



Octet[®] N1 System

生体分子間相互作用
解析システム

Simplifying Progress

SARTORIUS

Label-free Assays in a Drop

Octet® N1 システムは、バイオレイヤー干渉法 (Bio-Layer Interferometry : BLI) と Dip and Read アッセイによって、生体分子間の相互作用をラベルフリーかつリアルタイムに測定・解析が可能なパーソナルアッセイシステムです。手軽にカイネティクス解析、タンパク質の検出・定量、アッセイ開発を行うことを可能にします。

少量サンプル

4 μ L のサンプルで測定が可能です。これまで困難であった微量サンプルの解析、および高価なサンプルのコスト削減を実現します。

クルードサンプルの測定

細胞ライセート、ハイブリドーマ上清、血清などのクルードなサンプルをダイレクトに測定可能です。

コンパクトサイズ

Octet® N1 本体は A4 サイズ以下のスペースで設置でき、限られたラボスペースを有効に活用することが可能です。

メンテナンスフリー

Octet® N1 本体にサンプルが触れない測定系のため、面倒なメンテナンスおよびセットアップ・シャットダウン作業が不要です。

低価格

これまで高額であったカイネティクス解析の初期導入コストを抑えることが可能です。

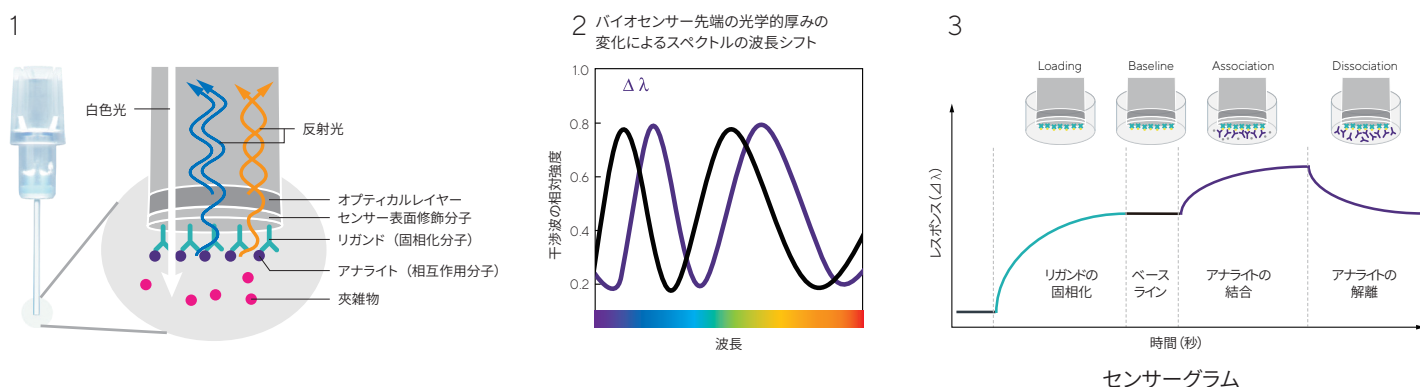
低ランニングコスト

ラベルフリーアッセイのため、ラベリングに必要な試薬と時間を抑えることが可能です。また専用のバイオセンサーはガラスファイバー製で低価格なため、ランニングコストを抑えることが可能です。

原理

バイオレイヤー干渉法 (BioLayer Interferometry: BLI)

カイネティクス解析において従来採用されていた SPR 法とは異なる、新しい検出テクノロジーです。



1. バイオセンサー上部から白色光を照射し、オプティカルレイヤーからの反射光と、分子が固相化されたレイヤーからの反射光による干渉パターンを各反応ステップで検出します。
2. 先端部分に分子が結合 / 解離した場合、分子が固相化されたレイヤーの光学的な厚みが変化することで、干渉パターンの波長シフト ($\Delta\lambda$) が生じます。
3. 波長シフトを分子の結合 / 解離 (縦軸: レスポンス) としてリアルタイムで計測し、センサーグラムを作成します。

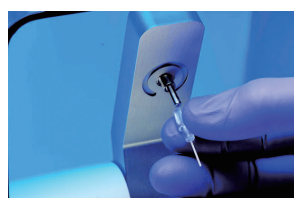
Dip and Read アッセイ

カイネティクス解析において従来採用されていたマイクロ流路アッセイとは異なる、新しい測定方式です。Drop Holder 内のサンプルにバイオセンサーを直接浸すだけのシンプルな測定法です。

測定方法



1. サンプルアプライ
マイクロピペットでサンプル 4 μ L を Drop Holder に滴下します。



2. バイオセンサーセット
蓋のバイオセンサーマウントにバイオセンサーを取り付けます。



3. アッセイスタート
蓋を閉めるとバイオセンサーが Drop Holder に浸かり、測定が始まります。

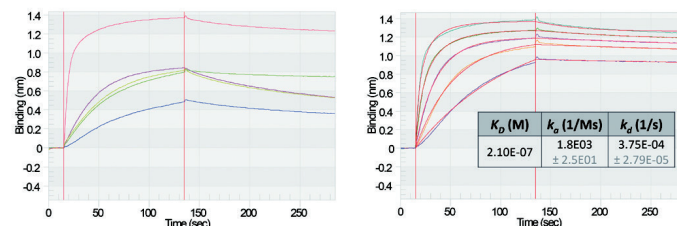
カイネティクス解析では、ベースラインおよび解離のステップでスライダーを動かし、Drop Holder から Tube Holder に切り替えて測定します。

アプリケーション

カインेटクス解析

リアルタイムに生体分子間の相互作用を測定することにより、アフィニティデータ (K_D) だけではなく、経時的な変化とカインेटクスデータ (K_a , K_d) も取得します。同程度のアフィニティを持つ相互作用でも、カインेटクス解析を行うことで全く異なる結合状態として見る可能性があります。そのため、カインेटクスの違いを見ることは、生体内における分子間相互作用のメカニズムを把握する上で極めて重要です。

細胞培養上清中の特異的抗体のスクリーニングとキャラクタライズ
Streptavidin バイオセンサーにビオチン標識抗原を固相化後、未精製の細胞培養上清 5 サンプルのスクリーニングを実施しました。最も高い結合活性と遅い off-rate を示したクローン 5 (左図: 赤) をターゲットに、2 倍の希釈系列でフルカインेटクス解析を実施し、 K_a , K_d , K_D 値を算出しました。



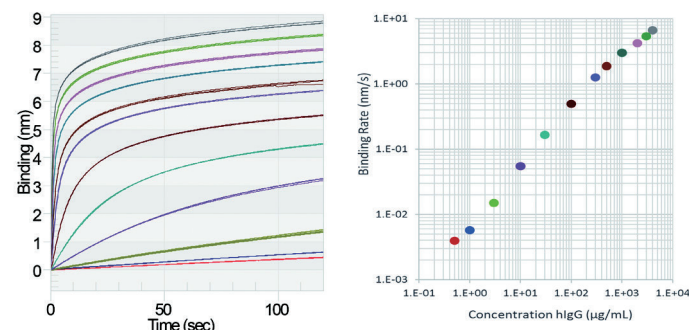
培養クローンのスクリーニング結果 (5 サンプル) とクローン 5 のフルカインेटクス解析

タンパク質の定量

夾雑物が多い溶液中において、吸光度測定などの一般的な定量法では特定のタンパク質の定量は困難です。Octet® N1 システムはバイオセンサーを用いて、5-log の幅広いダイナミックレンジ、数 $\mu\text{g/mL}$ の感度、低 %CV の精度で目的タンパク質の濃度定量が可能です。また、ゲル電気泳動、HPLC、ELISA 等の既存の分析法で数時間かけて得られるデータを短時間で取得できるため、タンパク質発現およびバイオプロセスのモニタリングに有効です。

夾雑物存在下におけるタンパク質の定量

Protein A バイオセンサーを用いて、ウシ血清アルブミン (BSA) 1 mg/mL 存在下におけるヒト IgG を定量しました。夾雑物の存在比率が高いサンプルにおいても、幅広い濃度で高い直線性が得られました。



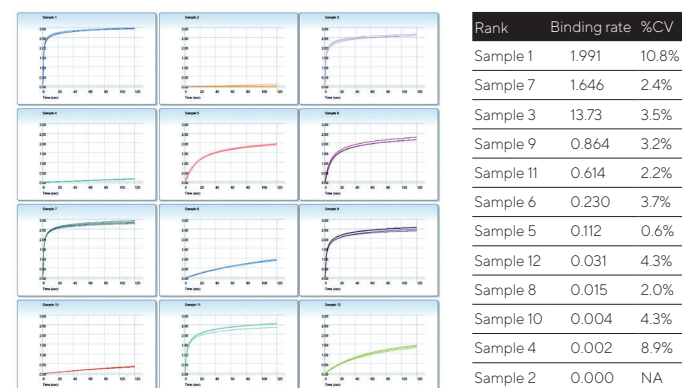
ヒト IgG のリアルタイム結合曲線と検量線
(4000, 2000, 1000, 500, 300, 100, 30, 10, 3, 1, 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、N=3)

タンパク質の検出

わずか一滴のサンプルから、活性タンパク質の有無の検出、未精製サンプル中の特定タンパク質の検出を短時間でを行います。リアルタイムに結合曲線を示すことができ、Binding rate を測定することにより、サンプル中のタンパク質発現レベルを迅速にランク付けすることが可能です。

タンパク質の有無の検出と発現ランキング

Anti-GST バイオセンサーを用いて、CD-CHO-DG44 発現培地中での GST タグ融合タンパク質を検出しました。Anti-GST バイオセンサーの持つ特異性と Dip and Read アッセイにより、夾雑物の多い培地中においても特異的な検出、発現量のランク付けをすることができました。



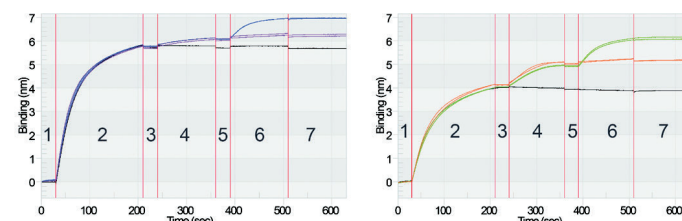
GST タグ融合タンパク質のリアルタイム結合曲線と Binding rate による発現ランキング
12 サンプル、N=3。左上から右方向に Sample 1 → 3, 4 → 6, 7 → 9, 10 → 12 を表示

アッセイ開発

最適な抗体の選定、アッセイ系構築のための至適パラメータの検討を迅速に行うことが可能です。従来のイムノアッセイ法の開発で数日以上かけて得られるデータを短時間で取得します。

抗原に対するペア抗体の探索

Streptavidin バイオセンサーを用いて、IL-5 に結合するペア抗体 (捕捉抗体 2 種類、検出抗体 2 種類) のスクリーニングを実施しました。ステップ 6 で検出抗体の結合の有無を測定することにより、効果的な抗体のペアを容易に決定することができました (左図: 青、右図: 緑)。また、ステップ 4 で捕捉抗体による IL-5 の結合の有無、ステップ 7 で最終的な相対的相互作用の強さも同時に評価することができました。



IL-5 結合ペア抗体のスクリーニング結果
ステップ 2 でビオチン化補足抗体 (MAB205/MAB405) を固相化後、ステップ 4 で抗原 (205-IL)、ステップ 6 で検出抗体 (BAM6051/AF205) の結合を測定。
(R&D Systems 社 PN)

バイオセンサーセレクションガイド

様々なサンプル・研究用途にご使用いただくことができるように、センサー表面修飾分子の異なる多種類のバイオセンサーをご用意しています。

バイオセンサー	グレード*	センサー表面修飾	リガンド (結合様式、特徴)
Streptavidin (SA)	K	ストレプトアビジン	ビオチン化分子 (ビオチン- アビジン反応)
High Precision Streptavidin (SAX)	K, Q	ストレプトアビジン	ビオチン化分子 (ビオチン- アビジン反応、ロット内の高精度管理)
High Precision Streptavidin 2.0 (SAX2)	K, Q	ストレプトアビジン	ビオチン化分子 (ビオチン- アビジン反応、ロット間の精度管理)
Amine Reactive (AR2G)	K	カルボキシル基	タンパク質、ペプチド、オリゴ (アミンカップリング)
Aminopropylsilane (APS)	K	アミノプロピル基	脂質、リボソーム、疎水性タンパク質 (疎水性および静電的な相互作用)
Ni-NTA (NTA)	K, Q	ニッケルチャージ Tris-NTA	His タグ付タンパク質
Anti-Penta-HIS (HIS1K)	K, Q	抗His タグ抗体	His タグ付タンパク質
Anti-HIS (HIS2)	Q	抗His タグ抗体	His タグ付タンパク質
Anti-GST (GST)	K, Q	抗GST タグ抗体	GST タグ付タンパク質
Anti-hIgG Fc Capture (AHC)	K	抗ヒトIgG Fc 抗体	ヒトIgG、ヒトFc 融合タンパク質
Anti-hIgG Fc Capture (AHC2)	K, Q	抗ヒトIgG Fc 抗体	ヒトIgG、ヒトFc 融合タンパク質
Anti-mIgG Fc Capture (AMC)	K	抗マウスIgG Fc 抗体	マウスIgG、マウスFc 融合タンパク質
Anti-Human IgG Fc (AHQ)	Q	抗ヒトIgG Fc 抗体	ヒトIgG、ヒトFc 融合タンパク質
Anti-Murine IgG Fv (AMQ)	Q	抗マウスIgG (Fv) 抗体	マウスIgG、マウスF(ab')2
Anti-Human Fab-CH1 (FAB2G)	K, Q	抗ヒトFab-CH1 抗体	ヒトIgG、Fab、F(ab')2
Protein A (ProA)	Q	Protein A	ヒトを含む生物種のIgG
Protein G (ProG)	Q	Protein G	ヒトを含む生物種のIgG
Protein L (ProL)	Q	Protein L	K 軽鎖を介した生物種のIgG

* K :カイネティクスグレード、Q :定量グレード。各種バイオセンサーは表記グレードでバリデーションが実施されています。

検出原理	BLI
測定方式	Dip and Read 方式
分子ラベル化	不要
解析項目	カイネティクス解析 (K_a , K_d)、 アフィニティ解析 (K_D)、 特異性解析、定量、特性分析
測定タイプ	手動
最大同時測定数	1
検出可能分子量	> 10,000 Da
解離定数 (K_D) レンジ	1 μ M – 0.1 nM (10^{-10} – 10^{-6} M)
定量レンジ	0.5 – 4000 μ g/mL (Protein A Biosensor for hIgG)
必要サンプル量	4 μ L (drop holder)、250 μ L (microtube)
分光器数	1
測定温度	温度制御無し
測定容器フォーマット	1 drop holder, 1 microtube
ソフトウェア	Octet®N1 software
サイズ (幅 × 奥行 × 高さ)	15.3 × 22 × 17.4 cm
重量	3.3 kg
消費電力	100 – 240 V, 0.1 – 0.2 A, 8 W (最大18 W)

ザルトリウス・ジャパン株式会社

〒140-0001 東京都品川区北品川1-8-11
TEL : 03-6478-5200 FAX : 03-6478-5494
E-mail : hp.info@SARTORIUS.com

 <https://www.sartorius.com>

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ことをあらかじめご了承ください。
Specifications subject to change without notice.
Copyright Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG.
Status: 05 | 2021