

细胞原位分子互作 动态分析系统



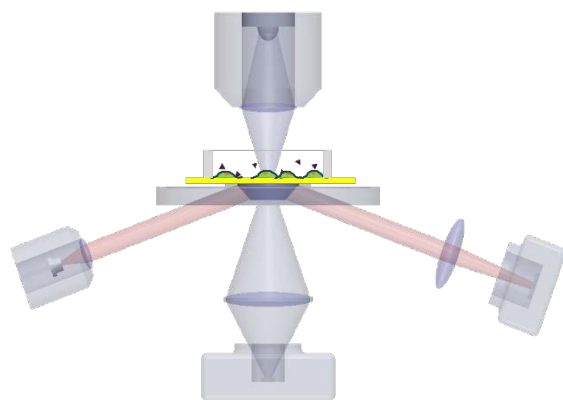
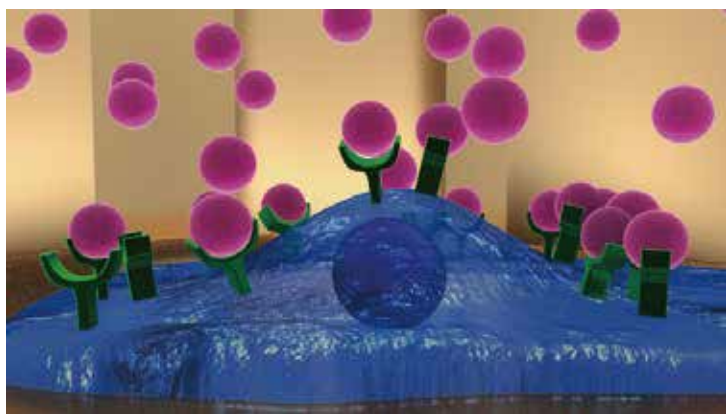
SPRm 200 Technology



无标记
实时定量
亲和力测定
动力学分析
同步于SPR测量的光学成像
药物对多细胞或单细胞作用的研究
细菌或病毒与抗性药物相互作用的纳米级别观察

SPRm 200系统

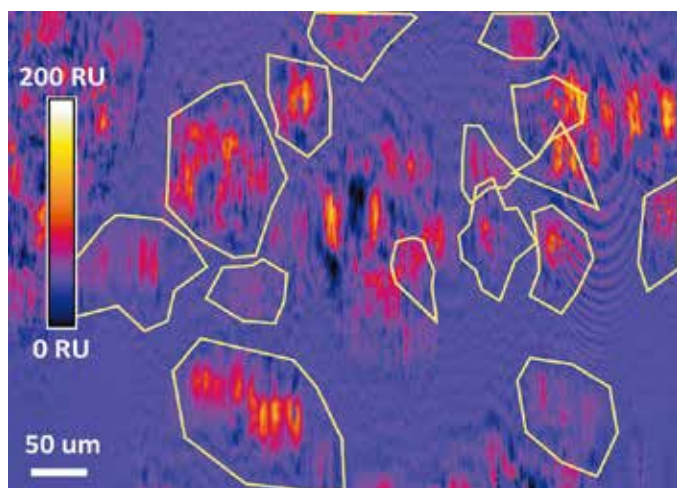
SPRm 200系统将光学显微镜与分子互作技术相结合，专为观察和测量细胞膜表面蛋白和其他目标分子结合亲和力及动力学常数，为分子相互作用的研究开辟了新的前沿。SPRm 200无需对观察目标进行标记，可以实时定量的进行检测。可同时可视化观察细胞结构和局部结合活性。无需提取细胞膜蛋白，即可在正常活细胞状态下观察和测量药物和膜蛋白的实时相互作用。探测器测量每个像素的SPR响应，并将其映射到SPR图像中。在每个像素处，记录一个传感图，从而提供更多的局部信息。SPRM使在自然条件下研究细胞表面膜蛋白与其他目标分子结合和相互作用成为可能。SPRm 200凭借其卓越的灵敏度和稳定性，还可测量细菌和病毒相互作用的结合活性，同时可用于开发输送纳米药物的新方法。



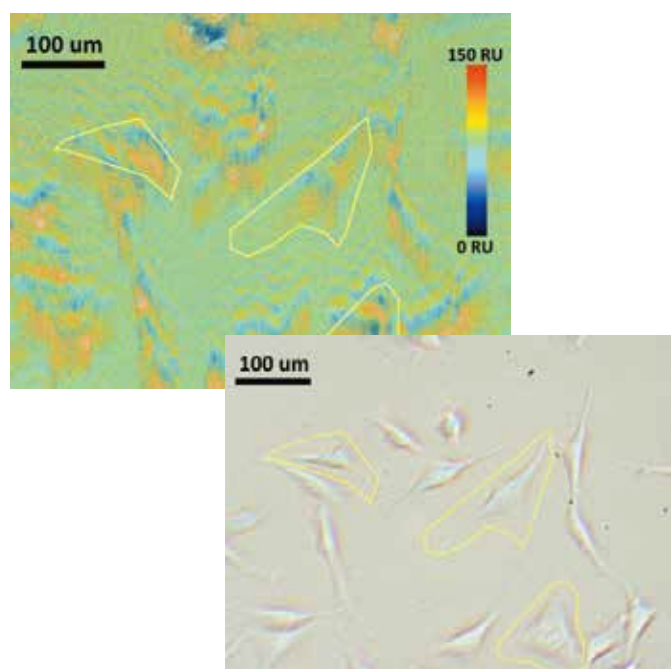
产品特点

无标记膜蛋白分子相互作用动力学检测

光学显微镜与高分辨率表面等离子共振检测器同时成像，可用于自然环境下，单细胞或多细胞表面蛋白受体与药物分子相互作用的筛选与分析。



肺癌A549细胞与8kDa多肽结合的SPR密度图

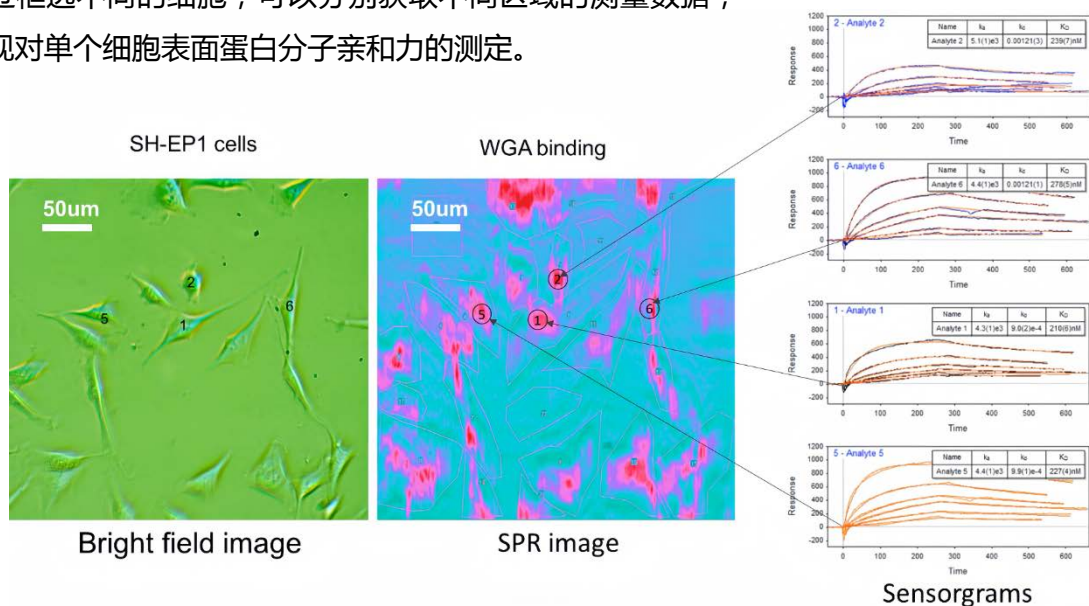


多个SH-EP1细胞表面受体与麦胚凝集素(WGA)相互作用的SPR密度图，右下角为实时光学显微镜成像。

实时&定量

同步实时SPR与光学成像、亲和力测定、动力学常数分析

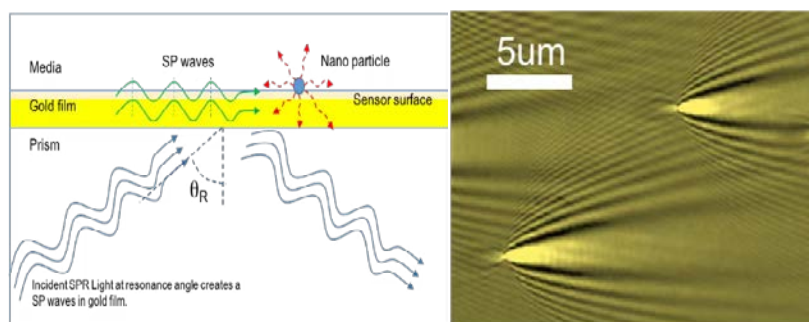
通过框选不同的细胞，可以分别获取不同区域的测量数据，实现对单个细胞表面蛋白分子亲和力的测定。



SH-EP1细胞与无标记的糖蛋白受体结合的明场成像（左图）和SPR（中图）同时成像及选定区域的传感图（右图）。

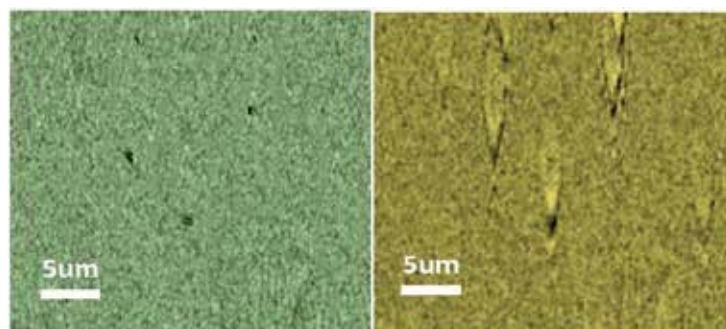
纳米粒子检测

仪器将光以共振角投射到传感器上，沿金属膜表面产生可传播的表面等离子体波。当纳米颗粒与传感器表面待检物结合时，它在SPR波中充当散射中心，形成印记图案，印记比实际大小高出100倍。这种放大的印记能够检测到小于光学衍射极限的颗粒，通过测量和绘制这些印记，可以监测和研究纳米级别尺度的结合活性。SPR图像中印记图案的出现和强度变化提供了关于传感器表面待检物与纳米颗粒之间的亲和力，以及待检物与介质中的其他分子的相互作用的丰富信息。



细菌和抗生素

由细菌细胞纳米运动引起的波动可以对细胞代谢进行深入研究。当将抗生素（PMB）添加到细胞SPR分析池中，细菌细胞的波动急剧减少，从而提示PMB与细胞膜蛋白结合的效用并对其结合的亲和力进行测定。

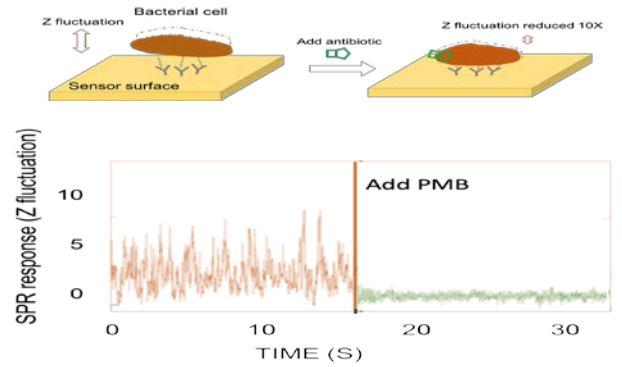


明场成像

SPR成像

应用研究方向

1. 小分子药物 (>200Da) 与单细胞或多细胞结合的筛选与分析
2. 细胞精度统计学分布分析, 研究细胞异质性差异
3. 抗体药物与单细胞或多细胞结合的筛选
4. 细菌或病毒与抗菌性药物的相互作用
5. 其他分子细胞/活细胞层面原位研究



应用案例

小分子药物

常用药物中, 小分子药物可占总量98%, 小分子药物通常是信号传导抑制剂, 它能够针对性地阻断肿瘤生长、增殖过程中所必需的信号传导通路, 从而达到治疗的目的。

1. 小分子药物与HEK 293细胞GPR39受体相互作用

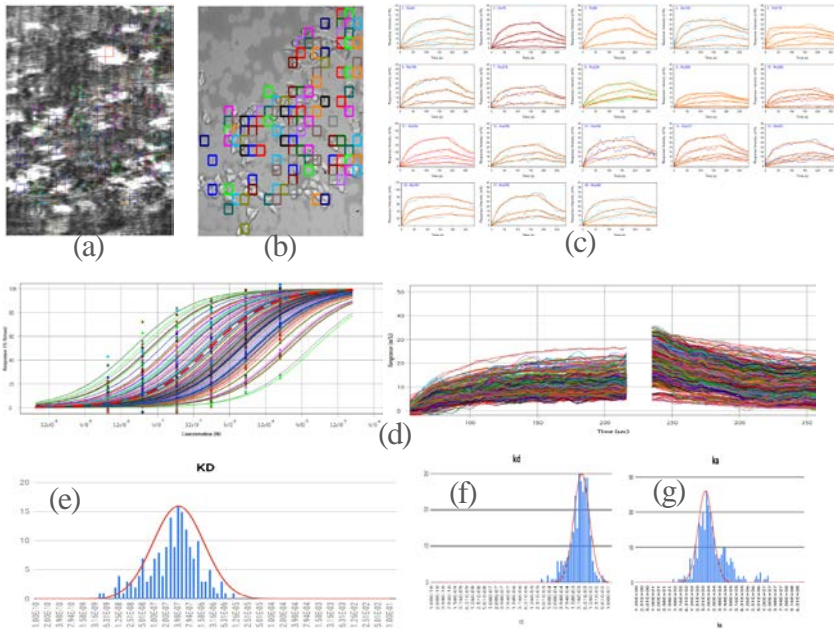


图 (a) SPR成像: 明暗反映不同细胞、不同区域的SPR响应信号的强弱。图 (b) 明场成像: 可以观察到不同的细胞, 根据观察结果选择选区。图 (c) 多个ROI选区: 每个区域的SPR信号曲线, 图 (e、f、g) 分别为多个ROI选区, 亲和力常数/解离常数/结合常数的统计分布:

$$K_D=413\text{nM};$$

$$k_d=4.27e^{-3}\text{s}^{-1};$$

$$k_a=6.92\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$$

2. 小分子药物与细胞ASIC 酸敏感离子通道受体相互作用研究

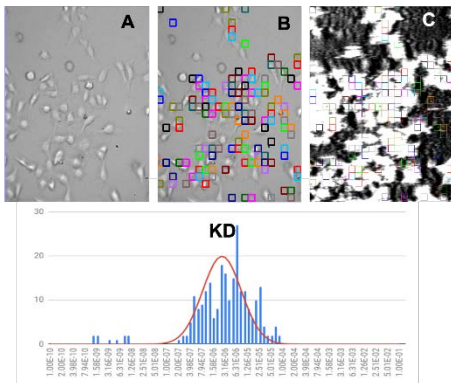


Fig 1. A: bright field image of HEK 293A cells, B: bright field image of HEK 293A cells with ROIs, C: SPR image of HEK 293A binding to hydroxystilbamidine. Bottom: distribution of K_D associated with cellular heterogeneity. Mean $K_D = 2.6 \mu\text{M}$.

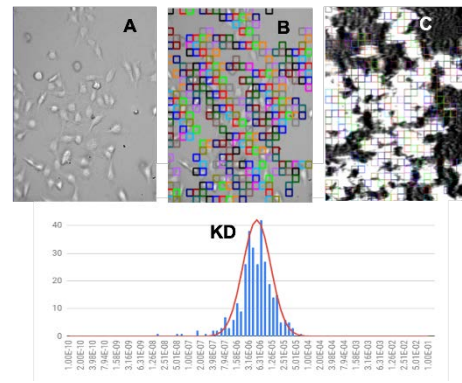
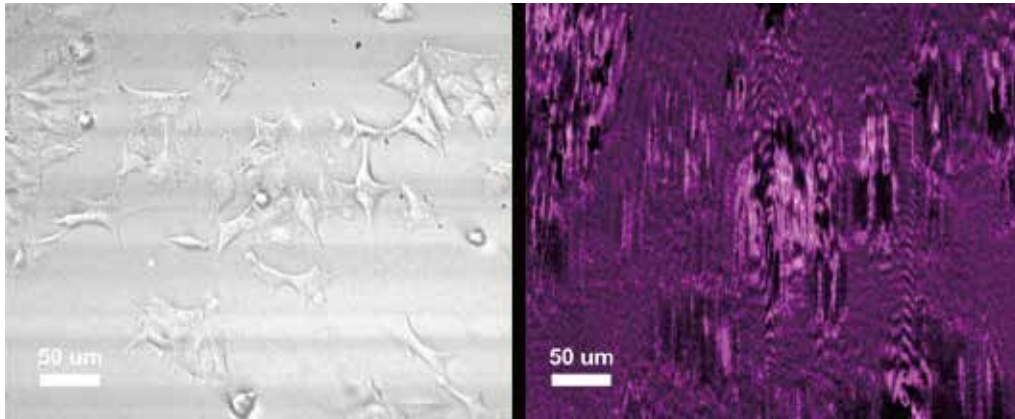


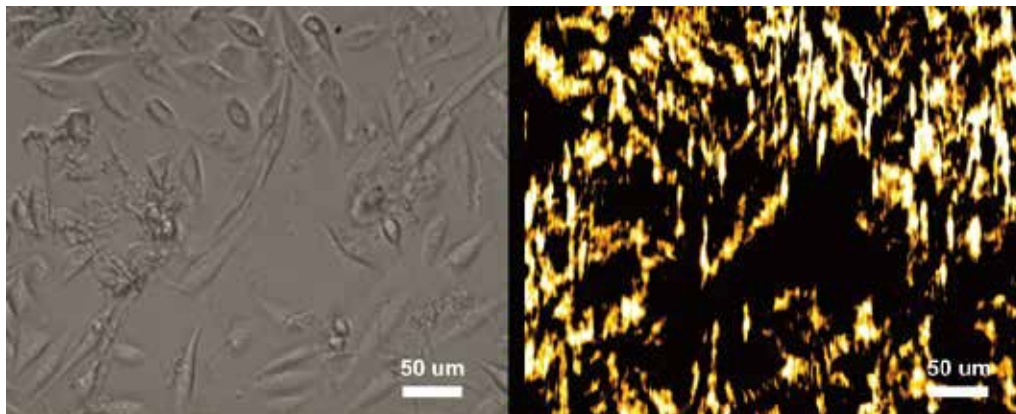
Fig 2. A: bright field image of HEK 293A cells, B: bright field image of HEK 293A cells with ROIs, C: SPR image of HEK 293A binding to pentamidine. Bottom: distribution of K_D associated with cellular heterogeneity. Mean $K_D = 5.0 \mu\text{M}$.

3. 肽与A549细胞的相互作用



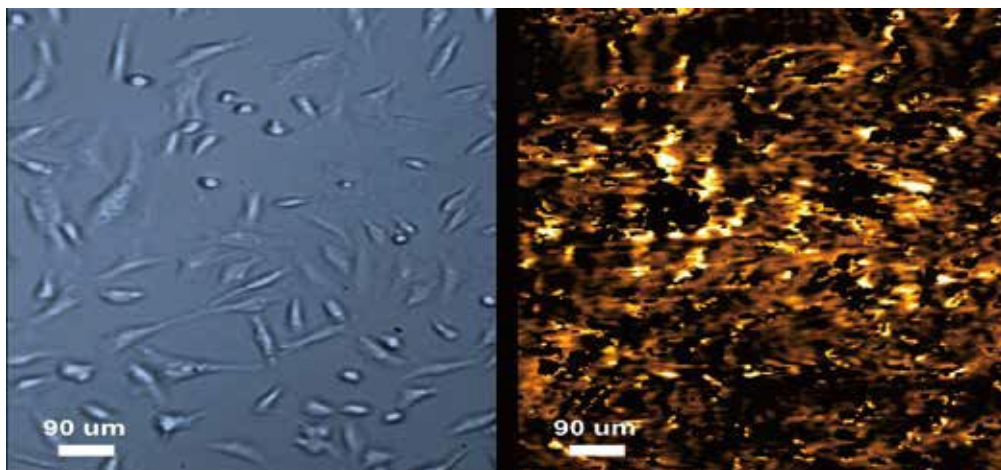
A549腺癌患者肺泡基底上皮细胞的明场成像（左）。8kDa粘附体肽与细胞结合的SPR图像（右）。 $k_a=7.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ， $k_d=7.2 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ， $K_D=10.2 \text{ nM}$ 。

4. CP-D细胞与WGA的相互作用



Barrett's食管源性活细胞CP-D（CP-18821）与WGA结合的SPR图像，WGA是一种能够识别N-乙酰氨基葡萄糖的凝集素（GlcNAc）。 $K_D=38.7 \text{ nM}$ 。

5. WGA与CHO细胞的相互作用



CHO（中国仓鼠卵巢）细胞的明场成像（左）。WGA与细胞结合的SPR图像（右）。 $k_a=4.8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ， $k_d=2.7 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ， $K_D=5.68 \text{ nM}$ 。

抗体药物

1. 单克隆抗体(mAb)疗法已成为治疗癌症、自身免疫性疾病、哮喘和许多其他疾病的既定方法。

单克隆抗体 (mAb) 药物占整个生物制药50%的份额，其中超过60%都是与膜蛋白受体结合。SPRm 200可以在单细胞层面定量研究单克隆抗体 (mAb) 和膜蛋白结合作用。传统SPR是直接将纯化的蛋白固定在芯片表面，对于膜蛋白而言是有问题的，膜蛋白从细胞环境中提取并保持自身形态非常困难。

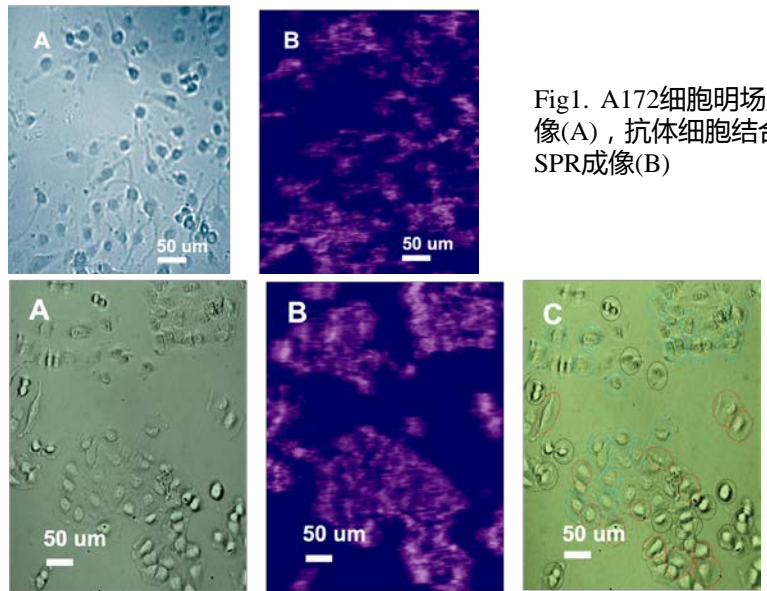
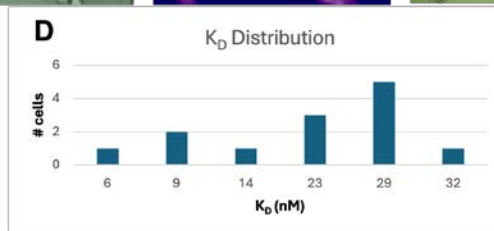
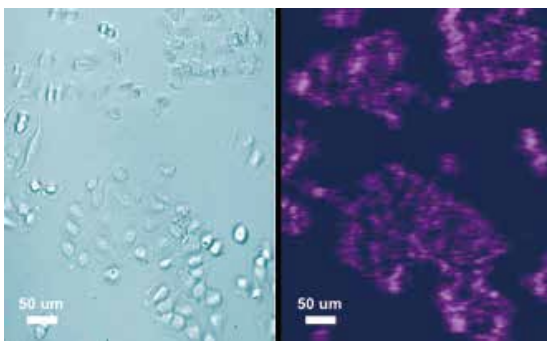


Fig1. A172细胞明场成像(A), 抗体细胞结合SPR成像(B)

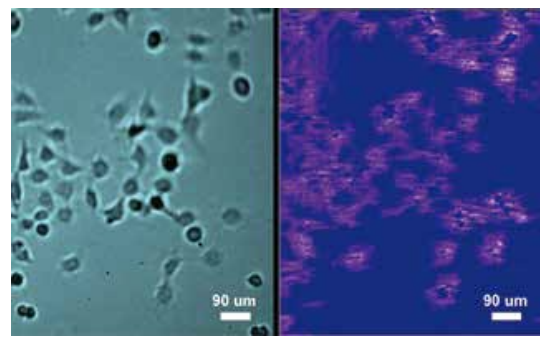
Fig2. H4细胞明场成像 (A), 抗体H4细胞结合SPR成像根据细胞表型进行选区 (C), 黑色选取的 K_D 分布 (D)



2. 人神经胶质瘤细胞 (H4) 与抗体结合的测定

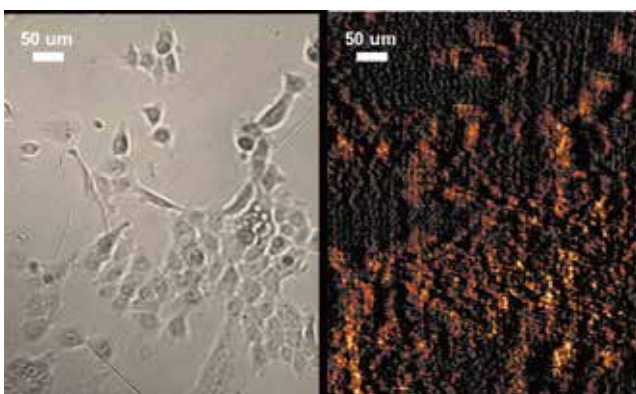


H4细胞的明场成像 (左)。抗体与H4细胞结合的SPR图像 (右)。 $K_D=16.8nM$ 。



HEK 293A细胞G蛋白偶联受体相互作用 HEK 293A细胞明场成像 (左) 和GPCR与500Da小分子药物结合的SPR图像 (右)。 $K_D=7.41nM$ 。

3. A431细胞的EGFR结合亲和力

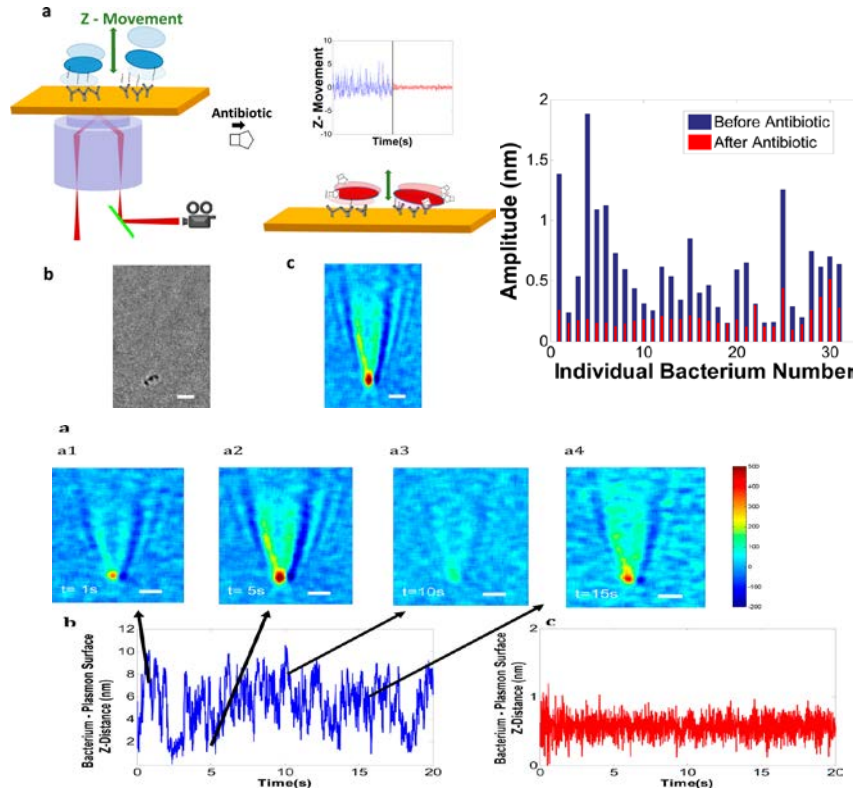


抗EGFR单抗与过表达EGFR的人表皮细胞 (A431) 相互作用的SPR图像。 $K_D=371pM$ 。

基于病毒、细菌载体分子互作的研究

1. 快速AST实验

抗生素与大肠杆菌 (Live E.Coli O157.H7) 代谢活性研究。AST 实验是确定抗生素易感性和细菌菌株耐药性的重要实验。快速AST 检测可以降低发病率和帮助制定早期窄谱抗生素治疗方案。目前大多数AST实验是基于细菌培养, 需要几天时间才能完成。通过SPRM 200, 我们使用SPR成像和PIT技术跟踪单细菌细胞的运动。检测细胞和抗生素结合后垂直方向运动变化。可以看到, 抗生素可以明显减弱细菌细胞的活动, 并且可以定量计算, 从而成为快速AST检测方法。



2. 通过SPRM电化学阻抗分析, 测量了传感器表面病毒肽配体和不同GPCR受体的结合动力学常数

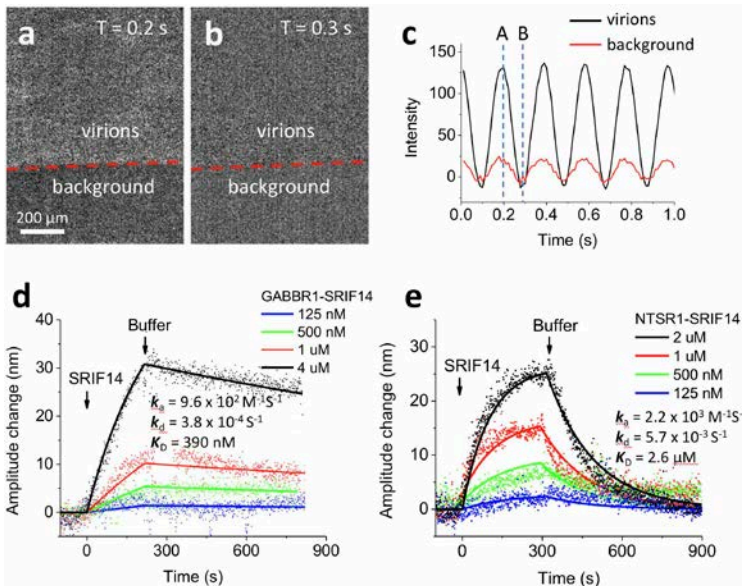


Fig (a) and (b) VirD oscillators spotted on a SPR sensor chip and imaged with SPRM. Although the individual VirD oscillators cannot be resolved, the image intensity of each spot oscillates with the applied AC electrical field (c), providing the average oscillation amplitude of the VirD oscillators. The red line in (c) is the image intensity from the background regions, which was subtracted out in data analysis. (d) and (e) show the kinetics of a peptide ligand (SRIF14 MW=1560) binding to two different types of GPCRs (GABBR1 and NTSR1), where the solid lines are global fitting of the data to the first order kinetics. The extracted kinetic constants are shown on the graphs. Applied voltage: 0.3 V amplitude at 5 Hz. Buffer: PBS.

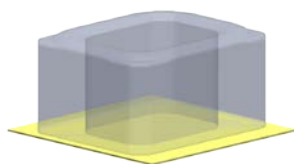
相关文献

1. Tontarawongsa S, Visitsattapongse S, Pechprasarn S. Performance Analysis of Non-Interferometry Based Surface Plasmon Resonance Microscopes. *Sensors (Basel)*, 2021,21(15).
2. Hassani H, Kreysing E. Noninvasive measurement of the refractive index of cell organelles using surface plasmon resonance microscopy. *Opt Lett*, 2019,44(6):1359-1362.
3. Kreysing E, Hassani H, Hampe N, et al. Nanometer-Resolved Mapping of Cell-Substrate Distances of Contracting Cardiomyocytes Using Surface Plasmon Resonance Microscopy. *ACS Nano*, 2018,12(9):8934-8942.
4. W. Jing et al, Simultaneous Quantification of Protein Binding Kinetics in Whole Cells with Surface Plasmon Resonance Imaging and Edge Deformation Tracking. *Membranes* 2020, 10, 247
5. H Yu, X Shan, S Wang, N Tao, Achieving high spatial resolution surface plasmon resonance microscopy with image reconstruction, *Anal. Chem.*, 2017, 89 (5), pp 2704-2707.
6. Y Wang, X Shan, H Wang, S Wang, N Tao, Plasmonic imaging of surface electrochemical reactions of single gold nanowires, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, 139 (4), pp 1376-1379.

SPRM 200参数

工作站	光源	690nm
	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) RMS
	温控范围	15°C to 40°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
流体操作	样品容积	1 to 1500 μL
	动力学常数	$k_a < 1 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$
		$k_d > 1 \times 10^{-5} s^{-1}$
	解离常数	$K_D = 10^{-3} M - 10^{-12} M$
最小可分析的分子量	200 Da	
控制系统	计算机	Windows 操作系统
	软件	ImageSPR 和 ImageAnalysis 软件,包括数据分析和动力学分析包
自动进样器	试样容量	可用 2 x SBS 标准 (384 /96) ,
		或 2 x 48 Vials (1.5mL) ,
		或 2 x 12 Vials (10mL)
注射体积	0 mL to 9999 mL	
样品冷却控温	4°C -20°C	
自动缓冲液交换泵 (可选)	缓冲液选择	可自动更换6种缓冲液
	溶液除气功能	在线除气
	缓冲液输送	连续

传感器和耗材



细胞SPR分析组件

用于细胞SPR分析的 硅胶分析池及传感器芯片；包括用于处理 传感器芯片表面的化学品和其他附件。



传感器芯片

同一SPR研究中可重复使用的传感器芯片。

细胞膜表面蛋白结合亲和力与动力学测定
整合了光学显微镜的分子互作系统
细胞膜蛋白结合亲和力与动力学组图

欢迎联系中国区代理：
济南成全生物科技有限公司
<http://www.chengquanbio.cn/>
曹先生 18953165089
张先生 13869182765