

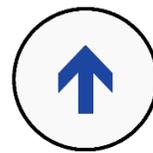
## **P4SPR**：新一代分子相互作用分析仪



非标记



4通道



便携式



稳定性

# 关于Affinité Instruments

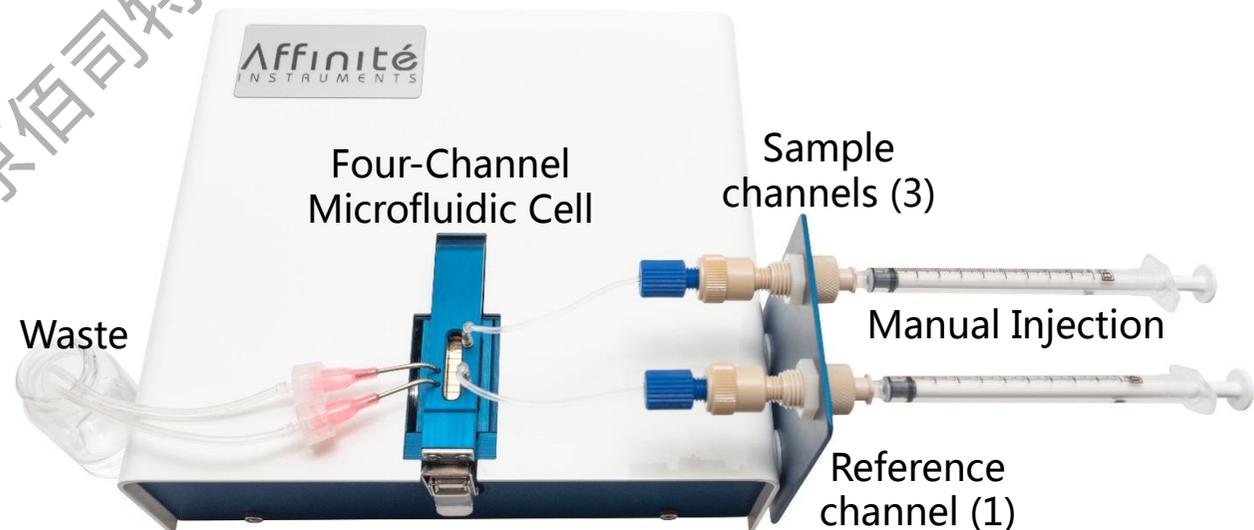


- Affinité Instruments 2015年由加拿大蒙特利尔大学知名教授Jean-François Masson创办。
- 基于Jean François Masson教授十数年在SPR领域积累的深厚经验，Affinité Instruments 成功开发并商业化基于SPR原理的新一代非标记分子相互作用分析仪P4SPR，助力基础研究和临床检验。
- Affinité Instruments 已掌握数项SPR检测技术相关专利: US 8680233, US 8860943, US 898235。

- Affinité Instruments与全球多所高校、研究机构和企业建立合作关系。



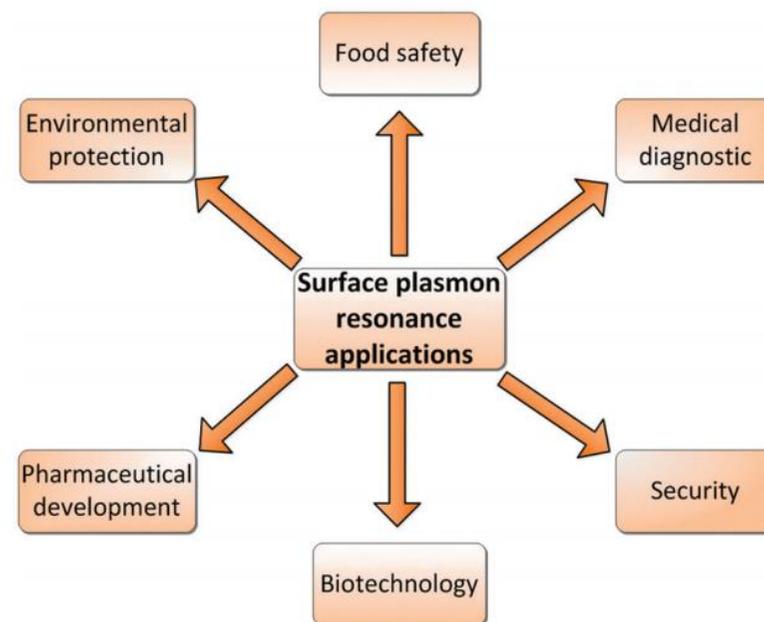
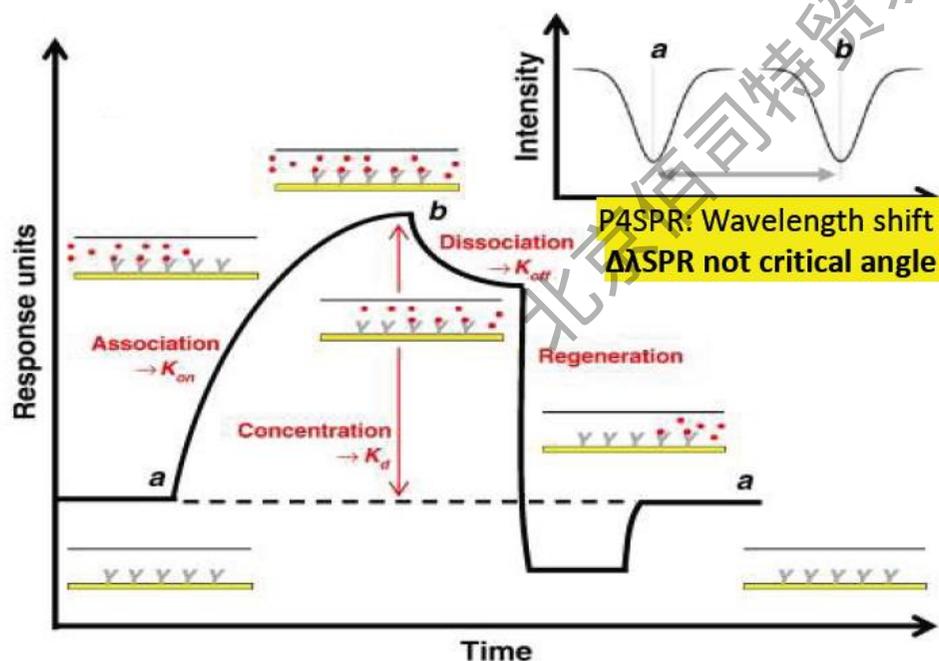
- ◆ 基于SPR原理，实时、无标记、检测相互作用
- ◆ 适用于小分子化合物、核酸、多肽、蛋白、抗体、脂类、多糖、纳米颗粒、病毒、微生物、细胞等各种类型样品
- ◆ 10分钟内完成测试，获得特异性、亲和力、动力学、浓度等数据
- ◆ 可检测各种在复杂溶液之中完成测量，比如血液、牛奶、细胞裂解液等
- ◆ 4通道同时检测，实时扣除背景，获得可信数据
- ◆ 可手动进样或者进样泵，操作简单，无需维护
- ◆ 可与其它仪器（HPLC,MS等）联合使用
- ◆ 价格适中，单个实验室即可负担
- ◆ 仪器小巧，易于携带
- ◆ 仪器稳定、可用于户外环境现场检测



# 表面等离子共振SPR

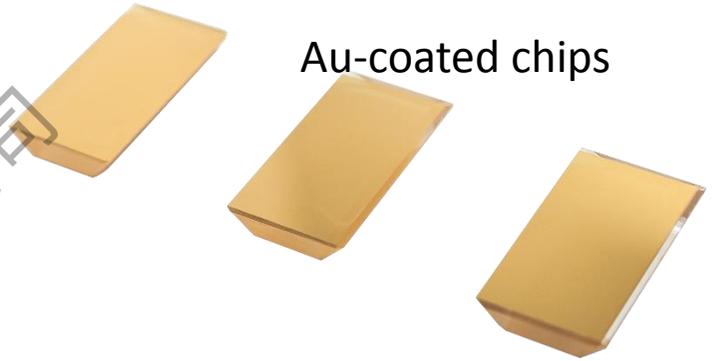
表面等离子共振 ( SPR ) 技术是目前最经典和精确的分子相互作用检测技术，已有30年的应用历史，可快捷的实时分析DNA与蛋白质之间、蛋白质与蛋白质之间、药物与蛋白质之间、核酸与核酸之间、抗原与抗体之间、受体与配体之间等等生物分子之间的相互作用。SPR在生命科学、医疗检测、药物筛选、食品检测、环境监测、毒品检测以及法医鉴定等领域具有广泛的应用需求。

- ◆ 检测两个蛋白质的相互结合性，其中一个蛋白质要用化学方法固定在芯片表面上。
- ◆ 另一个蛋白质从流体单元里接近表面上的蛋白质。
- ◆ 相互结合性在实时过程包括：结合、解离和表面再生 ( surface regeneration ) 。



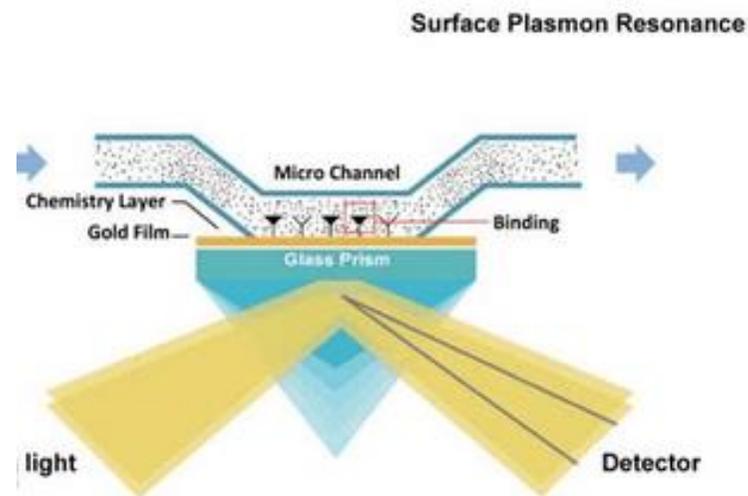
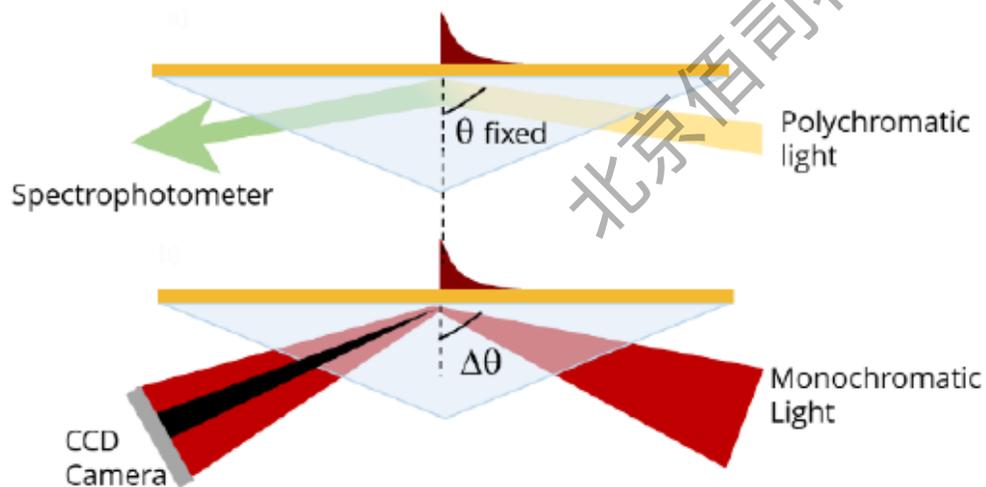
表面等离子共振仪核心部件包括光学系统、传感器芯片、液体处理系统三个主要部分。

- ◆ 光学系统：能够产生和测量SPR信号的光电组分称为光学检测单元。
- ◆ 微流液体系统：稳定流速的液体流过传感芯片表面 + 进样装置中的样品传送。
- ◆ 传感器芯片：传感器的芯片是其最为核心的部件。首先有一个生物分子偶联在传感芯片上，然后用它去捕获可与之进行特异反应的生物分子。
  - 胺基偶联固定（COOH芯片）：由于胺基基团的普遍性，所以通过胺基偶联固定配体适用于绝大部分的生物分子。到目前我们发现这种方法将配体随机固定，通常得到高质量的结果。最常用的方法是使用NHS和EDC含水混合物活化羧基产生胺基活性脂。
  - 亲和力捕获表面组氨酸标签蛋白（NTA-Ni芯片）：直接固定His-tagged蛋白，也适用于带有足够数量的组氨酸残基的蛋白。靶蛋白的组氨酸的侧链咪唑与表面附着的NTA-Ni复合物共协作，典型的组氨酸标签是6个组氨酸，但是3个也可以。在温和的条件，可以使用EDTA或者咪唑再生芯片。
  - 亲和素-生物素固定（BioCap和AvCap芯片）：通过亲和素-生物素为基础的方法固定生物分子，操作简单、不依赖于蛋白质的等电点、只需要少量配体、固定只需要简单的注射、当所需的Rmax达到时停止注射可以精确的控制固定结合物的浓度、一个生物素反应通常产生足够产物，可以无限量的固定。

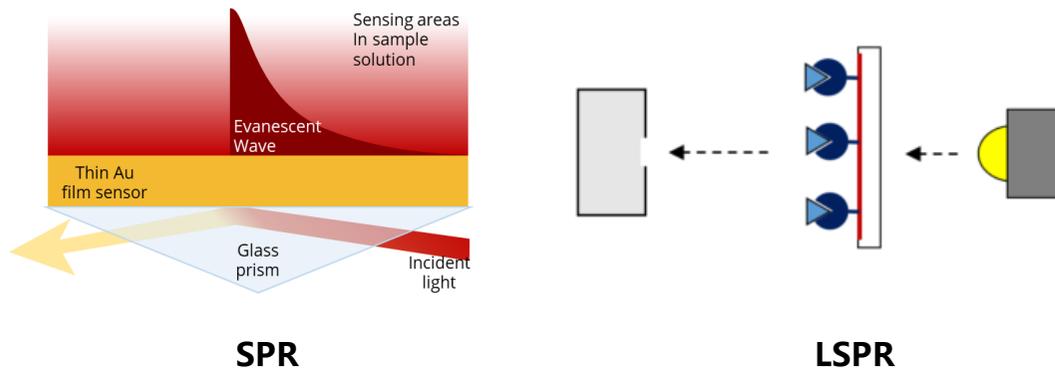


# 表面等离子共振SPR

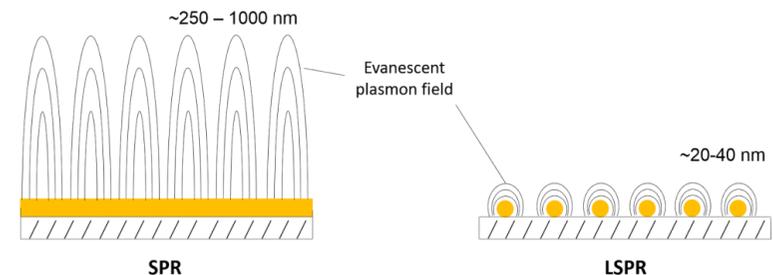
- ◆ 典型的SPR传感器由覆盖在玻璃棱镜表面的金薄膜构成。SPR效应是由玻璃棱镜中的入射光和金薄膜的自由电子之间的耦合引起的，自由电子的振荡（称为消逝波）穿透约250-1000 nm进入样品溶液，并沿传感器平面传播几微米，从而产生SPR传感器的敏感探测区域。
- ◆ SPR信号的特点在于自由电子吸收光能量，从而使反射光强在一定角度时大大减弱，当反射光完全消失时候的角度就是SPR角。SPR角随金表面折射率变化而变化，而折射率的变化又与金表面结合的分子质量成正比。因此，样品溶液中的结合事件会引起反射光谱的变化。
- ◆ SPR的原理就是：生物分子间的结合引起芯片表面质量的增加，导致折射指数按同样比例的变化，生物分子间反应即可被检测到。
- ◆ 入射光可分为角度扫描和波长扫描两类。



# SPR VS. LSPR



- ◆ SPR传感器的敏感探测区域为250-1000 nm，远远大于LSPR的20-40 nm。更大的探测区域意味着更大的适用范围，例如大蛋白复合物或复杂的夹心测定试验。
  - ◆ 综上所述，金薄膜SPR传感器具有更高的灵敏度和更大的适用范围，纳米颗粒SPR传感器的优势在于造价相对较低。
- ◆ 除了金薄膜SPR传感器之外，还有一类纳米颗粒SPR传感器，发生在纳米颗粒中的SPR现象被称为局域SPR ( LSPR )。
  - ◆ SPR检测中，入射光在金薄膜表面发生反射，不与样品交叉，即使是血液、细胞粗提液等复杂样本也不会影响检测。LSPR检测中，入射光需要穿过样品透射进入检测器，复杂样本会严重影响光的透射，导致无法检测。
  - ◆ 薄金属膜沉积工艺已经非常成熟，可以达到非常高的一致性，绝大多数商业SPR设备都使用金薄膜传感器。纳米粒子的形状，尺寸和间距很难做到均一，影响了检测的精度。



# P4SPR应用领域



无标记检测

## 生物学

迅速确定潜在的结合分子



### 应用

- 验证结合
- 亲和力
- 动力学
- 浓度测定



兼容各种复杂溶液

## 传感器

迅速开发检测方法



### 应用

- 环境毒物检测
- 检测方法开发
- 质量控制
- 药物监控



生物分子互作

## 材料学

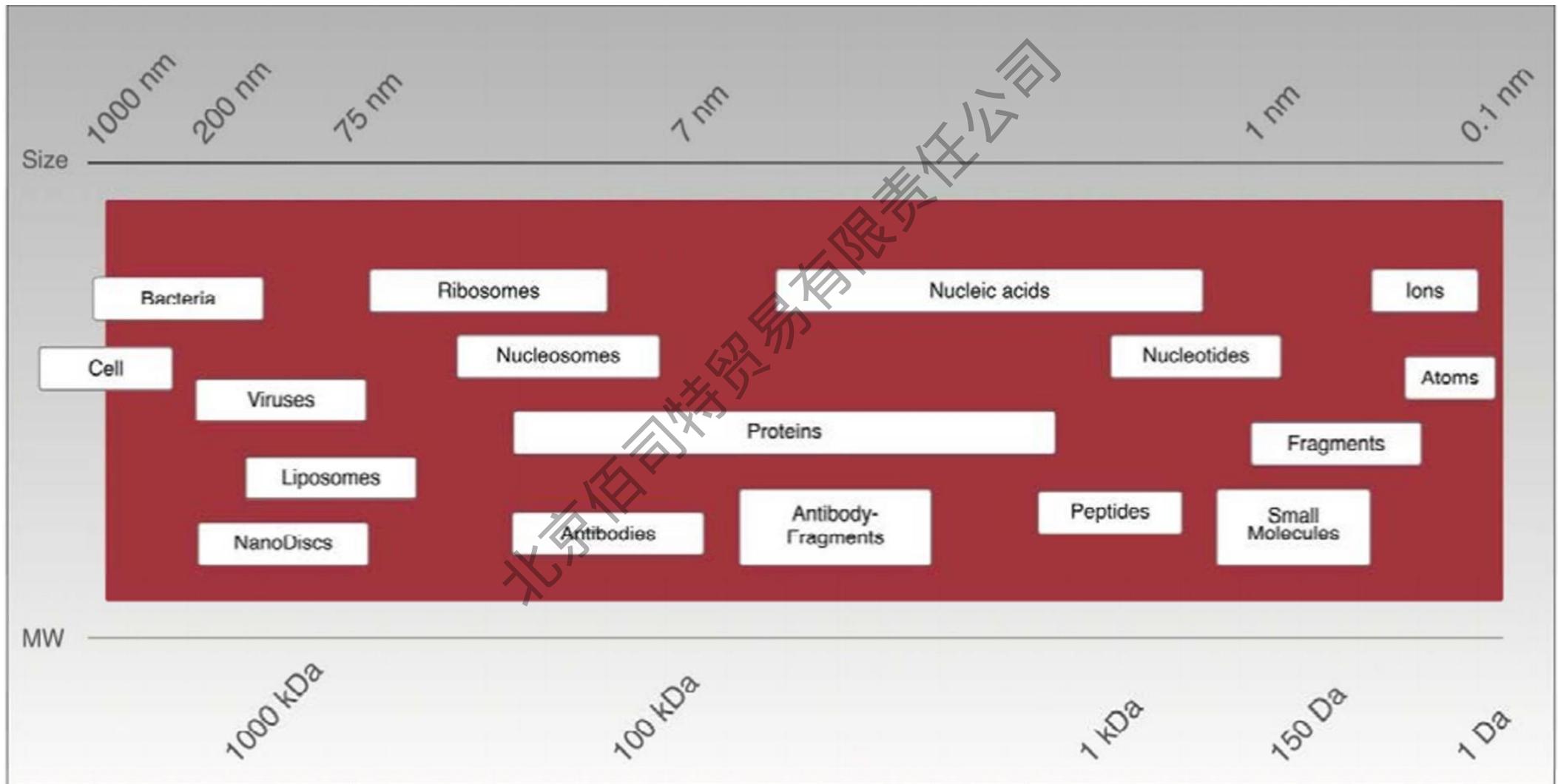
扩展SPR应用，简化分析方法



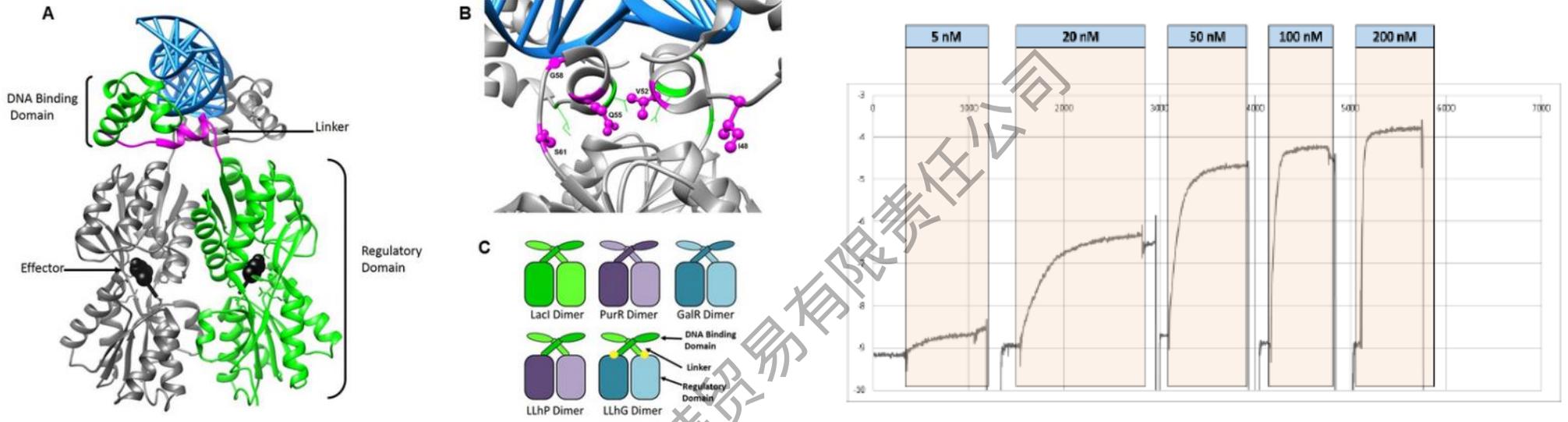
### 应用

- 纳米材料
- SAMs
- 聚合物
- 等离子体材料

# P4SPR应用范围



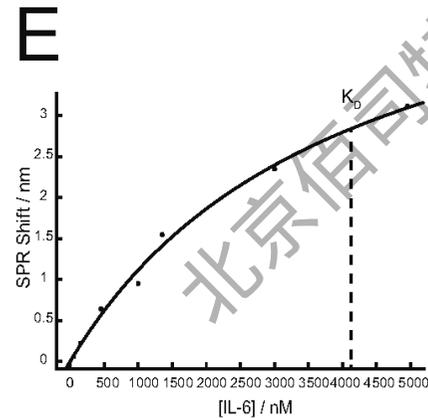
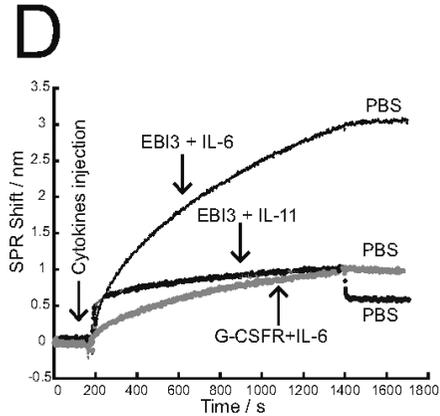
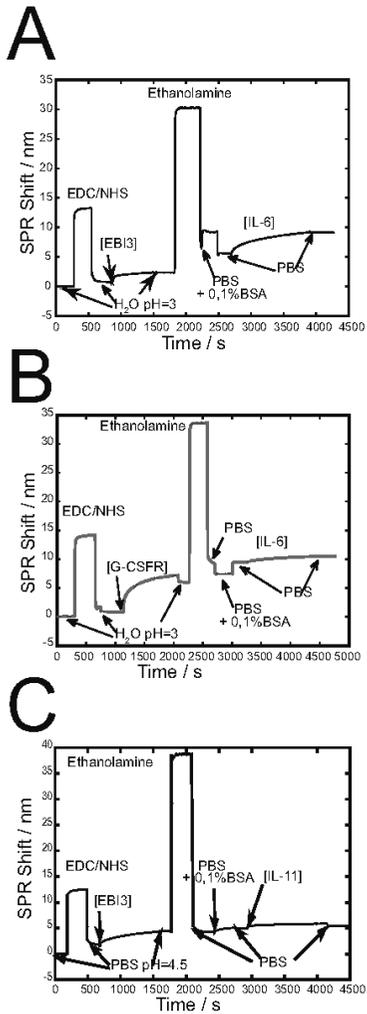
# P4SPR应用案例---蛋白与核酸结合



- 乳糖操纵子 (LacO) 是存在于大肠杆菌基因组中的一段DNA序列，负责调控大肠杆菌中的乳糖代谢。DNA结合蛋白 (LacI) 是控制乳糖操纵子的关键乳糖阻遏物。
- 硫醇化的LacO DNA固定到金薄膜芯片上，依次注入不同浓度 (5,20,50,100和200 nM) 的LacI蛋白，获得结合曲线，计算得到亲和力为 $6.4 \pm 1.2$  nM。符合基于LacI的转录抑制蛋白的文献报道值。
- P4SPR成功地展出乳糖操纵子DNA与其阻遏蛋白的结合相互作用；P4SPR系统也可考察其他生物系统，如DNA-DNA，RNA以及适体对，可以帮助科研人员更好地了解结合并揭示生物通路中的功能。

# P4SPR应用案例---蛋白与蛋白结合

JBC ARTICLE



## Epstein-Barr virus-induced gene 3 (EBI3) can mediate IL-6 *trans*-signaling

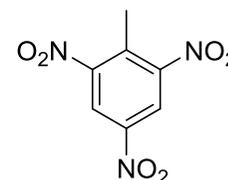
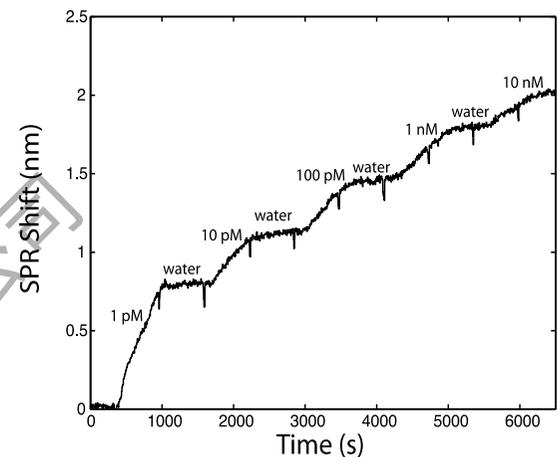
Received for publication, October 19, 2016, and in revised form, February 6, 2017. Published, Papers in Press, March 9, 2017, DOI 10.1074/jbc.M116.762021

Salma Chehboun<sup>†</sup>, Jérémie Labrecque-Carboneau<sup>§</sup>, Sarah Pasquin<sup>‡</sup>, Yasmine Mellani<sup>‡</sup>, Bouchra Meddah<sup>§</sup>, Walter Ferlin<sup>||</sup>, Mukut Sharma<sup>\*\*</sup>, Aurélie Tormo<sup>‡</sup>, Jean-François Masson<sup>§</sup>, and Jean-François Gauchat<sup>†1</sup>

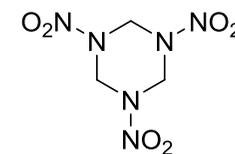
From the <sup>†</sup>Départements de <sup>‡</sup>Pharmacologie and <sup>§</sup>Chimie, Université de Montréal, Montréal, Québec H3T 1J4, Canada, the <sup>||</sup>Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine and Pharmacy, University Mohammed V, Rabat, Morocco, <sup>||</sup>NovImmune, 1228-Plan-les-Ormes, Switzerland, and the <sup>\*\*</sup>Research Service, Kansas City Veterans Affairs Medical Center and Midwest Biomedical Research Foundation, Kansas City, Missouri 64128-2226

- EB病毒诱导基因3 (EBI3) 是复合细胞因子IL-27和IL-35的组成部分之一。EBI3 基因编码表达一个34 kDa的可溶蛋白，通过介导IL-6的trans-signaling功能发挥作用。
- EBI3可以与IL-6发生直接相互作用。
- 将EBI3固化到金薄膜芯片上，注入IL-6蛋白时，检测到了3.5 nm的SPR信号变化；注入IL-11对照蛋白时，仅检测到0.8 nm的背景SPR信号变化。由此证明EBI3蛋白与IL-6蛋白可以发生直接相互作用。
- 通过注入不同浓度的IL-6蛋白，获得EBI3和IL-6结合曲线，测出亲和力为4.1  $\mu$ M。

# P4SPR应用案例---环境检测



TNT



RDX

- RDX是一种军用高能炸药，在军事设施和试验场附近会存在RDX残留，对附近水源造成污染。因此需要开发一种简单、快速检测RDX污染的方法。传统基于HPLC的检测方法需要使用复杂的仪器设备，无法做到现场即时检测。
- P4SPR可以检测出浓度低至1 pM的RDX污染，达到了与HPLC相同的检测灵敏度。
- P4SPR体积轻巧，可随身携带，可以使用USB供电，非常适合各种条件下的现场环境检测。

## ARTICLE

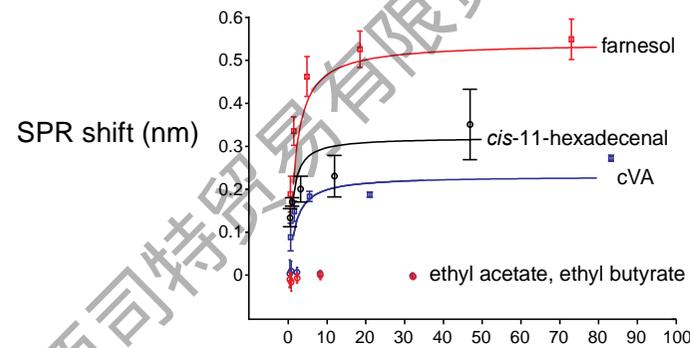
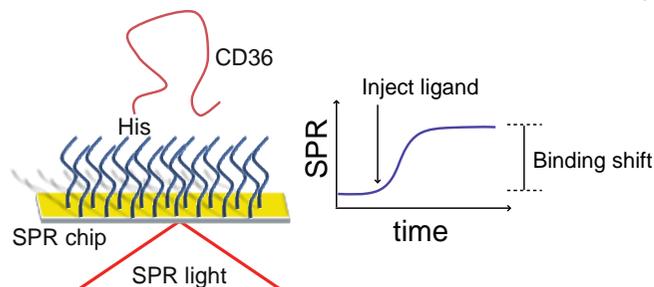
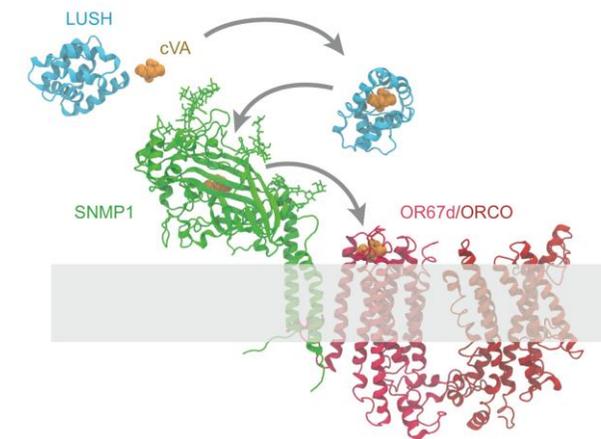
Received 3 Mar 2016 | Accepted 7 May 2016 | Published 15 Jun 2016

DOI: 10.1038/ncomms11866

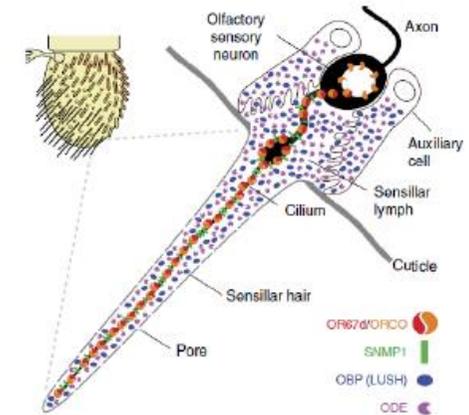
OPEN

## A CD36 ectodomain mediates insect pheromone detection via a putative tunnelling mechanism

Carolina Gomez-Diaz<sup>1,†</sup>, Benoîte Bargeton<sup>1,\*</sup>, Liliane Abuin<sup>1,\*</sup>, Natalia Bukar<sup>2,3</sup>, Jaime H. Reina<sup>1</sup>, Tudor Bartoi<sup>4</sup>, Marion Graf<sup>1</sup>, Huy Ong<sup>5</sup>, Maximilian H. Ulbrich<sup>4,6</sup>, Jean-Francois Masson<sup>2,3</sup> & Richard Benton<sup>1</sup>



Ligand	$K_d$ ( $\mu\text{M}$ )	$\Delta\lambda_{\text{SPR,max}}$ (nm)	Concentration range ( $\mu\text{M}$ )
cVA	0.64	0.23	0.33 – 84
Farnesol	0.64	0.54	0.29 – 73
(Z)-11-hexadecenal	0.79	0.32	0.18 – 47
Limonene	20	0.71	5.4 – 1372
Bombykol	106	0.62	15 – 3859
Ethyl acetate	No response	No response	0.12 – 128
Isoamyl acetate	No response	No response	0.32 – 327
Hexyl acetate	No response	No response	0.27 – 273
Ethyl butyrate	No response	No response	0.12 – 128



- CD36跨膜蛋白胞外区可以直接结合信息素小分子。
- 信息素是一类分子量在100-500 Da之间的小分子化合物。
- CD36胞外区蛋白通过His Tag固定到SPR芯片上，注入不同的信息素分子即可测定两者的亲和力。
- 使用一张SPR芯片测定了9种不同的信息素分子，获得了从0.64-106  $\mu\text{M}$ 的不同亲和力数据。

# 主要技术参数

P4SPR	
检测原理	实时无标记表面等离子共振 ( SPR )
光源及探测器	波长扫描多色LED光源 ; 550-750 nm探测器
传感器	高均一金薄膜传感器
折射率范围	1.333 - 1.390 RIU
结合速率 ( Ka )	$10^3 - 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$
解离速率 ( Kd )	$10^{-6} - 10^{-1} \text{ s}^{-1}$
亲和力	pM - mM
检测通道	4通道 : 3+1 ; 1X4
样品体积	10 - 200 $\mu\text{L}$
进样方式	手动进样或蠕动泵进样
检测时间	10分钟
软件	LabVIEW , 可输出兼容TraceDrawer , Origin , MatLab , Excel的原始数据
硬件参数	尺寸 $\leq 175 \times 155 \times 55 \text{ mm}$ , 重量 < 1.3 Kg

- Title Journal Journal details Year Area Document Column Hybridization conditions of oligonucleotidecapped gold nanoparticles for SPR sensing of microRNA. **Biosensors and Bioelectronics**, 2018 Volume 109, Pages 230Z236
- Tracking silent hypersensitivity reactions to asparaginase during leukemia therapy using single-chip indirect plasmonic and fluorescence immunosensing. **ACS Sensors**. 2017 2A12B{1761Z1766.
- Gomez-Diaz C, Bargeton B, Abuin L, Bukar N, Reina JH, Bartoi T, Graf M, Ong H, Ulbrich MH, Masson JF, Benton R. A CD36 ectodomain mediates insect pheromone detection via a putative tunnelling mechanism. **Nat Commun**. 2016 Jun 15;7:11866.
- Chehboun S, Labrecque-Carbonneau J, Pasquin S, Meliani Y, Meddah B, Ferlin W, Sharma M, Tormo A, Masson JF, Gauchat JF. Epstein-Barr virus-induced gene 3 (EBI3) can mediate IL-6 trans-signaling. **J Biol Chem**. 2017 Apr 21;292(16):6644-6656.
- Brulé T, Granger G, Bukar N, Deschênes-Rancourt C, Havard T, Schmitzer AR, Martel R, Masson JF. A field-deployed surface plasmon resonance (SPR) sensor for RDX quantification in environmental waters. **Analyst**. 2017 Jun 21;142(12):2161-2168.
- Aubé A, Campbell S, Schmitzer AR, Claing A, Masson JF. Correction: Ultra-low fouling alkyylimidazolium modified surfaces for the detection of HER2 in breast cancer cell lysates. **Analyst**. 2017 Aug 7;142(16):3011.
- Charbonneau DM, Aubé A, Rachel NM, Guerrero V, Delorme K, Breault-Turcot J, Masson JF, Pelletier JN. Development of Escherichia coli Asparaginase II for Immunosensing: A Trade-Off between Receptor Density and Sensing Efficiency. **ACS Omega**. 2017 May 31;2(5):2114-2125.
- McKeating KS, Aubé A, Masson JF. Biosensors and nano biosensors for therapeutic drug and response monitoring. **Analyst**. 2016 Jan 21;141(2):429-49.
- Yockell-Lelièvre H, Bukar N, McKeating KS, Arnaud M, Cosin P, Guo Y, Dupret-Carruel J, Mouglin B, Masson JF. Plasmonic sensors for the competitive detection of testosterone. **Analyst**. 2015 Aug 7;140(15):5105-11.
- Zhao SS, Bukar N, Toulouse JL, Pelechacz D, Robitaille R, Pelletier JN, Masson JF. Miniature multi-channel SPR instrument for methotrexate monitoring in clinical samples. **Biosens Bioelectron**. 2015 Feb 15;64:664-70.
- .....

# 同类产品对比

