

# Biacore T200 分子间相互作用分析系统

Biacore T200 (图 1) 是一种用于具体研究生物分子相互作用的、多用途的、无标记分析系统，其应用贯穿从新药物发现和开发的早期研究设计一直到最终生产的质量控制阶段。

这套系统以其卓越的灵敏度提供实时的高质量的动力学、亲和力、浓度、结合特异性、选择性以及热力学相互作用的数据。即便是动力学范围的极端结合和解离速率的相互作用表征也可以获得比以往任何时候更加精确和可靠的分析。

- 获取从最快结合速率到最慢的解离速率范围内的高质量动力学数据
- 分析最小的低分子量 (LMW) 化合物参与的相互作用
- 可自动处理多达 384 种样品
- 使用向导的流程引导及内置的数据质量评估以及诸如单循环动力学和无须标准物的校正浓度分析等工具，更快地获取最终结果
- 可回收样品用于后续的质谱鉴定
- 运用专用工具进行可靠的免疫原性检测

Biacore T200 具有向导支持的软件以用于建立检测方法、分析、评估以及解读数据。此外，还可以根据不同需求开发和定制分析方法。除了提供动力学和亲和力相关的详细数据信息外，软件支持以提供分子间相互作用热力学的表征数据。

另有可选择性的 GxP 模块支持 Biacore T200 以满足质量控制的需求。



图 1. 用于高灵敏度、无标记相互作用分析的 Biacore T200 系统。

## 主要应用：

Biacore T200 系统的性能和多用性为涉及较大范围内的分子间相互作用的应用带来了许多优势。

- 增强对于分子机制和结构 - 功能关系方面的了解
- 定义潜在的药物靶标和诊断性标记物
- 筛选并表征生物治疗候选分子
- 在药物发现过程中筛选并优化先导化合物
- 在免疫原性研究中发现并表征抗药性抗体 (ADA)
- 在疫苗研发过程中实施时间和成本效益双赢的浓度分析



## 扩展非标记相互作用分析的检测极限

Biacore T200 的高灵敏度使得最小有机化合物的精准亲和力测定都可以被分析，而且扩展了可精确测量的动力学数值的范围。之前的边缘数据如今因此可以得到确定的解析，实现了相对简单的被分析物动力学分析以及低丰度蛋白质的检测。

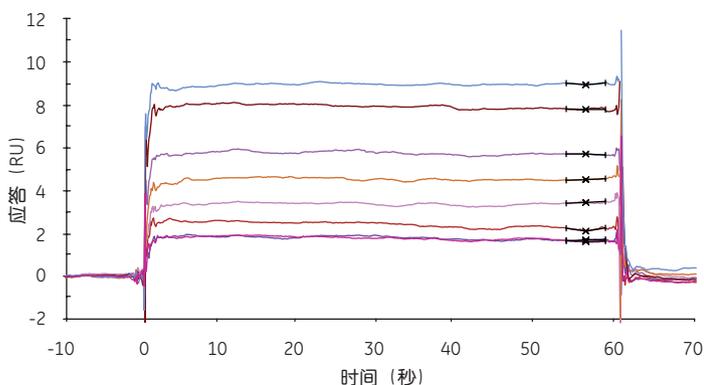


图 2. 甲基磷酸 (Mr 95) 与碳酸酐酶的相互作用特性。

Biacore T200 专为要求高灵敏度的分子间相互作用的分析而设计：

- 小的有机化合物（无最低分子量限制）
- 低丰度分子（浓度大于 10 pM）
- 稀有或敏感的靶蛋白，如 G 蛋白偶联受体。
- 避免了分析与二价抗体之间相互作用时亲和效应的干扰
- 微弱相互作用分析， $K_D$  在 mM 范围内
- 稳定的结合物， $k_d \geq 10^{-5} s^{-1}$

## 测定稀有或敏感靶蛋白

从低水平捕获蛋白获取高质量数据有利于分析小分子和诸如 G 蛋白偶联受体等敏感蛋白的相互作用，而这些蛋白往往是最重要的药物靶蛋白。Biacore T200 的高灵敏度意味着仅总捕获蛋白 GPCRs 的组分保持功能就足够了（图 3）。此外，稀有靶蛋白使用量较少，使得消耗降低的同时并不影响数据质量。敏感靶蛋白的研究因此更加可信，缩短了药物发现过程中的检测时间。

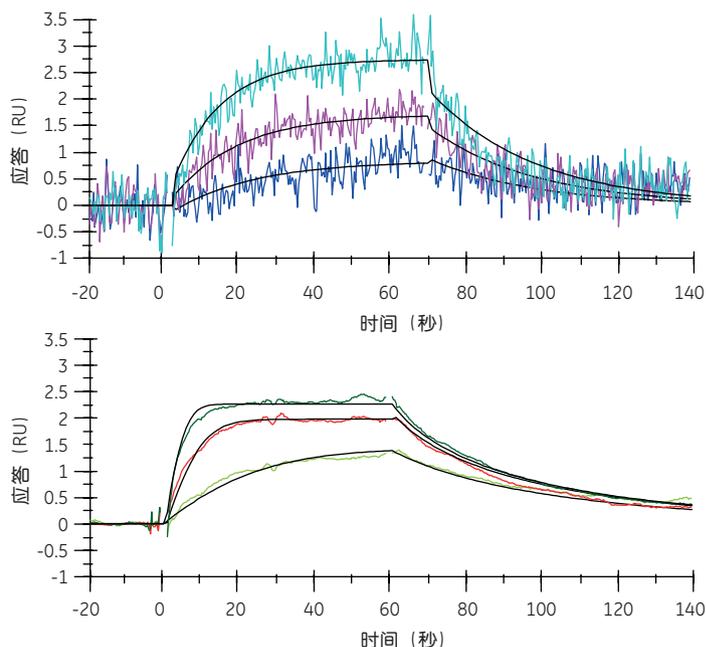


图 3. Xanthine Amine Congener (XAC) 小分子与稳定组氨酸标记的 GPCR (StaR) A2 的结合。相比于 Biacore T100 (上方感应曲线)，当使用低水平捕获 GPCR 时，Biacore T200 (下方感应曲线) 可产生高质量的数据。（数据来源于 Dr. Andrei Zhukov, Heptares Therapeutics Ltd, Welwyn Garden City, UK.）

## 分析方法设计更加灵活

在 Biacore 分析中，通常将抗体固定在传感器表面上，而不是在溶液里，从而避免了由抗体结合到抗原密集的表面所引起的复杂亲和效应。Biacore T200 的高灵敏度足以降低抗原捕获水平以避免亲和效应（图 4），进而使得分析方法的设计可以灵活多样。

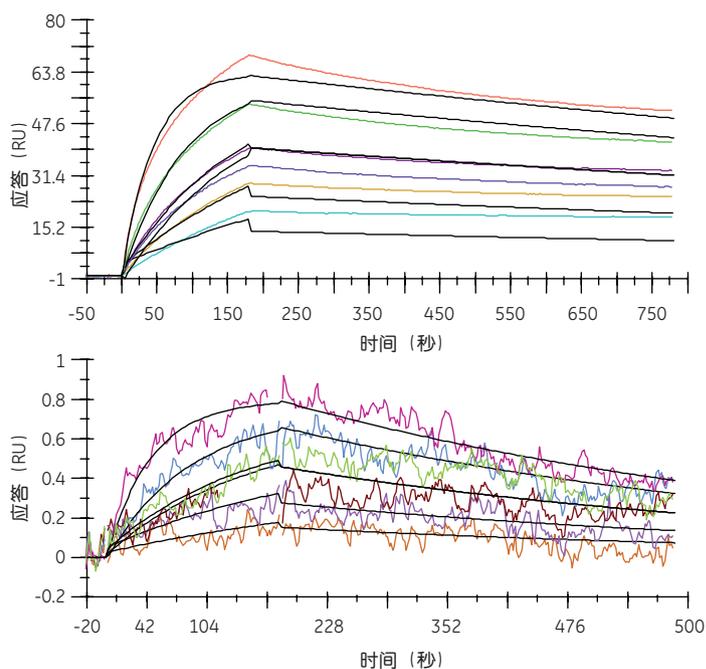


图 4. 在抗原低捕获水平上（下方的感应曲线），分子间相互作用数据更符合 1:1 模型。从而以抗体为配体的相应动力学常数的计算更加精确、可靠。

## 更广动力学范围内的高度精确性分析

Biacore T200 中的微流控系统经过优化以用于高质量的动力学分析。四个流动池可灵活用于单一的、配对的或者系列运行。配对的芯片上流动池接口使得流动池之间的空间被降到最低水平，确保了精确的标准差减。

Biacore T200 可以测定从最快的结合速率到最慢的解离速率的最广范围内的动力学常数（图 5）。这可用于对强结合物进行排序，这一点对于抗体筛选非常重要。此外还可以用于检测快速结合的相互作用物之间的差别，这在受到生物利用率限制的生物学过程的研究中非常重要。

- $k_{\text{on}}$  从  $10^3$  到  $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  (对于大分子待检物为  $10^3$  到  $3 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )
- $k_{\text{off}}$  从  $10^{-5}$  到  $1\text{s}^{-1}$

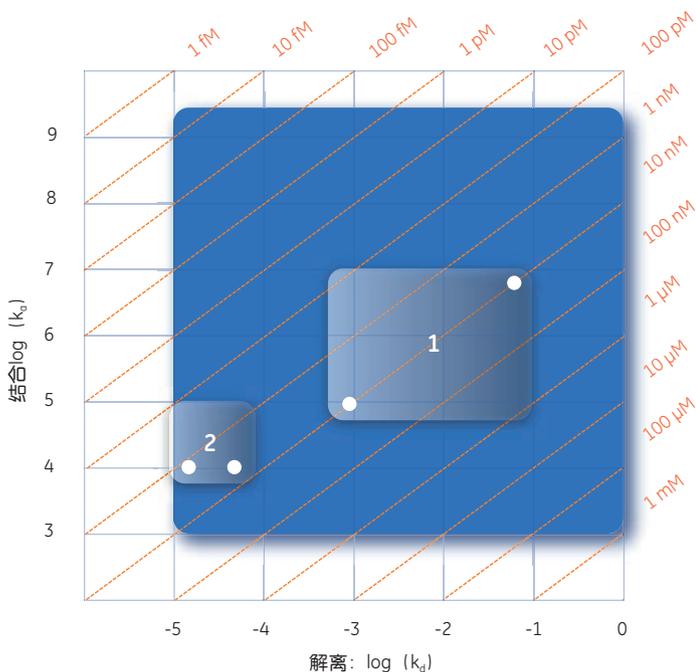


图 5. 测定从最快的结合速率到最慢的解离速率的最广范围内的动力学常数 (1) 亲和力相似的相互作用有着截然不同的动力学性质。分辨组分的结合速率、解离速率有助于提高候选药物的选择性。(2) 甚至在非常慢的解离速率等极端的动力学情况下，分子间相互作用力仍可被检测并准确的加以区分。

## 性能范围

### 自动运行条件下可分析高达 384 种样品

Biacore T200 支持 96 和 384 孔板和小瓶的使用。四个流动池的使用使得四种相互作用可被同时检测。Biacore T200 的样品槽可以降温到  $4^{\circ}\text{C}$ ，使得敏感样品可以在高达 48 小时无人值守的运行中得以分析。

## 在生理温度下研究分子间相互作用来预测体内状态下的情况

通过提供在生理温度下测定的可靠数据，（图 6）Biacore T200 确保更加准确地预测体内状态下的治疗性分子的特性。系统一体的缓冲液除气装置防止在温度升高的情况下形成气泡，有助于确保更高质量的数据。此外，一体的除气装置也可以省略运行前对缓冲液进行的除气操作。

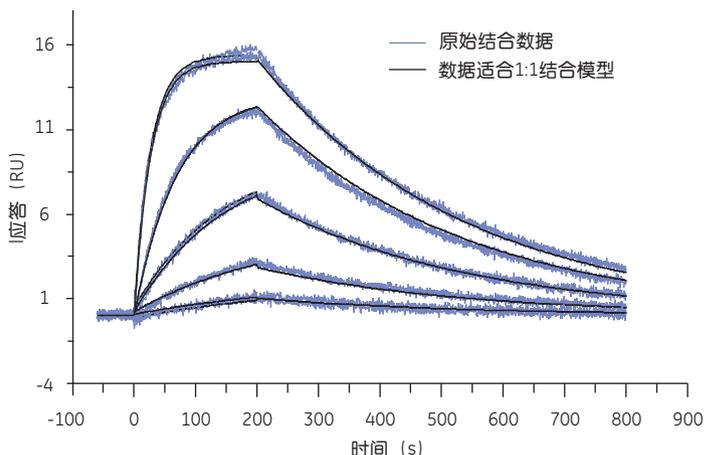


图 6. Biacore T200 在  $37^{\circ}\text{C}$  时提供稳定和可重复的数据。

## 进行缓冲液筛选有助于快速分析方法开发

内置的缓冲液选择装置在每次运行中可最多测试四种缓冲液，加快了分析方法的开发。例如，结合特性的微环境效应可在机制性和稳定性研究中进行分析。

## 回收样品以用于质谱鉴定

Biacore T200 蛋白质相互作用分析系统结合质谱为在功能性结合标准的基础上鉴定蛋白质提供了可能。样品的回收及消化均具有软件支持。

- 被分析物以很小的体积被回收，使得浓度最大化。
- 从样品到回收溶液尽可能减少残留
- 在含有消化溶液的瓶中沉淀
- 软件模板预先设置有整个回收过程

## 易于使用的软件向导和模板

Biacore T200 软件适用于各种经验水平的用户。软件向导支持涉及从分析方法开发到数据解析的所有分析步骤，简化了整个测试过程并且缩短了检测时间。

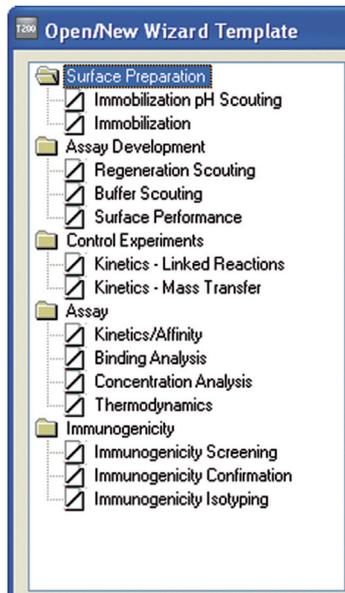


图 7. 涵盖包括分析方法开发在内的所有相互作用参数的软件向导。

## 使用 Method Builder 实现灵活的分析设计

Method Builder 是一种直观的、用于灵活的分析设计的功能强大的软件。现有许多预定方法可供直接使用或者可供经过客户修改调整而用于特定的分析（图 8）。此外，用户还可以根据需求自定义方法。

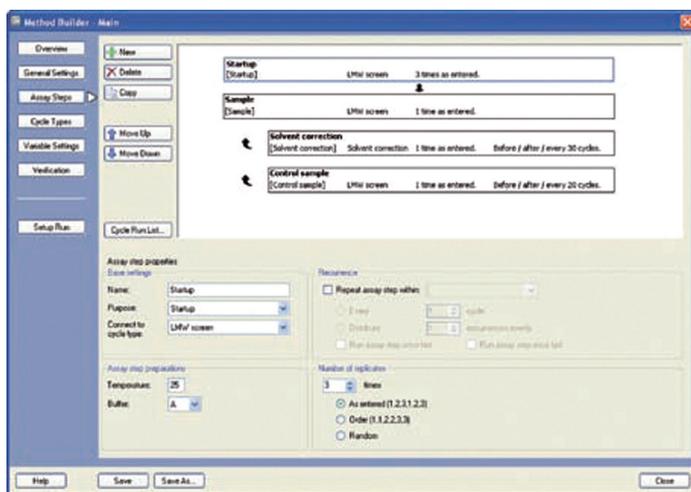


图 8. 用户友好的 Method Builder 用于灵活的分析设计。

## 快速、简单的动力学分析

Biacore T200 软件为可信的和准确的动力学分析提供了广泛的工具。可使用多循环方法（每个循环采用一个样品浓度）；或者采用单循环动力学分析：由于不需要进行每次注入样品之间的表面再生过程，单循环动力学分析使得那些涉及难以再生的靶蛋白的分析能够实现，并且缩短了分析开发的时间。

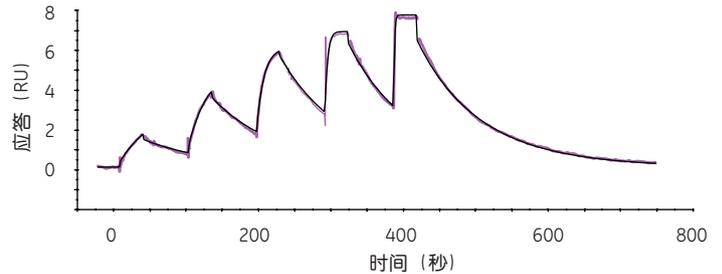


图 9. 使用单循环动力学分析方法，样品在无须中间再生步骤的情况下逐个被加入到同一个循环中。在此例中，一个分子量为 312 的分子被制备成梯度稀释为 0.062, 0.185, 0.556, 1.667 及 5  $\mu\text{M}$  的样品之后连续注入一个固定了 760RU 的蛋白质（分子量 29000）的传感器表面。

Biacore T200 数据评估软件可使分子间相互作用的动力学分析通过几个简单的点击来实现。

- 同时处理多重样品以简化数据分析过程并且节省时间
- 使用一个或几个现有的相互作用模型拟合动力学数据
- 自动减去参照和空白对照数据

## 简单的质量控制工具用于轻松评估动力学数据

自动化的质量控制工具分析数据的动力学常数范围、参数的独特性、折射系数以及基准残留是否符合质量要求，使得用户可以准确地解析结果（图 10）。

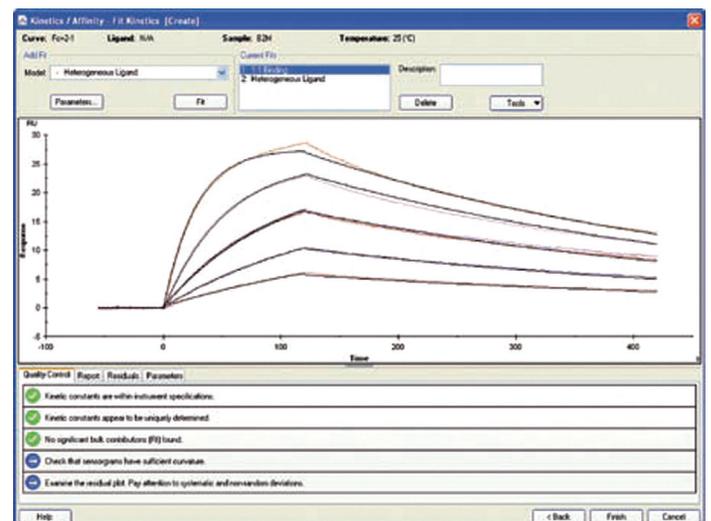


图 10. 整合的质量控制工具评估数据质量以保证有效的数据解析。

## 用于快捷的数据演示、比较和选择的分析工具

检测结果可通过使用一系列工具绘制并演示。动力学总结工具提供了诸如结合-解离图表等结合性质的概况，有助于比较和选择（图 11 和 12）。

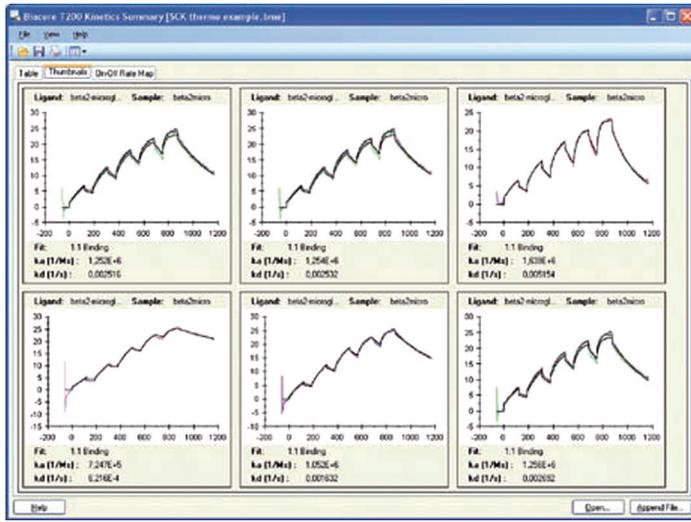


图 11. 罗列各种可能性的指状图以供比较、分析。

这些图通过结合速率常数 ( $k_a$ ) 对解离速率常数 ( $k_d$ ) 的对数图对动力学数据和亲和力性质提供了概述。任何对角线上的点代表了分子间的相互作用具有相同亲和力但是却可能有着完全不同动力学性质。

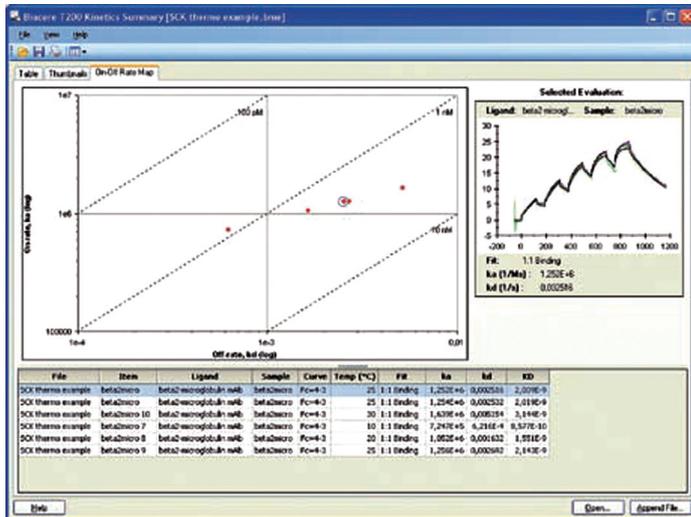


图 12. 结合-解离速率揭示了分子间相互作用为何具有相同的亲和力却有着截然不同动力学性质。

## 可信的浓度分析 - 有或无标准物

Biacore T200 上运行的软件支持的直接结合或抑制分析可以实现对活性浓度的测定，而不是总蛋白量的测定（图 13）。系统的精准和自动化生成可高度重复的数据，偏差系数通常小于 5%。

- 内插重复的校正曲线以保证生成样品运行之间的高度可靠的数据
- 使用对照样品确保严格的质量控制

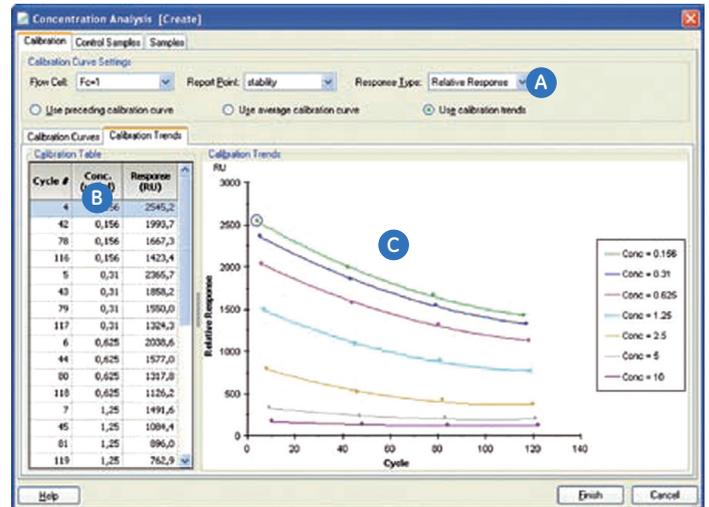


图 13. 确保可靠浓度分析的工具。(A) 线性或四参数拟合。(B) 显示浓度及偏差系数。(C) 校正曲线（插入重复的校正曲线）。

## 无标准物的浓度分析

配体在流速变化和在芯片表面扩散受到限制的情况下，准确检测配体 / 受体结合速率的变化。

这一方法在治疗药物和免疫治疗性蛋白质开发的过程中尤其重要，因为这体现了与特定结合活性相关的真实浓度。

- 在没有合适校正标准物可用的情况下使用 CFCA 方法
- 作为核对方法来验证标准参照物的特定浓度

## 获取更多关于反应机制信息的热力学分析

### 从动力学速率常数推导的过渡态热力学

通过热力学分析从蛋白复合体的三维结构预测结合能量以便全面了解分子识别机制为药物和人工抗体分子的结构设计提供了良好的基础。

Biacore T200 的专用软件向导、内置缓冲液除气设备以及温度控制系统使得过渡状态下的热力学分析比以往更加容易。将几种不同温度下测定的速率常数整合成热力学方程，即可实现过渡态的热力学分析，揭示驱动分子间相互作用的驱动力（图 14）。

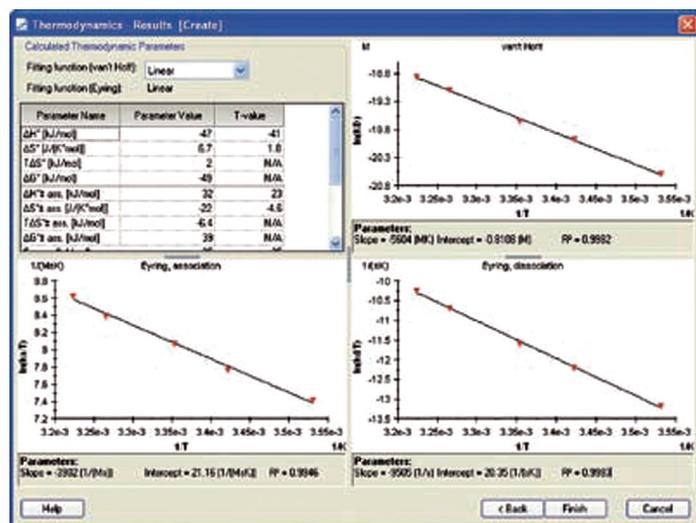


图 14. 由动力学数据自动生成 Eyring and van't Hoff 图以计算热力学参数。

## 专门的设计支持免疫原性的测定

Biacore T200 软件提供专门工具用于免疫原性的测定，以便在药物临床前和临床开发过程中准确地检测和表征抗药性抗体 (ADA)。Biacore T200 可被整合到整个免疫原性流程的筛选、确定（剔除假阳性）以及表征（同型抗体测定、抗原表位、中和力测定）的过程中。

- 检测低亲和力 ADA，由于洗脱步骤而丢失，从而导致容易在终点分析中错过
- 在药物存在的情况下检测 ADA，避免假阴性结果
- 使用专门的软件工具进行全面的 ADA 表征

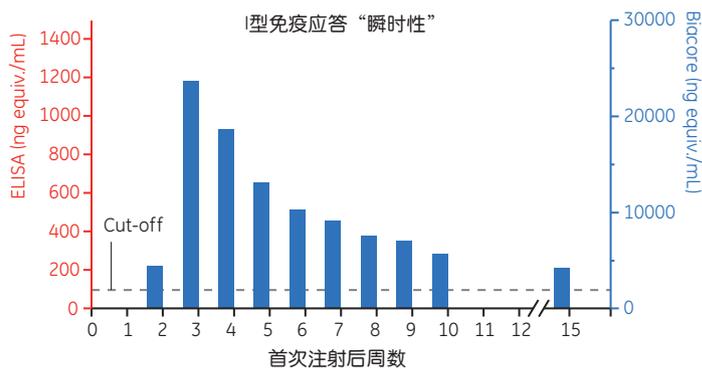
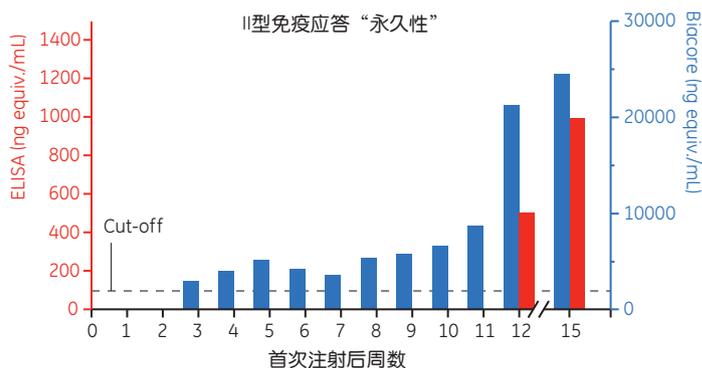


图 15. 治疗性抗体一期临床研究中酶联免疫吸附分析和 Biacore 分析的数据比较。阳性样品在 Biacore 分析中较早地被检测出来，使得 Biacore 成为免疫原性筛选中首选的方法。（数据来源于 Dr. Ulrich Kunz, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG.）

## 在符合 GxP- 环境条件下工作

### GxP 遵从的可选软件

可选的 GxP Package 使得 Biacore T200 可以无缝接轨到 GxP 的流程中去。Package 提供验证的软件，遵从 GLP/GCP/GMP 及 21 CFR part 11 遵从性规范和验证支持。GE Healthcare 验证 GxP 服务提供 Package 系统的终生全验证支持服务。

GxP Package 的特性包括：

- 数据整合 – 访问控制和增强版的操作
- 用户授权级别 – 管理员、开发者和用户级别设定对软件功能的访问权限
- 操作控制的公开程序 – 将分析运行和评估设定与常规分析绑定
- 审计跟踪 – 追溯记录修改和维护完整的公开程序的历史版本
- 改变控制程序 (CCP)，随着硬件和软件的变化按照需求进行

数据可被手工或自动输出为 Microsoft Excel (XLS) 格式以及 Extended Markup Language (XML) 格式。软件按照公认的模式设计以确保充分的有效性。

# Biacore T200 规格

## 技术参数和特征

检测技术	表面等离子共振 (SPR) 生物传感器
提供信息	亲和力和动力学数据 ( $K_D$ , $k_a$ , $k_d$ ), 结合特异性, 选择性, 浓度及热力学数据
数据显示	结果表格, 结果图, 实时监测的感应图
每次循环分析时间	通常为 2-15 分钟
自动化	48 小时无人值守运行
样品类型	在各种样品环境中 (例如含有 DMSO 的缓冲液、血浆或血清) 的低分子量候选药物到高分子量蛋白 (另外包括 DNA、RNA、多糖、脂类、细胞及病毒等)
所需样品体积	上样体积 + 20-50 $\mu$ l (依照不同的实际应用)
上样体积	2-350 $\mu$ l
流速范围	1-100 $\mu$ l/min
流动池体积	0.06 $\mu$ l
流动池高度	40 $\mu$ m
样品 / 试剂容量	1 个 96 或 384 孔板及多至 33 个试剂瓶
分析温度范围	4-45°C* (最多低于环境温度 20°C)
样品储存	4-45°C* (最多低于环境温度 15°C)
样品折射系数范围	1.33-1.40
缓冲液选择器	在四种溶液间自动转换
在线参照物差减	自动

## 计算机最低配制要求

3.0 GHz 处理器
RAM > 1 GB
CD-ROM 驱动
硬盘驱动 > 2 GB
图像分辨率至少为 1280 $\times$ 1024

## 数据处理和存储

PC 操作系统	Microsoft <sup>TM</sup> Windows <sup>TM</sup> XP 专业版与 Windows Vista <sup>TM</sup> 商业版及 Windows 7 专业版
界面	可输入样品数据和输出结果

## 典型工作范围

结合速率常数 ( $k_a$ )	蛋白质: $10^3$ - $3 \times 10^9$ $M^{-1}s^{-1}$ 低分子量分子: $10^3$ - $5 \times 10^7$ $M^{-1}s^{-1}$
解离速率常数 ( $k_d$ )	$10^{-5}$ - $1 s^{-1}$
样品浓度	$\geq 10$ pM
分子量测定	对于有机分子, 无最小分子量限制
流动池数量	4
基线噪音	通常 < 0.03 RU (RMS)
基线漂移	通常 < 0.3 RU/min
回收规格	1.5 $\mu$ l 待分析物回收体积
固定化相互作用物消耗	通常为 0.03-3 $\mu$ g/ 流动池
设备尺寸 (W $\times$ H $\times$ D)	600 $\times$ 615 $\times$ 690 mm
总净重	60kg
电压	处理系统和系统控制器: 自变 100-240 VAC, 50-60 Hz, 一类设备 (接地保护)
功率	处理单位: 最大 6.3 A (在 100 VAC 情况下)

## 遵从法规

安全性标准	欧盟: EN61010-1(2001), EN61010-1-081(2002), 北美: UL61010A-1, 及加拿大 / CSA-C22.2 No.1010.1
EMC	EMC EN 61326-1 (1997) 增补 A1 (1998), and 增补 A2 (2001)
GxP	21 CFR Part 11(ER) 依从性技术控制 (Biacore T200 GxP Package) 验证支持, 包括设备认证 (GE Healthcare 验证 GxP 服务)

运输: Biacore T200 包括一个处理系统, 控制及分析软件以及 windows 操作系统。  
可选项: Biacore T200 GxP Package 及 GE Healthcare 验证 GxP 服务。  
现场需求: 请联系当地 GE Healthcare 代表获取关于现场需求方面的最新信息。

## 订购信息

Processing unit *	订购货号	Related literature	订购货号
Biacore T200	28-9750-01	Biacore T200 Upgrade Kit , Data file	28-9794-14
* Includes a processing unit, control and evaluation software, and Windows operating system.		Profiling inhibitor selectivity for PARP protein family members, Application note	28-9794-18
<b>Desktop package</b>		Outstanding sensitivity for confident label-free interaction analysis, White paper	28-9794-20
Computer, screen, and printer - 110 V	28-9227-26	Biacore T200 system, Brochure	28-9794-12
Computer, screen, and printer - 220 V	28-9227-25		
<b>Optional packages †</b>			
Biacore T200 GxP Package	28-9779-54		
GE Healthcare Validation GxP Services	BR-2001-06		

† For more information, contact your local GE Healthcare representative.

咨询热线: 800-810-9118 400-810-9118

网址: [www.gelifesciences.com.cn](http://www.gelifesciences.com.cn)

## GE医疗中国

### 北京办公室

北京市经济技术开发区  
永昌北路1号  
邮政编码: 100176  
电话: 010-58068888  
传真: 010-67873597

### 上海办公室

上海市浦东新区张江高科技园区  
华佗路1号  
邮政编码: 201203  
电话: 021-38777888  
传真: 021-38777499

### 广州办公室

广州市天河区珠江新城花城大道87号  
通用电气大厦10楼  
邮政编码: 510623  
电话: 020-38157777  
传真: 020-38157797

### 成都办公室

成都市高新西区西芯大道3号  
创智联邦3号楼  
邮政编码: 611731  
电话: 028-62722345  
传真: 028-62722466



(本资料仅限工业和科研使用, 非临床用途)

©2014-GE 公司版权所有。

GE 公司有权在任何时候, 在不另行通知的情况下, 不负有任何义务地对上述规格和性能等进行更改, 并有权终止该产品的供应。详情请与您当地的 GE 业务代表联系。

GE, GE Monogram, healthymagination, imagination at work, 健康创想以及 GE 梦想启动未来是 GE 公司的注册商标。