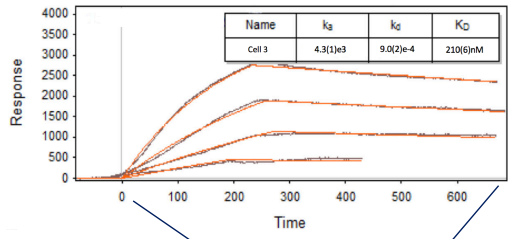
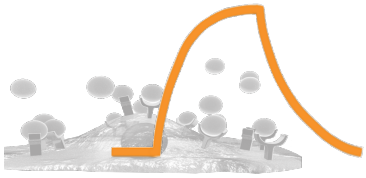
Biosensing Instrument

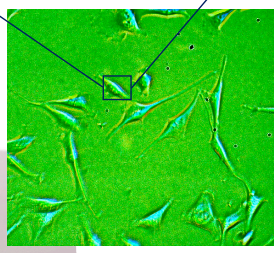
表面等离子体共振显微镜
免标记检测分析仪

SPRm 200 系列

表面等离子体共振和光学显微镜巧妙地结合
为研究细胞膜蛋白相互作用开辟一个崭新的前沿



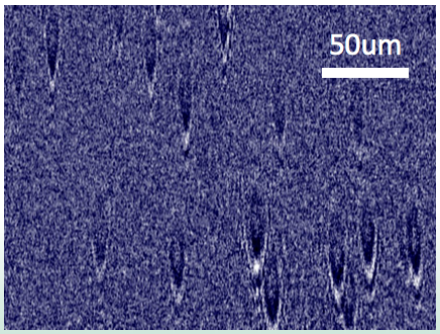




Multiple SH-P1 cells binding with WGA

- ✧ 活细胞上免标记生物分子结合过程的检测
- ✧ 实时结合力及动力学定量测量像图
- ✧ 光学和表面等离子体共振同时成像
- ✧ 药物分子对多细胞或单细胞作用的检测
- ✧ 纳米尺度上分子结合过程的跟踪检测

Binding activities of Nano materials (2um size)



SPRm200是世界上首台将表面等离子体共振技术和光学显微镜巧妙结合为一的生物传感检测仪。它为免标记研究分子相互作用的领域开辟一个崭新的前沿。专门针对细胞膜蛋白和相关分子免标记检测而设计的SPRm200仪器可帮助您在实时观察细胞结构的同时能够测量药物和靶点在细胞上的结合过程，并且可以在其自然状态下完成对药物和膜蛋白之间相互作用的测量。应而不在需要从细胞中提取和分离膜蛋白。依靠它出色的灵敏度和稳定性，SPRm200也能够测量纳米尺度的结合行为，可用于研究细菌或病毒与抗菌性药物的相互作用，以及发展纳米级颗粒药物递送的新方法。

集成光学显微镜与SPR技术

SPRm200把SPR技术和光学成像结合起来，能够把活细胞成像和对药物分子结合反应定位分布图像实时地表征出来。如图1所示，明视场聚光灯将生长于芯片表面的细胞照亮，在底部的照相机捕获活细胞的明视场。同时SPR光源沿共振角度投射光线到传感器芯片上，由SPRm200探测器捕捉反射光，并把在每一个像素点上的SPR响应信号记录下来构成SPR像图。

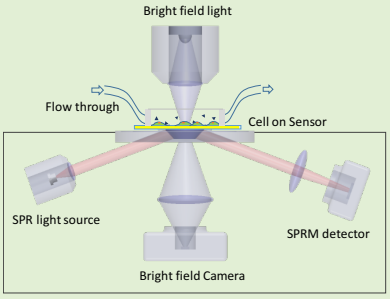


FIG.1

相比传统的SPR技术只能在整体传感区域内（通常称之为通道）测量平均共振角度的变化，SPRm200探测器能够测量局部像素点上的共振角度变化并且记录每一个像素点上的传感曲线图。如图2 就显示了SPRm200同时记录的明视场图和SPR像图以及图中任何一点或区域的传感曲线图。因此它能提供更多的局部信息，并且可以在自然状态下研究膜蛋白的非均相表面结合以及它们和药物之间的相互作用。

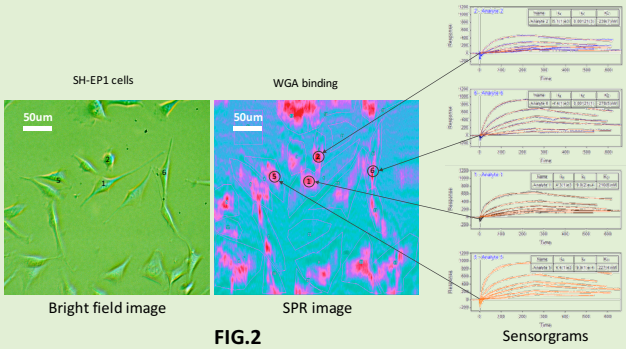
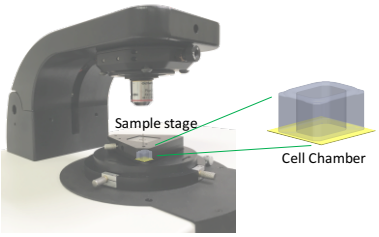


FIG.2

对神经瘤细胞与WGA结合的实时检测：明视场与SPR的同步图像，右边是选择点的SPR曲线图。

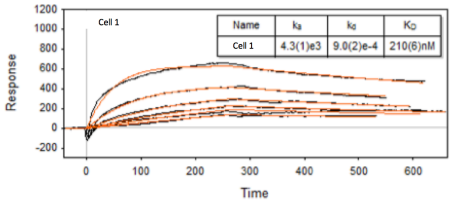
凝集素 – 糖蛋白相互作用

基本的细胞和治疗过程通常开始于配体与膜蛋白的结合，并且膜蛋白在其天然状态中的结合活性研究对于理解它们的生物学功能至关重要。 这里是研究糖蛋白（膜蛋白）和凝集素（配体）之间的特异性相互作用以及单个细胞膜上的受体的结合活性和空间分布的实例。



将神经瘤细胞SHEP1在芯片上的细胞室中被孵化，然后置于SPRM样品台上。 将PBS缓冲液在25℃以300ul/min的流速加入细胞室。将凝集素，80ug/ml的小麦胚芽凝集素（WGA），注入细胞室，然后用PBS缓冲液冲洗。 用不同的WGA浓度（5, 10, 40, 80, 100, 200ug/ml）重复对细胞的类似测量。 使用50mM GlcNAc 溶液来再生细胞表面上的膜糖蛋白受体。

如右图2所示在每个像素处记录传感曲线图，通过平均细胞图像内的像素点，可以使用一级结合动力学理论（参见下文）导出每个细胞的结合动力学参数。 这里的测量结果与以前发表的数据一致[4]。



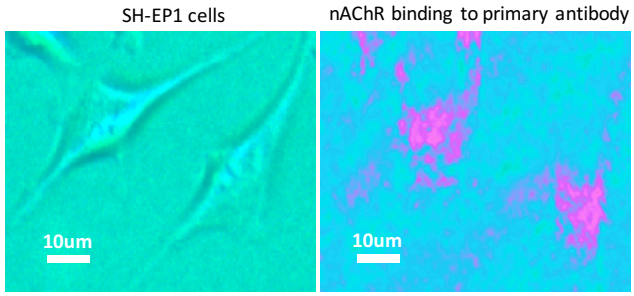
	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D
Reference[4]	5.2 e3	1.2 e-3	230 nM
SPRm 200 (average)	5.1 e3	1.2 e-3	216 nM

参考文献

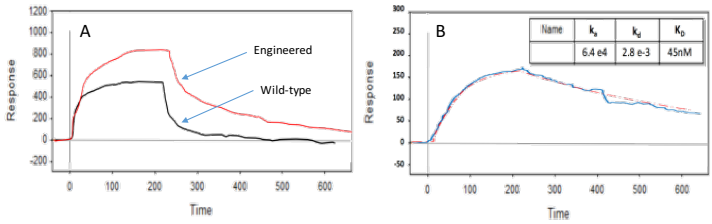
1. K Syal, R Iriya, Y Yang, H Yu, S Wang, S Haydel, HY Chen, NJ Tao, "Antimicrobial Susceptibility Test with Plasmonic Imaging and Tracking of Single Bacterial Motions on Nanometer Scale", ACS Nano, 10, 845-852, 2016
2. F Zhang, S Wang, L Yin, Y Yang, Y Guan, W Wang, H Xu, NJ Tao, “Quantification of Epidermal Growth Factor Receptor Expression Level and Binding Kinetics on Cell Surfaces by Surface Plasmon Resonance Imaging", Analytical Chemistry, 87(19), 9960-9965, 2015
3. W Wang, L Yin, L G-M, S Wang, X Yu, S Eaton, S Zhang, H Chen, J LaBaer, NJ Tao, “In situ drug-receptor binding kinetics in single cells: a quantitative label-free study of anti-tumor drug resistance”, Scientific reports, 4, 1-7, 2014
4. W Wang, Y Yang, S Wang, V Nagaraj, Q Liu, J Wu and NJ Tao, "Label-free measuring and mapping of binding kinetics of membrane proteins in single living cells", Nature Chemistry, 4, 846-853, 2012
5. Wang, Shaopeng, et al. "Label-free imaging, detection, and mass measurement of single viruses by surface plasmon resonance." Proceedings of the National Academy of Sciences 107.37 (2010): 16028-16032.

nACHRs 的结合行为的定位

nAChR膜受体在神经传递和尼古丁成瘾中起关键作用。确定它们在细胞中分布的常规方法基于荧光标记的二次抗体，其不提供直接的动力学并且易于发生假阳性。SPRm200直接测量第一抗体与不含第二抗体的nAChR的结合。该过程更加简单，克服了使用被标记的第二级抗体所带来的缺陷。



右上图中，SH-EP1工程化细胞在细胞膜上表达$\alpha_4\beta_2$受体，并结合初代抗体抗α_4（右图）。通过SPR 像图所显示的nAChR 同其初代抗体结合的分布（粉红色），可以明显看出这是一个非均相的表面结合。用SH-EP1野生型细胞来作为对照， 传感曲线右下图A显示了两种类型的细胞对 nAChR的反应具有显著差异。 如传感图B中所示，从SH-EP1工程化细胞反应减去野生型细胞反应（主要出于体积折射率效应）给出nAChR与其第一抗体的结合动力学，k_{on} = 6×10^4/Ms，k_{off} = 3×10^{-3}/s 和 K_D=45nM。



纳米颗粒检测

在纳米尺度上，由一个纳米颗粒所产生的SPR响应信号非常独特。就好像把一个小石子放在一个缓缓流动的浅溪中，水面上就会产生一个波纹图案（参考下图）。SPR光源按共振角度投射到传感器芯片上使其产生一个沿着金属膜表面传播的表面等离子体(SP)波，如图3所示。当一个纳米颗粒结合到芯片表面时，它便成为SP波的散射点，因而会在SPR像中产生波纹图案。其形状远远大于纳米颗粒的实际尺寸（100 倍以上）。这放大的波纹图案使得SPRm200能够检测到粒子尺度远小于其光学衍射的极限，通过对这个放大的波纹图案进行跟踪和测量，就能实现对分子在纳米尺度下的结合行为进行监测和研究。

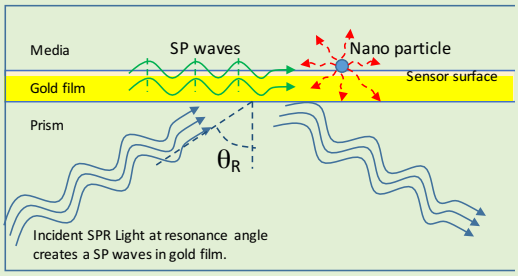
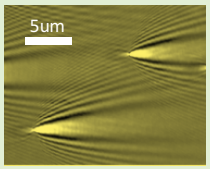


FIG.3

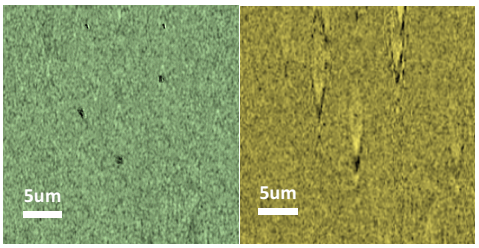


SPR image

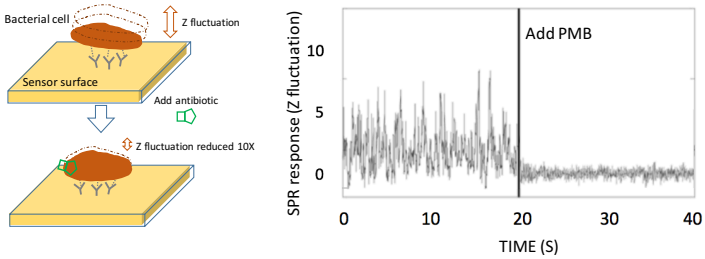
在SPR像中，这些波纹的产生以及其强度的变化为纳米颗粒和芯片表面或和溶液中其它分子的相互作用提供了非常丰富的信息[1，5]。

细菌和抗生素

活的大肠杆菌O157:H7 在LB肉汤培养基中通过抗体偶联被系在传感器芯片上。他们因散射芯片中的SP波而在SPR像上产生许多点波纹如下图右边所示。



虽然明视场的细菌细胞像（小黑点）稳定，SPR像中的点波纹强度有着显著的变化。通过监测这些波纹在纳米尺度下的强度波动，可为我们提供细菌细胞的新陈代谢的重要信息。当将500μg/mL的杀菌性抗生素多粘菌素B（PMB）加入细胞室时，细菌细胞的波动急剧减弱（下右图），从而表征细菌的死亡。



这个实验表明了SPRm200能对抗生素活动的实时无标记的检测，并且提供了一个快速，简单，和低成本的临床微生物学检测方法[1].

SPRm 200 系统主要参数一览表

工作站	光源	690 nm
	入射角	40-76 Deg (连续)
	检测灵敏度	< 0.6 RU RMS (0.1 mDeg RMS)
	漂移指数	3 RU/hr (0.5 mDeg/hr) (当周围环境漂移 < 1° C/hr)
	温控范围	15° C to 40° C (降温限止在低于室温10° C)
	视场	Bright Field: 1200 x 900 um SPR: 600 x 450 um
	放大率	Bright Field: x10 SPR: x20
	分辨率	Bright Field & SPR: 1 μm
	样品台平移/旋转	3mm x 3mm / 360 deg
	外围尺寸	690 (w) x 330 (h) x 340 (d) mm
	净重	23 kg
	电源	110-230 V 50/60 Hz
流体操作	样品容积	1 to 1500 μL (application dependent)
	动力学常数	k_a <1 X 10^7 $M^{-1}s^{-1}$ k_d >1 X 10^{-5} s^{-1}
	解离常数（亲和常数的倒数）	K_D = 10^{-3} M (1 mM) to 10^{-12} M (1 pM)
	最小可分析的分子量	200 Da
控制系统	计算机	微软Windows 操作系统
	软件	BI ImageSPR ™ 软件,包括数据分析和动力学分析包
自动进样器（可选）	试样容量	2 x SBS standards (384 /96) 2 x 48 Vials (1.5mL) 2 x 12 Vials (10mL)
	注射体积	0 mL to 9999 mL
	样品冷却	minimum: 4 °C +/- 2°C
	外围尺寸	300 (w) x 575 (h) x 360 (d) mm
	净重	21 kg

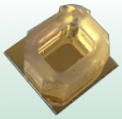
传感芯片和耗材

金膜传感芯片

高均一性金膜芯片确保SPR测量的一致性

SPRM细胞培养池

硅胶池固定在金膜芯片上用于细胞培养；包括用于处理传感器表面的化学药品以及配件。



请联系当地代理商

天津奥辛博科技有限责任公司
Tianjin Osborn Technologies Co.,Ltd.
地址：天津市南开区黄河道 487 号五和商厦四层
电话：022-27614897 传真：022-27622300
网址：www.hosn.com.cn