

# SPR顕微鏡

## セルベース分子間相互作用解析システム

- 相互作用測定 - 細胞表面に対する分子・ナノ粒子の結合・解離を検出
- カイネティクス解析 - 非標識リアルタイム計測で結合/解離定数を取得
- アビディティ解析 - 細胞表面における異なる結合反応を統合的に解析
- 細胞応答 - 周囲環境刺激やシグナル入力により変動する膜機能の分析

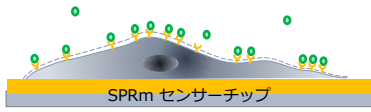


# SPRm 200

# SPR顕微鏡 – セルベース分子間相互作用計測

## SPR顕微鏡

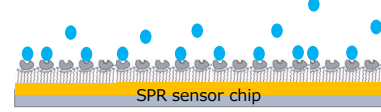
細胞膜上に発現している分子を相互作用の標的とする分子間相互作用計測システム



相互作用ターゲットの膜タンパク質を発現している細胞をSPRmセンサーチップ上で培養する ※  
 ※接着細胞、浮遊細胞いずれも適用可能  
 ※固定済み細胞(PFA処理)、生細胞のいずれでも計測可能

## 一般的なSPR分子間相互作用計測

センサーチップ表面に固相化したタンパク質を相互作用の標的とする相互作用計測システム



精製、もしくは人工膜に埋め込んだ膜タンパク質をSPRセンサーチップ上にコーティングする

## 膜タンパク質との相互作用計測におけるセルベースアッセイの利点

膜タンパク質の単離・精製が不要

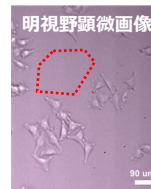
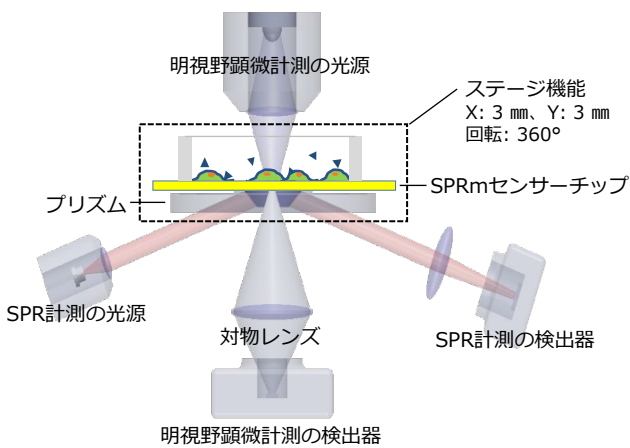


細胞膜環境にある膜タンパク質との相互作用解析が可能

細胞応答など特定の生理的条件により提示される膜表面構造を標的とする相互作用解析が可能

- ▶ 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
- ▶ 細胞応答依存的な構造変化に伴い提示されるエピトープをターゲットとする相互作用計測系が構築できる
- ▶ 細胞培養の完了後すぐに分子間相互作用計測を始められる

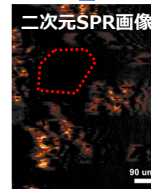
## 計測・解析の仕組み



細胞の培養・集合状態の確認

細胞のセンサーチップからの剥離・浮きはバックグラウンドノイズの原因となるため、培養状態の良い領域を計測領域として選択する。またリファレンス計測のため、細胞のない領域が計測領域内に一定割合含まれるようにする(左図赤枠)。

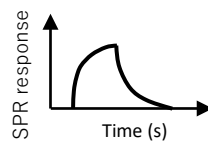
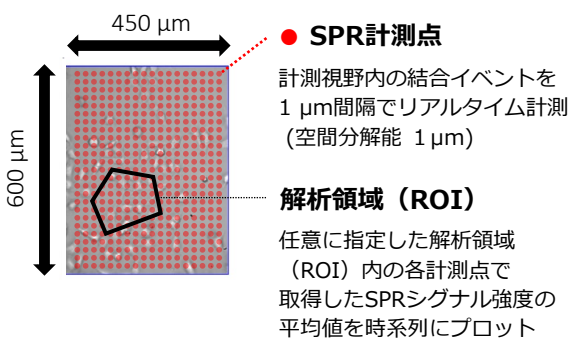
計測に適した計測視野の設定



SPRシグナルの高分解能二次元マッピング

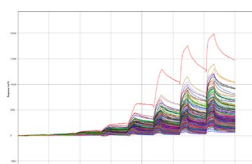
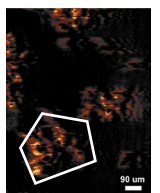
膜タンパク質は、培養状態の違いより細胞間での発現量が異なり、同一細胞内でも局所的な集積など分布に偏りがある。複数細胞の同時計測および高分解能二次元計測により、計測領域内における計測条件のばらつきを平準化する。

## SPR計測視野と計測・解析原理



## 二次元SPR計測画像

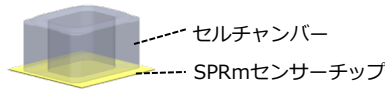
各SPR計測点で取得したSPRシグナルの強度をグラデーション表示した二次元マッピング画像



Kinetics解析  $[k_a / k_d / K_D]$   
 Affinity解析  $[K_D]$

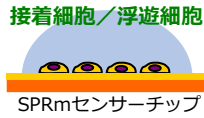
# 計測の流れ - 細胞サンプルの作製、計測、解析

## SPRm cell chamber kit

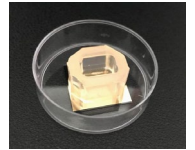


- SPRm 200専用の細胞培養および計測用センサーチップ
- セルチャンバーは再利用が可能
- SPRmセンサーチップは使い捨て

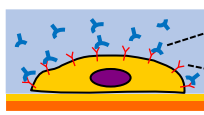
### 細胞サンプル作製



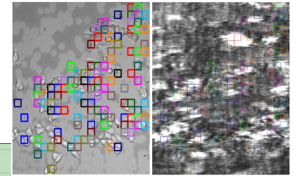
- ① セルチャンバー内に足場をコーティング後に細胞を播種
- ② 35 mmディッシュに入れて培養 (CO<sub>2</sub>インキュベーター)
- ③ 培養完了後にPFA処理した固定細胞もしくはライブセルを計測用細胞サンプルとして使用



### 計測

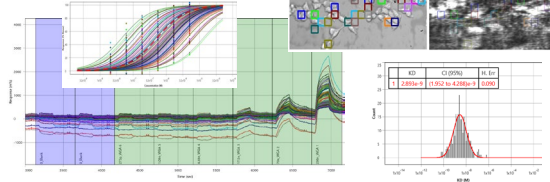


- ① 細胞サンプルを計測装置に設置
  - ② アナライต์サンプルをインジェクション
  - ③ 結合イベントをリアルタイム計測
- (膜タンパク質、糖鎖、脂質 etc.)



### 解析

- ① SPRシグナルの時系列出力 (センサーグラム)
- ② 解析領域 (ROI) の設定
- ③ Kinetics解析 ( $k_a$ ,  $k_d$ ,  $K_D$ )、Affinity解析



## 二次元シグナル情報の統計解析 - グリッド解析と多点同時計測

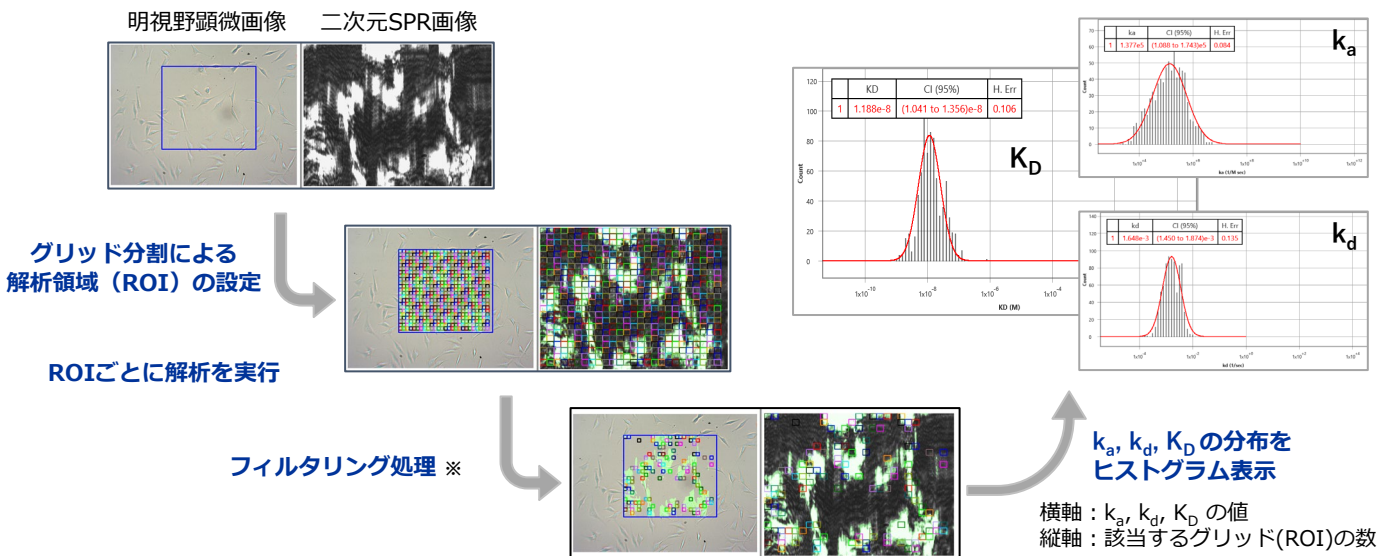
セルベースアッセイでは、細胞膜上の作用標的分子 (膜タンパク質、糖鎖 etc.) の局所的な分布状態および細胞間の発現状態の違いにより、同一計測視野内で相互作用条件のばらつきが生じます。SPR顕微鏡は、①広い計測視野内の多点同時・高分解能二次元SPR計測、②計測視野内の解析値のばらつきを統計的に評価するグリッド解析などの独自の計測・解析技術により、信頼性の高い二次元相互作用解析データを取得します。

### 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、数十個の細胞をターゲットとする相互作用 および 細胞が無い領域 (リファレンス) におけるバックグラウンドシグナルを同時に計測します。また、顕微鏡レベルの空間分解能 (XY平面: 1  $\mu\text{m}$ ) での二次元SPR計測は、細胞表面における相互作用シグナルの網羅的計測が可能です。これにより局所的な結合イベントを逃すことなく、かつ局所的な結合イベントに偏ることのない解析を行うことができます。

### グリッド解析

計測視野を任意の数のグリッドに分割し、各グリッドをROIとするKinetics解析/Affinity解析、および得られた解析値 ( $k_a$ ,  $k_d$ ,  $K_D$ ) の分散のヒストグラム分析 (横軸: 解析値、縦軸: 該当するグリッドの数) により、計測領域全域におけるばらつきを含めた解析結果を返します。これにより、相互作用ターゲット分子の細胞表面における分布状態や細胞ごとの発現量の不均一性に起因する解析値のばらつきを統計的に評価することができます。



※  $k_a$ ,  $k_d$ の二元プロット点分散のエラー率範囲の絞り込みによるフィルタリング

## システム仕様

ベースステーション	光源	690 nm
	照射角度	40 - 76° (continuous)
	ベースラインノイズ	< 0.6 RU RMS (0.1 mDeg RMS)
	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	明視野顕微鏡：1200 x 900 μm SPR顕微鏡：600 x 450 μm
	倍率	明視野顕微鏡：10倍 SPR顕微鏡：20倍
	空間分解能 (平面)	明視野顕微鏡：1 μm SPR顕微鏡：1 μm
	ステージ	X方向：3 mm、Y方向：3 mm / 360°
	外寸	690(W) x 330(H) x 340(D) mm
	重量	23 kg
	電源	110-230 V, 50/60 Hz
試料ハンドリング	サンプル容量	1-1500 μL (容量はアプリケーションによる)
	結合/解離速度定数	$k_a < 1 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$ $k_d < 1 \times 10^{-5} s^{-1}$
	解離定数	$K_D = 10^{-3} M(10mM) - 10^{-12} M(1 pM)$
	分子量カットオフ	200 Da
制御システム	コンピューター	Windows OS PC
	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 (オプション)	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 ± 2°C
	外寸	300(W) x 575(H) x 360(D) mm
	重量	21 kg
自動切換バッファポンプ および バッファ脱気 (オプション)	バッファ切り換え	最大6種類の自動バッファ切り換え
	バッファ脱気	インライン
	バッファ送液	Continuous
	外寸	305(W) x 191(H) x 330(D) mm
	重量	6.8 kg

BI\_SP\_2404\_v1

輸入販売元



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  
 つくば営業所 茨城県つくば市竹園二丁目3番17号第一・ISSEIビル  
 〒305-0032 TEL 029(850)3771 FAX 029(856)3881  
 神奈川営業所 神奈川県藤沢市藤が岡一丁目8番14号 田中ビル  
 〒251-0004 TEL 0466(55)4110 FAX 0466(55)4120

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

