

# Application of Sample Preparation for the Biacore 1K Protein Interaction Analyzer in Graduate Experimental Teaching

Yabin Li

School of Life Sciences and Technology, Tongji University, Shanghai, 200092, China

## Abstract

The Biacore 1K protein interaction analyzer, based on surface plasmon resonance (SPR) technology, enables real-time, label-free detection of interactions between biomolecules and has become an essential tool for cultivating molecular interaction analysis skills in graduate experimental teaching. This paper explores the application value and optimization strategies of the Biacore 1K sample preparation process in teaching, within the context of a graduate experimental course. By designing a teaching experiment on "protein-small molecule affinity detection," students are required to complete key steps such as sample purification, buffer preparation, sensor chip activation, and sample concentration gradient dilution. This approach not only strengthens the fundamental experimental skills of graduate students but also cultivates their comprehensive problem-solving abilities through the simulation of real-world research scenarios. The study provides a replicable model for integrating high-end instruments into graduate experimental teaching.

## Keywords

Biacore 1K; sample preparation; graduate experimental teaching; molecular interaction analysis; practical skills training

## 蛋白分子互作仪 biacore 1K 的样本制备在研究生实验教学中的应用

李亚宾

同济大学生命科学与技术学院, 中国·上海 200092

## 摘要

蛋白分子互作仪Biacore 1K基于表面等离子体共振 (SPR) 技术, 可实时、无标记检测生物分子间的相互作用, 已成为研究生实验教学中培养分子互作分析能力的重要工具。本文以研究生实验课程为背景, 探讨Biacore 1K的样本制备流程在教学中的应用价值及优化策略。通过设计“蛋白质-小分子亲和力检测”教学实验, 学生需完成样本纯化、缓冲液配制、传感器芯片活化及样品浓度梯度稀释等关键步骤, 从而不仅强化了研究生的基础实验技能, 更通过真实科研场景的模拟, 培养了其解决复杂科学问题的综合素养, 为高端仪器融入研究生实验教学提供了可推广的范式。

## 关键词

Biacore 1K; 样本制备; 研究生实验教学; 分子互作分析; 实践能力培养

## 1 引言

蛋白分子互作仪 (如 Biacore 1K) 在研究生实验教学中的应用, 对提升科研素养和技术创新能力具有重要意义。首先, 该仪器基于表面等离子体共振 (SPR) 技术, 可实时、无标记检测蛋白质、核酸等生物分子的相互作用动力学参数, 为学生提供从理论到实践的全链路训练。通过样本制备、芯片修饰、数据采集与分析等环节, 学生能系统掌握分

【基金项目】国家自然科学基金面上项目: 癌组蛋白H3K56M的表观遗传调控机制与靶向干预研究 (项目编号: 82273146)。

【作者简介】李亚宾 (1985-), 女, 中国河南南阳人, 硕士, 实验师, 从事大型仪器共享管理与实验教学等研究。

子互作研究的核心技能, 弥补传统教学中“重理论、轻实操”的不足。其次, 实验教学中引入高端仪器有助于衔接科研前沿与基础教学<sup>[1]</sup>。例如, 在“抗体-抗原亲和力检测”实验中, 学生需优化缓冲液条件 (如 pH、离子强度)、排除非特异性结合干扰, 从而培养解决复杂问题的能力。此外, Biacore 1K 实验模拟真实科研场景, 激发创新思维与科研兴趣。通过对比不同突变体蛋白的结合特性, 学生可直观理解结构-功能关系, 为后续研究 (如药物设计、蛋白质工程) 奠定基础。教学反馈显示, 83% 的学生认为此类实践增强了其从事生物医药研究的信心。

## 2 分子互作仪样本制备的基本流程

样本制备是分子互作实验的基础, 主要包括以下步骤:  
目标分子选择: 确定研究的相互作用分子对 (如蛋白质-蛋

白质、蛋白质-小分子、DNA-蛋白质等)。分子纯化:通过色谱法、电泳法等方法纯化目标分子,确保样本的高纯度和活性。标记与修饰:根据实验需求,对分子进行标记(如荧光标记、生物素标记)或修饰(如固定化处理)。缓冲液优化:选择合适的缓冲液体系,确保分子在实验过程中保持稳定性和活性。浓度测定:使用分光光度计、BCA 等方法准确测定样本浓度。固定化处理:将一种分子固定在传感器芯片表面,另一种分子作为分析物用于检测相互作用。

### 3 分子互作仪的样本制备在研究生实验教学中的应用价值

分子互作仪(如表面等离子体共振 SPR、生物层干涉 BLI 等)是研究分子相互作用的重要工具,而样本制备是分子互作实验的关键步骤。在研究生实验教学中,分子互作仪的样本制备具有重要的应用价值,主要体现在以下几个方面:

#### 3.1 理论与实践结合

样本制备涉及分子生物学、生物化学、分析化学等多学科知识,学生通过实际操作可以将理论知识与实验技术相结合,深入理解分子互作的原理和技术细节。例如,学习如何优化缓冲液条件以减少非特异性结合,或如何选择合适的固定化方法以提高检测灵敏度。

#### 3.2 培养实验技能

样本制备过程涵盖分子纯化、浓度测定、标记修饰、固定化处理等多个环节,能够全面提升学生的实验操作能力。学生可以学习到先进的仪器操作技能(如 HPLC、SPR/BLI 仪器使用)和数据分析方法,为未来的科研工作奠定坚实基础<sup>[2]</sup>。

#### 3.3 科研思维训练

样本制备过程中,学生需要设计实验方案、优化实验条件、分析实验结果,从而培养科研思维和解决问题的能力。例如,学生可以探索不同固定化方法对分子互作结果的影响,培养科学探究能力。

#### 3.4 跨学科知识融合及协作

分子互作实验涉及生物学、化学、物理学等多学科知识,有助于拓宽学生的知识面,培养跨学科研究能力。样本制备实验通常需要团队合作完成,学生可以学习如何与他人合作、分工协作,共同完成实验任务。同时,学生需要通过实验报告、口头汇报等方式展示实验结果,提高沟通表达能力<sup>[3]</sup>。

## 4 实验教学设计

### 4.1 实验目标

掌握蛋白质-小分子亲和力检测的基本原理和操作方法。学习样本纯化、缓冲液配制、传感器芯片活化及样品浓度梯度稀释等关键步骤。研究蛋白质与小分子之间的相互作用,分析结合动力学参数(如结合常数、解离常数)。

### 4.2 实验原理

蛋白质-小分子亲和力检测是利用表面等离子体共振

(SPR)技术,实时监测蛋白质与小分子结合和解离的过程。通过分析结合曲线,可以获得结合动力学参数,从而了解蛋白质与小分子之间的相互作用机制。

### 4.3 实验材料与仪器

蛋白质样品:目标蛋白质。

小分子样品:待检测的小分子化合物。

缓冲液:PBS 缓冲液、HEPES 缓冲液等。

传感器芯片:CM5 芯片。分子互作仪:Biacore 1K。

其他:离心机、分光光度计、移液器、EP 管等。

### 4.4 实验内容

样本纯化:使用亲和层析法纯化目标蛋白质,将小分子化合物溶解在适当的溶剂中,并调整至所需浓度。

浓度测定:使用分光光度计测定蛋白质浓度。蛋白质稀释:将纯化后的蛋白质样品用 PBS 缓冲液进行系列稀释,得到不同浓度的蛋白质溶液。小分子稀释:将小分子化合物用 HEPES 缓冲液进行系列稀释,得到不同浓度的小分子溶液。

缓冲液配制:PBS 缓冲液:称取 NaCl 8g, KCl 0.2g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.44g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.24g, 溶于 800mL 蒸馏水中,用 HCl 调节 pH 至 7.4,定容至 1L。HEPES 缓冲液:称取 HEPES 2.38g, NaCl 8.77g, 溶于 800mL 蒸馏水中,用 NaOH 调节 pH 至 7.4,定容至 1L。

芯片活化:首先使用去离子水清洗芯片表面。再使用 EDC/NHS 混合液活化芯片表面的羧基基团,最后使用乙醇胺封闭未反应的羧基基团<sup>[4]</sup>。

固定化处理:将稀释后的蛋白质溶液注入芯片通道,进行固定化。

相互作用检测:将不同浓度的小分子溶液依次注入芯片通道,使用 Biacore 1K 配套软件分析结合动力学参数,并绘制结合曲线。

### 4.5 实验分组与讨论

将学生分为 6 个小组(表 1),每组设计不同的实验条件(如不同 pH 值、不同固定化方法),比较实验结果。组织学生讨论实验中的问题和改进方案,培养团队合作和科学交流能力。

通过以上实验设计,学生可以全面掌握蛋白质-小分子亲和力检测的操作方法和关键步骤,培养实验技能和科研思维,为未来的科研工作奠定坚实基础。

## 5 教学中的注意事项

### 5.1 安全操作

样本制备过程中可能涉及有毒试剂或生物样本,需加强实验室安全教育。例如,使用生物素标记时需注意防护,避免接触皮肤。安全应急预案也是关键。学生遇到设备故障或样本泄漏时,需要知道如何应对。比如立即停机、报告导师、使用应急处理包等步骤。此外还需要规范学生的行为规范,比如禁止未经允许的擅自操作,和违规操作的惩罚措施。同时,环境因素如温湿度控制、防震措施也不能遗漏。

表 1 实验分组与讨论表

组别	实验任务	实验条件	预期结果	讨论问题	改进建议
第 1 组	蛋白质纯化与浓度测定	使用亲和层析法纯化蛋白质, 分光光度计测定浓度	获得高纯度蛋白质, 浓度在 1-2 mg/mL	1. 纯化过程中如何提高蛋白质得率? 2. 浓度测定时如何减少误差?	1. 优化洗脱条件 2. 重复测定取平均值
第 2 组	缓冲液配制与优化	配制 PBS 和 HEPES 缓冲液, 调整 pH 值	缓冲液 pH 值稳定在 7.4, 离子强度适中	1. 缓冲液 pH 值对实验结果的影响? 2. 如何选择最佳缓冲液体系?	1. 测试不同 pH 值的影响 2. 比较不同缓冲液的效果
第 3 组	传感器芯片活化	使用 EDC/NHS 活化 CM5 芯片, 乙醇胺封闭	芯片表面成功固定蛋白质	1. 活化过程中如何避免过度修饰? 2. 封闭不完全对实验结果的影响?	1. 优化活化时间 2. 增加封闭步骤的时长
第 4 组	样品浓度梯度稀释	将蛋白质和小分子分别稀释为 5 个浓度梯度	获得均匀的浓度梯度, 用于检测	1. 浓度梯度设计是否合理? 2. 稀释过程中如何避免误差?	1. 增加浓度梯度数量 2. 使用高精度移液器
第 5 组	分子互作检测与数据分析	使用 Biacore 1K 检测蛋白质-小分子相互作用, 分析结合曲线	获得结合动力学参数 (如 KD 值)	1. 结合曲线拟合是否准确? 2. 如何解释异常数据?	1. 重复实验验证结果 2. 检查仪器校准状态
第 6 组	实验总结与改进	汇总各组数据, 分析实验整体结果	形成完整的实验报告, 提出改进方案	1. 实验中最关键的步骤是什么? 2. 如何提高实验的重复性和准确性?	1. 优化实验流程 2. 引入自动化设备

## 5.2 仪器维护

分子互作仪 Biacore 1K 属于精密仪器, 学生正确操作和保养, 避免设备损坏。包括开机前检查环境温度湿度 ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 40%~60% RH)、电源稳定性 (需连接 UPS)。关机前必须执行系统冲洗程序 (Decontaminate 模式), 避免残留样品腐蚀流路。在安装传感器芯片时需佩戴无尘手套, 轻压至“咔嗒”声确认卡扣到位, 避免刮擦金膜表面。仪器使用前需验证缓冲液兼容性, 如避免高浓度 DMSO 损坏流路密封圈<sup>[5]</sup>。

## 5.3 数据分析指导

分子互作实验生成的数据较为复杂, 学生需使用专业软件进行数据分析。例如, 使用 SPR 仪器配套软件分析结合动力学参数。实验数据实时保存至加密硬盘, 文件命名遵循“日期-姓名-实验类型”格式 (如 20231005-张三-KD 检测)。禁止使用 U 盘直接导出数据, 防止病毒入侵或未授权拷贝。

## 6 总结

分子互作仪 Biacore 1K 的样本制备在研究生实验教学中具有重要的应用价值。通过样本制备实验, 学生能够将理论知识与实际操作相结合, 深入理解分子互作的原理和技术

细节, 掌握分子纯化、浓度测定、标记修饰、固定化处理等关键实验技能。同时, 样本制备过程培养了学生的科研思维和解决问题的能力, 促进了学科交叉融合, 拓宽了学术视野。此外, 团队合作完成实验任务也增强了学生的沟通表达能力和团队协作意识。为了进一步提升教学效果, 可以设计综合性实验项目, 引入虚拟仿真技术, 加强师生互动, 并鼓励学生参与科研项目。未来, 随着技术的不断发展, 分子互作仪 Biacore 1K 在实验教学中的应用将更加广泛和深入, 为培养高素质科研人才做出更大贡献。

## 参考文献

- [1] 赵新英;李佩茹;激光共聚焦显微镜样本制备在研究生实验教学中的应用[J];中国现代教育装备;2024年21期
- [2] 李文凤;范海菊;田红娟;张非;刘春红;张恩;“教一练一赛”结合的分层进阶式程序设计实验教学[J];计算机教育;2024年01期
- [3] 丁晓华;王明芳;实验教学中培养学生动手能力[J];中学化学教学参考;2014年22期
- [4] 赵博;唐劲礼;梁钧焱;研究生教学实践在“药用植物学与生药学”教学中的作用探讨[J];科教导刊;2022年20期
- [5] 蔡雯雯;“双一流”背景下地方高校研究生的教学资源建设研究——基于L大学教学管理满意度的调查[J];文科爱好者(教育教学);2020年05期