

# 分析型超速离心机 Optima AUC

溶液中大分子的表征技术



# AUC 技术概述

## OPTIMA AUC

### Analytical Ultracentrifugation

70年前, 贝克曼库尔特为科学界开拓新视野, 提供了可用于样品物性表征的 AUC 技术。这个传统一直延续到 21 世纪, 公司开发出了新型 Optima AUC 系统。新发布的新一代 AUC 产品是一项强大的技术, 在基础科研和生物制药研究领域, 可准确测定蛋白质的表观分子量以及蛋白质在溶液中的聚集状态。

分析超速离心技术是测定蛋白质或其他大分子的分子量、流体力学和热力学性质的全面而精准的手段。目前, 没有任何其他技术可以在精确度和准确度与之媲美。

### AUC 应用

- 分子量
- 化学计量
- 蛋白质聚集
- 配体结合
- 结合效率
- 多分散性

“新 AUC 的高级功能促使革命性的多波长实验得以开展, 多波长实验是一类全新的实验设计, 可通过光谱分解利用复杂混合物中存在的多个发色团对样本中的多个组分同时进行检测。”

Borries Demeler  
(德克萨斯大学健康科学中心)



### 优点

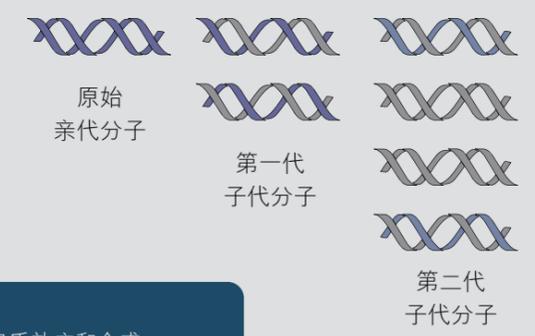
- 样品可回收
- 无需稀释
- 无需标记和固定
- 缓冲液限制选择少
- 低浓度检测
- 低样品量 (最低 0.1mL)
- 高通量
- 无需标准品

Optima AUC 整合了离心机促使颗粒沉降的能力和光学组件检测不同时间沉降状态的功能。AUC 技术可获取样品分子量、形状、构象和异质性等相关信息。

同样的 60,000 转 / 分钟  
不一样的性能提升  
Optima AUC

# 分析型超速离心技术发展历史

随着分析型超速离心 (AUC) 技术的发展,其所带来的进步也越来越多。在这项技术不断实现科学创新的同时,我们也在不断了解世界并开拓各种新的重要应用。



1925年: Theodor Svedberg 发明分析型超速离心机



蛋白质三级和四级结构

$$\frac{s}{D} = \frac{m_b}{k_B T}$$

创建拉姆方程,用于描述溶质在超速离心下的沉降和扩散

$$\frac{dc}{dt} = \frac{1}{r} \frac{d}{dr} \left[ rD \frac{dc}{dr} - s\omega^2 r^2 c \right]$$



1947年第一台商业化分析超离Model E诞生



Meselson 和 Stahl 发现 DNA 的半保留复制



发现约-奥氏效应和合成边界异常效应

开发出浮选沉降技术



贝克曼库尔特推出 ProteomeLab XL-A 和 XL-I 离心机

1920s

1940s

1950s

1960s

1970s

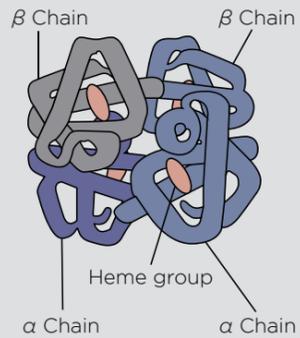
1990s

2000s

2010s



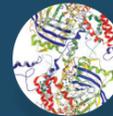
发现新的可能性



研制出血浆和血容量增容方法用于输血



Schachman 的实验室开发出 Rayleigh 干涉光系统,能够表征在可见 UV 光谱范围之外的低吸收粒子



奠定蛋白质科学和分子生物学的基础

推出首台商用分析型超速离心机 Spinco Model E (1947年)

## Optima AUC 是蛋白质组学的一个有效的整体解决方案

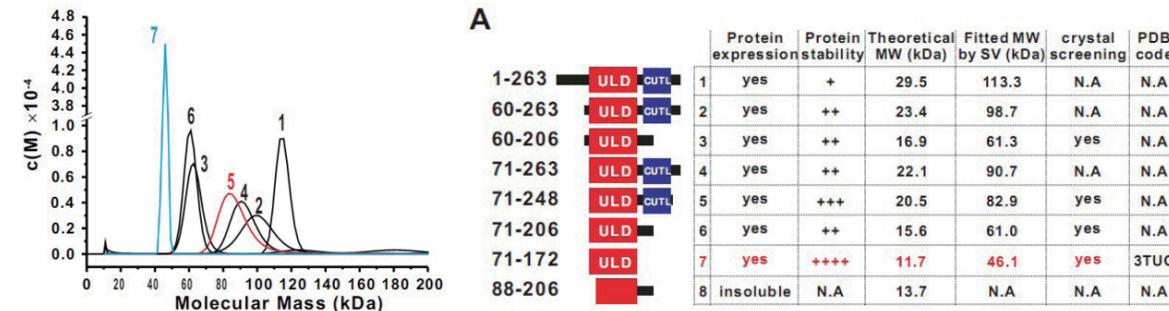
贝克曼库尔特公司推出的 Optima AUC 蛋白质组学整体解决方案，整合了蛋白质组学中细胞的分离、蛋白质的分离和鉴定以及利用等一系列整体方案，为科学家们实现其创造性思维提供了一套先进、完备、快速和方便的工具，是您更容易地精于您的学问和实现您的目标。

“许多生物分析仪器及方法可以用来表征蛋白质的行为，但是 AUC 通常是我的首选，因为它在测定样品异质性、构象和结合状态时是独一无二的。如果没有 AUC，我和我的同事会浪费掉很多实验样品和时间，且在不合适的实验样品上去做热测定、SPR、CD 和其他各种测定。”

John Philo (博士)，美国加州 Thousand Oaks 联合蛋白实验室

## 均一性与聚集状态

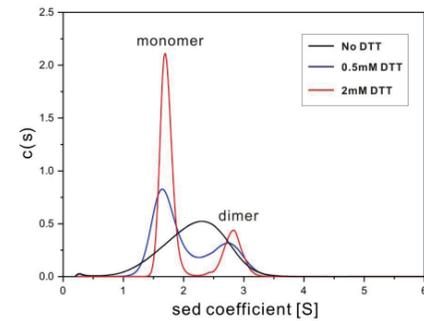
在结构生物学研究中，均一性和聚集状态是蛋白质的重要属性。



转录因子 SATB1 (sepical AT rich binding protein 1) 氨基端端四聚体结构域 ULD (ubiquitin like domain) 的结晶。

SATB1 氨基末端的结构 (ULD) 对于功能至关重要，通过 AUC 分析，表达纯化的 7 个 ULD 都能形成四聚体结构，但只有 7 号 ULD (单体分子量为 46.1kDa) 的蛋白均一性是最好的，形成晶体后的稳定性也是最高的。

-Nucleic Acids Research, 2012, 1-10



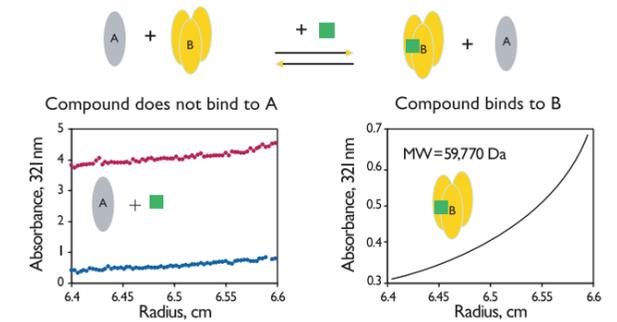
AUC 可用于筛选蛋白质的溶液条件，如左图检测同一种蛋白在不同溶液环境中的聚集状态，在 2mM DTT 存在下可形成稳定的单体和二聚体。

## 多重检测系统

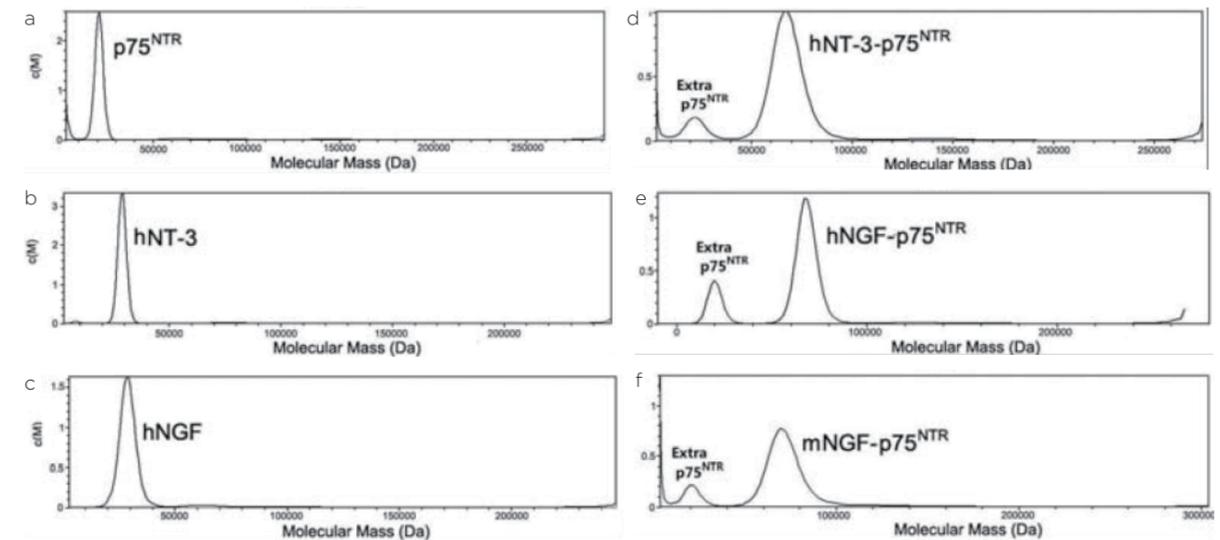
Optima AUC 具有紫外 / 可见光 (UV/Vis) 扫描检测系统和瑞利 (Rayleigh) 干涉光学检测系统。紫外 / 可见光 (UV/Vis) 扫描检测系统保证了在低浓度条件下工作的灵敏度和建立在样品最大光吸收基础上优化检测的选择性，可同时对 20 个波长进行检测。瑞利 (Rayleigh) 干涉光学检测系统，能够测量由于样品浓度改变导致的折射率的变化。这不仅提高了检测精度，同时还可以对更多种类的样品进行更大浓度范围的检测。AUC 可以顺序地从两种检测系统中收集数据，为溶液中蛋白质性质提供更多更广的信息。

## 相互作用系统

AUC 可以帮助您分析一个小分子是否与靶蛋白结合。在最常见的例子中，激素 - 受体相互作用时，需要分析小分子抑制剂 (下图中的绿色正方形) 是与受体 (A) 还是激素 (B) 相结合。小分子抑制剂只在 321nm 处有光吸收，由于分子量很小，不能沉降。如果它结合到一个蛋白上，则在 321nm 波长的吸收随着被结合蛋白在对应的分子量处沉降而下降。左边的图显示了小分子抑制剂与受体混合物的沉降平衡，由于抑制剂 (红色曲线) 的光吸收图没有明显弯曲，说明化合物不与受体结合。右边的图则有显著的弯曲，说明化合物结合到激素上。



## 蛋白与蛋白相互作用



Molecular mass	p75 <sup>NTR</sup>	hNT-3-p75 <sup>NTR</sup>	hNGF-p75 <sup>NTR</sup>	mNGF-p75 <sup>NTR</sup>	dg-p75 <sup>NTR</sup>	hNT-3-dg-p75 <sup>NTR</sup>	hNGF-dg-p75 <sup>NTR</sup>
Measured (kDa)	21.3	67.8	68.4	71.0	19.2	45.5	45.1
Theoretical (kDa)	20.1	66.2 (2:2)	66.4 (2:2)	66.2 (2:2)	18.7	44.8 (2:1)	44.9 (2:1)

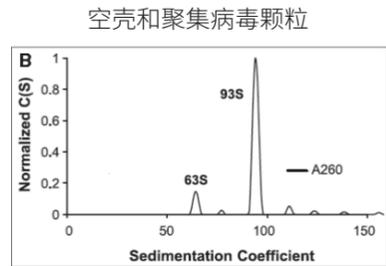
AUC 通过分子量测定及摩尔比，可以有效测定蛋白与蛋白之间是否发生作用，以及发生作用后真实的结合比例；  
Gong Y, Cao P, Yu HJ, Jiang T., Crystal structure of the neurotrophin-3 and p75<sup>NTR</sup> symmetrical complex. Nature. 2008 Aug 7;454(7205):789-93

# 药物研发 (JOURNEY OF DRUG STAGES)

## 物性研究

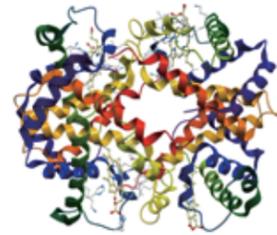
### 病毒有效载量

AUC 是腺相关病毒及其他给药载体研究人员确定遗传有效载量的重要工具。鉴定空壳、错误组装及聚集病毒颗粒，确定有效载量。



### 蛋白质表征

AUC 是测定分子量和样品纯度的金标准。AUC 可以表征天然状态下的蛋白质的构象变化、均质性和形状等。

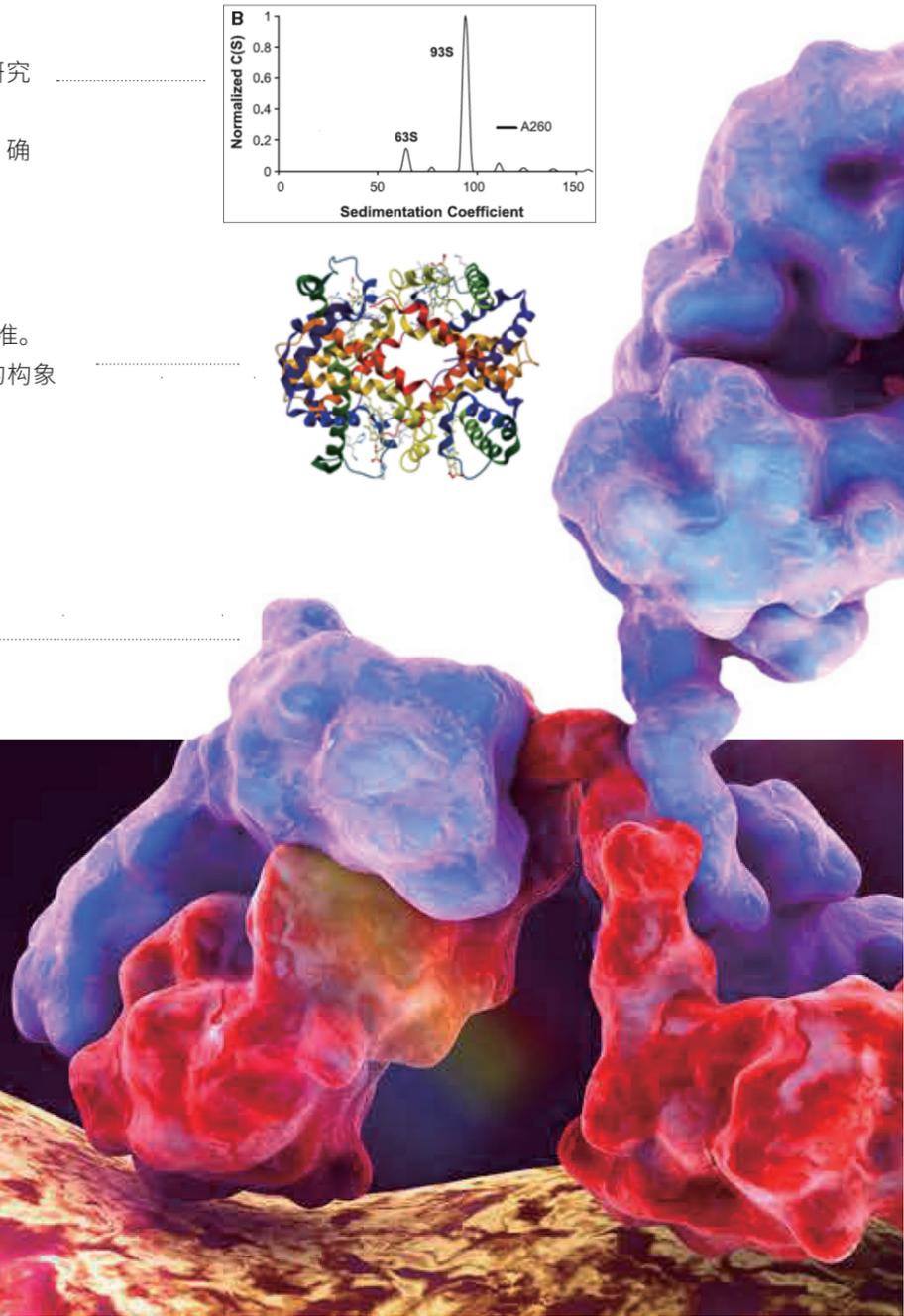


### 药物耦联

AUC 通常用于表征抗体耦联药物 (ADC) 的结合效率和纳米粒子药物复合体的包装或融合。

“AUC 的结果明确、可靠且可重现。AUC 是我用来表征大分子和精确研究蛋白质间相互作用的首选方法。”

Jia Ma (博士),  
普渡大学生物分析中心主任

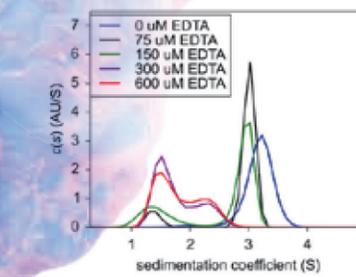


## 工艺开发

### 制剂

AUC 是研究溶液状态下样品的方法，允许研究人员选择不同缓冲液，用于滴定和制剂研究。

USP 胰岛素装配

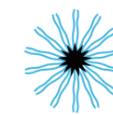


### 纳米颗粒

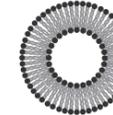
研究人员一般利用 AUC 研究纳米粒子在结合和不结合药物耦联物时的大小和形状。



金纳米粒子



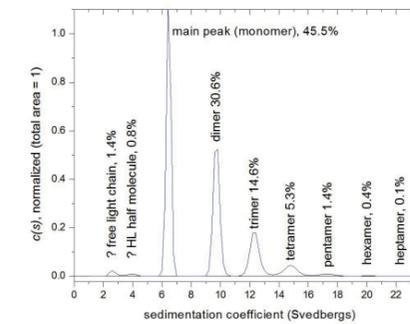
微胶粒



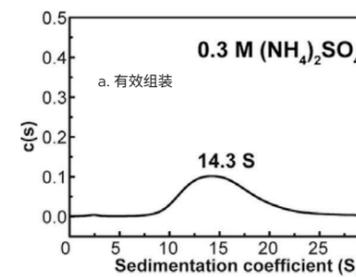
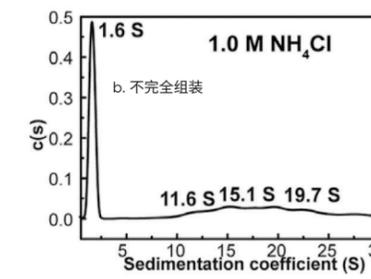
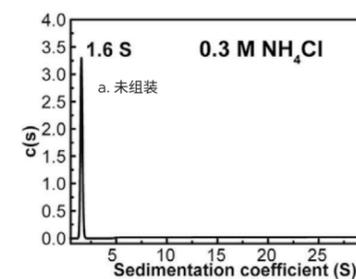
脂质体

### 聚集

研究天然溶液条件下非共价聚集使得分析超离技术作为 FDA 推荐的一种方法用于蛋白类药物检测。蛋白的自聚集研究对于药物的稳定性非常重要，这也让 AUC 成为生物类药物研发必不可少的技术。



### VLP 病毒样颗粒 HEV 疫苗组装检测



AUC 用来研究不同浓度的不同盐溶液对 Hepatitis E virus (HEV) P239 病毒折叠重组情况的影响；结果表明 0.3 M (NH4)2SO4 足够有效的诱发 p239 组装。（\* 未折叠前的 p239 单体 S 值为 1.6s）  
Yang C, Pan H, Wei M, et al., Hepatitis E virus capsid protein assembles in 4M urea in the presence of salts., Protein Sci. 2013 Mar;22(3):314-26

### 临床前试验及新药审查

- 毒理学批次评价
- 配方开发
- 原料药和药物制剂表征、稳定性和批放行
- 原料药及药品加速稳定性实验
- 用于验证方法的强制降解实验

# 质量控制

## 应用

- 活性成分分析
- 药物配方研究
- API 和药品释放度试验
- API 和药品稳定性
- 标准品评价



“分析超速离心技术是用于分析溶液中蛋白质和其他大分子的最强大、最通用的技术之一；在我的实验室工作流程中，它是极其重要的一部分。我们发现它是快速表征新蛋白质体系的最佳途径，通过实验我们可以知道我们的蛋白质样品是单体还是复合物（包括聚集体）。它为结构生物学家提供了理想的互补技术，我们可以验证溶液中的结构数据，定量表征蛋白质配体结合或蛋白质装配过程。”

Andrew Herr (博士)，辛辛那提儿童医院医疗中心

## 仪器及组件

订购信息	
P/N	说明
B86436	Optima AUC ABS - 吸光度检测器
B86437	Optima AUC ABS/INT - 吸光度 / 干涉光检测器
361964	四孔 An-60 Ti 转头，最高转速 60000rpm
363782	八孔 An-50 Ti 转头，最高转速 50000rpm
392773	Individual assembled cel (单个样本池；两孔树脂中心件，蓝宝石窗口)
392772	Individual assembled cel (单个样本池；两孔树脂中心件，石英窗口)
360219	平衡装置套件 (包括砝码)
361318	扭力支架套件
培训课程信息	
课程	说明
B87538	<p>欢迎参加贝克曼学习中心开设的 Optima AUC 培训班。Optima AUC 客户培训课程面向不熟悉 AUC 技术的人士。为期两天半的课程涵盖基本理论、样品制备、仪器设置以及使用 SEDFIT 软件进行基本样品分析的入门知识。分析将侧重于沉降速率实验。</p> <p>联系人：Dean Clodfelter；联系电话：1-317-410-1384 电子邮箱：dkclodfelter@Beckman.com</p>



贝克曼库尔特生命科学引领全球离心技术 70 年 (1947- 至今)，设计、制造和销售了一系列完整的离心机系统，并提供配套的服务。通过提供独特的转头以及创新的离心瓶、离心管和配件，并结合先进的离心软件，贝克曼库尔特为实验室科学提供智能化的离心分离解决方案。

欲了解更多信息，请登录 [info.beckmancoulter.com/OptimaAUC](http://info.beckmancoulter.com/OptimaAUC)

\* 本产品仅用于工业及科研，不用于临床诊断。

Bulletin 598A 2017/04 Printed in China



贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司

产品咨询热线：400 821 8899

售后服务热线：400 885 5355 / 800 820 5355

联系邮箱：apls@beckman.com

© 2017 Beckman Coulter Commercial Enterprise (China) Co., Ltd  
禁忌内容或注意事项详见说明书

PRINTED IN CHINA