

使用最新的 Biacore X100 快速研究不同抗体分子与 EGF 受体成员 HER2 的相互作用

瑞典乌普萨拉大学的Thuy Tran博士是一位生物分子相互作用分析的初学者，之前并没有任何相关分析的经验。使用 Biacore 公司 (Now part of GE Healthcare) 于2007年新推出Biacore X100配合通用的CM5传感芯片，在接触仪器的第一天，她就通过友好直观的软件界面学会了如何比较不同抗体分子与EGF受体成员HER2结合的特异性，亲和力和结合/解离速率。通过比较参照蛋白与HER2的不同结合水平，Thuy快速判定了所有突变体对靶标的结合特异性，并直接得到高亲和力相互作用的动力学特征。

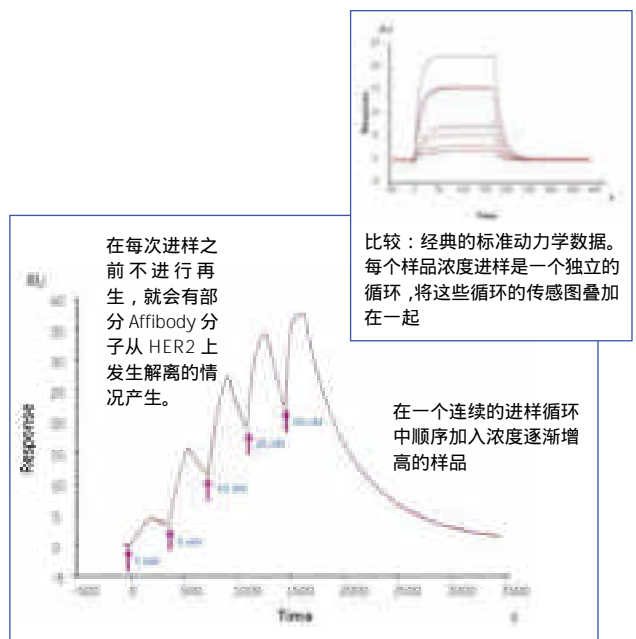
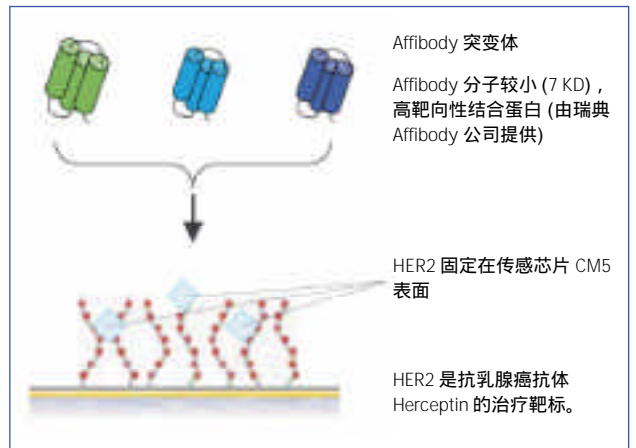
一般来说，一个标准的动力学实验中，我们需要设置一系列不同浓度的样品依次进样，每次进样间隙需要通过设置再生程序完全去除留在传感芯片表面的样品，使芯片的重复性达到最佳。但是，这次Thuy要分析的Affibody突变体非常特殊，其本身和HER2结合十分稳定，很难通过常规的设定实现理想的再生。然而，在Biacore X100的帮助下，Thuy采用了一次进样循环就完成了动力学分析，简便又快速，理想地克服了原先的困难。

在一次进样循环的分析中，将HER2蛋白偶联于CM5传感芯片的表面，抗体分子以逐渐增高的浓度依次进样流过芯片并于HER2蛋白发生结合，每次进样间隙不设再生程序。

这样虽然每一次的进样后仅有一部分抗体分子发生解离，芯片表面并未回复到原始未结合抗体分子的状态，但是Biacore X100的数据分析软件可以让研究者通过分别比较局部的结合和解离情况，同样计算得到准确的亲和力范围以及结合速率和解离速率参数(速率常数， k_a 和 k_d)。虽然经典的动力学分析，在每一次不同浓度的样品的进样之间需要再生，这样才能让芯片表面回复到原始未结合抗体分子的状态，从而保证动力学分析结果的准确性。但是Biacore X100的数据分析软件的分析模型可以分析这种不再生的数据，并且保证结果的准确性。而这一切，包括从表面准备到实验流程，数据分析和数据评估，都有分析软件的逐步向导，保证了研究者即使是刚接触仪器的新手，也能在第一天就开始实验，并且获得有价值的的数据。

Thuy Tran博士说：“软件的向导程序使用非常方便，帮助菜单的功能性也很强。我很快就掌握了该软件。”

- > 亲和力范围 34 nM 到 22 pM
- > 结合速率范围 1.4 到 $8.2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$
- > 解离速率范围 7×10^{-3} 到 $3 \times 10^{-1}\text{S}^{-1}$



(我们感谢瑞典乌普萨拉大学，Jorgen Carlsson 教授和 Thuy Tran 博士参与这次合作。)