

---

# 目次

<b>I</b>	<b>はじめに</b>	<b>1</b>
1	はじめに	3
1.1	相互作用解析の流れ	3
1.2	Biacore の実験の種類	4
1.2.1	特異的結合の確認	4
1.2.2	濃度測定	4
1.2.3	アフィニティー測定	5
1.2.4	カインेटィクス測定	5
1.3	相互作用のカインेटィクスを知る意義	5
	参考文献	8
<b>II</b>	<b>測定原理</b>	<b>9</b>
1	測定原理	11
1.1	はじめに	11
1.2	センサーチップ	12
1.3	光学測定原理	13
1.4	送液系	14
1.5	相互作用測定センサーグラム	16
1.5.1	ベースライン	16
1.5.2	結合領域	17
1.5.3	解離領域	17
1.5.4	再生領域	18
<b>III</b>	<b>実験の基礎</b>	<b>19</b>
1	固定化方法	21
1.1	固定化における注意点	21
1.1.1	固定化分子の選択基準	21

1.1.2	固定化量	23
<b>1.2</b>	<b>固定化方法</b>	<b>25</b>
1.2.1	固定化方法の種類	25
1.2.2	化学結合による固定化方法	26
1.2.3	抗原・抗体の親和性を利用した固定化方法	41
1.2.4	キレート作用 (Sensor Chip NTA) を利用した固定化方法	48
1.2.5	疎水的吸着を利用した固定化方法	50
<b>2</b>	<b>相互作用測定</b>	<b>55</b>
<b>2.1</b>	<b>相互作用測定における注意点</b>	<b>55</b>
2.1.1	アナライトの調製	55
2.1.2	リファレンスセル	56
2.1.3	再生操作	56
2.1.4	非特異的吸着	59
<b>2.2</b>	<b>特異的結合の確認</b>	<b>61</b>
2.2.1	はじめに	61
2.2.2	準備する試薬・器具	61
2.2.3	プロトコール	62
2.2.4	再生条件の検討	65
2.2.5	データ解析	66
<b>2.3</b>	<b>カイネティクス測定</b>	<b>66</b>
2.3.1	はじめに	66
2.3.2	準備する試薬・器具	66
2.3.3	プロトコール	67
2.3.4	データ解析	70
<b>2.4</b>	<b>アフィニティー測定</b>	<b>73</b>
2.4.1	はじめに	73
2.4.2	準備する試薬・器具	73
2.4.3	プロトコール	74
2.4.4	AAL と LNFP-1 とのアフィニティー解析	75
2.4.5	データ解析	78
参考文献		79
<b>2.5</b>	<b>濃度測定</b>	<b>80</b>
2.5.1	はじめに	80
2.5.2	準備する試薬・器具	82
2.5.3	プロトコール	82
2.5.4	再生条件の検討	83

2.5.5	濃度測定	84
2.5.6	データ解析	85
2.5.7	濃度測定法のポイント	85
<b>3</b>	<b>機器のメンテナンス</b>	<b>88</b>
3.1	はじめに	88
3.2	定期的な洗浄	88
3.2.1	流路系, フローセルの洗浄	88
3.2.2	コネクタブロックの洗浄 (Biacore A100, T100, X100 以外のシステム)	89
3.2.3	ニードルの洗浄 (オートメーションタイプ)	89
3.3	システムのチェック	90
3.3.1	システムチェック	90
3.3.2	シリンジポンプのチェック	90
3.4	システムの放置方法	90
<b>IV</b>	<b>応用例</b>	<b>91</b>
<b>1</b>	<b>基礎研究分野</b>	<b>93</b>
1.1	カイネティクス解析	93
1.1.1	はじめに	93
1.1.2	応用例	93
1.1.3	準備する試薬・器具	94
1.1.4	プロトコール	94
1.1.5	実験デザインのポイント	98
	参考文献	100
1.2	サーモダイナミクス解析	101
1.2.1	はじめに	101
1.2.2	応用例	101
1.2.3	準備する試薬・器具	101
1.2.4	プロトコール	102
1.2.5	データ解析	104
1.2.6	実験デザインのポイント	106
	参考文献	108

<b>2 バイオ医薬品開発分野</b> .....	109
<b>2.1 抗体のスクリーニング</b> .....	109
2.1.1 はじめに .....	109
2.1.2 応用例 .....	109
2.1.3 準備する試薬・器具 .....	110
2.1.4 プロトコール .....	111
参考文献 .....	116
<b>2.2 抗体のエピトープマッピング</b> .....	117
2.2.1 はじめに .....	117
2.2.2 応用例 .....	117
2.2.3 準備する試薬・器具 .....	118
2.2.4 プロトコール .....	119
2.2.5 実験デザインのポイント .....	122
参考文献 .....	123
<b>2.3 抗体の濃度測定</b> .....	123
2.3.1 はじめに .....	123
2.3.2 応用例 .....	123
2.3.3 準備する試薬・器具 .....	124
2.3.4 プロトコール .....	124
2.3.5 実験デザインのポイント .....	126
参考文献 .....	130
<b>2.4 抗体のカイネティクス解析</b> .....	130
2.4.1 はじめに .....	130
2.4.2 準備する試薬・器具 .....	132
2.4.3 プロトコール .....	133
参考文献 .....	134
<b>2.5 免疫原性試験</b> .....	135
2.5.1 はじめに .....	135
2.5.2 応用例 .....	137
2.5.3 準備する試薬・器具 .....	138
2.5.4 プロトコール .....	138
2.5.5 実験デザインのポイント .....	143
参考文献 .....	144
<b>2.6 ワクチン開発</b> .....	144
2.6.1 はじめに .....	144
2.6.2 応用例 .....	145

2.6.3 準備する試薬・器具	145
2.6.4 プロトコール	146
2.6.5 実験デザインのポイント	150
参考文献	151
<b>2.7 アッセイバリデーション</b>	<b>151</b>
2.7.1 はじめに	151
2.7.2 アッセイバリデーション項目	151
参考文献	158
<b>3 低分子化合物医薬品開発分野</b>	<b>159</b>
<b>3.1 低分子化合物の相互作用測定</b>	<b>159</b>
3.1.1 はじめに	159
3.1.2 溶媒補正	159
3.1.3 固定化量	161
3.1.4 相互作用測定	161
<b>3.2 タンパク質結合率算出</b>	<b>168</b>
3.2.1 はじめに	168
3.2.2 応用例	168
3.2.3 準備する試薬・器具	170
3.2.4 プロトコール	170
3.2.5 実験デザインのポイント	174
<b>3.3 膜透過性試験</b>	<b>174</b>
3.3.1 はじめに	174
3.3.2 応用例	176
3.3.3 準備する試薬・器具	176
3.3.4 プロトコール	176
3.3.5 実験デザインのポイント	180
参考文献	181
<b>4 食品・環境分析分野</b>	<b>182</b>
<b>4.1 ビタミンの定量</b>	<b>182</b>
4.1.1 はじめに	182
4.1.2 応用例	183
4.1.3 準備する試薬・器具	183
4.1.4 プロトコール	184
4.1.5 実験デザインのポイント	186
4.1.6 ビタミン測定キットの信頼性の検証	188

参考文献	189
<b>4.2 食品・環境分析への応用</b>	<b>189</b>
4.2.1 はじめに	189
4.2.2 応用例	190
参考文献	194

## 付 録 ..... 195

### よくある質問 ..... 197

<b>1 Biacore システムの仕様</b>	<b>197</b>
<b>2 原理・基礎</b>	<b>198</b>
2.1 大きな粒子	200
2.2 固定化全般	201
2.3 低分子化合物の固定化	201
2.4 脂質の固定化	201
2.5 膜タンパク質の固定化	202
2.6 糖脂質の固定化	202
2.7 アミンカップリングについて	202
2.8 キャプチャー法	204
2.9 核酸の固定化	205
2.10 糖鎖の固定化	206
2.11 相互作用測定	206
2.12 相互作用測定におけるトラブルシューティング	208
2.13 カイネティクス解析	209
2.14 カイネティクス解析におけるトラブルシューティング	213
2.15 アフィニティー解析	213
2.16 アフィニティー解析におけるトラブルシューティング	214
2.17 濃度測定	214
2.18 回収操作	214
2.19 センサーチップについて	215
2.20 システムのメンテナンス	216

### 実験に必要な試薬・センサーチップ ..... 218

<b>1 センサーチップ</b>	<b>218</b>
1.1 カルボキシル基タイプ	218
1.2 ストレプトアビジンタイプ	218

1.3 疎水基タイプ .....	218
1.4 金属キレートタイプ .....	219
1.5 金表面のみのタイプ .....	219
<b>2 ランニング緩衝液 .....</b>	<b>219</b>
2.1 ランニング緩衝液の組成 .....	219
2.2 ランニング緩衝液の調製方法 .....	220
<b>3 固定化試薬 .....</b>	<b>220</b>
<b>4 再生溶液 .....</b>	<b>221</b>
<b>おわりに .....</b>	<b>223</b>
<b>索引 .....</b>	<b>225</b>