



Biacore 分子相互作用技术 科学研究前沿应用



抗体高通量筛选

重大疾病发生机制

受体 - 配体识别

中草药活性组分鉴定

细胞信号通路

新药发现与开发

分子结构 - 功能关系

核酸 - 蛋白识别与调控

酶 - 底物 - 抑制剂开发

传染病、病毒感染机制

Biacore 新发现

当您着力进一步提升您的科研水平或在筹划发表下一篇重要文献时，您往往需要更为深刻、角度独特、综合全面的数据帮助您在科研课题中取得进一步突破。现在 Biacore™ 系统所提供的全面、高质量的数据正在帮助全球众多科学家实现着这一目标。

Biacore 系统无需对样品进行标记或修饰，就可以获得原位状态下生物分子结合活性和相互作用对象等宝贵信息，在分子水平上揭示了宏观生命现象背后的生物分子结构与功能基础，快速发现和开发有价值的抗体、新药、中草药活性组分和酶产品。想了解 Biacore 技术是如何帮助科学家完成高水平的科学研究和文献发表？生物分子相互作用技术有哪些进展？请继续翻阅此书。

欲了解更多信息请访问 www.gelifesciences.com/dipiadigital



GE梦想启动未来

Biacore 分子相互作用 科学研究前沿应用

目录

生物分子相互作用技术介绍	4	
发现相互作用	6	●
结合活性与动力学	13	●
生物分子结构 - 功能关系	18	●
新药发现与开发	22	●



分子相互作用决定着 宏观生命现象

生物分子相互作用分析在生命科学研究中起着至关重要的基础性作用，众多宏观生命现象的发生过程与个体差异其实质都受生物分子相互作用的决定。研究相互作用的数据一般分为以下四类：

发现相互作用（有无结合）：生物分子间究竟是否发生相互作用？结合位点数是多少？

结合活性与动力学：分子间相互作用的快慢（结合和解离速率）？动力学分析也能获得关于相互作用强弱（亲和力）的信息。

生物分子结构 - 功能关系：为什么结合能够发生：结合的驱动力是什么（热力学信息）以及相互作用的强弱（亲和力）？认识分子间相互作用的结构基础：哪些分子结构元件是相互作用必须的？结合过程中是否涉及必要的分子构象改变？

新药发现与开发：我们如何利用分子相互作用技术定向地发现先导化合物和抗体候选物？借助 Biacore 技术，您能够在更宽的亲和力范围内研究药物 - 靶点间的相互作用，最终发现有价值的化合物和抗体。你既可以采用直接结合的方式对大批量候选物进行快速筛选，也可以基于动力学信息对药物分子进行精细地筛选与表征。

利用 Biacore（SPR 技术）能够对分子相互作用的动态过程进行实时监控。分析过程无需对分子进行标记或者修饰，就能获得原位状态下的分子结合活性数据。Biacore 提供了分子相互作用的亲和力、动力学和特异性等多种信息，也可以精确测定生物分子的活性浓度。

相互作用的一个分子通过共价键或者非共价键固定在传感芯片表面上，而另一个分子以溶液的形式流经传感芯片表面。由于分子间相互作用而引起的芯片表面质量变化就可以通过 SPR 技术实时地记录下来用于分析。

记录的实时结合信号称为传感图，响应值（纵轴）的单位称为共振单位（RU）（图 1）。

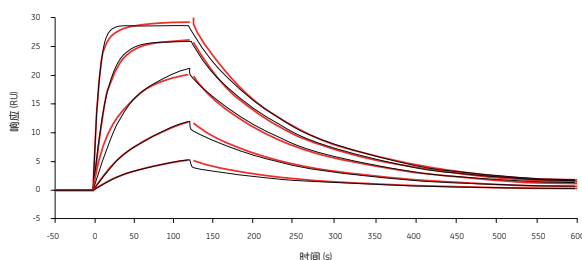


图 1. 包括结合和解离的生物分子相互作用动态过程能够被实时地跟踪和记录下来，通过对结合曲线的数据拟合可以获得结合动力学（结合和解离速率常数）。每条曲线对应一个特定的分析物浓度。红线代表原始的结合数据；黑线代表拟合的结果。

您可以访问 www.gelifesciences.com/dipiadigital 阅读更多关于 Biacore 和 SPR 技术的资料。

Biacore 系统总览

Biacore 8K: 高通量与高质量互作数据兼得

- 满足化合物和生物治疗新药开发的高通量筛选表征平台；
- 高通量，16 组检测通道，8 根进样针平行分析；
- 2 小时内完成 384 个样品结合水平筛选，64 组动力学表征仅需要 5 小时；
- 60 小时无人值守作业，4-40°C 样品仓支持 4 块 96/384 孔板；
- 高灵敏度，<0.02RU 超低噪音水平，满足小分子量样品和超低偶联分析需求；
- 仅需要 1 块芯片完成检测，通量更高但成本更低；
- 全新的 ABA、2D Kinetics 模块，满足药物竞争抑制实验、条件摸索和快速动力学表征。



Biacore S200: 最新一代超高灵敏度分子相互作用分析系统

- 满足科学研究、小分子、片段化合物和中药活性组分筛选最新互作分析系统；
- 超高灵敏度，对有机化合物没有分子量下限，特别符合膜蛋白、受体、复合体（GPCR、激酶）等科研前沿的相互作用分析；
- 样品消耗量更低，最小进样体积 2 μ l，每通道固定样品仅需要 0.03 到 3 μ g；
- 全新的 ABA 模块，特别适合药物结合位点分析、竞争实验；
- 支持金属离子、pH 条件对相互作用效应的分析；
- 软件支持高达 5000 个数据的批处理和自动质量控制；
- 48 小时无人值守、灵活支持 96 孔板、384 孔板和 1.5ml EP 管等不同的上样方式。



Biacore T200: 全功能的分子相互作用分析系统

- 满足生物新药开发和科学研究的全功能相互作用系统；
- 基于标准曲线和无需标曲两种浓度定量方法；
- 完整的免疫原性分析模块；
- 为后续质谱分析进行微量样品回收模块；
- 提供更多结构信息的热力学分析模块；
- 全面的亲和力、动力学、生物类似药一致性分析功能；
- 48 小时无人值守、支持 96 孔板、384 孔板或 1.5ml EP 管上样。



Biacore X100: 智能的高性能分子相互作用系统

- 智能化的高性能分子相互作用系统；
- 互动式软件设计助您快速开展生物分子互作研究；
- 满足蛋白、小分子、抗体等分子类型的相互作用分析；
- 创新的单循环动力学与传感图质控模块；
- 选配的扩展包为变温分析、在线脱气、有机溶剂校正和活性浓度分析等提供支持。



发现相互作用

生物分子间的相互作用是各种生命现象发生与调控的关键环节。例如，依赖 G 蛋白偶联受体（GPCR）的跨膜信号转导、分子伴侣（chaperones）参与多元复合体的构建、蛋白激酶对重要信号通路蛋白的磷酸化修饰等等都包含了大量的蛋白 - 蛋白，受体 - 配体，蛋白 - 核酸等生物分子相互作用。数以万种重要的生物分子相互作用已被发现并建立了相关数据库，例如 IntAct (<http://www.ebi.ac.uk/intact/>) 和 Biomolecular Object Network Databank (<http://bond.unleashedinformatics.com/>)。这些数据库信息有力地支持了众多科学家在细胞间识别通讯、细胞内信号通路、基因调控等领域的研究。但由于生物体的复杂性，仍然有大量重要的生物分子相互作用亟待发现。

在这一章节中，我们将向您详细介绍采用 Biacore 系统来发现生物分子相互作用的科研成果。

探求分子相互作用的本质

G 蛋白偶联受体（GPCR）是细胞表面重要的跨膜受体，起着响应细胞周围环境刺激，激活胞内信号传导通路，最终传导发生相应细胞响应的关键作用。东京大学的铃木及其同事的工作（1）加深了人们对涉及 GPCR 的相互作用的认识，并揭示了依赖于鸟嘌呤 - 核苷酸的蛋白构象变化是如何影响到短暂的 GPCR 信号传导的。在这个典型的互作实验中，科学家首先分析了 LARG 蛋白与一个 GPCR 亚基 $G\alpha_{13}$ 之间的结合细节，并基于 Biacore 提供的热力学信息对蛋白构象变化进行了研究。

发现关键的蛋白结构域？

铃木及其同事的工作的第一步是确认两蛋白之间是否发生相互作用，如果发生，是否还需要其他辅助因子的参与。在细胞实验中，他们将 LARG 蛋白不同结构域进行重新组合，并同 $G\alpha_{13}$ 一起转染细胞进行分析。结果提示 $G\alpha_{13}$ 可能与 LARG 蛋白的 RH 结构域、DH/PH 结构域以及 C 端区域发生相互作用（图 2）。紧接着，他们就需要使用 Biacore 3000 逐一确认这些相互作用，通过分子水平的证据来交叉验证细胞实验所得到的结论。

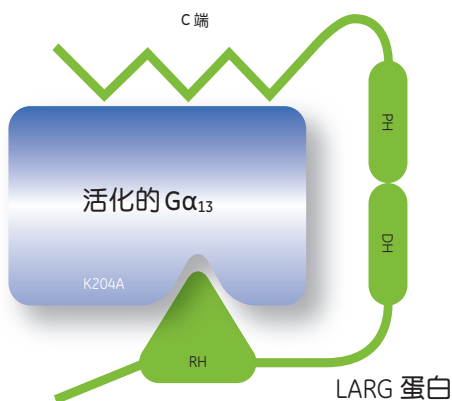


图 2. LARG 蛋白（Leukemia-associated RhoGEF）是一个鸟嘌呤核苷酸交换因子蛋白，其多个结构域可能与 GPCR 的 $G\alpha_{13}$ 亚基发生相互作用：

RH：G 蛋白信号传导（RGS）的调控结构域，活性必须的结构域。

DH：Dbl 同源结构域（DH）或 RhoGEF 结构域，由大约 150 个氨基酸残基构成，能够诱导 LARG 蛋白释放 GDP。

PH：Pleckstrin 同源结构域。这个结构域能够结合膜上的磷脂酰肌醇，从而使蛋白转移至细胞内特定位置并与信号转导途径中其他信号蛋白发生相互作用。PH 结构域能够提高催化效率。

在 $G\alpha_{13}$ 亚基上与 RH 的结合位点的 K204A 突变也一同显示。

Biacore 数据证实了相互作用，并获得更多结合机制细节

Biacore 分析采用了 $G\alpha_{13}$ 亚基的两个突变体： $G\alpha_{i/13}$ ($G\alpha_{13}$ 的嵌合体) 和 $G\alpha_{i/13}KA$ (在与 RH 结构域的结合位点上有一个 K204A 的突变)。这些突变体都可以通过 AMF ($AlCl_3$ 、 $MgCl_2$ 和 NaF) 激活。

将 $G\alpha_{13}$ 的突变体通过氨基偶联固定在 CM5 芯片的表面上，然后通过缓冲液中添加 AMF 成分激活突变体 (图 3)。将 LARG 不同结构域组合的重组蛋白以浓度梯度的形式流过芯片表面，检测其是否与 $G\alpha_{13}$ 发生结合，同时分析包含和不包含 AMF 两种情况下的结合差异。最后通过芯片再生重新上样。

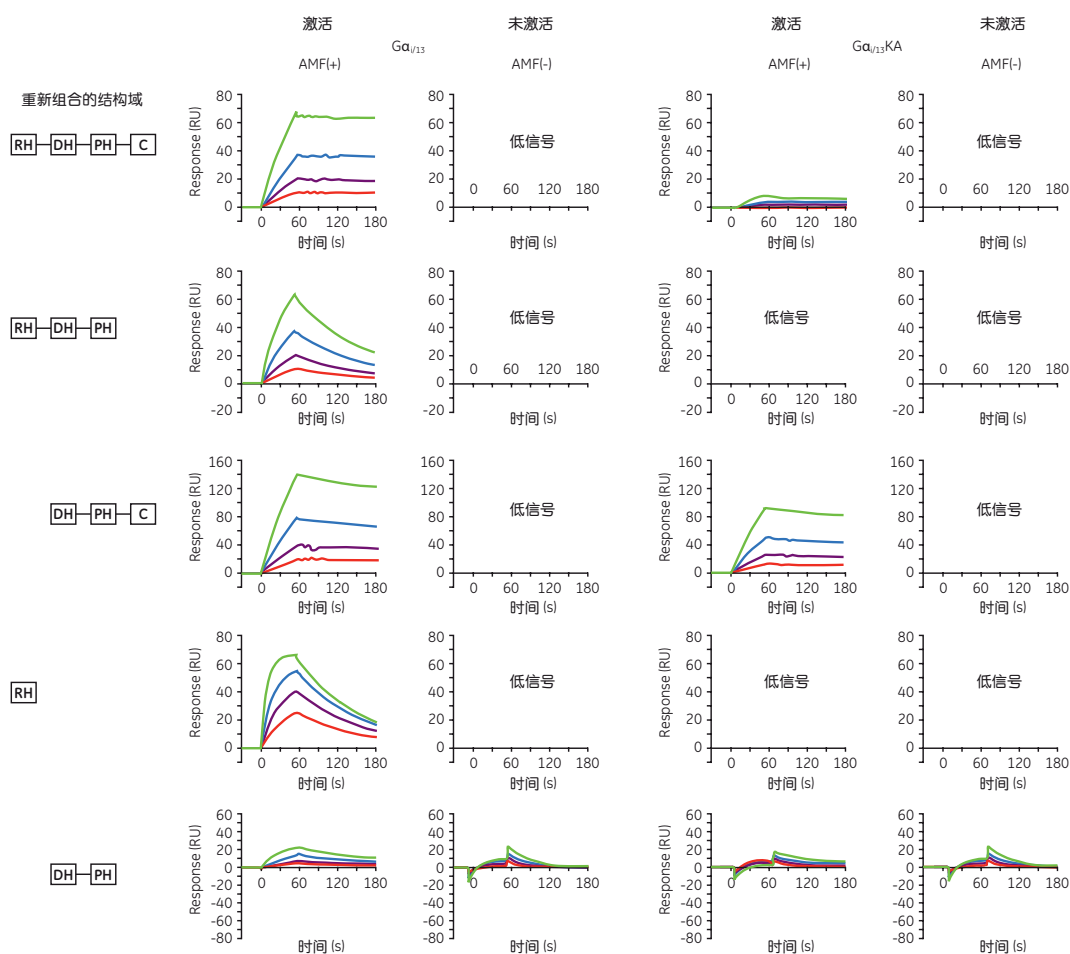


图 3. 利用 Biacore 3000 分析 LARG 与 $G\alpha_{13}$ 或 $G\alpha_{i/13}KA$ 的结合动力学。 $G\alpha_{13}$ 和 $G\alpha_{i/13}KA$ 分别固定在 CM5 芯片的不同通道上。然后再流过浓度范围在 nM 到 μM 之间的不同组合的重组蛋白。(改编自 Suzuki, N. et al., *J. Biol. Chem.* **284**, 5000-5009 (2009) 等的文章的图 1C)。

与 $G\alpha_{i/13}$ 的结合数据清晰地表明 AMF 激活对于 $G\alpha_{i/13}$ 与 LARG 的 RH、DH 和 PH 结构域的相互作用都是必要的。比较包含 C 端和不包含 C 端 LARG 重组蛋白的结合动力学也表明 C 端参与与其与 $G\alpha_{13}$ 相互作用中。铃木及其同事也使用 $G\alpha_{i/13}KA$ 突变体证明了第 204 位点上赖氨酸残基的突变 (K204A) 明显降低 $G\alpha_{13}$ 与 LARG 的 RH 结构域的亲和力，但不影响其与 DH 和 PH 结构域的相互作用。

分析相互作用的强弱

通过拟合上述结合的实时数据可以获得多种动力学数据：结合速率常数 (k_a)、解离速率常数 (k_d) 和亲和力平衡常数 (K_D)。LARG 不同组合体与 $G\alpha_{i/13}$ 的相对亲和力按照以下顺序升高 $RH (\times 1) < RH-DH-PH (\times 2) < RH-DH-PH-C \text{ 端} (\times 20)$ 。因而证实：C 端区域能够大幅度降低 $G\alpha_{i/13}$ -LARG 复合物的解离速率。而 RH 结构域与 $G\alpha_{13}$ 的结合则可能引发 LARG 的 DH/PH 结构域的构象变化，进而诱导其后的生物反应发生。

热力学能告诉你什么？

铃木及其同事决定测定 $G\alpha_{13}$ -LARG 相互作用的热力学常数，来研究两个蛋白间的结合所诱发的构象变化（尤其是 RH 结构域和 DH/PH 结构域的作用）。Biacore T100 的热力学分析模块支持完成此类实验，并对数据进行分析（图 4）。

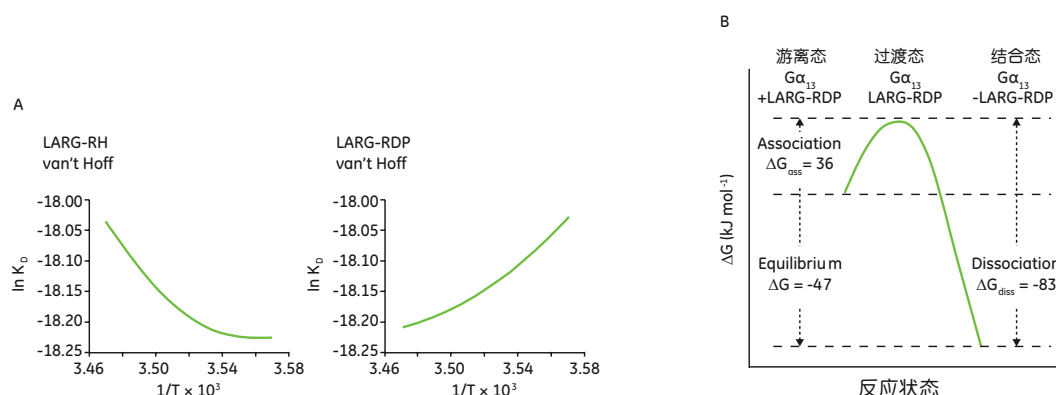


图 4. $G\alpha_{13}$ -LARG 相互作用的热力学分析。(A) $G\alpha_{13}$ 与 LARG 不同结构域 (RH 或 DH 结构域) 相互作用的热力学分析结果，转化为 van't Hoff 图的形式。(B) $G\alpha_{13}$ -LARG 相互作用反应的热力学能阶图。通过 van't Hoff 图和 Eyring 图估算获得平衡态和过渡态下的热力学参数。（改编自 Suzuki, N. et al., *J. Biol. Chem.* **284**, 5000-5009 (2009) 的图 4）。

RH-DH-PH 与 $G\alpha_{13}$ 间的结合反应自由能（绝对值）要高于 $G\alpha_{13}$ 与 RH 的结合自由能，这与 LARG-RH-DH-PH 具有更高的亲和力相一致（图 4）。特别令人感兴趣的是， $G\alpha_{13}$ 与 RH 的结合是焓变驱动的，熵变是不利的。这与 RH-DH-PH 与 $G\alpha_{13}$ 之间的结合形成鲜明的对比（主要通过熵变驱动，具有正的 ΔS^0 ）。通常，在蛋白质-蛋白质相互作用过程中出现明显的负值的热容变 (ΔC_p^0) 意味着：伴随构象变化蛋白表面特定疏水区域的减少。研究人员由此获得结论： $G\alpha_{13}$ 与 RH 结构域的相互作用诱发蛋白构象变化，使得一部分原本暴露在外的疏水表面内陷，形成一个较大的互补结合区域，从而促进复合物的形成。

分子互作技术揭示

蛋白 - RNA 识别的机制

对于绝大多数 RNA 分子，其发挥作用依赖于 RNA 与相关 RNA 结合蛋白（RNA-binding protein）的相互作用。并且，这些相互作用的过程高度动态，在结合和解离之间保持着动态平衡，这对于很多生命活动的调控过程有着重要的意义。Biacore 所提供的蛋白 - 核酸之间的详细的动力学数据，能够为解释 RNA 功能和研究蛋白 - RNA 结合机制与结构基础提供重要的分子水平依据。

发现关键的结合位点

Hu 蛋白家族是神经元细胞中高度保守的 RNA 结合蛋白，该家族蛋白特异性地表达于神经元细胞中，常结合于 AU- 富集的 RNA 序列，被认为与神经元细胞中所发生的特定翻译后修饰的基因调控过程相关。HuD 蛋白是 Hu 家族一员，结构上含有三个 RNA 识别结构域（RNA recognition motifs, RRM）。之前的研究表明，三个结构域并非全部发挥 RNA 识别结合的作用，Biacore 所提供的 HuD 蛋白 - RNA 结合动力学数据，为科学家提供了意想不到的结论。

蛋白 - RNA 相互作用分析

将生物素化的 RNA 链固定在 Biacore 芯片表面，然后流过剔除掉不同结构域的 HuD 蛋白突变体。亲和力结果（图 5）表明 RRM1 在蛋白 - RNA 识别中起着最关键的作用，RRM2 作用居中，而 RRM3 的作用几乎忽略不计。更为详细的动力学数据显示，删除 RRM2 或 RRM3 都会造成解离速率的显著加快，这意味着 RRM2、RRM3 与 RRM1 结构域一起对于稳定核酸 - 蛋白复合物起着不可替代的作用。





Mutations of HuD	Affinity	Association	Dissociation
	wt	wt	wt
	↓ 2000 x	↓ 20 x	↑ 100 x
	↓ 13.5 x	↑ 2.5 x	↑ 35 x
	↓ 3.5 x	↑ 4 x	↑ 14 x

图 5. 利用 Biacore 定量分析剔除 HuD 蛋白的不同结构域对于蛋白 - RNA 相互作用的结合亲和力和动力学的影响。

肿瘤细胞间信号传导机制

发现并分析细胞信号通路上的蛋白 - 蛋白间相互作用

肿瘤的生长和分化在很大程度上依赖于由增殖的癌细胞分泌的配体蛋白所介导的细胞间信号传导。借助邻位连接分析技术（proximity ligation analysis, PLA）和质谱（MS）技术，发现了一系列可能与肿瘤生长相关的细胞受体 - 蛋白配体间相互作用。但由于 PLA 技术反映的是蛋白质之间彼此靠近而造成的检测信号上升，但无法证明相互作用是否确实发生，所以作者采用 Biacore X100 来取得细胞受体与蛋白配体之间的相互作用的确切证据。

Protein Y 与多个生命现象相关。它最初表达为前体蛋白（pro-protein Y）的形式，在细胞内经过翻译后修饰和细胞内加工后以成熟的形式分泌到胞外。Protein X 已知在某些类型的癌症中表达上调。Protein Y 曾被尝试用于阻断 Protein X 的功能。作者设计了一系列动力学和亲和力实验，实验细节如传感图（图 8）所示。

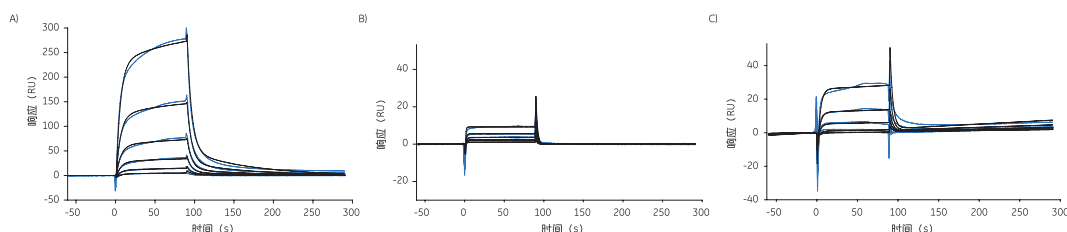


图 8. 采用 Biacore X100 对细胞信号通路蛋白之间的相互作用进行动力学分析。(A) protein X 和 Y, (B) protein X 和 protein Y 的前肽, (C) protein Y 的成熟形式与其前肽。

Biacore X100 的结果清楚地证实 proteins X 和 Y 之间存在相互作用（图 8A）。在对照实验中，证明 protein Y 的前肽与 protein X（图 8B）以及 protein Y 的成熟形式（图 8C）只有较弱的相互作用。Biacore 数据验证了最初通过 PLA 技术观察到的 protein Y 和 protein X 之间的相互作用，同时也发现了 protein X 的结合位点位于 protein Y 成熟形式所保留的结构域上。Biacore X100 的结果与其他其他技术获得的结果具有高度的一致性（图 9）。

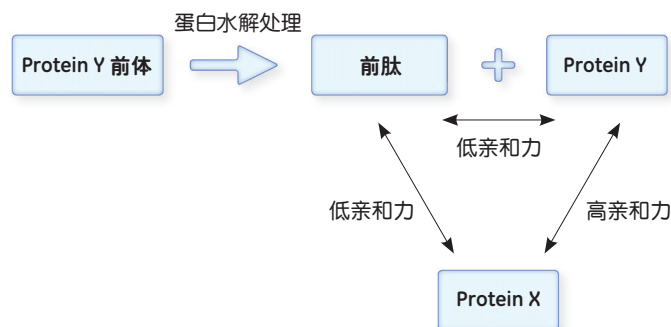


图 9. 通过 Biacore 提供的信息获得 protein X、protein Y 和 protein Y 前肽之间相互作用的示意图。

拓展阅读

Budiman 及其同事通过使用 Biacore 3000 并结合其他方法,发现并鉴定了抑制因子蛋白 eIF4a3 在 RNA 上的识别序列(2)。传统的凝胶阻滞分析和酶解足迹方法只能提供定性数据,而 SPR 方法能够定量地研究结构和序列上的细微差异对相互作用的影响。

Heurich 及其同事利用 Biacore T100 研究在免疫系统补体旁路途径中,多态性对蛋白间的相互作用的影响(3)。基于 SPR 方法获得的结果与溶血方法获得的生物学数据得到交叉验证。

Anders 及其同事利用 Biacore 方法研究了 HLA-DM 与 HLA-DR 之间的相互作用的详细过程(4)。胞内蛋白 HLA-DM 与 MHC II 型蛋白共同参与了肽段展示的过程,而 HLA-DR 则是细胞表面上一种 MHC II 型的受体。这项研究包括了分析复合物形成和分解的动态过程、竞争实验、动力学以及相互作用的热力学分析。

参考文献

1. Suzuki, N. *et al.* Activation of Leukemia-associated RhoGEF by G13 with Significant Conformational Rearrangements in the Interface. *J. Biol. Chem.* **284**, 5000 – 5009 (2009).
2. Budiman, M. E. *et al.* Identification of a signature motif for the eIF4a3–SECIS interaction. *Nucleic Acids Res.* **39**, 7730 – 7739 (2011).
3. Heurich, M. *et al.* Common polymorphisms in C3, factor B, and factor H collaborate to determine systemic complement activity and disease risk. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108**, 8761 – 8766 (2011).
4. Anders, A-K. *et al.* HLA-DM Captures Partially Empty HLA-DR Molecules for Catalyzed Peptide Removal. *Nat. Immunol.* **12**, 54 – 61 (2011).
5. Burd, G. C. and Dreyfuss, G. Conserved structures and diversity of functions of RNA-binding proteins. *Science* **265**, 615–621 (1994).
6. Park, S. *et al.* HuD RNA recognition motifs play distinctive roles in the formation of a stable complex with AU-rich RNA. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 4765–4772 (2000).
7. Katsamba, P. S. *et al.* Two functionally distinct steps mediate high affinity binding of U1A protein to U1 hairpin II RNA. *J. Biol. Chem.* **276**, 21476–21481 (2001).
8. Katsamba, P. S. *et al.* Kinetic studies of RNA-protein interactions using surface plasmon resonance. *Methods* **26**, 95–104 (2002).
9. Katsamba, P. S. *et al.* Complex role of the β_2 - β_3 loop in the interaction of U1A with U1 hairpin II RNA. *J. Biol. Chem.* **277**, 33267–33274 (2002).

We gratefully acknowledge the valuable cooperation of Dr. Ite Laird-Offringa and the members of her laboratory in preparing this Application note. Data provided courtesy of Professor Helena Danielson Department of Chemistry-BMC, Uppsala University, Uppsala, Sweden.

结合活性与动力学

生命体是一个动态的系统。因此，发现相互作用只是互作分析的第一步，通常需要进行结合活性与动力学研究，以回答下列问题：

- 分子间结合的速度有多快？
- 多元复合物解离的速度有多快？

动力学决定了复合物形成或者解离的速率。测定的结合速率和解离速率也可以被用于确定在平衡态（结合与解离达到平衡时的稳定状态）时形成了多少复合物，也就是亲和力。

在这一节，我们汇总了采用 Biacore 系统测量各类动力学的文献。

结合活性与动力学研究

在药物发现中，药物分子在其靶蛋白上的滞留时间或解离半衰期是一个关键参数。Biacore 作为一种经典的生物物理手段，已被广泛用于针对靶标的新药发现与开发中，以确定药物分子与靶蛋白间的亲和力、动力学速率常数和热力学常数。膜蛋白作为重要的药物靶蛋白群体，药物分子与膜蛋白的结合分析日益受到关注。但由于膜蛋白通常在表面活性剂抽提后稳定性下降，配体结合量降低，因此针对膜蛋白的结合分析非常具有挑战性，尤其对于 GPCR 蛋白。通过稳定性改造获得一种较为稳定的受体 StaR™，使得以往很难研究的 GPCR 蛋白结合分析变得可行。这些改造的受体蛋白可以被大量纯化，保持正确的构象，并且在结合分析中始终保持足够的稳定性。在英国 Heptares Therapeutics 的 Robertson 及其同事使用 Biacore 分析药物分子候选物与 StaR 分子之间的相互作用动力学 (1)。

蛋白质的稳定性改造

研究人员首先分析了超过 300 个突变体的热稳定性，筛选获得最稳定的突变体。同时也测试了各种表面活性剂的稳定性效果。最后，最满意的蛋白突变体通过重组表达用于后续的动力学分析。

测定动力学：数据更准确、通量更高

以往测定 GPCRs 与药物分子的结合活性与动力学需要使用放射性配体，测量和比较不同条件下的放射性配体的解离速率。两项实验结果证明放射性配体结合分析和 Biacore 提供的动力学数据之间高度一致。Robertson 及其同事采用 Biacore 获得动力学信息，比传统方法更简单、通量更高而且数据更加准确。

研究人员利用 Biacore 分析了一个改造受体 A_{2A}-Star2 与药物分子之间的更为详细的结合动力学。使用 Biacore 分析了五个分子量在 285 到 345 Da 之间的小分子与 A_{2A} 的结合动力学过程，如图 7 所示。结合曲线表现出明显的浓度依赖性，并且三次实验结果高度重复。通过用 1:1 模型拟合传感图获得各项动力学常数。结果表明这些拮抗剂的亲和力相差最高 10000 倍。此外，研究人员还比较了改造受体与膜上野生型受体的亲和力常数，两者之间的一致性进一步验证了这种方法的可靠性。

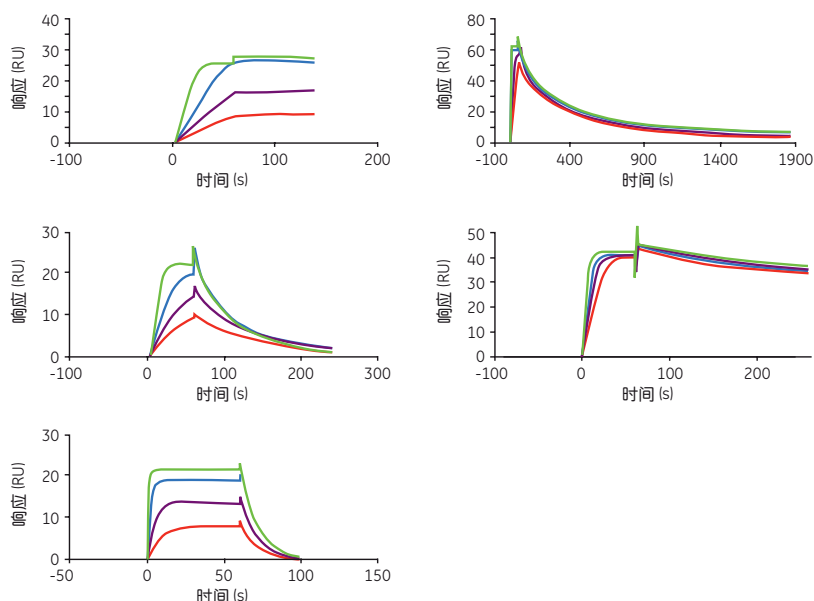


图 7. 使用 Biacore 分析 A_{2A} 蛋白与五种拮抗剂分子之间的结合动力学。 A_{2A} StaR2 通过氨基偶联固定在 CM5 传感芯片上，然后测定每种拮抗剂分子与靶蛋白的结合和解离速率。（改编自 Robertson, N. et al., *Neuropharmacology* 60, 36 – 44 (2011) 的图 6）。

对蛋白的稳定性改造为 GPCR 的晶体结构研究和 SPR 动力学分析开辟了新的可能性。可以通过这种方法发现和筛选具有优秀结合特性的药物分子。

拓展阅读

Tikhonova 及其同事使用 Biacore 测量外膜通道蛋白 TolC 与膜融合蛋白 MEP 之间的结合动力学，这些蛋白与大肠杆菌的多组分药物外排泵有关（2）。MEP 可以以寡聚化的形式固定在 CM5 传感芯片上，然后使用 Biacore 3000 研究其与 TolC 的相互作用。解离速率常数的巨大差异表明两者之间存在一个高度动态的过程，复合物的稳定时间可以从几秒钟到几分钟范围内。TolC 与 MFP 可形成各种不同亲和力的复合体，而且组装过程受 pH 的显著影响。这些结论对于抗菌药物的设计至关重要。

Frearson 及其同事在寻找由布氏锥虫属锥虫导致的非洲昏睡病的治疗药物过程中，使用 Biacore 技术来筛选能够选择性结合宿主或病原体的同工酶的小分子药物（3）。科学家分析了大量的小分子与药物靶标 N-肉豆蔻酰基转移酶（TbNMT）之间的结合，但面临的问题是如何确保这些小分子只与 TbNMT 结合，而不与人体的 NMT 酶结合。研究人员在 NTA 芯片上不同通道上分别固定带组氨酸标签的 TbNMT 酶和人体 NMT 酶，然后使用 Biacore T100 分析各种小分子与两种酶的结合。准确的亲和力结果显示一些小分子对两种同工酶存在不同的亲和力，主要表现在解离速率的差异。而这种差异无法被其他生化方法所发现。这些科研成果为治疗昏睡病提供了新的可能性。

Lai 及其同事使用 Biacore 技术来验证植物来源的抗西尼罗河病毒（WNV）的单克隆抗体的药效。他们开发了一种人源化的小鼠单抗 Hu-E16，能够结合 WNV 的 E 蛋白上高度保守的抗原表位。为了降低 Hu-E16 的成本科学家试图在植物中生产单抗，但是植物所特有的糖基化途径可能会改变 Hu-E16 在人体中的药效。科学家将 pHu-E16 和哺乳动物 Hu-E16 固定在 CM5 芯片上，然后使用 Biacore 3000 分析这两种不同来源、不同修饰状态的单克隆抗体与抗原 E 蛋白具有几乎完全一样的结合亲和力和动力学。

发现金属离子对细胞内相互作用的调控

探索神经细胞中钙感应蛋白与支架蛋白间的结合动力学

Seeger 等人利用 Biacore X100 研究了钙调蛋白 (calmodulin) 和钙结合蛋白 1 (calbindin) 与蛋白激酶 A 锚定蛋白 79 (AKAP79) 之间相互作用的动力学和结合机制，并研究了钙离子对这些相互作用的影响。蛋白 AKAP79 以 5000-8000 RU 的固定水平固定于 Biacore CM5 传感芯片上。钙调蛋白与 AKAP79 的相互作用动力学可以通过 1:1 模型（可逆结合）进行很好的拟合，而钙结合蛋白 1 与 AKAP79 之间的结合则表现出了相当的复杂性。

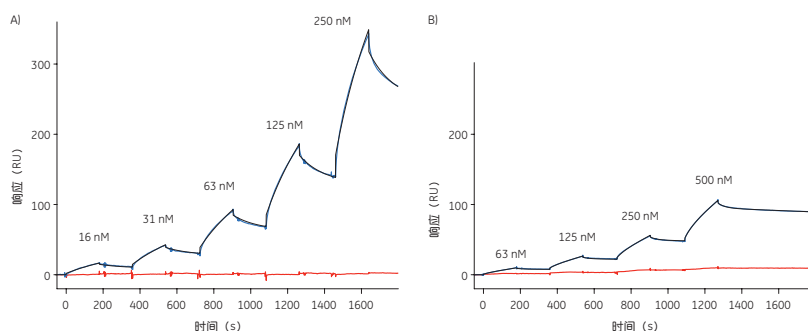


图 10. 采用 Biacore X100 的单循环动力学模式研究了 AKAP79 蛋白与钙结合蛋白 1 在 A) 存在钙离子和 B) 不存在钙离子的不同条件下的结合差异。红色曲线为阴性对照。采用 Two-state 模型对数据进行了有效地拟合计算。

利用 Biacore 的单循环动力学方法，发现钙结合蛋白 1 与 AKAP79 的结合表现出显著的钙离子依赖性（图 10）。进行数据分析时，无法用简单的 1:1 模型进行拟合，但是数据采用基于构象变化的模型能够进行有效地拟合。一系列对照实验也验证了以上假设：此类相互作用很可能是一种 two-state 的结合，即在结合的过程中伴随着蛋白质的构象变化（5）。作者还采用竞争实验来研究钙调蛋白对钙结合蛋白 1 的竞争效应（图 11）。结果表明，钙调蛋白有效地阻断钙结合蛋白 1 结合到支架蛋白上。

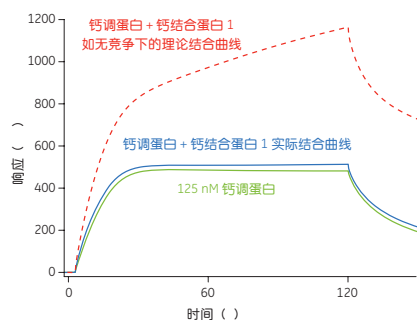


图 11. 钙调蛋白和钙结合蛋白 1 与 AKAP79 结合的竞争分析。钙调蛋白在存在（红色）和不存在钙结合蛋白 1（蓝色）时被注射。红色虚线是非竞争条件下理论信号的模拟。使用 Biacore S51 系统进行实验分析。

参考文献

1. Robertson, N. *et al.* The properties of thermostabilised G protein-coupled receptors (StaRs) and their use in drug discovery. *Neuropharmacology* **60**, 36–44 (2011).
2. Tikhonova, E.B. *et al.* Kinetic control of TolC recruitment by multidrug efflux complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 16416–16421 (2009).
3. Frearson, J.A. *et al.* N-myristoyltransferase inhibitors as new leads to treat sleeping sickness. *Nature* **464**, 728–32 (2010).
4. Lai, H. *et al.* Monoclonal antibody produced in plants efficiently treats West Nile virus infection in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 2419–2424 (2010).
5. Seeger, C. *et al.* Kinetic and mechanistic differences in the interactions between caldendrin and calmodulin with AKAP79 suggest different roles in synaptic function. *J Mol Recognit.* **10**, 495–503 (2012).

Data provided courtesy of Professor Helena Danielson Department of Chemistry-BMC, Uppsala University, Uppsala, Sweden.

生物分子的 结构 - 功能关系

众所周知，生物分子的结构决定着其功能。生物分子的结构可能是静止的，但更多时候是动态的，这种动态性既影响分子与其他生物分子的相互作用，同时也反过来受到与其他生物分子相互作用的影响。像酶这些蛋白，一旦结构发生改变，其功能也随之改变。

蛋白的各级结构可以通过测序技术、X 射线晶体衍射或 NMR 等生物物理技术获得。需要的时候，还可以获得蛋白与辅助因子共存的结构。如果想了解分子特定结构或者构象变化对相互作用的影响就需要使用其他的生物化学和生物物理技术，例如 Biacore 技术。

在本节中，我们将仔细探讨 Biacore 系统如何用于深入分析生物分子的结构与功能的关系。

采用 Biacore 研究蛋白结构域之间的相互作用

蛋白质的三维结构可以通过测序技术、或者生物物理技术如 X 射线晶体衍射或 NMR 技术获得。蛋白质中单个结构域都可以独立表达，然后采用 Biacore 研究结构域之间的相互作用。这类研究加深了对蛋白结构与功能的动态关系的理解。荷兰癌症研究院的 Luna-Vargas 及其同事已经成功将 Biacore 技术应用于与泛素降解相关的一种酶的研究中（1）。

泛素（Ubiquitin, Ub）是一种低分子量、广泛存在的调控蛋白，可以通过连接酶标记在待降解的蛋白上。Aaron Ciechanover、Ayrton Herskko 和 Irwin Rose 凭借对泛素的发现在 2004 年获得诺贝尔化学奖。去泛素化酶（DUB）例如 USP4 通过从目标分子去除 Ub 标签来平衡这种标记活性。Luna-Vargas 及其同事使用 Biacore 技术研究泛素特异性蛋白酶 4 (USP4) 自我调控其去泛素酶活性的结构元件。

表达独立的结构元件

研究人员首先通过 X 射线晶体衍射确定了 USP4 的催化结构域，它由两个结构元件组成，分别为 D1 和 D2。他们也表达了一系列包含不同结构元件组合的重组蛋白，例如在 D1 和 D2 之间插入一个类泛素的结构域（Ubl）片段，来模拟野生的蛋白。体外的去泛素化实验表明，在 USP4-D1D2 中插入 Ubl 片段 (USP4-D1-Ubl 插入片段 -D2) 能够降低去泛素化酶活性，这表明 USP4 通过一种自我调控的机制来调控其去泛素化酶活性。

分析结构元件间的相互作用

随后，研究人员利用 Biacore 确认类泛素结构域 Ubl 插入片段是否直接与催化活性结构域 USP4-D1D2 发生相互作用。带 GST 纯化标签的融合蛋白通过捕获法（ α -GST 抗体）固定在 CM5 芯片上（图 12A）。使用 Biacore T100 进样 USP4D1-D2，然后检测相互作用。Luna-Vargas 及其同事证实 Ubl 插入片段或单独 Ubl 的结构域与 USP4-D1D2 的亲合力的确与泛素 Ub 蛋白接近。

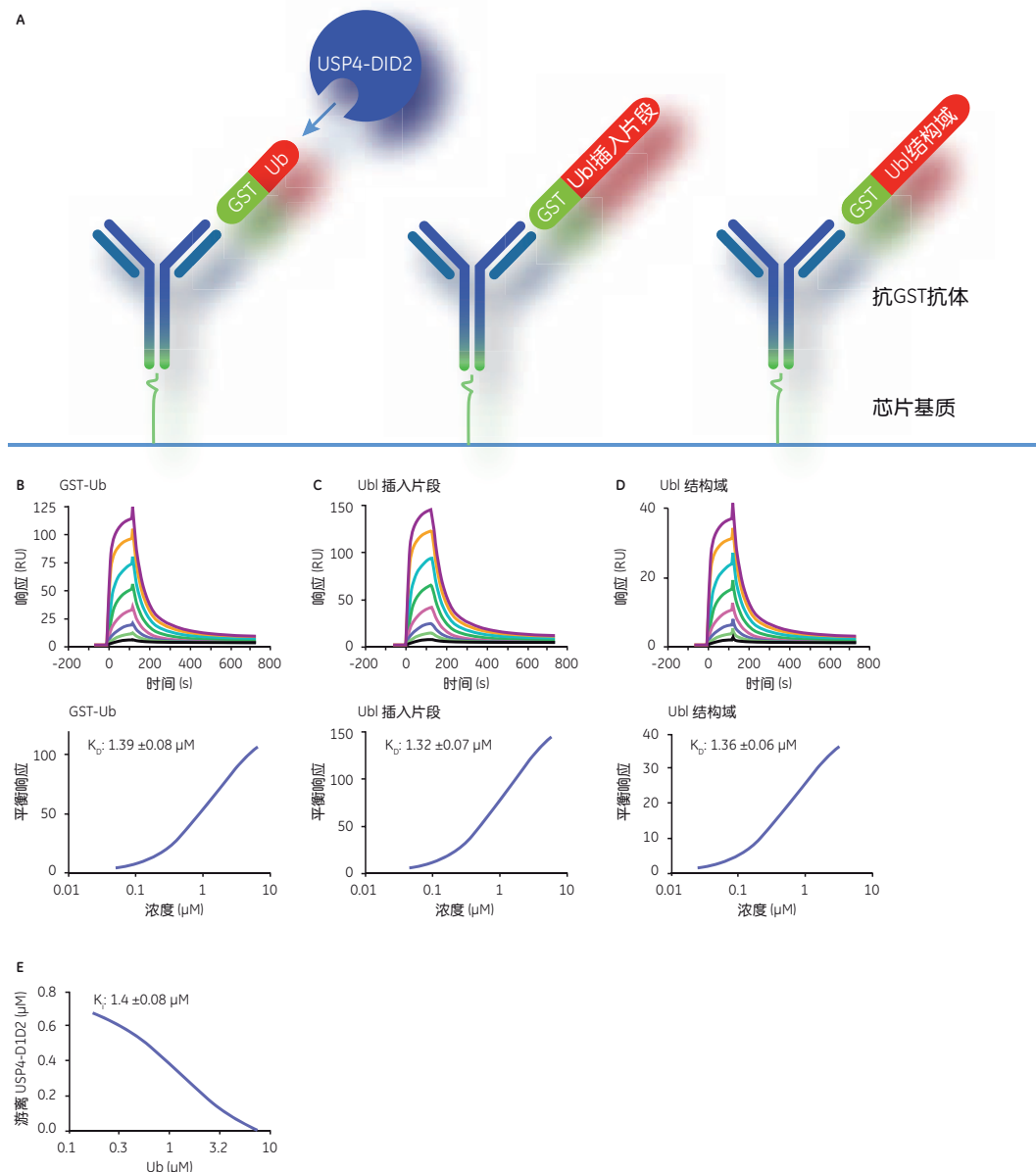


图 12. 泛素与 Ubl 插入片段或 Ubl 结构域竞争与 USP4-D1D2 的结合。(A) GST 融合片段通过捕获法固定在传感芯片上，然后 USP4-D1D2 流过传感芯片表面发生结合。(B-D) 利用 Biacore 分析泛素 Ub、类泛素插入片段与 USP4-D1D2 的相互作用。顶部：(B) 带 GST 标签的 Ub，(C) GST-Ubl 插入片段和 (D) GST-Ubl 结构域。底部：Langmuir 结合曲线。(E) 在 Ubl 插入片段与 USP4-D1D2 的结合实验中，不断提高泛素 Ub 的浓度，表现出明显的竞争关系。通过单位点竞争结合模型拟合数据，获得 $K_i=1.4 \mu\text{M}$ 。(改编自 Luna-Vargas, M. P. et al., *EMBO Rep.* **12**, 365-72 (2011) 的图 3)。

研究 Ubl 与 Ub 之间的位点竞争关系

Biacore 技术可被用于研究生物分子之间的位点竞争关系。在本这个例子中，在 USP4-D1D2 与 Ubl 插入片段的结合分析中，逐渐增加泛素 Ub 的含量，可以看到 Ub 与 Ubl 插入片段之间存在明显的位点竞争关系，彼此竞争与 USP4-D1D2 位点的结合。数据可以用单位点竞争结合模型拟合。

Biacore 数据表明，泛素 Ub 与 D1-Ubl- 插入片段 -D2 的结合速率和解离速率都比与 USP4-D1D2 结合慢。研究人员由此得出结论：Ubl 插入片段的存在阻碍了底物 Ub 与酶的快速结合和快速释放，Ub 与 Ubl 之间存在位点竞争关系。Ubl 结构域和 Ubl 插入片段相似的 K_D 值 (Fig 12B-D) 表明 Ubl 结构域是插入片段的功能性部分。Biacore 数据也发现 Ubl 结构域能够结合到其他去泛素化酶 DUB 的催化位点。Luna-Vargas 及其同事根据实验结果总结了调控模型，去泛素化酶 DUB 部分活性受到 Ubl 结构域的抑制，Ubl 结构域能够与泛素 Ub 竞争与 USP4 的位点结合，从而阻碍与底物 Ub 的结合（图 13）。

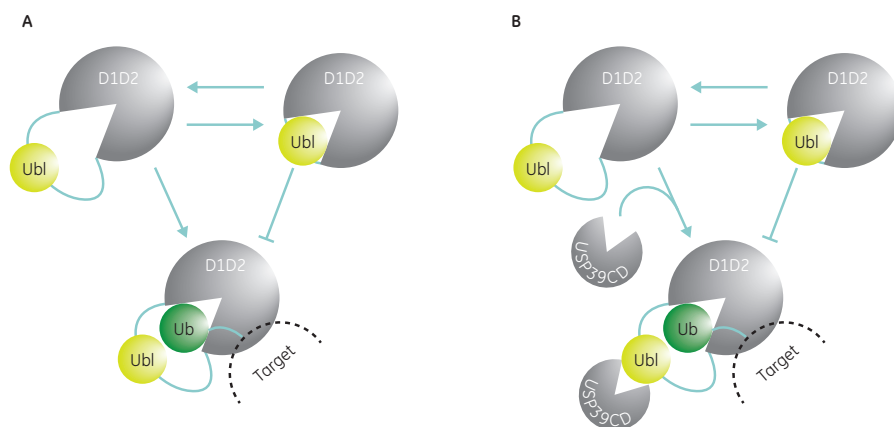


图 13. Ubl 结构域对 USP4 的酶活抑制模型。（A）USP4 中 Ubl 结构域的自我抑制作用的示意模型。（B）其他 USP 酶如 USP39 能够与 Ubl 结构域结合，可以减弱 Ubl 结构域对 USP4 的抑制作用（改编自 Luna-Vargas, M. P. et al., *EMBO Rep.* **12**, 365-72 (2011) 的图 5）。

拓展阅读

Leppänen 及其同事获得了血管内皮生长因子 VEGF-C 与其受体 VEGFR-2 的共结晶结构（2）。作者使用 Biacore 2000 并结合其它方法测定了 VEGF-C 与各种 VEGFR-2 重组受体蛋白之间的结合常数。结合数据帮助他们解释了 VEGF 与它们的受体之间高亲和力的相互作用。

Boivin 及其同事已经分析了流感 A 病毒聚合酶的 PB2 亚基的适应性突变，以及这种突变对病毒蛋白与宿主负责核输入的 importin 蛋白的相互作用的影响。Biacore 技术能够清晰地分辨 P2B 结构域与宿主 importin 蛋白之间的结合和解离过程（3）。

参考文献

1. Luna-Vargas, M. P. et al. Ubiquitin-specific protease 4 is inhibited by its ubiquitin-like domain. *EMBO Rep.* **12**, 365-72 (2011).
2. Leppänen, V-M. et al. Structural determinants of growth factor binding and specificity by VEGF receptor 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 2425-2430 (2010).
3. Boivin, S. and Hart, D. J. Interaction of the Influenza A Virus Polymerase PB2 C-terminal Region with Importin α Isoforms Provides Insights into Host Adaptation and Polymerase Assembly. *J. Biol. Chem.* **286**, 10439-10448 (2011).

新药发现与开发

通过新药发现与开发能够有效地从复杂的候选分子库，杂交瘤库中，或从混合物样品中发现有价值的活性组分。

面对候选分子库或杂交瘤库的规模，研究人员通常需要在分析通量（分析的样品量）和信息丰富度（帮助评判分子候选物的各种信息）之间选择平衡的方法。

通常首先采用简单的方法来确认究竟是否存在相互作用。然后，通过首轮的首选分子可以通过分辨率更高但通量相对较低的方法来详细分析。例如，在新药发现与开发中，一般会寻找那些具有快结合速率、慢解离速率的相互作用物。

在这一节中，我们将详细介绍 Biacore 系统如何在新药发现与开发中发挥重要作用。

从化合物库中发现先导化合物

对先导化合物的搜索可以建立在模拟已知结构的基础上。Merck 研究实验室的 Caulfield 及其同事采用 Biacore 技术寻找具有快结合速率（模拟瞬时的融合中间体）的先导化合物。科学家认为在 HIV-1 的外膜蛋白 gp41 上存在一个高度保守的疏水口袋，而这个口袋能够被对 HIV-1 产生中和效应的人单克隆抗体 D5 所识别。研究人员希望找到一种模拟 gp41 疏水口袋、而且能被 D5 抗体所识别的小分子。这样的小分子就可以在人体内刺激产生类似于 D5 的抗体。进一步这些小分子可以通过偶联产生新的疫苗，用以取代目前效果有限的以肽类似物为基础的疫苗。

缩小分析范围

在首轮筛选中采用竞争法来筛选那些能够竞争性抑制抗体 D5 与 5-螺旋（模拟疏水口袋）结合的化合物。通过对 150 万个小分子化合物的筛选，获得超过 5000 个 hits。采用反过来的竞争方法又排除了大多数 hits 为非特异性抑制，只留下 154 个用于下一步研究。

采用 Biacore 精确筛选获得模拟分子

首轮筛选获得的 hits 被进一步分为两组：第 I 组化合物能够与疏水性口袋结合，而第 II 类化合物模拟口袋本身。Caulfield 及其同事采用 Biacore 技术对这些化合物进行分析归类。测试了候选化合物与多种蛋白之间的结合：单克隆抗体 D5，口袋模拟物 5-螺旋，对照 6-螺旋（缺失疏水口袋的 5-螺旋），以及非特异性对照 IgG1。蛋白通过氨基偶联的方法固定在芯片上，然后使用 Biacore A100 流过化合物分析相互作用（图 14）。研究人员筛选获得了大约 120 个分子能够特异地结合单克隆抗体 D5，而且与阴性对照（IgG1 和 6-螺旋）不结合。这些能够模拟疏水口袋（II 类）的分子，进一步获得动力学结果。

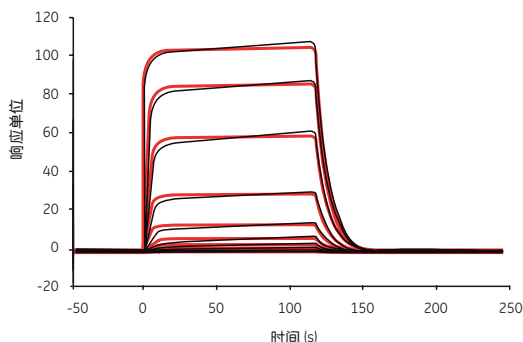


图 14. 通过高通量筛选获得的化合物的动力学曲线。采用 Biacore 技术分析化合物与 5-螺旋、6-螺旋、单克隆抗体 D5 以及阴性对照抗体之间的结合。Biacore A100 的多分析位点设计能够平行分析化合物和几种蛋白的相互作用。在测试的 $2\ \mu\text{M}$ 或 $20\ \mu\text{M}$ 浓度下，没有观察到化合物与 5-螺旋、6-螺旋或 IgG1 之间的结合（数据没有显示）。相反，化合物能够特异地结合 D5，拟合动力学曲线获得亲和力 K_D 值为 $2.4\ \mu\text{M}$ 。（改编自 Caulfield, M.J. et al., *J. Biol.Chem.* **285**, 40604-40611 (2010) 的图 S1）。

研究人员根据这些疏水口袋类似化合物的动力学特征进一步筛选（图 15），希望获得那些具有快速的结合速率和缓慢的解离速率的化合物。有价值的化合物被用作半抗原，而 Biacore 技术可以继续用于验证这些经过修饰的形式仍然可以结合 D5 抗体。半抗原与蛋白质载体相偶联使其具有免疫原性，然后用于免疫小鼠。科学家进一步验证了这种筛选方法的有效性：筛选获得的这些半抗原分子能够被人血浆中具有中和 HIV-1 的类 D5 抗体所识别并结合。

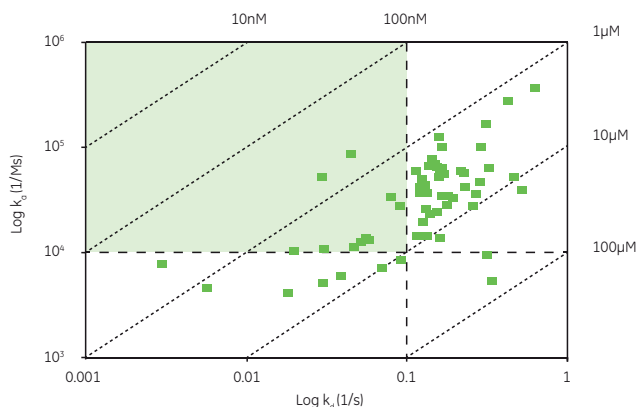


图 15. 采用 Biacore 技术高通量筛选能够与 D5 抗体结合小分子，以获得有价值的半抗原结构，结合速率 - 解离速率图（On-off map）。希望获得的具有快结合、慢解离的动力学属性的化合物位于左上角区域内（绿色）。对角线为等亲和力线（改编自 Caulfield, M.J. et al., *J. Biol. Chem.* **285**, 40604 – 40611 (2010) 的图 3A）。

拓展阅读

新药发现与开发既可以用于研究配体与受体的之间的相互作用，也可以研究影响相互作用的条件。Rich 及其同事在研究一种细胞因子受体 5 型（CCR5，膜结合 GPCR）与 Fab 之间的相互作用时筛选了 96 种表面活性剂对结合的影响，同时比较了两种 Biacore 系统，Biacore 2000 和 Biacore Flexchip 之间的差异（2）。串行设计的 Biacore 2000 灵敏度更高，而且能够对不同通道上的受体固定水平进行归一化。而 Biacore Flexchip 可以在一轮分析中处理所有 96 个样品，但受灵敏度限制只能分析大分子。这两个系统相互补充，可以有效地发现那些能够保持 CCR5 可溶性和活性的表面活性剂。

Biacore 高通量筛选能够产生了大量数据，因此迫切要求高效的数据分析能力。Elinder 及其同事在使用 Biacore A100 筛选针对 4 种临床相关的 HIV-1 逆转录酶的变体（野生型和 3 种药物耐受型）的 800 种抑制剂候选物时，开发了一种高效的数据分析方法用于处理所获得的大量传感图。目标是发现能够与所有四种酶变体都具有高亲和力和慢解离速率的候选化合物。研究人员根据解离阶段三个时间点的数据对候选物进行筛选。然后对筛选获得的有价值候选化合物的传感图进一步详细研究（3）。

Madeira 及其同事（4）结合了 Biacore 技术和质谱技术（MS）来筛选蛋白质-蛋白质相互作用。他们将药物 FK506（一种免疫抑制药物）的受体 FKBP-12 蛋白固定在传感芯片 CM5 上。然后使用 Biacore 3000 进样脑组织抽提物并监测相互作用。能够与 FKBP-12 相互作用的蛋白质被自动回收，胰酶消化后使用 MS 鉴定。这种方法相比 pull-down 方法和酵母双杂交系统具有诸多优势：不需要蛋白质标记或修饰，而且不被限制于酵母细胞核中的蛋白质相互作用。

新药发现与开发也可以用于免疫原性分析。Otelixizumab 是一种经过基因工程改造的 CD3 抗体，被开发用于 I 型糖尿病和其他自身免疫性疾病的治疗。Hale 及其同事已经使用 ELISA 和 Biacore 技术测定给药期间抗药抗体的产生（5）。在基于 SPR 的检测法中，采用 Biacore 3000 GxP 将 Otelixizumab 固定在 CM5 传感芯片上，然后检测病人血清中是否存在抗药抗体。Biacore 技术比 ELISA 方法更加灵敏，而且可以被用于表征抗药抗体的理化属性。

以往，研究人员经常被迫使用间接的方法来筛选先导化合物，然而，Biacore 技术能够提供更直接的方法。Navratilova 及其同事采用 Biacore 4000 直接测定 GPCR 蛋白 - 配体相互作用，而不需要借助于结合位点或信号通路（6）。他们使用 CCR5- 配体相互作用作为模型系统：CCR5 通过纯化标签以捕获的方法固定在 CM4 传感芯片上，而参比通道则用来鉴别非特异性结合。

参考文献

1. Caulfield, M.J. *et al.* Small Molecule Mimetics of an HIV-1 gp41 Fusion Intermediate as Vaccine Leads. *J. Biol. Chem.* **285**, 40604–40611 (2010).
2. Rich, R.L. *et al.* Detergent screening of a G-protein-coupled receptor using serial and array biosensor technologies. *Anal. Biochem.* **386**, 98–104 (2009).
3. Elinder, M. *et al.* Screening for NNRTIs with Slow Dissociation and High Affinity for a Panel of HIV-1 RT Variants. *J. Biomol. Screening* **14**, 395–403 (2009).
4. Madeira, A. *et al.* Coupling surface plasmon resonance to mass spectrometry to discover novel protein-protein interactions. *Nat. Protoc.* **4**, 1023–1037 (2009).
5. Hale, G. *et al.* Pharmacokinetics and Antibody Responses to the CD3 Antibody Otelixizumab Used in the Treatment of Type 1 Diabetes. *J. Clin. Pharmacol.* **50**, 1238–1248 (2010).
6. Navratilova, I. *et al.* Screening for GPCR Ligands Using Surface Plasmon Resonance. *ACS Med. Chem. Lett.* **2**, 549–554 (2011).

采用 Biacore 快速筛选单克隆抗体

采用捕获方法在同一张 Biacore 芯片完成所有的单抗筛选

由兔源 B 细胞产生的抗体浓度较低，因此在通过结合动力学性质筛选与肽段或小分子亲和力更高的单抗候选物时，要求检测设备具备较高的灵敏度。抗体筛选的另一个挑战在于面对大量的筛选候选物，如何快速高效地完成筛选工作和筛选后所获得数据的分析。

本文采用了高灵敏度的 Biacore T200 完成了大量兔源 B 细胞单抗候选物的动力学筛选。通过捕获的方法，将抗抗体偶联在芯片表面，直接捕获混合物中的单抗，然后再流过抗原测定抗体 - 抗原直接的结合动力学性质。采用捕获的方式，既避免了大量抗体候选物的纯化过程，也可以在同一张芯片上完成项目所有样品的筛选工作，极大地降低了筛选的成本（图 16）。在本文工作中，24 小时内完成了 130 个单抗候选物对 3 种不同抗原的动力学筛选工作（图 17）。

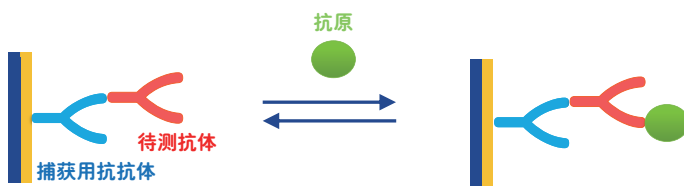


图 16. 将羊源的抗兔 Fc 抗体固定在 CMS 芯片上，直接捕获抗体候选物，再流过不同的抗原完成动力学检测，检测后通过再生更换新的抗体和抗原。

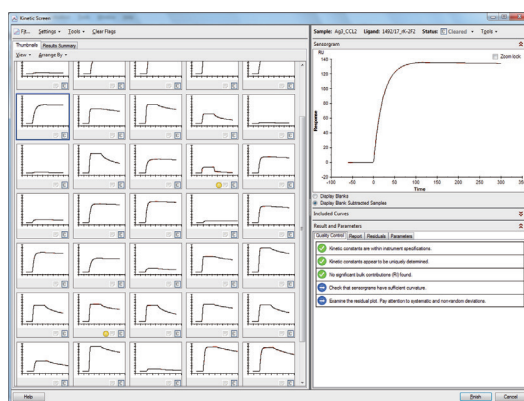


图 17. 采用 Biacore T200 24 小时完成了 130 个抗体候选物对三种抗原的动力学筛选，快速获得结合最稳定的抗体候选物。

Brian Lang¹, Michael Schröml², Leopold von Proff², Pelle Lidström¹ and Olof Karlsson¹

¹GE Healthcare, Uppsala, Sweden ²Roche Professional Diagnostics, Penzberg, Germany

阻断病毒蛋白 - RNA 结合

别构配体对病毒的 RNA - 蛋白质互作的抑制作用

目前全球的科学家正在通过多种途径寻求控制丙肝病毒（HCV）感染的方法。其中之一就是寻找到抑制剂阻断病毒聚合酶进行的 RNA 合成，从而终止整个感染的发生。科学家使用 Biacore X100 系统分析分析了两种别构抑制剂（filibuvir 和 VX-222）对 HCV 聚合酶与单链 RNA 链之间的相互作用的抑制效果。将链霉素亲和素固定在 CM5 芯片上，固定水平在 200-240 RU 之间，然后捕获带生物素链的 RNA。进样 HCV 聚合酶（单独或混合抑制剂），然后观察抑制剂对结合的抑制效果。实验结果显示，无论是 Filibuvir 还是 VX-222 都能够显著地降低最高结合量（图 6）。这表明抑制剂能够干扰聚合酶 - RNA 间相互作用，并且抑制作用不受进样顺序的影响。

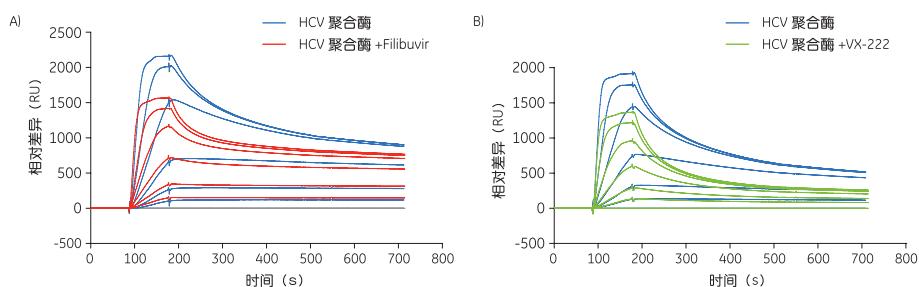


图 6. Biacore 传感图显示抑制剂能够明显降低 HCV 聚合酶与 RNA 之间的相互作用。

目前这两种抑制剂正处于临床试验的阶段，Biacore 提供的直观数据从分子水平证实了这两种别构抑制剂能够干扰 HCV 聚合酶与底物 RNA 的结合。同时，这一成果也为未来筛选和设计新型别构 HCV 聚合酶抑制剂提供了理论基础。

Seeger, C. *et al.* Kinetic and mechanistic differences in the interactions between calmodulin and calmodulin with AKAP79 suggest different roles in synaptic function. *Jmol Recognit* 10, 495-503 (2012).

Data provided courtesy of Professor Helena Danielson Department of Chemistry-BMC, Uppsala University, Uppsala, Sweden.



关于GE医疗集团

GE医疗集团通过提供创新性的医疗技术和服 务，步入医疗护理的新时代。我们在医学成像、信息技术、医疗诊断、患者监护系统、药物研发、生物制药技术、卓越运营和整体运营解决方案等领域拥有广泛的专业技术，能够帮助客户以更低的成本为全世界更多的人提供更优质的服务。此外，我们还和医疗行业领袖一道，正努力通过全球政策，打造成功的、可持续的医疗体系。

我们的“健康创想”愿景普及全球。我们不断通过创新在世界范围内推动降低医疗成本、增加医疗机会、提高医疗质量。GE医疗集团总部设在英国，是通用电气公司 (纽约证券交易所：GE) 下属的业务集团之一。GE医疗集团的员工分布于全球100多个国家和地区，致力于为医疗专业人士和患者服务。欲了解更多有关GE医疗集团信息，请致电客服热线或访问公司网站。

www.gelifesciences.com.cn

咨询热线：800-810-9118 400-810-9118

GE医疗中国

北京办公室

北京市经济技术开发区

永昌北路1号

邮政编码：100176

电话：010-58068888

传真：010-67873597

上海办公室

上海市浦东新区张江高科技园区

华佗路1号

邮政编码：201203

电话：021-38777888

传真：021-38777499

广州办公室

广州市天河区珠江新城花城大道87号

通用电气大厦10楼

邮政编码：510623

电话：020-38157777

传真：020-38157797

成都办公室

成都市高新西区西芯大道3号

创智联邦3号楼

邮政编码：611731

电话：028-62722345

传真：028-62722466

© [2016] 通用电气公司 (General Electric Company) GE, GE Monogram, imagination at work 是通用电气公司 (General Electric Company) 的商标。

未经通用电气 (GE) 公司事先的书面许可，不得以任何方式进行复制或再造。该资料中任何内容不应被使用于诊断或治疗任何的病情或疾病。读者请务必咨询医疗卫生专业人士。

通用电气 (GE) 公司有权在任何时候，在不另行通知的情况下，不负有任何义务地对上述规格和性能等进行更改，并有权终止该产品的供应。详情请与您当地的 GE 业务代表联系。

禁忌内容或者注意事项详见说明书。

Zinc No.: JB39362CN.

(本资料仅限科研或工业使用)