

超高感度カロリメーター

MicroCal シリーズ



**Malvern
Panalytical**
a spectris company

MICROCAL SYSTEMS

UNDERSTANDING BIOMOLECULAR INTERACTIONS
AND STABILITY



タンパク質およびその他の生体分子の安定性を評価 示差走査型カロリメーター MicroCal PEAQ-DSC

MicroCal PEAQ-DSCは、タンパク質およびその他の生体分子において溶液中での安定性評価を行います。温度制御された状況下で、生体分子中で起こる極めて小さな熱変化をダイレクトに測定します。

POINT

- 標識試薬不要
- 変性中点温度 (T_m) および、熱力学的パラメータ (ΔH , ΔC_p) の取得
- 溶液中のサンプルの安定性や同等性を評価
- サンプル充填、セル洗浄など全機能を完全自動制御 (PEAQ-DSC Automated)



POINT

アプリケーション事例

- バイオ医薬品の安定性評価
- バイオ医薬品の安定性を指標とした処方検討
- バイオ医薬品の同等性評価
- タンパク質の熱安定性評価
- タンパク質の各ドメインの熱安定性評価
- 核酸、脂質、ポリマーなどの安定性評価

タンパク質

核酸

ウイルス

ワクチン

脂質・
リポソーム

糖質

コロイド

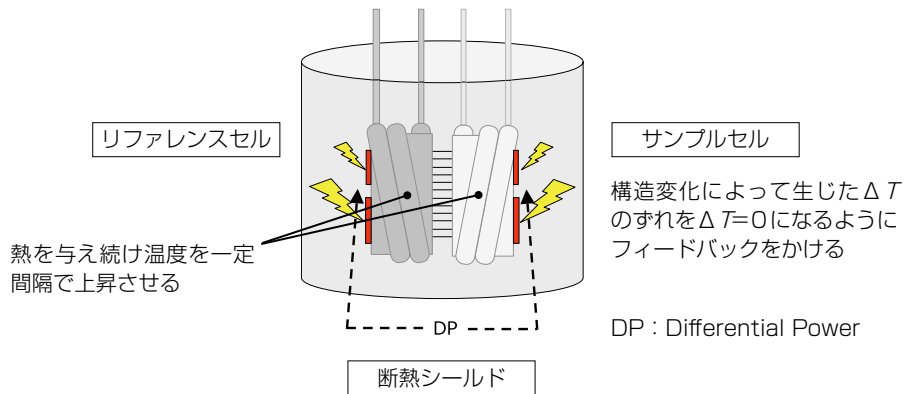
ポリマー

DSC(Differential Scanning Calorimetry) 示差走査型カロリメトリーとは？

DSCシステムの原理と概要

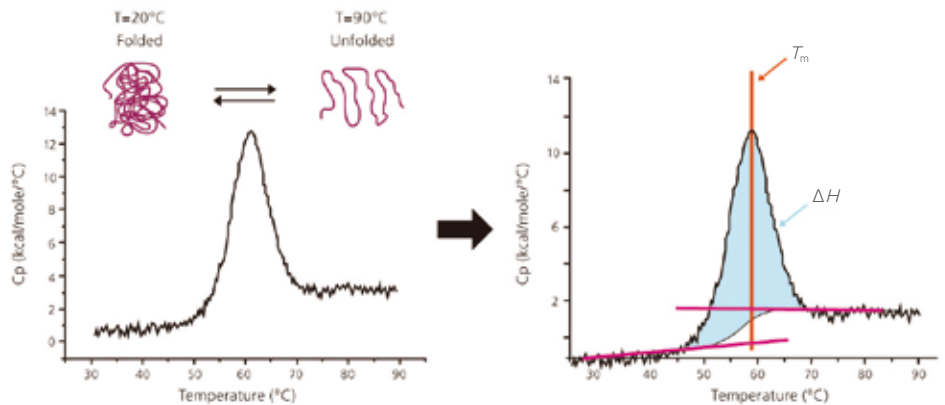
DSCのサーマルコアはリファレンスセルとサンプルセルの、2つのセルで構成されています。この2つのセルの温度を上昇させる際、これらのセルが同じ温度で維持されるように設計されています。

タンパク質がアンフォールドしたときに生じる吸熱反応により、セル間に温度差 (ΔT) が生じ、ペルチェユニット全体にわたって温度差が生じます。リファレンスセルとサンプルセルとの温度差を限りなくゼロにするために加えられたセルヒーターのディファレンシャルパワーを測定することにより、これらの熱変化をモニターし熱量変化に換算します。



DSCでどれだけ安定かがわかる

MicroCal PEAQ-DSCで得られる T_m 値から、サンプルが溶液中でどれくらい安定であるかの情報が得られます。



T_m : 変性中点温度
 ΔH : エンタルピー変化

システムセルフ診断機能と品質管理をサポートする オペレーションに対応したソフトウェアで 信頼性の高いデータを取得可能に MicroCal PEAQ-DSC ・ PEAQ-DSC Automated

POINT

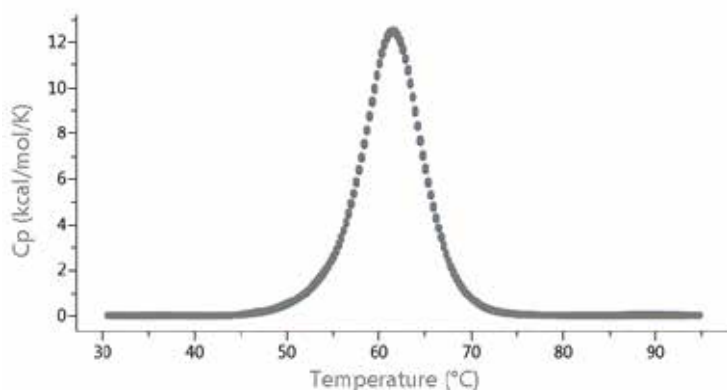
- 動画にしたがって誰でも簡単に測定可能
- システムセルフ診断機能で常に最適な状態でデータ取得が可能
- 1ステップで完了するMicroCalオリジナルの解析ソフトウェア
- 同等性評価機能と解析SOP (標準作業基準) の作成が可能
- FDA 21CFR Part11に対応 (オプション)



POINT

再現性の高いデータ

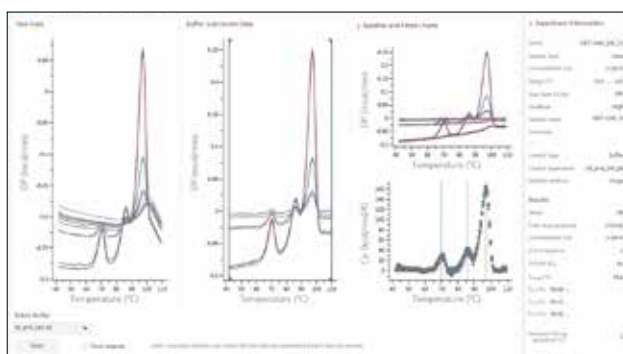
システムセルフ診断機能と洗浄機能の向上で、より再現性の高いデータ取得が可能



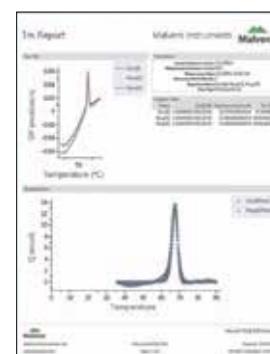
RNaseを9回測定した結果の重ね書き



Buffer データのベースライン再現性
セルフ診断機能



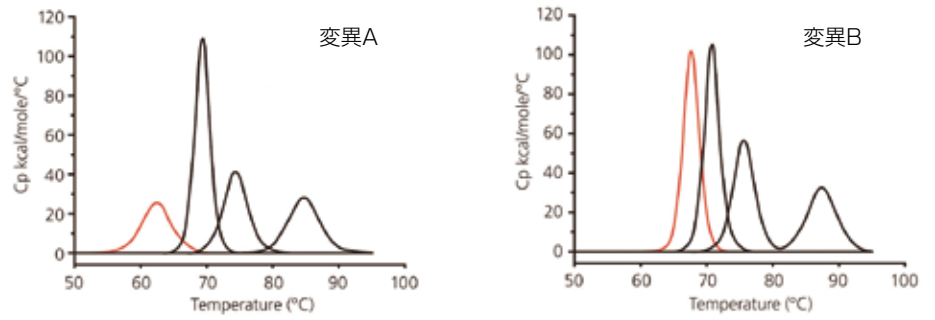
1ステップで解析完了 (ピークトップの温度、トータルエリア
の熱量変化)



すぐ使えるレポートフォーマット

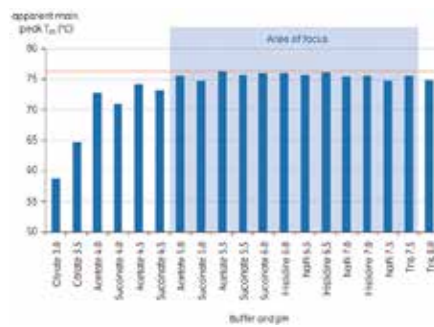
測定事例

抗体に変異を入れることで1つのドメイン(赤)の T_m 値が変化していることがDSCの測定でわかります。変異Bが抗体の安定性を向上させたと判断することができます。

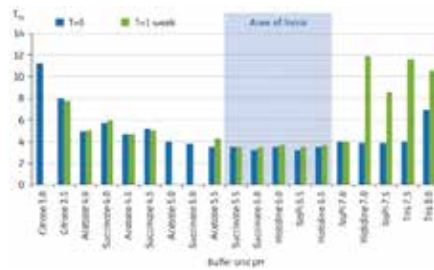
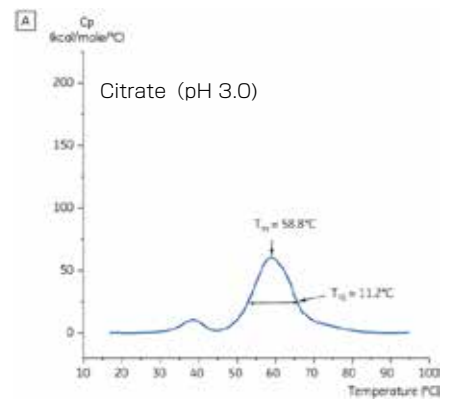


測定事例

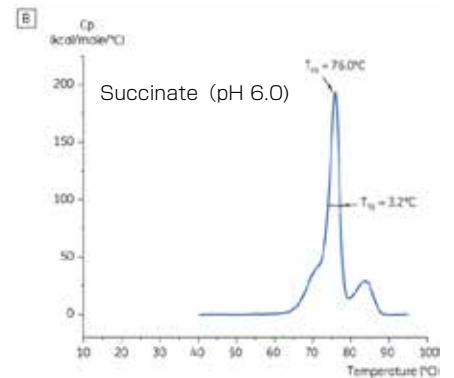
バイオ医薬品の処方条件の検討をDSCで行うことができます。異なる溶媒条件での T_m 値から、より安定性の高い条件を選びます。さらに、調整直後、及び1週間後の $T_{1/2}$ (転移ピークの高さの1/2の温度幅)から、熱転移の協同性を評価します。これらの情報を総括して、最適な処方条件を見出すことができます。



各種処方条件における T_m 値の比較

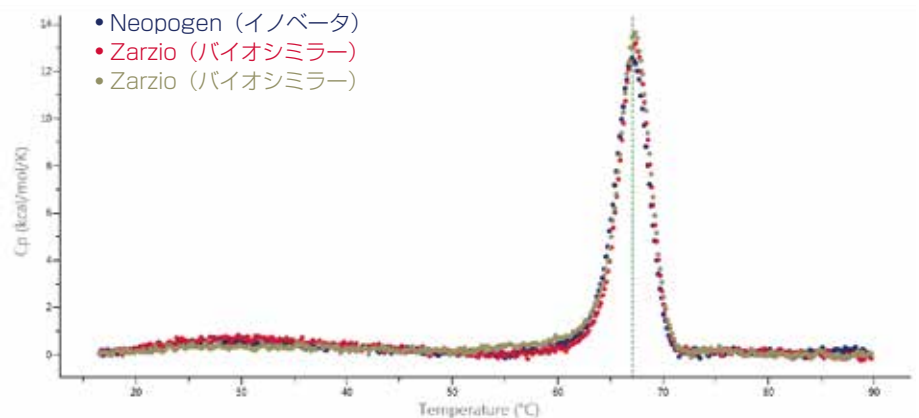


各種処方条件における調整直後および1週間後の $T_{1/2}$ 値の比較



測定事例

DSCの測定結果はバッチ間やバイオシミラーのイノベータに対する同等性評価に、フィンガープリントとして用いられています。



タンパク質およびその他の生体分子の相互作用を評価 等温滴定型カロリメーター MicroCal PEAQ-ITC

MicroCal PEAQ-ITCは、生体分子の相互作用を幅広く調べるために用いられます。溶液中における結合親和性と熱力学的パラメータをダイレクト、かつノンラベルで測定します。

POINT

- 溶液中の分子間相互作用をダイレクトに測定
- サンプルのラベル化、および固定化が不要
- 分子量の制限なし
- 解離定数 (K_D) と熱力学的パラメータ ($\Delta G, \Delta H, \Delta S$) の取得
- サンプル充填、セル洗浄など全機能を完全自動制御 (PEAQ-ITC Automated)



POINT

アプリケーション事例

- 溶液中の様々な分子の相互作用解析
 - タンパク質—タンパク質
 - タンパク質—低分子
 - 低分子—低分子
- 医薬品の設計デザイン
- Fragment Based Drug Discovery (FBDD)
- 酵素カインेटクス

タンパク質

核酸

低分子化合物

ワクチン

糖質

脂質

コロイド

界面活性剤

ポリマー

ITC(Isothermal Titration Calorimetry) 等温滴定型カロリメトリーとは?

ITCシステムの原理と概要

ITCは、二つの分子が相互作用するときに生じる熱変化を測定します。装置内部にはリファレンスセルと、サンプルセルがあります。サンプルセルに攪拌シリンジを挿入して、相互作用する分子（リガンド）を少量ずつ滴下すると発熱または吸熱が起こります。このときに生じるリファレンスセルとサンプルセルとの温度差を限りなくゼロにするために加えられたセルヒーターのディファレンシャルパワーを測定することにより、これらの熱変化をモニターします。

図1：ITCサーマルコア模式図

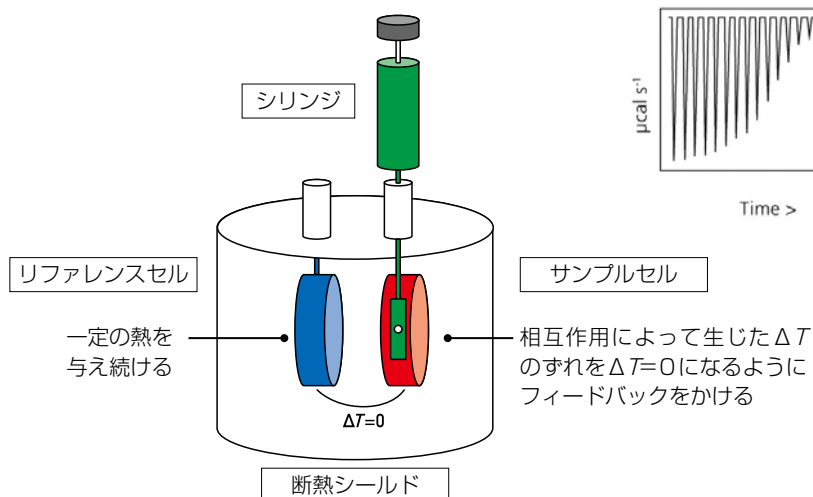
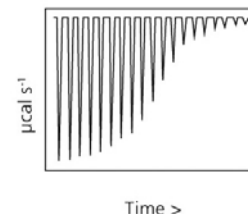


図2：典型的なITC測定データ



ITCで結合の種類がわかる

MicroCal ITCで得られるエンタルピー変化 (ΔH)、エントロピー変化 (ΔS) の情報から結合の種類を推測することができます。図4はITCで解析した3つの反応系を比較した棒グラフです。それぞれ、水素結合が多いパターン (A)、疎水結合が多いパターン (B)、結合ともなってタンパク質の構造が変化するパターン (C) を示しています。これら3つの反応系は自由エネルギー変化 (ΔG) が同じです。つまり、結合の強さが同じであることを示しています。しかし、 ΔH 、 ΔS に着目すると、それぞれパターンが違うことがわかります。これらのパターンの違いから、結合の種類を予測できます。 ΔH が有利な場合は、水素結合に代表される特異性の高い結合を呈すると予測できます。一方、 ΔS が有利な場合は、非特異的な結合である疎水性相互作用を生じやすいと予測できます。

図3：典型的なITC解析データ

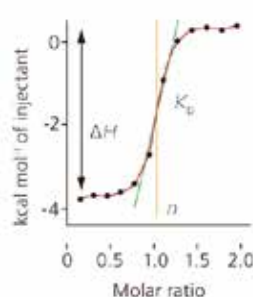
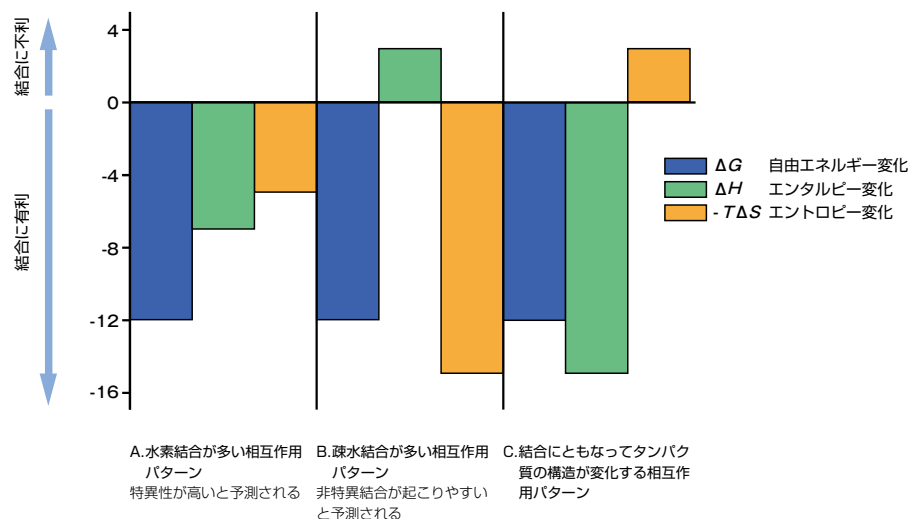


図4：MicroCalで得られる構造情報



洗練されたシステムとソフトウェアで さらに使いやすく、より信頼できるデータ

MicroCal PEAQ-ITC • PEAQ-ITC Automated

POINT

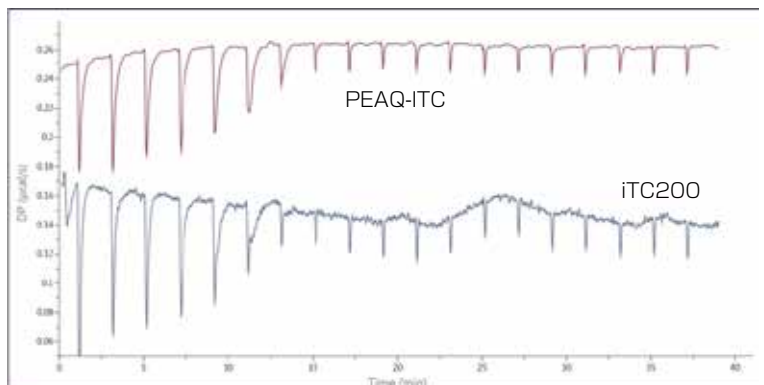
- 動画にしたがって誰でも簡単に測定が可能
- クオリティの高いデータの取得に重要な洗浄機能が向上
- シミュレーションによる実験デザイン・妥当性評価・最適化がより便利に
- 1ステップで完了するMicroCalオリジナルの解析ソフトウェア



POINT

クオリティの高いデータ

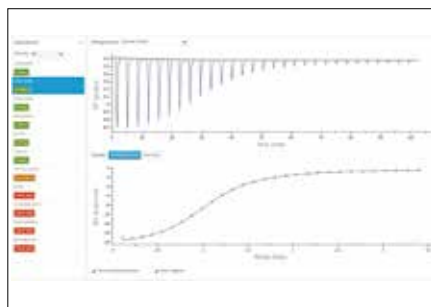
より向上したS/N比で、ハイクオリティなデータを取得



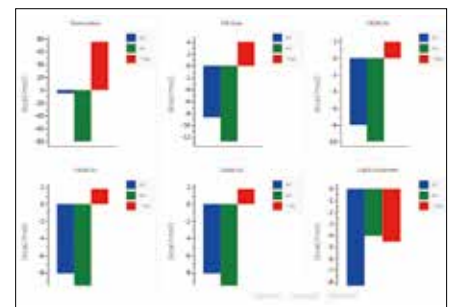
使いやすいソフトウェア



ソフトウェア内蔵の動画で全操作方法をサポート



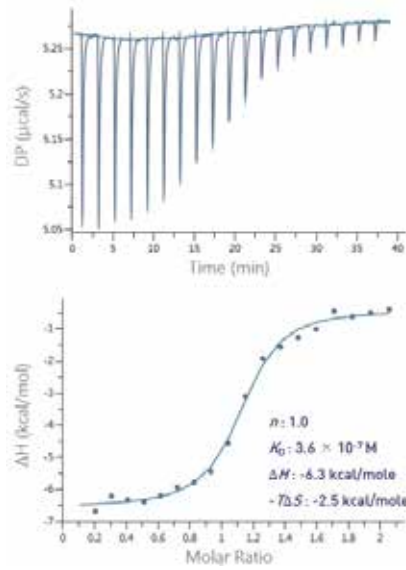
データを選んでAnalyzeボタンをクリックするだけで解析完了



直感的なデータ比較表示も自動で取得

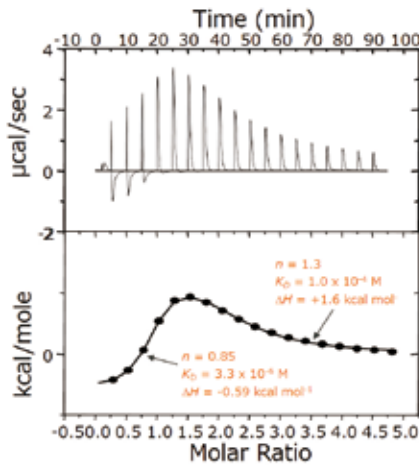
測定事例

タンパク質と低分子の1:1の相互作用をITCで測定しています。 n は結合比、 K_D は解離定数、 ΔH (エンタルピー変化)と ΔS (エントロピー変化)は熱力学的パラメータを表しています。



測定事例

タンパク質に異なる複数の結合サイトがあるような場合でも、ITCはそれぞれの結合部位に対するパラメータの定量が可能です。また、分子量の制限がありませんので、金属イオンのような小さい分子であっても測定が可能です。



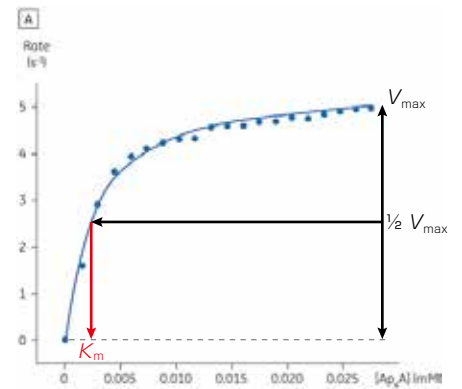
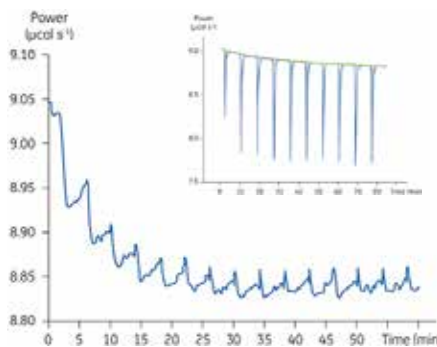
ヌクレアーゼとマンガンイオンの相互作用



Feng, et al, *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11, 450-456 (2004)

測定事例

ミカエリス・メンテンのメカニズムを有する酵素反応の K_m および K_{cat} をITCで求めることができます。一般的な酵素活性測定は標識試薬を用いることが多いですが、ITCでは標識が不要のため、溶液中でより自然に近い測定条件下で酵素反応をモニターできます。また、温度が制御された環境下で測定されるため、高い精度、および再現性を有しています。



Ap₄AヒドラーゼとAp₄Aの酵素反応測定

MicroCal PEAQ-DSC



MicroCal PEAQ-DSC



MicroCal PEAQ-DSC Automated

	PEAQ-DSC	PEAQ-DSC Automated
オートメーション化	可	—
サンプルセット数	1	288 (96ウェルプレート×6)
必要サンプル容量	250 μ l	325 μ l
セル容積	130 μ l	
サンプル処理能力	\leq 6サンプル / 8h*	\leq 50サンプル / day*
セル材質	タンタル	
セル形状	キャピラリー型	
ノイズレベル	0.05 μ cal/°C	
測定温度範囲	2~130 °C	
最大スキャン速度	240 °C/h	
使用電力量	70 W	70W(cell)/400W(オートサンプラー)
重量	8.2 kg	25 kg(オートサンプラー含む)
寸法 (W × H × D)	20 × 19 × 44 cm	101 × 70 × 68 cm

* 測定条件により処理できるサンプル数は異なります。

MicroCal シリーズのメンテナンスサービス

装置をより最適な状態でご利用いただくために、お客様にあったメンテナンスサービスをご用意しています。

- Platinum プラン
1年間の保守契約。出張料、作業料金、年1回の点検（定期交換部品を含む）、修理時の交換部品が含まれます。
- Gold プラン
1年間の保守契約。出張料、作業料金、年1回の点検（定期交換部品を含む）。ただし、修理時の交換部品は含まれません。
- PM (プリベンティブメンテナンス) プラン
1回限りの点検サービス。定期交換部品、出張料、作業料金を含みます。

※各プランの詳細に関しては、マルバーン・パナリティカルまでお問い合わせください。

MicroCal PEAQ-ITC



MicroCal PEAQ-ITC



MicroCal PEAQ-ITC Automated

	PEAQ-ITC	PEAQ-ITC Automated
オートメーション化	可	—
サンプルセット数	1	384 (96ウェルプレート×4)
必要サンプル容量	280 μ L	370 μ L
セル容積		200 μ L
滴定シリンジ容量		40 μ L
サンプル処理能力	8~12サンプル/8h*	最大42サンプル/day* (SIM使用時)
セル材質		ハステロイ
セル形状		コイン型
ノイズレベル		0.15 ncal/s
測定温度範囲		2 $^{\circ}$ C ~ 80 $^{\circ}$ C
使用電力量	130 W	400 W
重量	13.6 kg	91 kg (オートサンプラー含む)
寸法 (W × H × D)	43 × 38 × 46 cm	61 × 76 × 58 cm

* 測定条件により処理できるサンプル数は異なります。

長い歴史を支える確かな 信頼性あるサービスとサポート

電話1本で対応可能なヘルプデスクの設置、ユーザー研修の開催、ホームページから技術資料や測定事例、ウェブ上で行うウェブセミナーなど、装置ご購入前からご購入いただいた後まで、あらゆる面でお客をサポートいたします。

サービス・サポートのお問合せ
☎ 0120-57-17-14



カロリメーターマスターへの道

カロリメーターマスター



ITC、DSCの原理、使い方、測定のコツなど、マイクロカロリメーターの初心者の方が基礎から学んでいく様子をストーリー仕立てでご案内しています。経験者の方も読み返すことで知識の再確認にご活用いただいております。
(監修：元大阪府立大学客員研究員 深田先生)



お問い合わせ先

スペクトリス株式会社

マルバーン・パナリティカル事業部

〒105-5717 東京都港区赤坂
0120-57-17-14

東京事業所 〒105-0013 東京都港区浜松町1-7-3 第一ビル
TEL:03-5733-9511 FAX:03-6735-8974
ラボ併設

神戸事業所 〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町5-5-2
TEL:078-306-3806 FAX:078-306-3807
神戸国際ビジネスセンター北館511
ラボ併設

大阪営業所 〒532-0003 大阪市淀川区宮原3-5-24
TEL:06-6396-8501 FAX:06-6396-8505
新大阪第一生命ビル11F

福岡博多営業所 〒812-0016 福岡県福岡市博多区博多駅南1-11-27
TEL:092-473-3787 FAX:092-510-0536

福岡古賀営業所 〒811-3102 福岡県古賀市駅東2-8-12-203
TEL:092-943-1410 FAX:092-943-1420

外観および仕様は改良のため、予告なく変更することがありますのでご了承ください。

取扱店