

## Label-free Assays in a Drop

Protein Presence. Quantitation. Kinetics. Assay Development.



Drop. Read. Done.

**わずか1滴でタンパク質の検出・定量・カインेटクス解析が迅速に完了！**

forteBio社製 BLItzシステムは、独自のBLI(Bio-Layer Interferometry)法を採用し、わずか1滴(4μL)のクルードサンプルを滴下するだけでタンパク質の検出・定量・カインेटクス解析を簡便、迅速に行うことが可能です。

活性タンパク質の有無を数秒で検出、  
 数ng/mLレベルのタンパク質を迅速に定量、  
 カインेटクス解析が数分で可能、など、  
 従来法と比較し、実験時間を大幅に短縮することができます。

Label-free assays  
 in a drop.

研究室の卓上に設置可能なコンパクトサイズ & 低価格帯で、  
 パーソナル・アッセイシステムとして最適です！





- Dip & Readの簡便でスピーディーな計測**  
 forteBio社製Octetシステムでも定評のある独自のBLI(Bio-Layer Interferometry)法を採用し、滴下したサンプルにバイオセンサーを浸すだけの容易な操作で、数秒・数分レベルで計測結果が得られます。装置には複雑な構成部品がなく、実験準備も簡単です。
- 4μLのサンプルで測定可能**  
 サンプル量の制限からこれまで困難だったアッセイも、BLItzなら可能です。採取が難しい貴重なサンプルや試薬を節約できます。
- ラベルフリー**  
 ラベリングに必要な時間と経費を短縮できます。また、無修飾タンパク質でアッセイを行なうため、より信頼性の高い結果が得られます。
- クールドサンプル使用可能**  
 細胞可溶化物、血清、ハイブリドーマ上清、最高10%のDMSOとグリセロール中のタンパク質も精製することなく直接測定することができます。
- 結合イベントのリアルタイムグラフ表示**  
 結合イベントがリアルタイムでグラフ表示され、計測結果の視覚的確認が可能。結合曲線の形状からタンパク質の品質に関する詳細な情報を得ることができます。
- コンパクトサイズ&低価格帯**

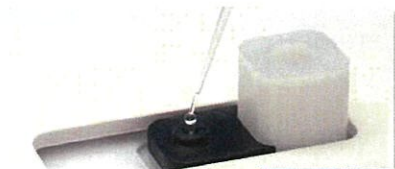
forteBIO  フライムテック株式会社  
A Division of Pall Life Sciences

little genius



 Life Sciences

- 1: 4 μLのサンプルを、ピペットでサンプルホルダーに滴下

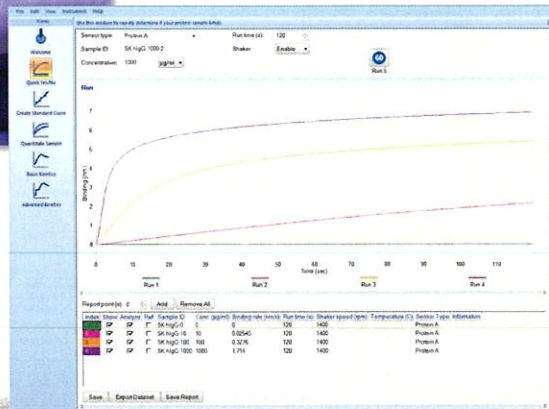


BLItzシステムを箱から出せば、タンパク質の特徴付けアッセイを、すぐに開始することができます。

- 2: バイオセンサーの装着



- 3: アッセイの開始



forteBIO  フライムテック株式会社  
A Division of Pall Life Sciences

Sciences



### 製品原理

**■ バイオレイヤー干渉法 (BioLayer Interferometry : BLI)**

バイオレイヤー干渉法は、従来のSPR法とは異なる、生体分子間相互作用を計測するための、全く新しいラベルフリー技術です。

BLIバイオセンサー先端拡大図

**① リファレンスの計測**

バイオセンサー先端表面上に固定された分子のレイヤーと、内部リファレンスレイヤーの2つの表面から反射される白色光の干渉波を高性能分光器により解析します。

**② 分子の結合による波長シフト**

サンプル中の分子がバイオセンサー先端表面上の固定化分子に結合することにより、センサー先端のレイヤーの厚みが増加し、干渉波に波長シフトが生じます。

**③ 波長シフトの計測**

バイオセンサーに結合する分子、またはバイオセンサーから解離する分子数の変化によって生じる波長シフト $\Delta\lambda$ の変化をリアルタイムに計測し、Octetシステム上で反応プロフィールを生成します。

サンプル中の非結合分子、もしくはサンプル屈折率変化や流速変化は、干渉波に一切影響を及ぼしません。このことにより、カインेटクス、アフィニティ、定量の各アプリケーションにおいてクルードサンプルの使用が可能です。

バイオセンサー	グレード*	用途
Anti-human IgG Fc	Q	ヒト IgG (Fc特異的) 定量
Anti-murine IgG Fv	Q	マウス/ ラット IgG 定量
Protein A	Q	IgG 定量
Protein G	Q	IgG 定量 (多くの哺乳類 IgG において Protein A より親和性が高い)
Protein L	Q	IgG 定量 (Protein A・G よりも幅広い範囲の種・Ig アイソタイプに対し、高い親和性を持って結合)
Anti-Penta-HIS	Q	6xHIS タグを含むタンパク質の定量
Ni-NTA	Q/K	HIS タグ付タンパク質のカインेटクス計測・定量。
Anti-GST	Q/K	GST 付発現タンパク質の定量、GST 付発現タンパク質と結合するタンパク質/抗体/ペプチド等とのアフィニティ解析
Anti-Human Fab-CH1	Q/K	ヒト IgG、Fab、F(ab') <sub>2</sub> の定量とカインेटクス解析 (重鎖の CH1 領域に特異的)
Streptavidin (SA)	Q/K	ビオチン化分子の解析用の、高密度なストレプトアビジン表面
Aminopropylsilane (APS)	K	バイオセンサー表面へのタンパク質の吸着
Amine Reactive (AR / AR2G)	K	第1級アミン基を含むタンパク質解析のためのカスタムリガンド固定化
Anti-human IgG Fc Capture (AHC)	K	ヒト IgG またはヒト Fc 領域を含むタンパク質の固定化
Anti-Mouse IgG Fc Capture (AMC)	K	マウス IgG またはその他の Fc 領域を含むタンパク質の固定化

\* Q=定量グレード、K=カインेटクス・グレード



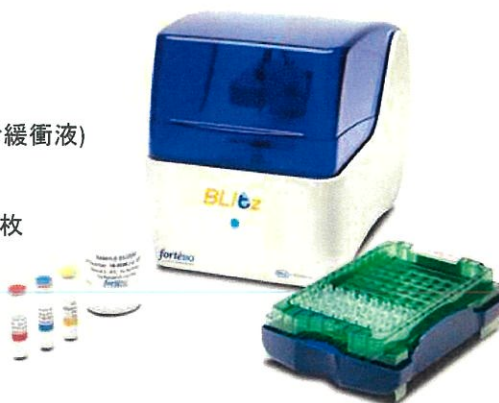
## 製品システム構成

[型式: 45-5000]

- 💧 BLItz本体
- 💧 BLItz Pro™ ソフトウェアCD
- 💧 電源コード
- 💧 USBケーブル
- 💧 BLItz Quickstart Guide(英語)
- 💧 スターターキット

[スターターキット構成品]

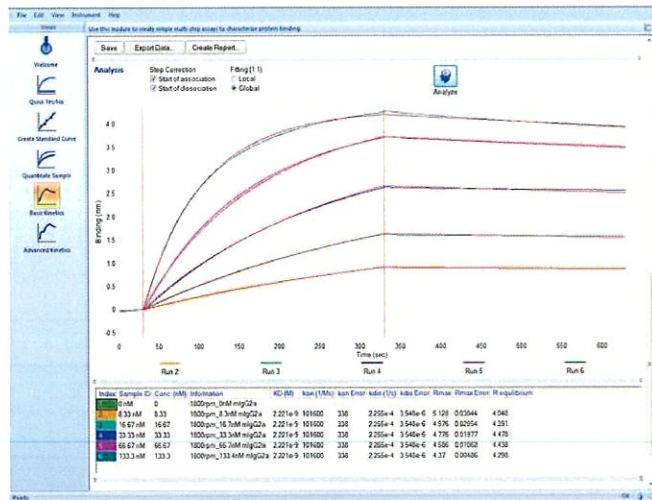
- ・Protein A バイオセンサー(32本入トレイ×1)
- ・human IgG: 10mg/mL × 200μL
- ・mouse IgG: 10mg/mL × 100μL (担体タンパク含有バッファ緩衝液)
- ・塩酸: 0.5 M × 500μL (ドロップホルダー洗浄用)
- ・円錐チューブ (0.5 mL) × 20本
- ・96-wellフラット底ポリプロピレンマイクロプレート(黒色)×2枚
- ・ドロップホルダー×2個
- ・スワブ
- ・サンプル希釈液 50 mL








[ノートPC]

BLItz Proソフトウェアは、ラベルフリー・アッセイを容易に実行可能にします。シンプルなワークフローにより、僅か数秒で実験を開始することができます。ソフトウェアが、オペレーションからデータ解析までを通じて、ユーザーをナビゲートしてくれるため、実験のセットアップとデータ・レビューにかかる時間を大幅に減らすことが可能です。より迅速に有用な実験結果を得ることができます。またアッセイ結果は、ワンクリックでCSV/PDFレポート出力することが可能です。

- Quick Yes/No
- Create Standard Curve
- Quantitate Sample
- Basic Kinetics
- Advanced Kinetics



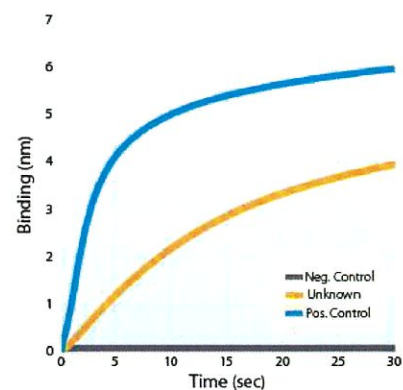


アッセイタイプ	説明
 <p>Quick Yes/No タンパク質の有無</p>	<p>サンプル中のタンパク質が結合しているかの迅速判定 関心タンパク質の有無を信頼性高く解析するため、 ポジティブ/ネガティブ・コントロールを用いることを推奨します。</p>
 <p>Create Standard Curve 検量線作成</p>	<p>タンパク質定量のための検量線作成 作成した検量線は、後で、特定の条件下で濃度未知のサンプルをアッセイする際に、外挿利用することができます。</p>
 <p>Quantitate Sample タンパク質定量</p>	<p>タンパク質濃度の定量 活性タンパク質が定量測定されます。 未知のサンプル濃度は、保存しておいた検量線を用いて決定することができます。</p>
 <p>Basic Kinetics ベーシック・カイネティクス</p>	<p>溶液中タンパク質の結合・解離カイネティクスプロファイルを分析 結合(<math>K_b</math>)・解離(<math>K_d</math>)速度定数とアフィニティ(<math>K_D</math>)を決定するために、 溶液中タンパク質の濃度系列を調べます。</p>
 <p>Advanced Kinetics アドバンスド・カイネティクス</p>	<p>バイオセンサーへのタンパク質固定または、カスタムバイオセンサーの調製を 実施後、溶液中タンパク質の結合・解離カイネティクスプロファイルを分析 結合(<math>K_b</math>)・解離(<math>K_d</math>)速度定数とアフィニティ(<math>K_D</math>)の決定が可能。 (複数段階の固相化を含む)</p>

BLItz™は、わずか1滴のサンプル中の活性タンパク質の有無を数秒で検出し(\*)、リアルタイムな結合曲線を示すことができます。

アプリケーション例:

- ・細胞可溶化物、血清、発現培地等、未精製サンプル中のタンパク質の存在確認
- ・カラム分画中の関心タンパク質を検出
- ・タンパク質発現の相対的なランキング



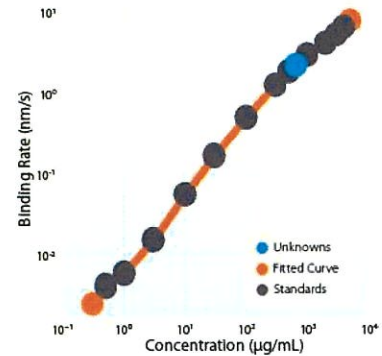
Protein Aバイオセンサーを用いた30秒の試験は、精製サンプル中のヒトIgGの存在を示しています。ポジティブ・ネガティブコントロールも示されています。

\*計測時間はアッセイ方法により変わります。

BLItz™は、5-logダイナミックレンジ、ng/mLレベルの感度でタンパク質の定量が迅速に可能です。

アプリケーション例:

- ・タンパク質発現モニタリング
- ・バイオプロセス開発
- ・バイオプロセス・モニタリング
- ・ワクチンの有効性試験

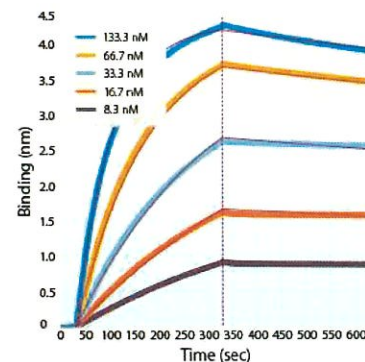


Protein Aバイオセンサーを用いたヒトIgGの定量化において、5-logダイナミックレンジがみられました。未知のサンプルは、標準曲線に対するそれらの結合速度を外挿することにより定量することができます。

BLItz™は、数分で結合相互作用の速度定数・アフィニティ( $k_a$ 、 $k_d$ 、 $K_D$ )を算出します。サンプル1滴を用いたシンプルなワークフローで、研究室ベンチ上での容易なカイネティクスアッセイが実現します。

アプリケーション例:

- ・タンパク質-タンパク質相互作用
- ・結合実験を通じたタンパク質品質試験
- ・バイオ治療薬開発
- ・製造/QC



マウスIgGをProtein Aバイオセンサーに結合するときの用量反応曲線。

計測されたカイネティック定数:

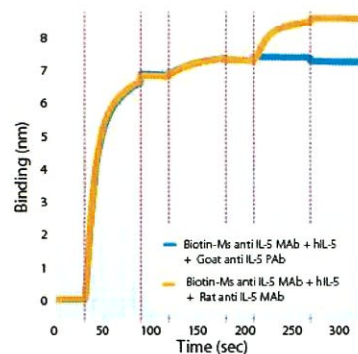
$k_a$ :  $1.02E+05$  (1/Ms)、 $k_d$ :  $2.26E-04$  (1/s)、 $K_D$ :  $2.22nM$



イムノアッセイ開発には、数日または数か月かかる場合があります。BLItz™は結合相互作用に対するアッセイ条件変更の効果をリアルタイムに見ることができるため、数分でアッセイ開発をすることができます。

アプリケーション例:

- ・結合ペア最適化
- ・イムノアッセイ開発



Streptavidin/バイオセンサー上でのサンドイッチ形成のために二次抗体を比較。ビオチン化マウスモノクローナル抗IL-5がキャプチャ抗体として用いられました。ラット抗IL-5 MAbとヤギ抗IL-5 PAbは、IL-5抗原に対するサンドイッチ形成能力を試験され、ラットMAbはサンドイッチを形成しましたが、ヤギPAbは形成しませんでした。

動作環境	<ul style="list-style-type: none"> <li>・設置温度: -20~70°C</li> <li>・最適動作温度: 22+/-4°C</li> <li>・安全動作温度: 15~30°C</li> <li>・湿度: 相対湿度10~80%(結露なきこと)</li> <li>・室内使用のみ</li> <li>・動作標高: 0~2,000m</li> </ul>
解析項目	<ul style="list-style-type: none"> <li>・タンパク質定量</li> <li>・カイネティクス・アフィニティ解析(Ka, Kd, Kp)</li> <li>・結合特異性、協同性</li> <li>・タンパク質、ペプチド、生体分子のカイネティック・スクリーニング</li> </ul>
サンプルボリューム	4μL(ドロップ・ホルダー)または250μL(チューブ)
サンプルタイプ	精製サンプル、培養培地、クルード細胞可溶化物
バイオセンサータイプ	ディスプレイザブルの光ファイバーバイオセンサー
オプティクス・メカニクス	1チャンネルバイオセンサーマニホールド、1分光器
シェーキング速度	静止または1000-2600rpm(デフォルトは2200)
寸法	(H)17.4 x (W)15.3x(D)22.2 cm
重量	3.3 kg
電源	消費電力: 8W(18Wピーク) AC 100-240V, 0.2-0.1A, 50/60Hz, 単相
接続	電源入力、USBデータ出力ポート
ソフトウェア	BLItz Pro™ソフトウェア(データ取得・解析用)
コンプライアンス	CE

特長	BLItz		Octet
サンプルボリューム	4 uL	定量・検量線作成・Yes/No	40 uL – 220 uL
	4 uL / 250 uL	カイネティクス	
結合・解離ステップ所要時間	5分	ドロップホルダ	≥ 3 時間 (蒸発限界(evaporation limit)に依存)
	15分	チューブ	
分析可能分子量下限	10 kDa		150 Da   Octet RED96, RED384
			5 kDa   Octet QKe, QK384
温度制御	不可		> 4°C (下限: 20°C ~ 上限: 40°C)
サンプルのシェーキング(振動)速度 (注: BLItzシステムとOctetシステムのrpm単位は同一ではありません)	1000 – 2600 rpm (デフォルト: 2200 rpm)		100 – 1500 rpm (デフォルト: 1000 rpm)
定量下限	~0.5 ug/mL ⇒ Protein A バイオセンサ上のhIgG / 2分間のアッセイの場合		~0.05 ug/mL ⇒ Protein A バイオセンサ上のhIgG / 2分間のアッセイの場合 (REDシステム使用)
アフィニティー定範囲constant range (カイネティクス)	1 uM - 0.1 nM		100 uM – 0.01 nM
実効値(RMS)ノイズ	< 3 pm		< 3 pm   Octet RED96, RED384
			< 8 pm   Octet QKe, QK384
スペクトロメータ	USB4000		USB4000

	内容
Q	BLItzシステムの大きさ(底面積)はどれくらいですか？
A	17.4 cm H x 15.3 cm W x 22.2 cm D です。
Q	BLItzシステムの重量はどれくらいですか？
A	3.3 kgと非常に軽量です。
Q	BLItzを用い、タンパク質を定量する場合のダイナミックレンジは？
A	分析物の定量化のダイナミックレンジは複数のパラメータ(分析物自体、選択されるバイオセンサーの種類、使用されるインキュベーション時間)の相関関係によります。 Human IgGとMouse IgGならびにGSTタグを付けられたタンパク質定量化の典型的なダイナミックレンジについては、ポスター「Label-free Analysis from Microliter Amounts of Sample」をご参照下さい。
Q	水和用のバッファ緩衝液には何を使用すれば良いですか？
A	最も良いのは、サンプルを溶解させたものと同じバッファ緩衝液です。



	内容
Q	使用前にどれくらいの時間、バイオセンサーを水和させれば良いですか？
A	バイオセンサーは、最低10分間、水和させて下さい。
Q	バイオセンサーは、一度に、1つ以上水和させることができますか？
A	はい、できます。一度に最大96本のバイオセンサーを同時にバイオセンサートレイ上で水和することができます。水和させたいバイオセンサーに一致する位置のマイクロプレートのウェルを200 $\mu$ Lのサンプル希釈液またはアッセイバッファーで満たし、バイオセンサートレイの下に最低10分間配置するだけです。
Q	クルードサンプルの分析もできますか？
A	はい、BLItzは細胞可溶化物や細胞培養の上清のようなクルードサンプルの分析をすることができます。他のアッセイ・プラットフォームと同様に、各サンプルタイプは、適合性を確認するために予備実験を行います。
Q	ドロップホルダーの素材は？ タンパク質によっては、ホルダーに結合してしまうことがありますか？
A	ドロップホルダーは、一般的にマイクロプレートの製造に用いられている標準的なポリプロピレン製です。ポリプロピレンは、一般的にタンパク質を結合しません。

	内容
Q	ドロップホルダーをクリーニングする最善の方法は？
A	ドロップホルダーを、アッセイで用いたサンプル希釈液またはバッファー4 $\mu$ Lで3回リンスし、拭きます。ドロップホルダー内のバッファーを取り除くためにキムワイプを使用します。すべての液体を吸収し拭ききれよう、キムワイプが必ずウェルに入るようにしてください。 ドロップホルダーはアッセイ後すぐに掃除することを強く推奨します。 タンパク質サンプルが残されて乾燥してしまう場合、10 $\mu$ LのHCl(aq)を加え、溶液を3回ピペティングし、さらにサンプル希釈液またはアッセイ・バッファーを用いてリンスして下さい。
Q	標的タンパク質にはGSTやHISタグがないのですが、BLItzを用いてどのようにアッセイを開発したらよいでしょうか？
A	お手持ちのタンパク質がForteBio社から提供される、すぐに使用可能なバイオセンサー(Protein A、Protein G、Protein L、anti-human IgG Fc、anti-murine IgG Fv、HIS、GST、AHC、AMC)のいずれとも結合しない場合には、Streptavidinバイオセンサーを用いることができます。ビオチン化したキャプチャ分子をStreptavidinバイオセンサーにロードすることで、バイオセンサーをカスタマイズ可能です。
Q	BLItzによって測定できる最も小さい分子量のアナライトは？
A	BLItzシステムを用いて確実に測定可能な、最も小さいアナライトは、実験条件に拠りますが、2つの重要な因子としては、バイオセンサーのリガンド(キャプチャ分子)のサイズとアナライトを含むサンプルの精製度です。目安として、ForteBio社では、10kDか、それより大きいアナライトの測定にBLItzを用いることをお勧めしています。



**BLItz™**

# デモンストレーション

💧 BLItzシステムのデモンストレーションをご希望の場合は、  
下記までご連絡下さい。

BLItzシステム取扱販売店

🏢 **プライムテック株式会社** 東京都文京区小石川1-3-25 小石川大園ビル9F

☎ 03-3816-0851 (東京本社) または ☎ 06-6310-8077 (大阪営業所)  
✉ sales@primetech.co.jp 🌐 www.primetech.co.jp



**fortéBIO™** プライムテック株式会社  
A Division of Pall Life Sciences

**PALL** Life Sciences

**BLItz™**



**BLItz™**

 [www.primetech.co.jp](http://www.primetech.co.jp)