

- 5. Biacore Insight Softwareをクローズ
- 6. PCのシャットダウン
- 7. Biacore本体の電源を切る

3-3.チップの保管

ドライ状態での保存

取り出したセンサーチップにパラフィルムを巻いて4°Cで保存

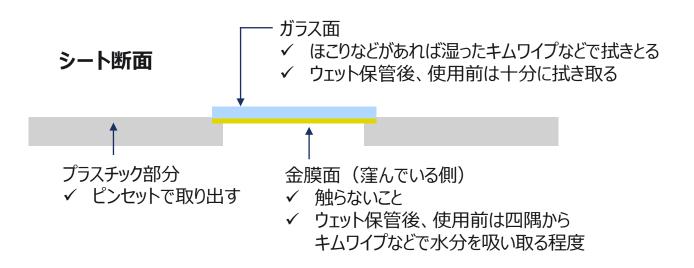
ウェット状態での保存

- 1. 25-50ml遠心チューブにHBS-EP+などを分注
- 2. センサーチップのシートをカバーから抜き取る
- 3. シートだけを容器中の緩衝液に浸し、4℃で保存



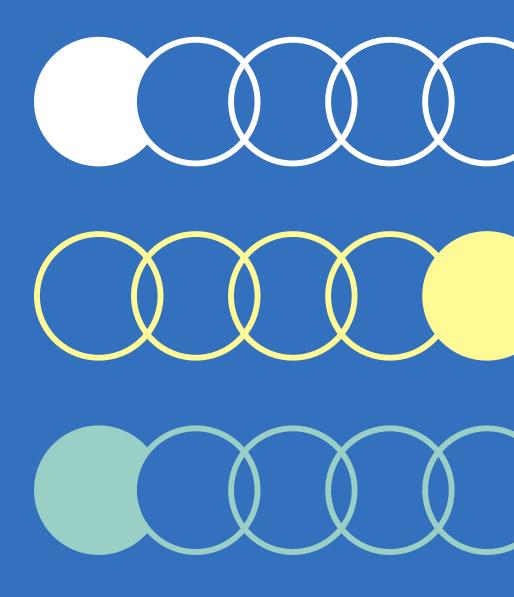
チップの再使用

緩衝液に浸したシートは緩衝液を拭き取ってカバーへ戻す *金膜面は触らないでください



4.

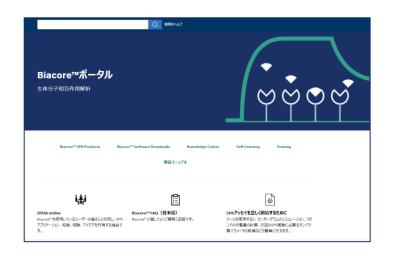
サポート情報



4-1.サポート情報

国内Biacoreポータルサイト

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





機種別Biacore日本語マニュアル(アプリケーション別説明書) Knowledge Center、Biacore FAQなどの日本語マテリアル

本国Biacoreポータルサイト

https://www.cytivalifesciences.com/en/se/solutions/protein-research/interaction-analysis-with-biacore-surface-plasmon-resonance-spr





Biacore[™] software downloads(英語版マニュアル含む) Key SPR application 資料、オンライントレーニングコース Online tools(Simul8: k_a 、 k_d から理論的センサーグラムを描画)

4-2.サポート情報

月刊Biacoreコンシェルジュ

https://www.cytivalifesciences.co.jp/technologies

/biacore/concierge/index.html

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



消耗品のIFU

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



初めてBiacore™実験ノート

https://www.cytivalifesciences.co.jp/technologies/biacore/concierge/biacore-lab-notebooks.html





消耗品のIFU(Instruction for Use)は、製品に付属していません。 製品をご使用いただく前に、PDFファイルをご確認ください

【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2023年6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。

したがいまして、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

