

Biacore™ Insight Software

Epitope Binning Extension マニュアル

Ver.7.0

2026/08

Biacore™ Insight Epitope Binning Extension



目次

1. 本資料の目的	3
2. EPI TOPE BINNING の概要.....	3
2-1. Epitope Binning の測定フォーマット	3
2-2. Epitope Binning の測定フォーマットの Pros/Cons.....	5
2-3. Epitope Binning におけるキャプチャーフォーマットの利用	5
2-4. Dual Command の利用	6
3. BIACORE™ INSIGHT CONTROL SOFTWARE.....	7
3-1. Epitope Binning 測定 Method の実行	7
3-2. Method definition	8
3-3. Variable and positioning	9
4. BIACORE™ INSIGHT EVALUATION SOFTWARE	11
4-1. Epitope Binning evaluation の実行.....	11
4-2. Epitope Binning workspace の概観	12
4-3. Sensorgrams panel.....	13
4-4. Heat map panel	16
4-5. Bin chart panel (Binning wheel)	17
4-6. Settings	18

1. 本資料の目的

本資料は Biacore Insight Software にオプションとして追加可能な Epitope Binning Extension について、その利用方法や解析方法について解説したものです。Epitope Binning Extension は Biacore Insight Evaluation Software による解析だけでなく Biacore Insight Control Software による測定 Method もサポートします。Biacore T200/S200 Control Software に関しては測定 Method のサポート機能は使用できませんのでご注意ください。

本資料は Biacore Insight Evaluation Software User Manual、Biacore 1/8 Series User Manual を元にご案内します。より詳細な解説は以下の web ページより正式な英語版マニュアルをダウンロードしてご確認ください。

<https://www.cytivalifesciences.com/ja/jp/support/software/biacore-downloads>

Biacore™ Insight Software および Epitope Binning Extension に関する製品情報はこちらです。

<https://www.cytivalifesciences.co.jp/catalog/44011.html>

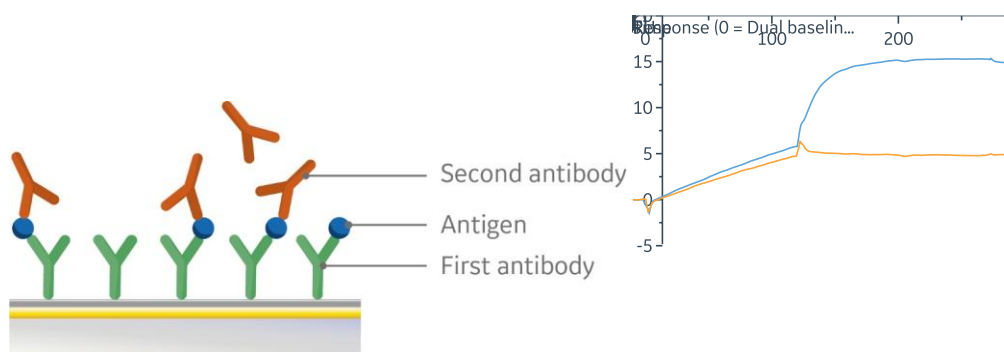
2. Epitope Binning の概要

2-1. Epitope Binning の測定フォーマット

Epitope Binning の測定フォーマットには 3 種類あります。各種方法とメリット、デメリットについて記載します。

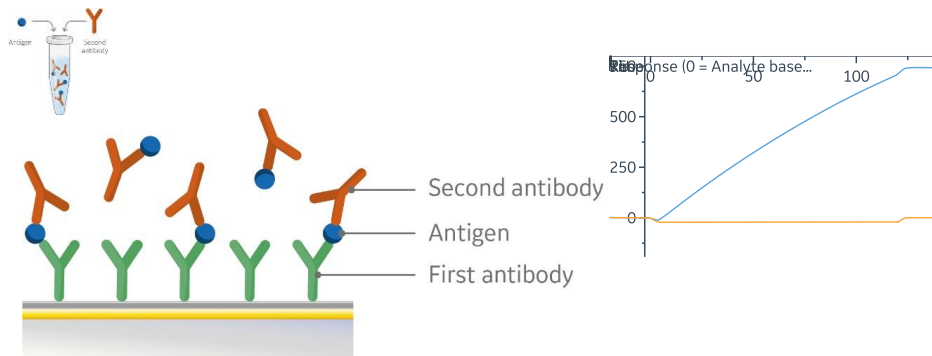
Sandwich assay

一次抗体はセンサーチップ表面に共有結合で固定化、その上に抗原を添加し、続けて二次抗体を添加する方法です。下の図では Non-blocking の場合は青色のセンサーグラム、Blocking の場合は橙色のセンサーグラムで示しています。



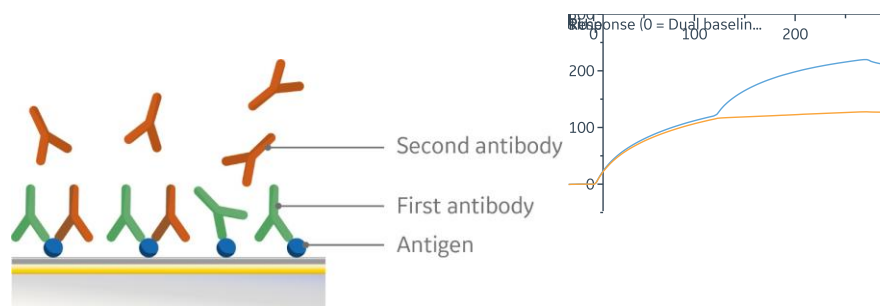
Premix assay

Sandwich assay と同様に、一次抗体はセンサーチップ表面に共有結合で固定化、抗原と二次抗体はブレミックスしたものを添加する方法です。下の図では Non-blocking の場合は青色のセンサーグラム、Blocking の場合は橙色のセンサーグラムで示しています。



Tandem assay

センサーチップ上に抗原を共有結合またはキャプチャー、一次抗体を添加後、二次抗体を添加する方法です。下の図では Non-blocking の場合は青色のセンサーグラム、Blocking の場合は橙色のセンサーグラムで示しています。



2-2. Epitope Binning の測定フォーマットの Pros/Cons

各測定フォーマットにおける Pros/Cons を下表にまとめました。

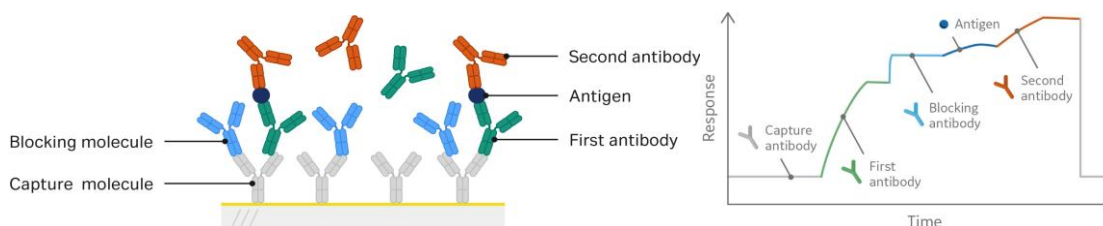
	Sandwich	Premix	Tandem
Pros	・ 一般的には第一選択肢 ・ 抗体の必要量も少なくて済む	・ データが解釈しやすい ・ Sandwich assay の検証可能	・ 抗原を直接固定化した場合必要量が少なくて済む ・ 多価抗原にも互換性がある
Cons	・ 多価抗原の場合はブロッキングステップが必要 ・ 一次抗体の親和力が弱い場合抗原がすぐに解離してしまう	・ 親和力に関するある程度の情報が必要 ・ 二次抗体が高濃度で必要 ($>10 \times K_D$)	・ 固定化に伴いエピトープがマスクされる可能性 ・ 固定化された抗原から抗体を解離させる再生条件の検討が面倒

2-3. Epitope Binning におけるキャプチャーフォーマットの利用

Sandwich assay および Premix assay では、キャプチャーフォーマットをサポートしています。一次抗体と抗原の適切な再生条件が見つけれないときなど便利です。キャプチャーフォーマットを利用する場合、二次抗体とキャプチャー分子の結合によって生じるレスポンスに気を付ける必要があります。

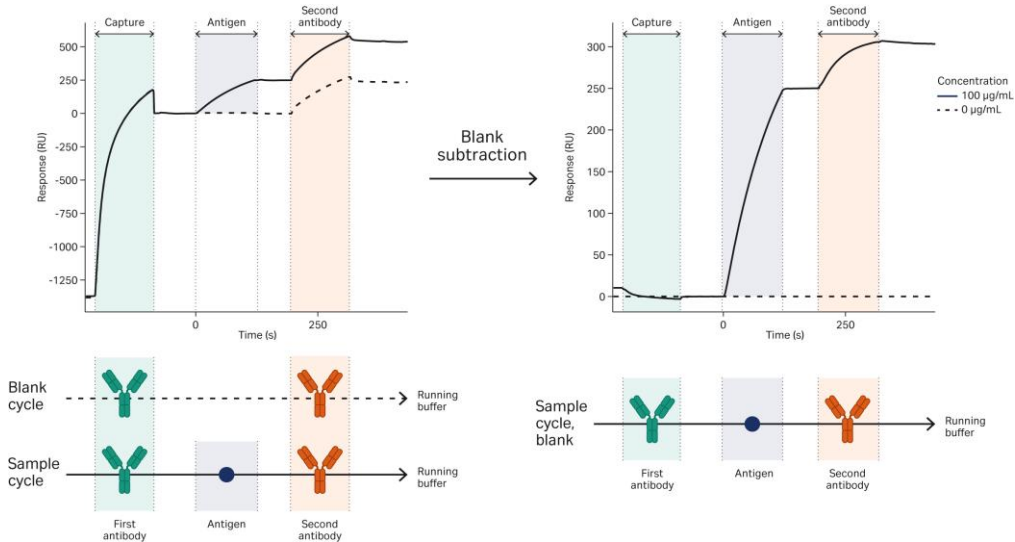
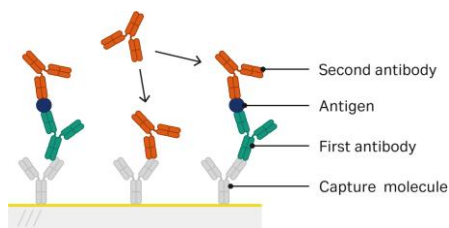
ブロッキング抗体の利用

キャプチャー分子に対する二次抗体の結合を防ぐため、一次抗体を流した後で無関係の抗体でブロッキングします。



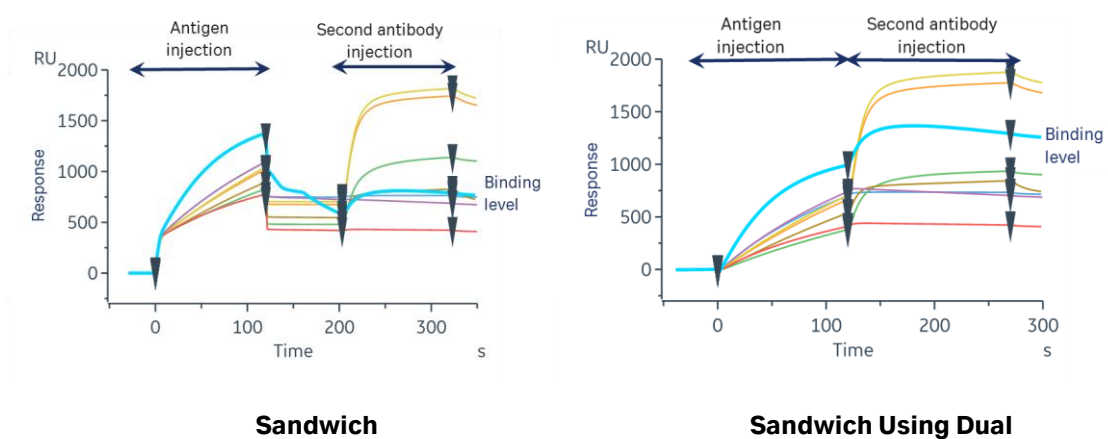
ブロッキング抗体の利用しない方法（without blocking）

キャプチャーフォーマットの Premix assay では、ブロッキング抗体を利用しない方法もサポートしています。この方法では下図のように Sample Cycle のほかに Blank Cycle（抗原をインジェクションしないサイクル）を設定します。そして、Sample Cycle（実線）のほかに Blank Cycle（破線）を差し引くことで、二次抗体とキャプチャー分子の結合によって生じる無関係なレスポンスを補正します。



2-4. Dual Command の利用

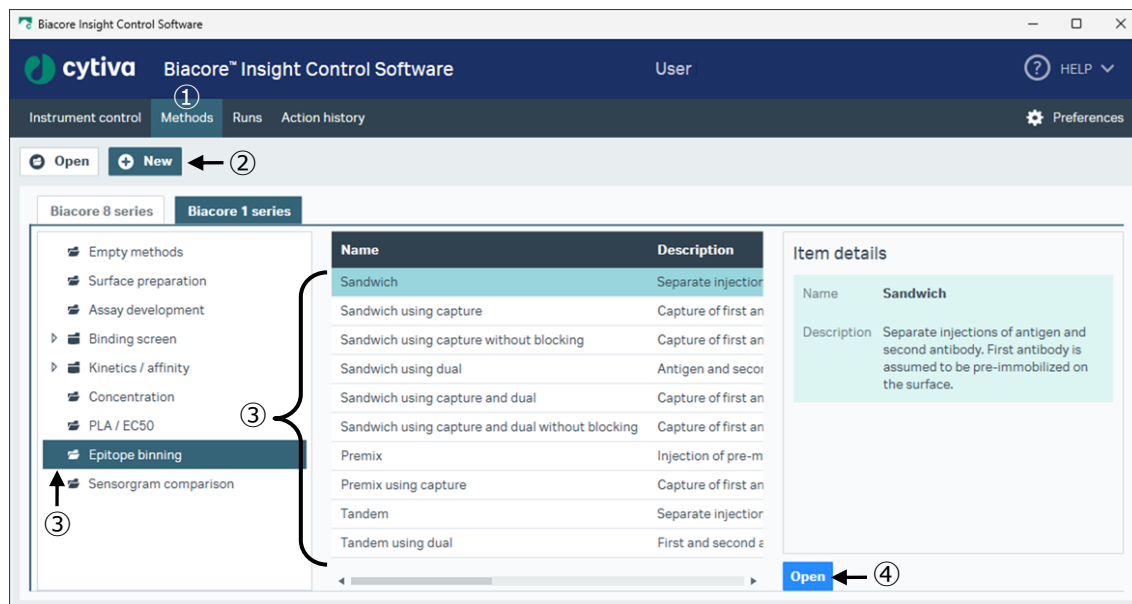
Dual は 2 つの溶液を washing step を挟まずに連続して添加します。これは Sandwich Assay をサポートする手法で下図のようなデータが得られた場合、Sandwich（左図）では、抗原の解離が速すぎるため二次抗体の結合量を見積もれません。このような場合、Sandwich Using Dual（右図）を用います。



3. Biacore™ Insight Control Software

3-1. Epitope Binning 測定 Method の実行

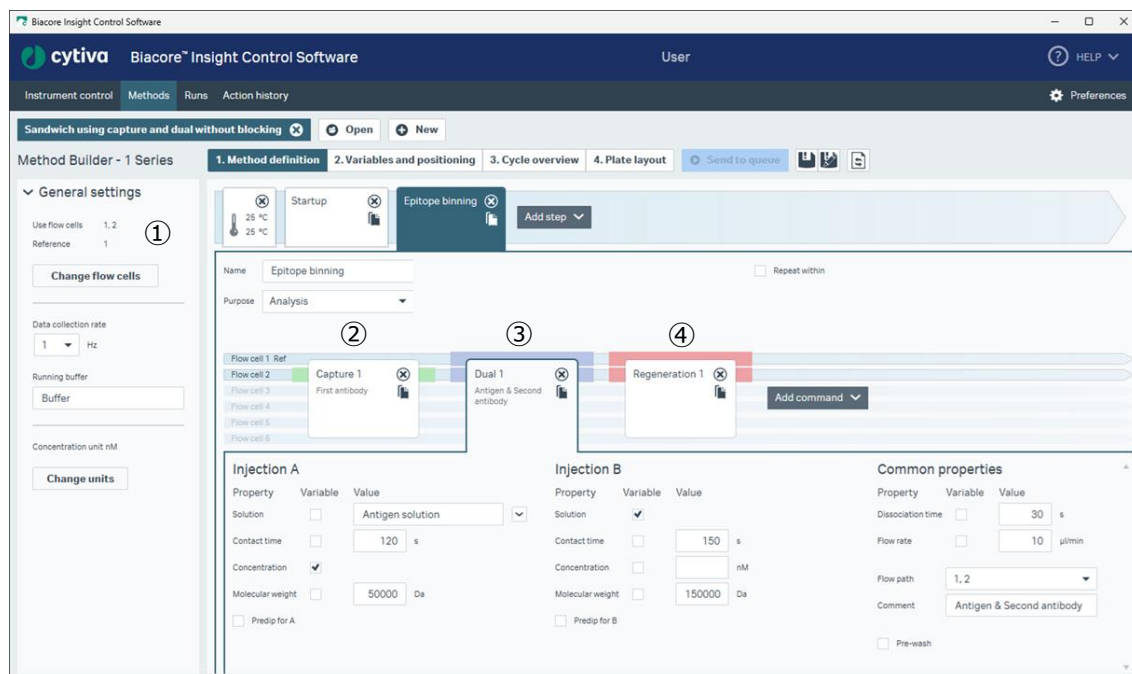
プリセットされた Method で測定を実行します。



手順	操作項目	注意点・説明
①	Methods	 Insight Control Software 起動後、Methods を選択
②	New	プリセットされた測定 Method の選択 ＊ 編集・保存済みの Method は Open より選択
③	Method の選択	Epitope binning を選択 アッセイフォーマットに合わせた測定 Method の選択 キャプチャーフォーマットは Sandwich assay および Premix assay をサポート Dual Command は Sandwich assay をサポート
④	Open	選択した Method を開く

3-2. Method definition

Sandwich using capture dual without blocking の場合、3 つの **Command** によりインジェクションを実施します。



手順	操作項目	注意点・説明
①	General settings	Change flow cells：使用する Flow cell の変更 Data collection rate：Epitope binning では通常 1Hz Runing buffer：任意で入力 Change Units：抗体、抗原の添加濃度（nM、µg/ml など）の変更
②	Capture 1	一次抗体のインジェクション条件
③	Dual 1	Injection A：抗原のインジェクション条件 Injection B：二次抗体のインジェクション条件 Common properties：解離時間、流速など共通項目 ＊Dual コマンドでは、間を開けず抗原に続いて二次抗体が流れます
④	Regeneration 1	再生溶液のインジェクション条件 キャプチャー分子以外の、一次抗体、抗原、二次抗体の全てを剥がす

3-3. Variable and positioning

Biacore 1 series

Sandwich using capture dual without blocking の場合、抗原 Sample Cycle のほかに Blank Cycle（抗原をインジェクションしないサイクル）が必要なため、抗原濃度（Concentration A）の 0 濃度を各サンプルの直前にセットします。2 種類の抗体（Sample1 と Sample2）を一次抗体と二次抗体に入れ替えてマトリクスで評価する場合、8 サイクルが必要となります。

Method Builder - 1 Series

1. Method definition | 2. Variables and positioning | 3. Cycle overview | 4. Plate layout | Send to queue

Settings

Actions for selected step: File, Clipboard

Manage cycles: Add 1 cycle(s), Insert above, Remove cycles, Remove all, Move up, Move down

Generate solution names: Generate names

No	Capture 1 - First antibody Solution	Control	Dual 1 - Antigen & Second antibody Concentration A (nM)	Solution B	Control
1	Sample 1	▼	0	Sample 1	▼
2	Sample 1	▼	100	Sample 1	▼
3	Sample 1	▼	0	Sample 2	▼
4	Sample 1	▼	100	Sample 2	▼
5	Sample 2	▼	0	Sample 1	▼
6	Sample 2	▼	100	Sample 1	▼
7	Sample 2	▼	0	Sample 2	▼
8	Sample 2	▼	100	Sample 2	▼

Biacore 8 series

多検体をマトリクスで評価する場合、各ポジションにサンプル名を入力することが複雑になります。そのため、専用のセットアップツール（赤枠）があります。

Method Builder - 8 Series

1. Method definition | 2. Variables and positioning | 3. Cycle overview | 4. Plate layout | Send to queue

Settings

Use channels: 1 2 3 4 5 6 7 8 (all checked)

Actions for selected step: File, Clipboard

Set up: **Epitope binning** (highlighted with red dashed box and arrow 1)

Manage cycles: Add 1 cycle(s), Insert above, Remove cycles, Remove all

No	Capture 1 - First antibody Solution	Control	Dual 1 - Antigen & Second antibody Concentration A (nM)	Solution B	Control
1	Sample 1	▼	0	Sample 1	▼
	Sample 2	▼	0	Sample 1	▼
	Sample 3	▼	0	Sample 1	▼
	Sample 4	▼	0	Sample 1	▼
	Sample 5	▼	0	Sample 1	▼
	Sample 6	▼	0	Sample 1	▼
	Sample 7	▼	0	Sample 1	▼
	Sample 8	▼	0	Sample 1	▼
2	Sample 1	▼	100	Sample 1	▼
	Sample 2	▼	100	Sample 1	▼
	Sample 3	▼	100	Sample 1	▼

Sandwich using capture and dual without blocking Open New

Set up epitope binning matrix

First antibody

Capture 1 - First antibody

No	Solution
1	ab001
2	ab002
3	ab003
4	ab004
5	ab005
6	ab006
7	ab007
8	ab008

③

Second antibody

Dual 1 (B)

No	Solution
1	ab001
2	ab002
3	ab003
4	ab004
5	ab005
6	ab006
7	ab007
8	ab008

②

Settings

☒ Remove existing cycles in step

Positioning

☒ Optimize for few cycles

☐ Vary 1st Ab by channel, 2nd Ab by cycle

☐ Vary 1st Ab by cycle, 2nd Ab by channel

Left plate 96 well 250 µl **Right plate** 96 well 250 µl

②

Transfer to method **Cancel**

手順	操作項目	注意点・説明
①	Epitope Binning	クリックすると画面が切り替わります。
②	サンプル名入力	評価したい抗体名を入力します
③	Transfer to Method	Plate の推奨 Position に反映されます。

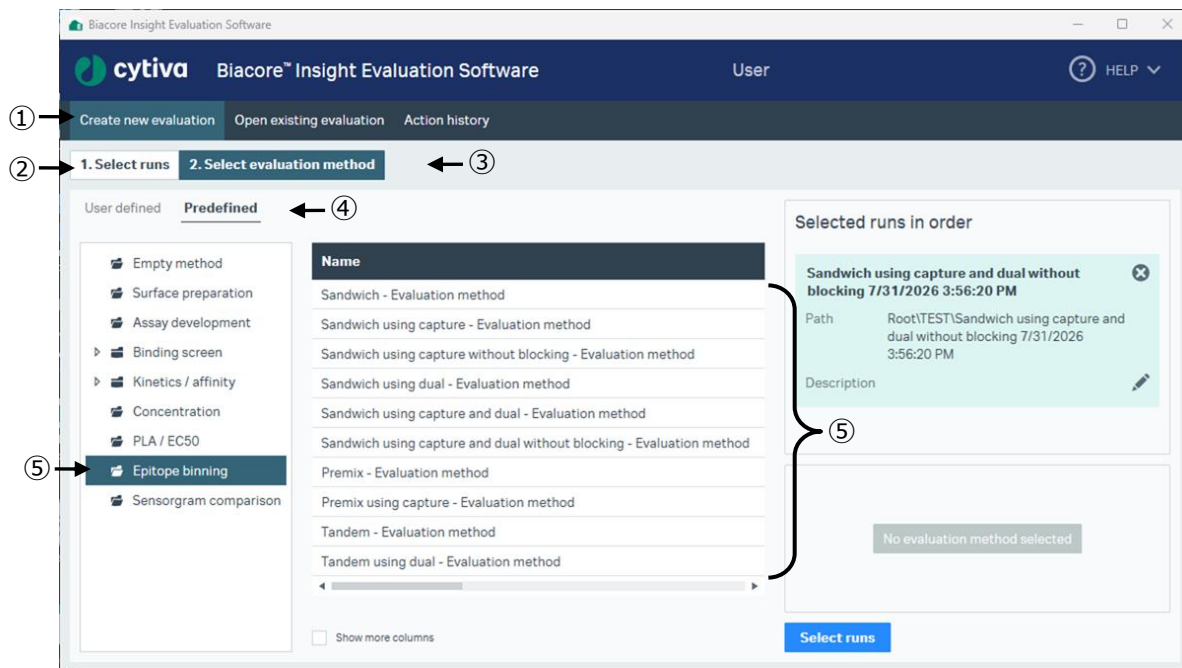
Variable and positioning における Position Setting、また、それ以降の Cycle overview、Plate layout、Send to queue に関しては、Kinetics/Affinity Run などと同じ考え方です。

1. Method definition 2. Variables and positioning 3. Cycle overview 4. Plate layout Send to queue U U

4. Biacore™ Insight Evaluation Software

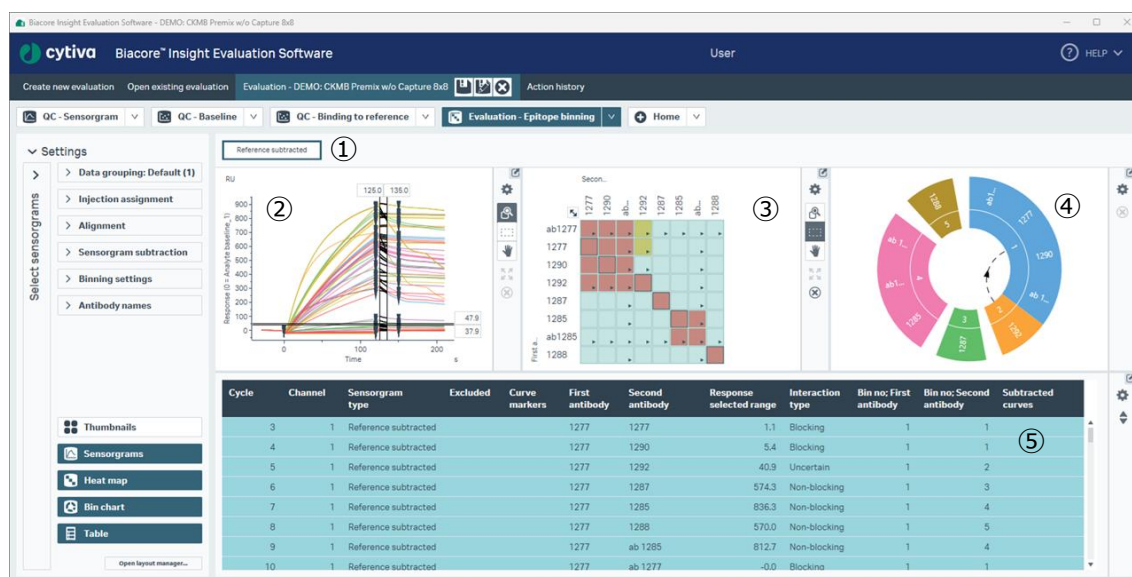
4-1. Epitope Binning evaluation の実行

プリセットされた Method で解析を実行します。



手順	操作項目	注意点・説明
①	Create new evaluation	 Insight Evaluation software 起動 Create new evaluation から解析をはじめます
②	Select runs	RUN ファイルの選択。
③	Select evaluation method	解析を実行する Method の選択
④	Predefined	プリセットされた解析 Method の選択 ＊ 編集・保存済みの Method は User defined より選択
⑤	Method の選択	Epitope binning を選択 アッセイフォーマットに合わせた解析 Method の選択
⑥	Open	選択した Method の実行

4-2. Epitope Binning workspace の概観

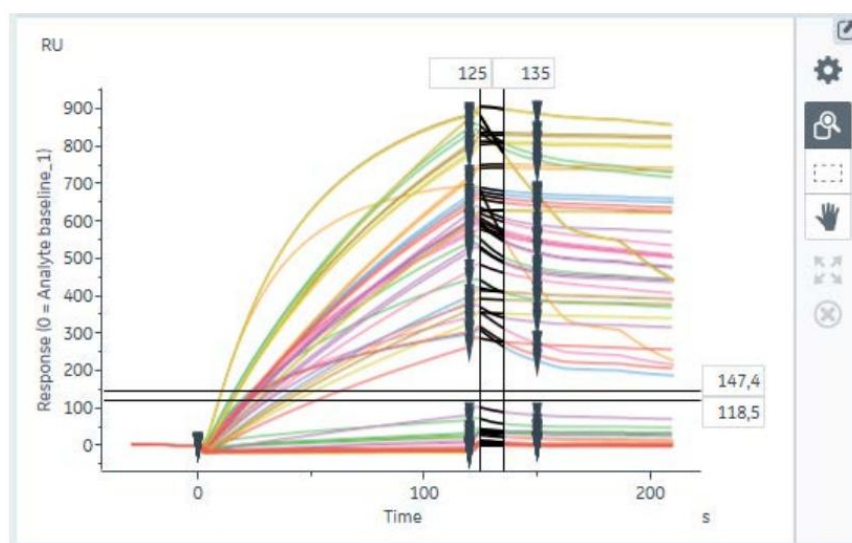


Epitope Binning 解析 Workspace は、5 つの画面から構成されています。

①	Thumbnails	Data grouping で設定したセンサーグラムが表示されます * Default では非表示になっています
②	Sensorgrams	Heat map や Table で選択されたデータのセンサーグラムを表示します。縦線が数値化する領域、横線が blocking / Non-blocking のカットオフラインとなります。
③	Heat map	それぞれの抗体ペアによる結合タイプを色分けします。こちらから選択したデータについて Sensorgrams パネルに反映されます。
④	Bin chart	全ての抗体が異なる Bin にどのようにグルーピングされているかを示しています。
⑤	Table	全てのサンプルにおける、サンプル名、レスポンス、結合タイプ、Bin などの情報を表示します。選択したデータについて Sensorgrams パネルに反映されます。

各パネルにおける、Settings  から X 軸や Y 軸合わせ、ブランクの設定などを行います（後述）。

4-3. Sensorgrams panel



Sensorgrams パネルでは、Heat map や Table で選択したデータのセンサーグラムが表示されます。こちらのパネルで、数値化する領域や、Blocking / Non-blocking のカットオフラインを設定します。

Blocking / Non-blocking のカットオフライン設定

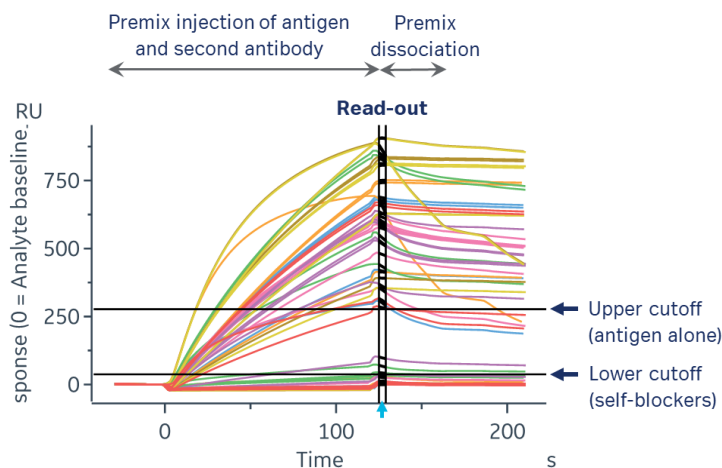
上図のように二本の横線でカットオフラインが設定されます。デフォルトでは lower cut-off は、ヒートマップ内のすべての **Self-self sensorgram**（一次抗体と二次抗体が同一）のすぐ上に自動的に配置されます。Upper cut-off は、lower cut-off の一定距離上に自動的に配置されます。Lower cut-off よりも低いレスポンスの組み合わせは Blocking として、upper cut-off よりも高いレスポンスの組み合わせは Non-blocking として、2 つの cut-off に挟まれるレスポンスの組み合わせは Uncertain としてレポートされます。いずれのカットオフラインもドラッグあるいは **Sensorgrams** パネル内に表示されているカットオフ値を直性入力することで変更が可能です。

なおこの値は Exclude や Settings でセンサーグラムを非表示に切り替えても最初に設定された lower cut-off の位置は自動的に変更されません。変更の際は Heat map の左上  アイコンをクリックすることで **Self-self sensorgram** だけが表示されるので、lower cut-off の変更便利です。

Response read-off のカットオフライン設定

Blocking / Non-blocking を評価するレスポンスは、二本の縦線の間における中央値となります。ノイズの影響が見られる場合などに設定を変更することがあります。

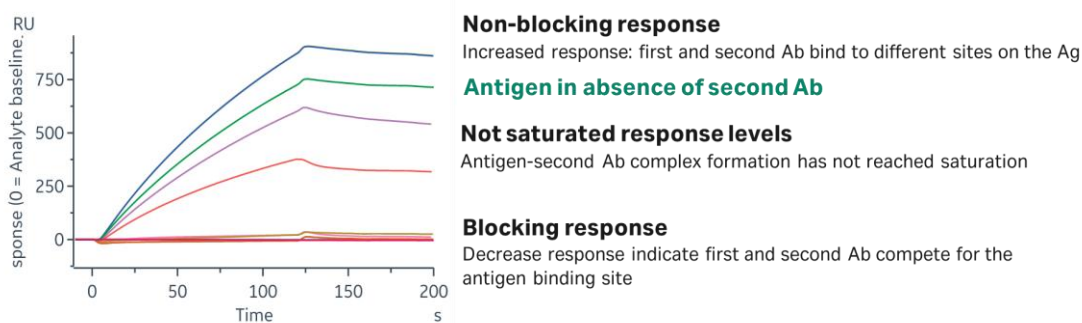
Uncertain と cut-off の変更基準の考え方



例えば Premix Assay の場合、上図のように upper cut-off をデフォルトから抗原のみを添加したときのレスポンス（図中では 255RU 程度）に変更することがあります（lower cut-off はデフォルト）。この場合の Uncertain の考え方ですが、上図のように抗原のみを添加したときと比べ明らかにレスポンスが異なるならば、lower cut-off も 100RU 程度まで引き上げて良いかもしれません。

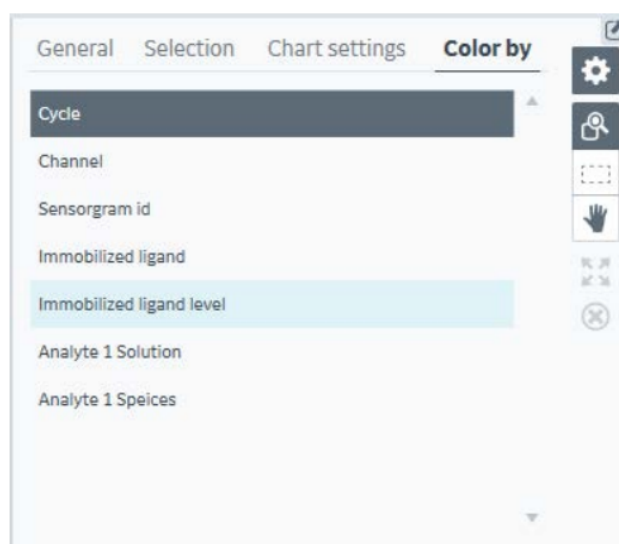
ただし、下図のように明らかなブロッキングではないレスポンスの場合は二次抗体の濃度が低いなどの理由により抗原-二次抗体複合体が平衡状態に達していない可能性があります。二次抗体の濃度を上げたり、プレミックス後の時間を延長するなどして対応するほか、より詳細にデータを確認する場合は各一次抗体のみのデータを検証していく必要があります。

なおデフォルトの lower cut-off は **Self-self sensorgram** の最高のレスポンス + 1 RU、upper cut-off は lower cut-off + 10 RU とラフな値です。

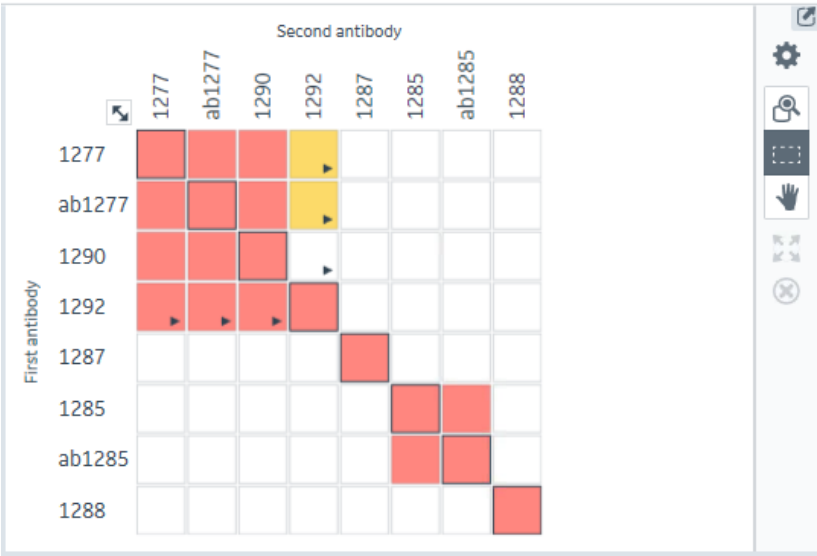


補足 Chart settings 中の Color by について

Chart settings  から各種の表示変更ができます。センサーグラムの色分け定義を変更したい場合、Color by のタブから項目を選択します。



4-4. Heat map panel



Heat map パネルはそれぞれの抗体ペアにおける相互作用タイプを色とマトリックス形式で表示しています。Heat map 中のそれぞれのセルは y 軸に示される一次抗体と x 軸に示される二次抗体の組み合わせにおける相互作用を示しています。デフォルトでは Heat map は bin ごとに自動的にソートされています。

①	黒枠	一次抗体と二次抗体が同じ抗体の場合
②	赤セル	一次抗体によるブロッキングで二次抗体が抗原に結合できない状態であり、lower cut-off よりもレスポンスが低い状態（Blocking）
③	白セル	一次抗体も二次抗体も抗原に結合できる状態であり、Upper cut-off よりもレスポンスが高い状態（Non-blocking）
④	黄セル	不確かな相互作用であることを示し、詳細な解析が必要な状態であり、2 つのカットオフラインの間にレスポンスがある状態（Uncertain）
⑤	矢印	一次抗体と二次抗体を逆にすると赤、白、黄セルの色が変化する場合

左上  アイコンをクリックすることで、黒枠サンプルのみが選択でき、センサーグラムの選択に反映されます。lower cut-off を設定する際に用います。また各抗体の名前自体をクリックすることで該当するカラムのみを選択することも可能です。

4-5. Bin chart panel (Binning wheel)

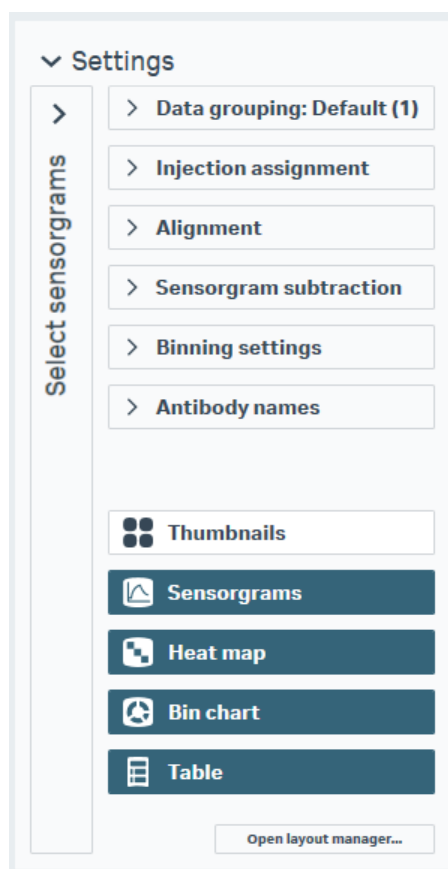


Bin chart では全ての抗体が異なる Bin にどのようにグルーピングされているかを示しています。Bin は共通の色と Bin 番号で扇形の部門（セクター）として表示されます。個々の Bin には白い隙間があり、複数の Bin が部分的に重複するブロッキングパターンを持つ場合は隣接して表示されています。

②-④は右上の **Chart settings**  を開き、**Show bin connections** にチェックを入れる则表示されます。

①	隙間	白い隙間で区切られているセクター同士は抗原の独立したエピトープに結合可能
②	破線矢印	矢印の始点側を一次抗体、終点側を二次抗体と見た時には赤セル（Blocking）であるが逆にすると黄セル（Uncertain）になる場合 また、矢印の始点側を一次抗体、終点側を二次抗体と見た時には黄セル（Uncertain）であるが逆にすると白セル（Non-Blocking）になる場合
③	実線矢印	矢印の始点側を一次抗体、終点側を二次抗体と見た時には赤セルであるが逆にすると白セル（Non-blocking）になる場合
④	実線	図の例では、Bin 番号 1 と 2 は赤セル（Blocking）の関係だが、3 との関係性が異なるため、同じ Bin 番号にグルーピングせず実線で結ばれる

4-6. Settings



Settings では workspace 上の sensorgram、heat map や bin wheel の表示方法を変更できます。**Settings** の左端には Select sensorgrams があり、こちらでは表示させるセンサーグラムの種類を選択します。以下では **Sensorgram subtraction**, **Binning settings**, **Antibody names** について解説します。

Sensorgram subtraction

特定のサイクルにおけるセンサーグラムを他の全てのサイクルから減算することができます。Biacore 8 series の場合、減算は同一チャンネル内でのみ行われ、別のチャンネルで得られたセンサーグラムを減算処理することはできません。

▼ **Sensorgram subtraction**

☐ No subtraction

☒ Subtract blank

Dual 1 (A) ▼

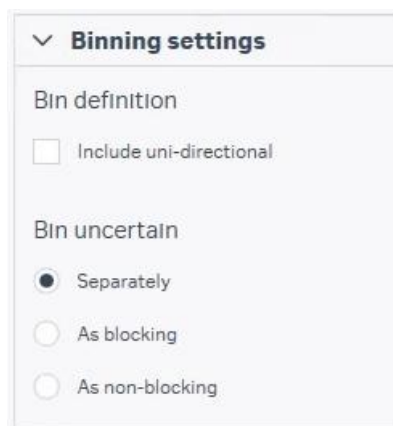
Sample [Conc=0] ▼ Preceding ▼

☐ Subtract cycle

☐ Subtract self-self cycles

①	No subtraction	減算処理しない場合
②	Subtract blank	ブランクサイクルを用いて減算処理する場合 Preceding : 直前のブランクサイクルを用いる Following : 直後のブランクサイクルを用いる Nearest : 近傍のブランクサイクルを用いる Median of nearest : 近傍のブランクサイクルの中央値を用いる Sandwich using capture dual without blocking の場合は上図のように Subtract blank が Default で選択されます。 各 Sample Cycle について、直前の Blank Cycle (Dual の Injection A (抗原) が 0 濃度である Cycle) で減算されます。
③	Subtract Cycle	任意のブランクサイクルを用いて減算処理する場合
④	Subtract self-self Cycles	Self-self sensorgram (一次抗体と二次抗体が同一のセンサーグラム) を用いて、一次抗体が同一であるサイクルのセンサーグラムを減算します。

Binning settings



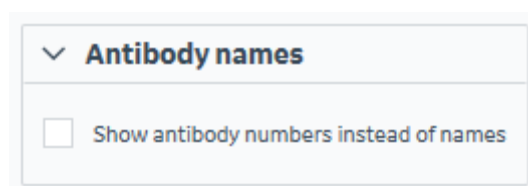
Bin definition の **Include uni-directional** にチェックを入れると、一次抗体と二次抗体の入れ替えに関わらずいずれかでブロッキングが見られるのであれば（赤セルの結果になるのであれば）同一の bin として扱われるようになります。これにより Heat map や Binning wheel も変化します。

Bin uncertain では 2 つのカットオフの間に挟まれ Uncertain と解析されたグループにおいて、以下のように取り扱われます。

Setting	Description
Separately	Uncertain として、異なる bin に分類
As blocking	ブロッキングされている（bin が同一）と判断
As non-blocking	ブロッキングされていない（bin が異なる）と判断

Antibody names

抗体の名称が長すぎる場合に自動的に振り分けられた番号で表示する設定です。各抗体に対応する番号は、Table に First antibody #、Second antibody #として表示されます。



■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 9:00～17:00、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)

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

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 : 機器アフターサービス

② : 製品技術情報に関して

③ : 納期／在庫お問合せ

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、13:00～17:00、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 サンケンビルヂング

お問合せ : バイオダイレクトライン

TEL : 03-5331-9336

e-mail : tech-jp@cytiva.com

掲載されている内容は 2026 年 8 月現在のもので予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。お問い合わせに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。