



Octet[®] SF3 SPR

Powered and Prepared

Simplifying Progress

SARTORIUS

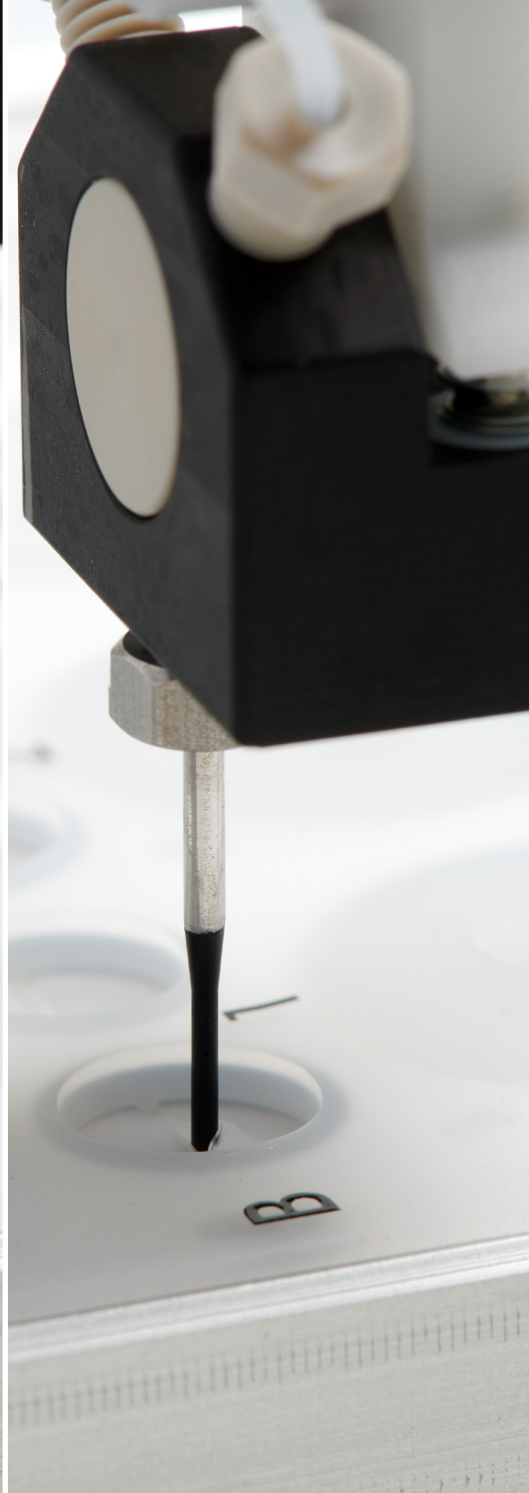
Powered and Prepared どのような課題にも対応

抗体断片の特性評価、ワクチン研究、細胞全体の生物学的解析に対する現在の世界的な需要に遅れを取ることなく対応するには、最初に設定した研究仮説を実用的な結果に導くための、持続的な技術的進歩が必要不可欠です。これは特にタンパク質のラベルフリー解析の分野に当てはまります。

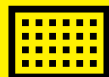
低分子と高分子のどちらにもきわめて高い感度を示すうえに、ベースラインのノイズとドリフトが低く、大容量インジェクションにも対

応し、グラジエントインジェクションの新技术であるOneStep®とNeXtStep™を採用した、新しいOctet® SF3では、標準的なマルチサイクルカインेटクスに比べてごく短時間で、カインेटクスと親和性に関する高品質なデータを取得できます。Octet® SF3は、ユーザーによってユーザーのために設計されたソフトウェアと組み合わせることで、幅広い生体分子間相互作用の特性評価を迅速に行う、堅牢かつハイスループットで省メンテナンス性のSPRソリューションを提供します。





堅牢で省メンテナンス性のSPR
最新の流路系と最適化された電子設計により、装置の故障や閉塞の可能性を大幅に低減し、装置のダウンタイムが最小限に抑えられ、信頼性の高い高品質なデータが得られます。



ハイスループットなSPR
1回の無人アッセイで最大768サンプルの完全な結合カインेटクスと親和性のデータを生成します。OneStep®インジェクション技術、72時間を超える無人運転時間、独自のサンプルレイアウトの組み合わせにより、1回のランで数百ものサンプルをハイスループットにデータを取得・解析することが可能です。



OneStep® インジェクション技術
OneStep® インジェクション技術を使用することで、複数の希釈系列の調製が不要になり、アッセイの開発や作業が効率化します。単純に単一濃度のアナライトを調製するだけで、カインेटクスやアフィニティ解析のための広範な濃度勾配を作ることができます。



競合アッセイ
NeXtStep™インジェクション技術を利用することで、単一濃度のアナライトから、複数の競合物質の存在下におけるアナライトのフルカインेटクスと親和性を決定できます。

Octet® SF3：他に類を見ない イノベーションと設計の組み合わせ

Octet® SF3 は、堅牢な工学設計による独自の技術的イノベーションの組み合わせにより、システムの省メンテナンス性と高いサンプル処理能力を備え、低分子と高分子のどちらもきわめて正確に特性評価を行えるため、あらゆるSPR使用頻度のユーザーに対して最適なシステムになっています。

主な特長：

- アナライトの希釈系列を必要とせず、表面再生のためのインジェクション回数を削減し、アッセイ開発期間を大幅に短縮する独自のOneStep®グラジエントインジェクション技術により、カインेटクスと親和性を正確に測定
- 低分子と高分子のどちらのアッセイでも高感度にサンプルを測定
- 幅広いカインेटクス速度定数に対して精度が高く、高親和性相互作用も測定可能
- NeXtStep™グラジエントインジェクション技術により、競合アッセイをきわめて正確に実施





1 バッファー容量の増加

バッファートレイに1 Lの容器を3本配置することができ、1本は水ライン、2本はバッファーラインとして使用可能です。2本のバッファーラインは個別に作動するため、アッセイで2種類のランニングバッファーを使用することができます。



2 最適化された流路系

Octet® SF3の流路系はあらゆる面において閉塞の潜在的な原因を最小限に抑える設計により、強力かつ堅牢で、省メンテナンスなシステムを実現しています。システムへの吸着の脱離、洗浄、除染のプロトコルにより、システムの稼動時間を最大限に保ちます。



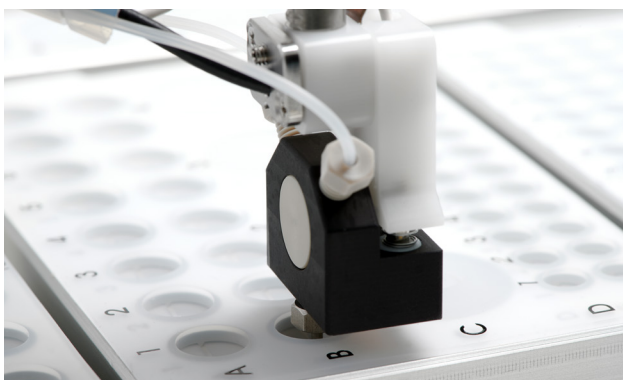
3 専用の水ライン

Octet® SF3には専用の水ラインがあり、バッファーの沈殿や閉塞のリスクが低下します。



4 熱力学的測定と生理学的測定

Octet® SF3は幅広い温度における相互作用の解析が可能で、生理的温度における治療薬の結合カインेटクスと親和性を迅速に評価できます。インラインバッファーデガッサーで気泡の形成を防止し、大容量（500 μL）のシリンジを併用することにより、解離速度定数の正確な算出が可能です。



5 サンプル回収

結合したアナライトを回収することができ、他の分析法で同じアナライトを評価可能です。



6 ハイスループットなサンプル取得

OneStep®とハイスループットモードの併用で、独立した768サンプルを24時間以内に解析することができます。Octet® SF3は72時間以上の連続稼働が可能のため、きわめてハイスループットなライブラリースクリーニングにも最適です。

OneStep[®] グラジエントインジェクション技術

OneStep[®] グラジエントインジェクション技術は、Taylorの分散理論に基づき、移動するバッファーの流れの中に単一濃度のアナライトを拡散させ、3桁以上の濃度勾配を作り出すことで、単一濃度のアナライトから分子のカイネティクスと親和性を正確に測定することを可能にします。

Octet[®] SF3で標準的なマルチサイクルカイネティクス (MCK) も実施できますが、OneStep[®] インジェクションにより各アナライトの希釈系列の調製は不要です。

OneStep[®] グラジエントインジェクション技術の特長：

- **正確性**：マルチサイクルカイネティクスの速度定数とほぼ同一
- **処理速度**：センサーチップ再生、サンプル調製、データ取得、カイネティクスと親和性の解析に必要な時間を大幅に短縮
- **スループット**：単一濃度のアナライトで各相互作用を評価できるため、各サンプルプレートを最大限に利用可能

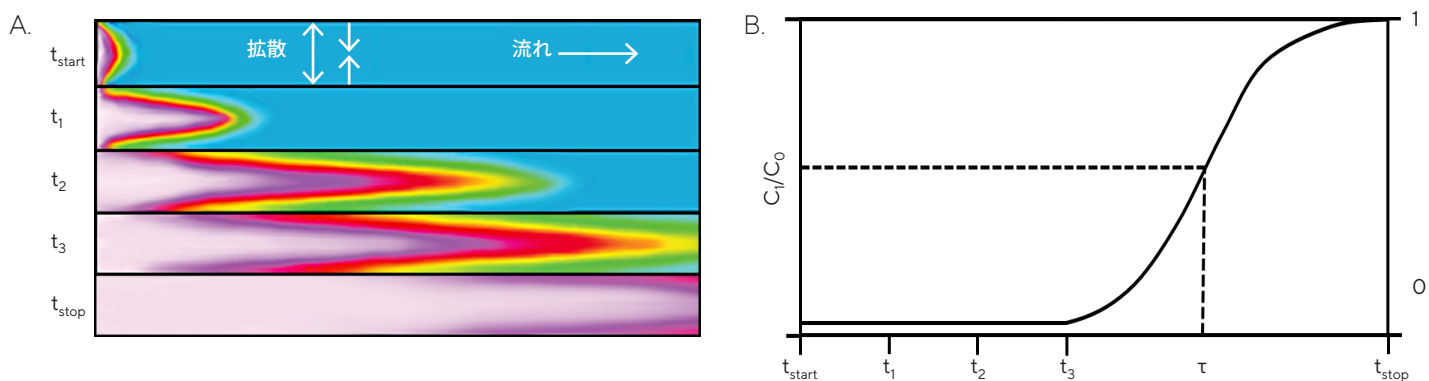


図1

注記：(A) OneStep[®]による注入ライン内のグラジエント形成と、(B) フローセルで測定された各時間のアナライト濃度。青色はランニングバッファー、ピンク色はアナライトを示す。グラジエント形成ならびにフローセルにおけるアナライト濃度との関係は、5つの時点における注入ラインのシミュレートスナップショット ($t_{start} \sim t_{stop}$) で示される。1回のインジェクションで全てのアナライト濃度系列を評価できることを示している。



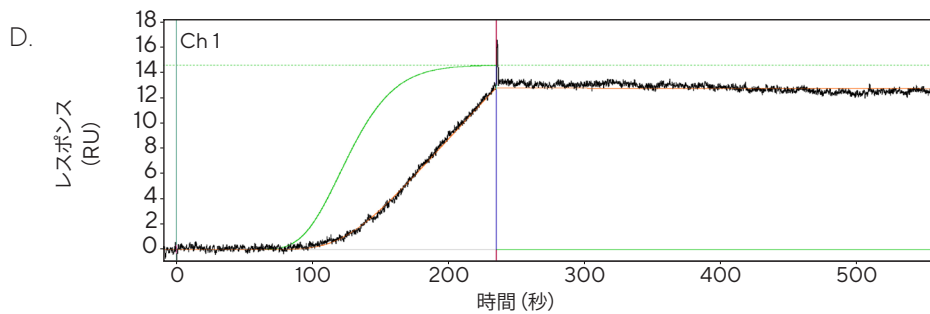
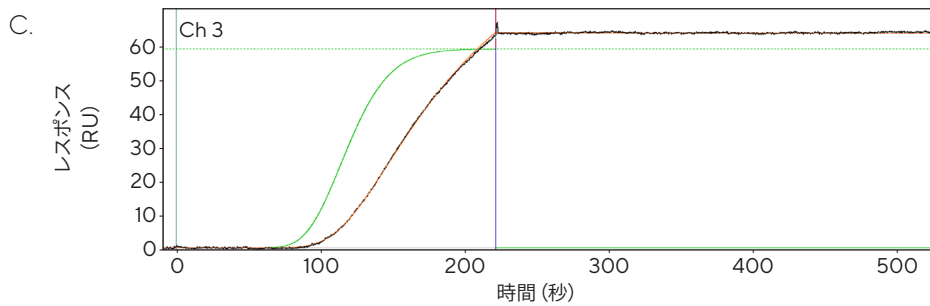
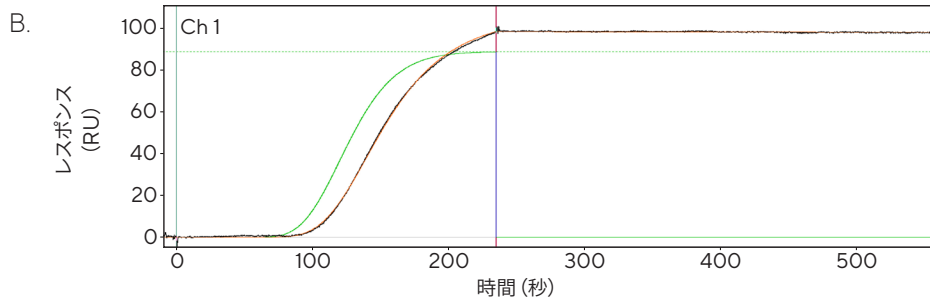
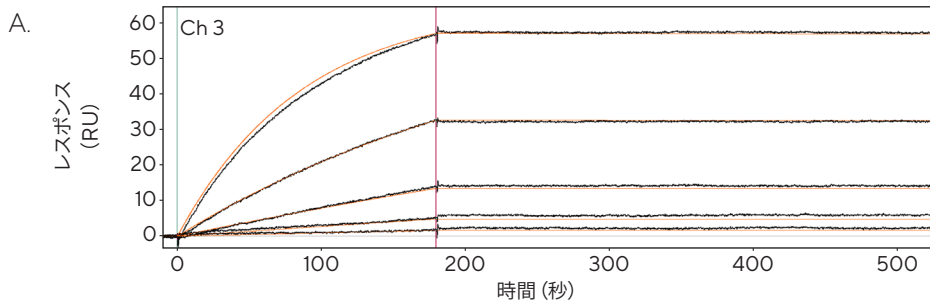


図2

注記：HER2（リガンド）に対するトラスツズマブ Fab抗体（アナライト）。(A) マルチサイクルキネティクス（MCK、短時間/長時間、完全解離は非表示）と（B～D）Octet[®]SF3 SPRプラットフォームでのOctet[®]インジェクションによる測定の手手法の結果を示す。トラスツズマブFab抗体のマルチサイクルキネティクスの希釈系列は25 nM、8.3 nM、2.78 nM、0.926 nM、0.309 nM。

標準的なマルチサイクルキネティクスにより、5段階トラスツズマブ希釈系列を調整、データ取得、グローバル解析を実行した結果、親和定数（KD）は7.19pMと計算された。

OneStep[®]グラジエントインジェクション技術を使用した場合、に、マルチサイクルキネティクスアッセイ用に調製したすべての濃度において、 K_D 値に大きな差異は認められなかった。たとえば、濃度が25 nM、8.3 nM、0.926 nMのトラスツズマブを使用した結果、それぞれ9.85 pM（図2B）、8.49 pM（図2C）、8.60 pM（図2D）の K_D 値を達成できた。

結論

OneStep[®]グラジエントインジェクションを使用した場合、アナライトの濃度が1点でも、希釈系列によるマルチサイクルキネティクスアッセイと同様の結果が得られた。このことは、日常的な装置使用だけでなく、ハイスループットなヒット同定スクリーニングについても、時間、コスト、労力の大幅な削減が実現することを示している。

注記：OneStep[®]インジェクショングラフ上の緑色の実線は、時間に対するアナライトの相対的な勾配濃度を表している（B～D）。



NeXtStep™ グラジエントインジェクション技術

競合アッセイは、ヒットしたフラグメントをコントロール分子と競合させることにより活性部位バインダーを見いだすことができ、創薬においてきわめて有用です。NeXtStep™インジェクション技術では、1回のインジェクションで競合分子の存在下におけるアナライトのふるまいを測定できる独自の機能を備えています。NeXtStep™を使用すれば、ランニングバッファー中に競合物質を入れる必要が無く、1回のアッセイで複数のアナライトと競合分子の評価が可能です。フルカイネティクスプロファイル、親和性、部位特異的競合を、競合分子の存在下における結合の変調として明確に識別することができます。

NeXtStep™によるグラジエントインジェクションでは、溶液A（アナライトと競合分子）と溶液B（競合分子のみ）を使用し、競合分子濃度は常に一定に保たれます。両溶液はサンプル保持ラインに順次拡散され、フローセルに達した時点で、溶液の順序を反転させます。注入の初期は、ほぼ全体が溶液Bです（図3）。NeXtStep™によるインジェクションが進行しても競合分子の濃度は一定に保たれ、アナライトの濃度はグラジエントがかかった上昇を示します（図4）。

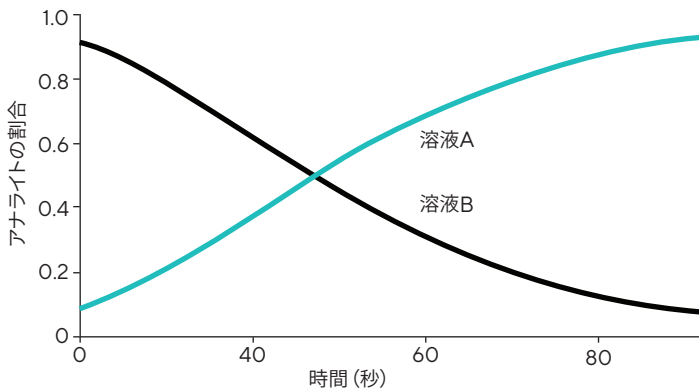


図3

注記：フローセル通過時の各溶液の割合を時間経過でチャート化した図。インジェクション開始時の溶液はほぼ全体が溶液B（競合分子）だが、インジェクションが進行していくと徐々に溶液A（アナライトと競合分子）に置き換わり、注入の最終段階ではほぼ全体が溶液Aになる。

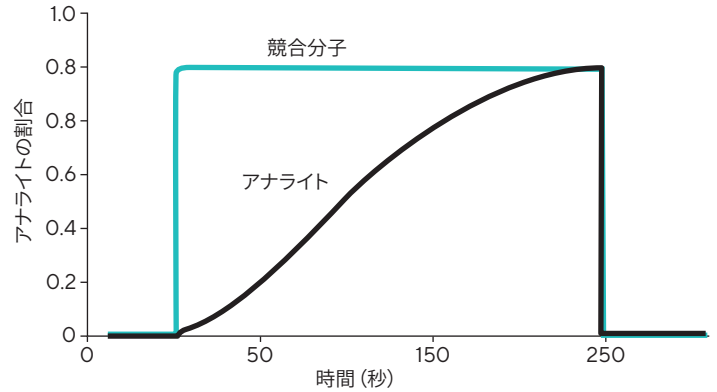


図4

注記：競合分子の濃度はアッセイ中を通して一定。しかし、インジェクションが進行すると溶液Aが大きな割合を占めるようになるため、アナライトの濃度が徐々に上昇する。



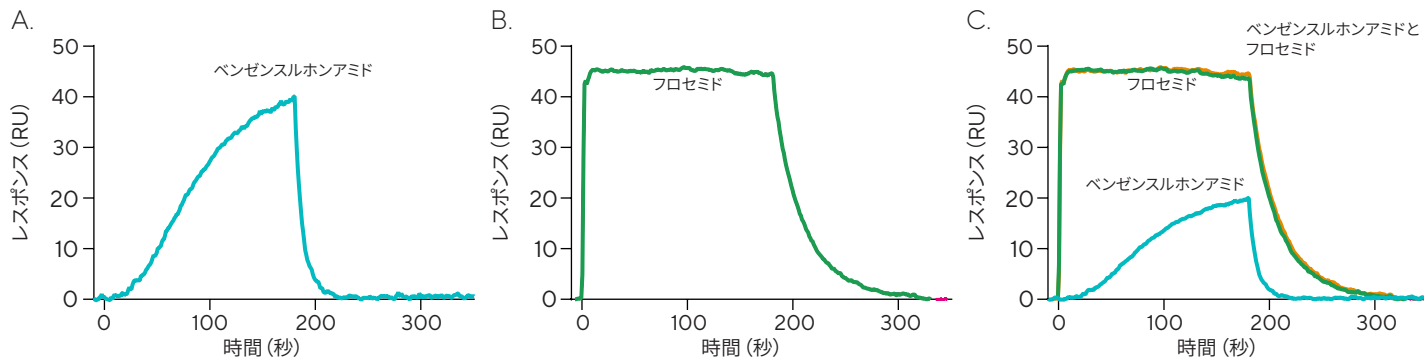


図5

注記：NeXtStep™によるグラジエントインジェクションを用いて、ビオチン標識されたII型炭酸脱水酵素に対するフロセミドとベンゼンスルホンアミドの結合における競合作用を特定した。

ビオチン標識されたII型炭酸脱水酵素をリガンドとするOctet® SPR SADHセンサーチップを調整した。それぞれの競合分子の代わりに、同一のセンサーチップ表面に、HBS-EP+とともに(A)ベンゼ

ンスルホンアミド (青) と(B)フロセミド (緑) の、NeXtStep™による連続的なグラジエントインジェクションを行った。(C)続いて、濃度を一定に保ったベンゼンスルホンアミドと (競合分子としての) フロセミドのNeXtStep™によるグラジエントインジェクションを行い (茶色の線)、阻害されていないフロセミド (緑) とベンゼンスルホンアミド (青) それぞれの結合プロファイルと比較した。

フロセミド (緑)、ベンゼンスルホンアミド (青)、フロセミドとベンゼンスルホンアミド (茶色) のセンサーグラムを比較すると、親和性の高いフロセミドの相互作用により、親和性の低いベンゼンスルホンアミドの結合プロファイルが完全に阻害され、相加作用がないことが示された。もしそれぞれの分子がII型炭酸脱水酵素に独立して結合するのであればそれは相加反応となるはずである。よってこれらの2分子は結合ポケットが共通していると考えられる。

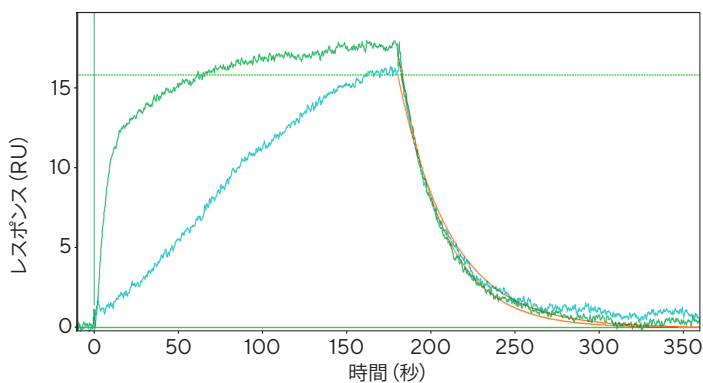


図6

注記：結合への影響を調べるために、アナライトと競合分子の直接的な競合アッセイとしてNeXtStep™によるグラジエントインジェクションアッセイを行うことも可能である。

図6に示すとおり、競合分子の非存在下におけるカインेटクス応答を測定するために、HBS-EP+とともにフロセミドを注入した (緑)。続いて、競合分子としてNeXtStep™によるメタンズルホンアミドのグラジエントインジェクションを行った結果、フロセミドの結合に明らかな変化が見られた (青)。

NeXtStep™グラジエントインジェクション技術の主な特長は、複数の競合分子をアッセイプレートから直接注入し、目的のアナライト分子との相互作用の可能性を確認できるため、1回の無人運転により多数の競合アッセイを迅速に行えることにある。



専用設計の ソフトウェアにより 装置の省メンテナンス性 と使いやすさを実現

Octet® SF3システムに記録された高品質データは、Octet® SPR Analysisソフトウェアで簡単に解析することができます。

アッセイの設定

直感的なドラッグ&ドロップレイアウトにより、アッセイデザインはかつてないほど容易になりました。Octet® SPR Discoveryソフトウェアにより、サンプルパラメーターの定義、共通または個別サンプルフローレートの作成、注入量とレポートポイントの追加を迅速に行うことができます。データの作成もこれまでになく簡単になりました。

メソッド設定ページでは、定義済みの多数のメソッドから選択して設定のガイドとして利用可能で、独自メソッドの作製、修正、表示にも柔軟に対応します。

迅速なデータ解析

SPRベースの断片スクリーニングのデータ解析はかなり煩雑で、1枚のプレートのスクリーニングに数日かかる場合もあります。Octet® SPR Analysisソフトウェアは、非ヒットからのヒットの選択に統合アプローチを採用しており、スクリーニングの日別データや装置別データの正規化が可能であるため、スクリーニング戦略全体を迅速に比較することができます。この統合により、数時間から数日かかっていた後処理時間を数秒から数分に大幅に短縮できます。

このソフトウェアにはカイネティクス、親和性、マストランスポート補正、マルチサイト結合といったモデルが組み込まれており、必要に応じた相互作用へのフィッティングが可能です。一次スクリーニングデータですぐにKD解析が可能で、手間と時間がかかる、間違いの起こりやすい二次スクリーニングは不要です。

メンテナンス

Octet® SF3のメンテナンスについては、ユーザーが行う必要のある作業が最小限に抑えられており、システムのメンテナンスにかかる時間が短縮され、データの生成に集中する時間を増やすことができます。

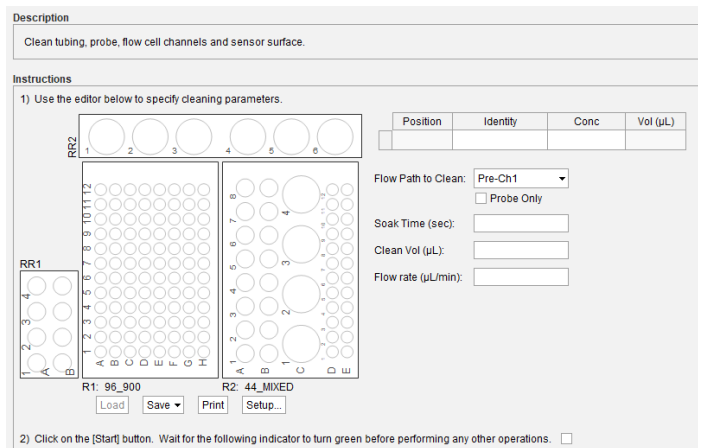


図7

注記：Octet® SPR Discovery Software: ユーザーがメンテナンスにかかる時間を省略し、装置の稼働時間を最大化するための、装置のチューブ、プローブ、フローセル、センサー表面の洗浄メニュー。

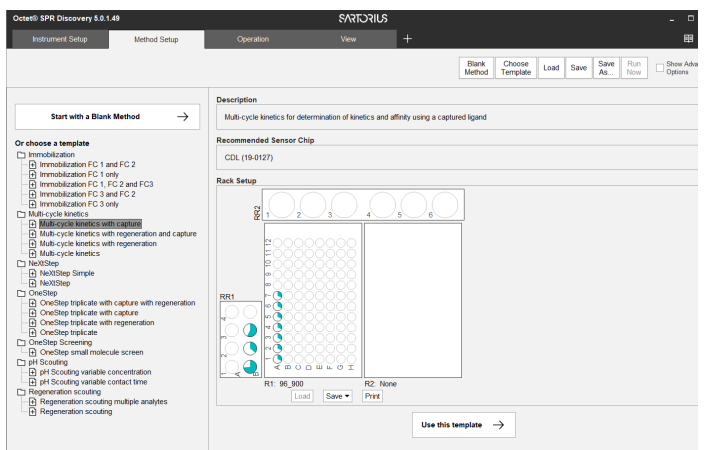


図8

注記：Octet® SPR Discovery Software: 高品質データを簡単に作成するのに役立つ、あらゆるアッセイ対応の定義済みのメソッドプロトコル。

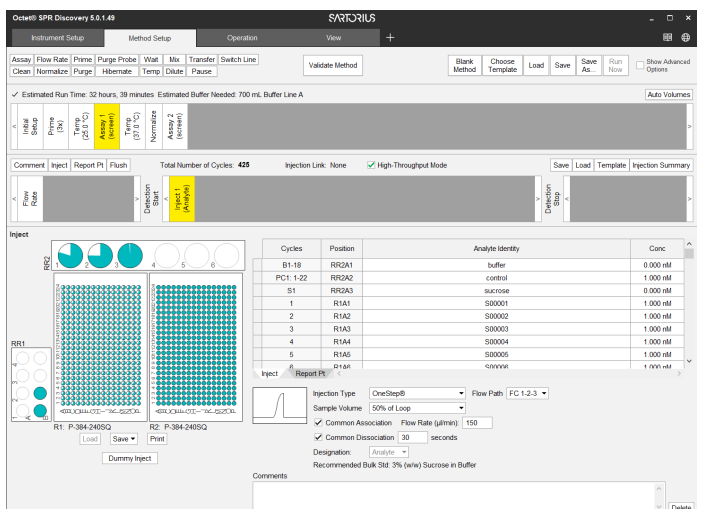


図9

注記：Octet® SPR Discovery Software: 直感的に操作できる構成で、アナライトID、濃度、注入タイプ、共通の結合/解離時間などの変数が表示されるアッセイメソッド設定ページ。

Octet[®] SF3注文情報

Octet [®] SF3	製品番号
Octet [®] SF3 SPR System	Octet-SF3
Octet [®] SF3 SPR System Installation	84IAFF3

Octet[®] SF3仕様

ベースライン特性	
屈折率レンジ	1.33 ~ 1.40
ベースラインノイズ	代表値 < 0.025 RU (RMS)
ベースラインドリフト	代表値 < 0.3 RU/分
検出可能分子量	有機分子については下限なし
可変データレート	1、2、5、10、20、40 Hz
親和性レンジ	fM ~ mM
作業レンジ	
結合速度定数 (k_a)	$10^2 - 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
解離速度定数 (k_d)	$10^{-6} - 2.5 \text{ s}^{-1}$
グローバル解析の親和定数 (K_D)	$10^{-3} - 10^{12} \text{ M}$
濃度	サンプル濃度 > 1 pM
サンプル取得	
無人稼働時間	72時間超、既定の稼働時間制限なし
サンプル容量	任意のサンプルラック2個と試薬ラック2個
サンプルラックオプション	96バイアル、ディープウェル、PCRフォーマット、384ウェルマイクロプレート、カスタム可能な高容量
システムとサンプルの温度制御	4 ~ 40°C (最大: 周囲温度より15°C下まで)
バッファライン選択	3種類のラインの自動切り替え
インラインバッファデガッサー	あり
フローセルと注入部	
フローチャンネル数	3
フローパス	1、1-2、1-2-3、3、3-2、3-2-1
フローチャンネル容量	< 90 nL
チャンネル間デッドボリューム	< 20 nL
注入量	2 ~ 700 μL
フローレート	0.1 ~ 200 $\mu\text{L}/\text{分}$
注入の上昇時間と下降時間	< 0.75秒 @ 25 $\mu\text{L}/\text{分}$
グラジエント注入	OneStep [®] (ハイスループットモードでの使用を含む)、NeXtStep [™]
同時注入	あり
ソフトウェア	
Octet [®] SPR Analysis Hit Selection	あり
寸法	
幅×高さ×奥行き	61 cm × 61 cm × 51 cm
重量	66 kg

ザルトリウス・ジャパン株式会社

東京本社

〒140-0001

東京都品川区北品川1-8-11

Daiwa 品川Northビル4階

Phone: 03 6478 5200 Fax: 03 6478 5494

Email: hp.info@sartorius.com

名古屋営業所

〒461-0002

名古屋市東区代官町35-16

Phone: 03 6478 5204

Fax: 03 6478 5497

大阪営業所

〒532-0003

大阪市淀川区宮原4-3-39

Phone: 03 6478 5203

Fax: 03 6478 5496