

# セルベースSPR顕微鏡システム

## SPRm 200 Series

- 細胞表面分子とアナライトとの結合・解離をラベルフリーで測定
- リアルタイム計測によるカインेटイクス解析・アフィニティ解析
- 本来の構造・機能の膜タンパク質をリガンドとする相互作用計測
- 細胞応答により変化した膜タンパク質との相互作用解析

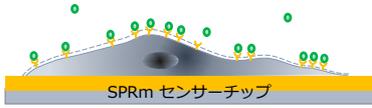


# SPRm 200

# セルベースSPR顕微鏡の特長

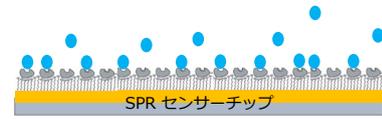
## SPR顕微鏡

細胞表面に発現している作用標的分子とアナライトとの相互作用の解析



## 一般的なSPR分子間相互作用解析

センサーチップに固相化した作用標的分子とアナライトとの相互作用の解析



## 膜タンパク質ターゲットの相互作用解析におけるセルベースアッセイの利点

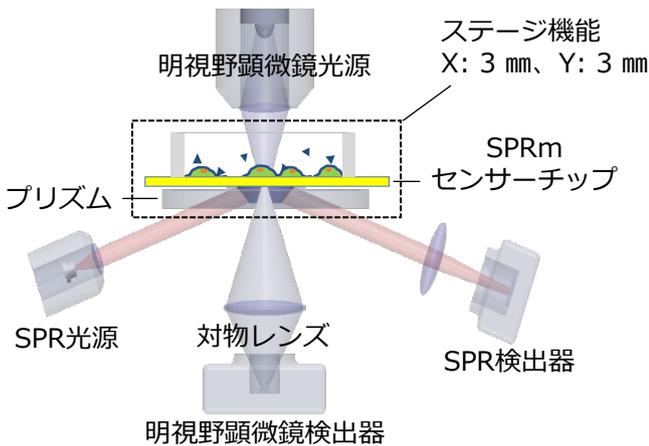
ネイティブな細胞膜環境にある膜タンパク質との相互作用解析

- ▶ 単離・精製時の不溶化、凝集など精製プロセスの課題解消
- ▶ 精製プロセスにおける膜タンパク質の機能・構造変化の回避
- ▶ 複合体の立体構造がそのまま維持されるため再構築が不要

細胞の活動による膜タンパク質の変化を反映した相互作用解析

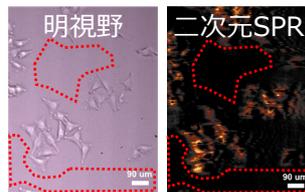
- ▶ 細胞応答依存的な膜タンパク質の構造変化に伴い露出するエピトープをターゲットとする相互作用解析
- ▶ 細胞の周囲環境により変化した膜タンパク質（プロトン化、糖鎖修飾 etc.）との相互作用解析

## 計測・解析の原理



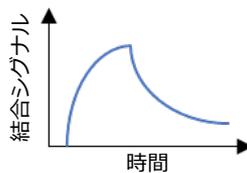
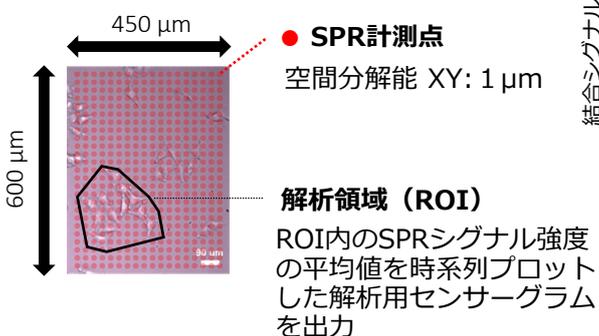
## 最適な計測視野

明視野顕微鏡と二次元SPRの二種類の計測画像情報をもとに最適な計測領域を選定し計測視野を決定



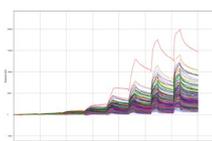
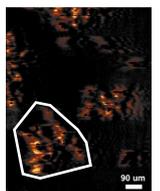
- 培養状態が良好な細胞  
明視野顕微鏡：形態  
SPR顕微鏡：接着の状態
- 適度なコンフルエンス

## SPR計測視野と計測・解析原理



## 二次元SPR計測画像

各SPR計測点で取得したSPRシグナル強度情報の二次元マッピング表示



カインेटクス解析 【 $k_a$  /  $k_d$  /  $K_D$ 】  
アフィニティ解析 【 $K_D$ 】

# 二次元シグナル情報の統計解析

セルベースアッセイでは、細胞間および細胞表面の局所間で作用標的分子（膜タンパク質、糖鎖 etc.）とアナライトとの相互作用条件にばらつきがあるため、同一計測視野内に多様な結合様式が混在しています（ヘテロジェネイティ）。SPR顕微鏡は、広い計測視野での複数細胞同時計測、シングルセル解析が可能な高分解能二次元SPR計測、計測視野内の解析値のばらつきを統計的に評価するグリッド解析などの独自開発の計測・解析技術により、信頼性の高い二次元相互作用解析データを取得します。

## 広い計測視野による多点同時計測と高分解能二次元SPR計測

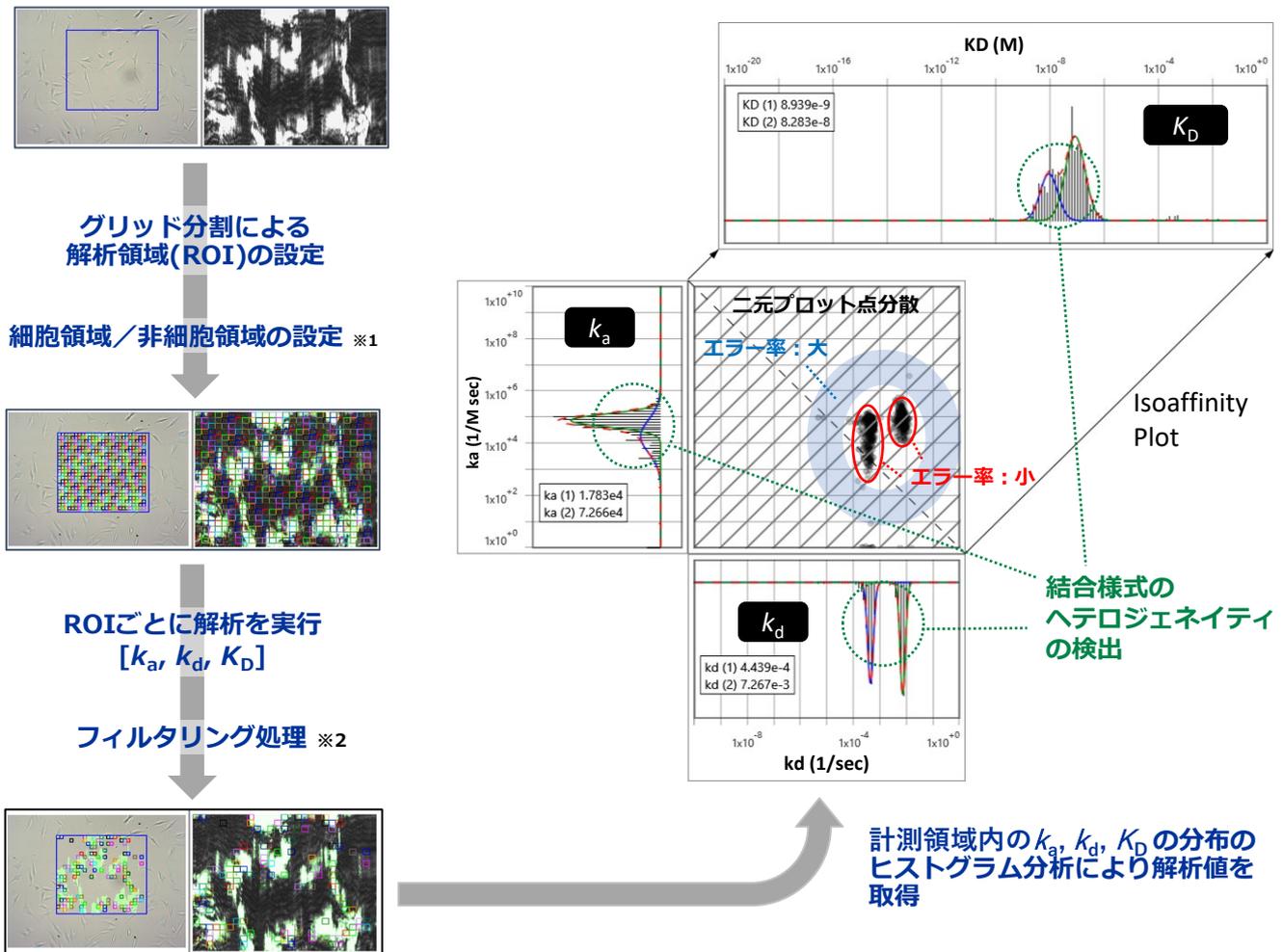
600  $\mu\text{m}$   $\times$  450  $\mu\text{m}$ の広い計測視野で、数十個の細胞との相互作用計測（シグナル）および細胞が無い領域でのリファレンス計測（バックグラウンドノイズ）を同時に行います。また、二次元SPR計測の平面空間分解能は顕微鏡レベルの1  $\mu\text{m}$ であり、細胞表面全体における相互作用の情報を網羅的に取得することでシングルセルレベルでの解析を行うことができます。

## グリッド解析

計測領域を任意の数のグリッドに分割し、各グリッドをROIとするカインेटクス解析により得られる解析値（ $k_a$ ,  $k_d$ ）の二元プロット点分散情報を取得します。取得した二元プロット点分散情報はヒストグラム化され（横軸：解析値、縦軸：グリッドの数）、ガウス分布フィッティングにより、細胞表面の作用標的分子とアナライトとの相互作用パラメータ（ $k_a$ ,  $k_d$ ,  $K_D$ ）を特定します。

またこの解析方法により、細胞表面における作用標的分子の発現密度、多量体形成、修飾、立体構造変化などの局所的なばらつきに起因する結合様式のヘテロジェネイティを検出することができます。

## グリッド解析のフロー



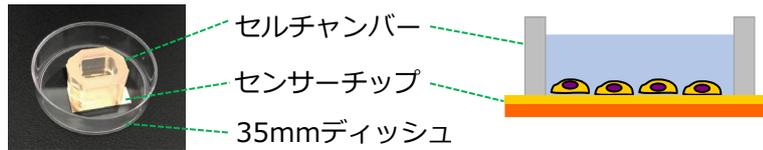
※1 細胞領域：画像上の緑の領域  
※2  $k_a$ ,  $k_d$ の二元プロット点分散のエラー率範囲の絞り込み

# SPR顕微鏡のワークフロー

## 細胞培養

### 専用センサーチップ SPRm Cell Chamber Kit

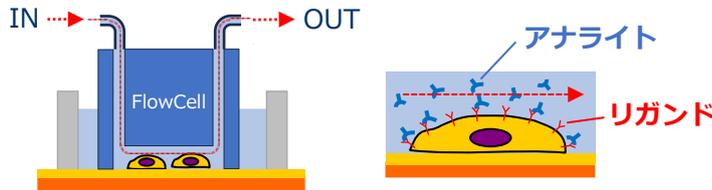
- 足場コーティング後に細胞播種
- オーバーナイト培養で定着



接着細胞/浮遊細胞の  
いずれも接着可能

## 計測

### フローセルを設置してアナライトを流す



アナライトとリガンドの  
相互作用シグナルを計測

## 解析

カインेटクス解析 ( $k_a$ ,  $k_d$ ,  $K_D$ )、アフィニティ解析 ( $K_D$ )

## システム仕様

ベースラインノイズ	ベースラインドリフト	3 RU/hr (0.5 mDeg/hr) (周囲温度変化 < 1°C/hr)
	温度制御範囲	15 - 40°C (周囲温度のmaxの10°C以下)
	計測視野/倍率/分解能(平面)	明視野顕微鏡: 1200 x 900 $\mu\text{m}$ / 10倍 / 1 $\mu\text{m}$ SPR顕微鏡: 600 x 450 $\mu\text{m}$ / 20倍 / 1 $\mu\text{m}$
	ステージ	X方向: 3 mm、Y方向: 3 mm / 360°
	外寸/重量	690(W) x 330(H) x 340(D) mm / 23 kg
試料ハンドリング	サンプル容量	1-1500 $\mu\text{L}$ (容量はアプリケーションによる)
	結合/解離速度定数	$k_a < 1 \times 10^7 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ $k_d < 1 \times 10^{-5} \text{s}^{-1}$
	解離定数	$K_D = 10^{-3} \text{M} (10\text{mM}) - 10^{-12} \text{M} (1 \text{pM})$
	分子量カットオフ	200 Da
制御システム	計測・解析ソフトウェア	ImageSPR™ software (データ解析、カインेटクス解析)
オートサンプラー	サンプル設置	SBS規格プレート (96, 384)、1mLバイアル 48本/ラック、 10mLバイアル 12本/ラック から最大二つの組合せ
	サンプル冷却保管	最低温 4°C $\pm$ 2°C
	外寸/重量	300(W) x 575(H) x 360(D) mm / 21 kg
自動切換バッファーポンプ および バッファー脱気 (オプション)	バッファー切換/脱気	最大6種類の自動バッファー切換 / インライン
	外寸/重量	305(W) x 191(H) x 330(D) mm / 6.8 kg

輸入販売元

**KIKO・TECH**  
キコーテック株式会社 事業開発部

本社 大阪府箕面市船場西三丁目10番3号  
〒562-0036 TEL 072(730)6790 FAX 072(730)6795  
東京支社 神奈川県川崎市中原区新丸子東三丁目1200番地 KDX武蔵小杉ビル  
〒211-0004 TEL 044(430)3245 FAX 044(433)4390

<https://www.kiko-tech.co.jp/>

