



< 抗体職人プロジェクト概要シート >

1、作製する抗体

ヒト由来とマウス由来のタンパク質の相同領域を認識する抗体。

2、設定する抗原

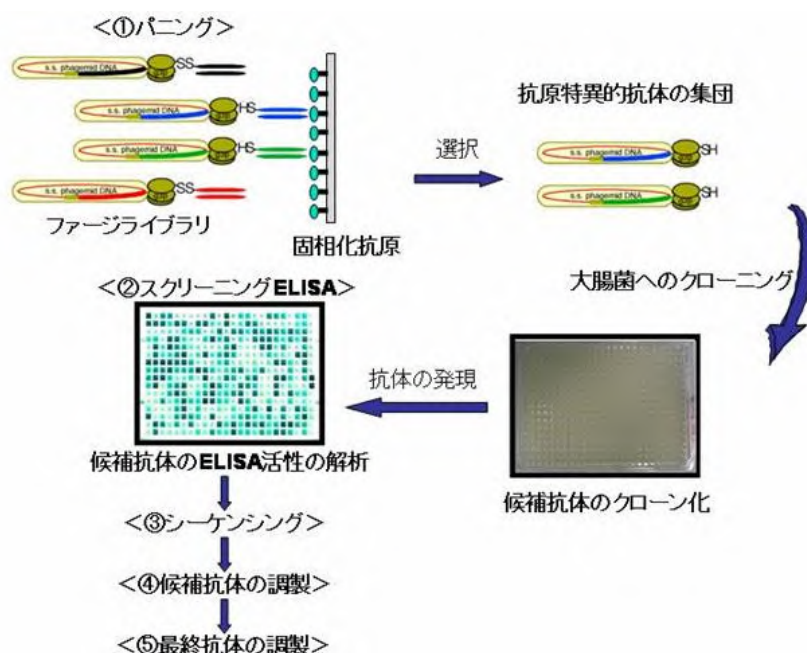
第1のタンパク質：ヒト由来 <パニング及び ELISA で使用>

- a. 必要量：0.5mg
- b. 性状：水溶液に可溶性（バッファーは PBS を使用し、界面活性剤や還元剤、BSA 等の添加物は不可）
- c. 濃度：150 μ g/mL 以上
- d. 純度：80% 以上（3 μ g のサンプルを還元条件下 SDS-PAGE のクーマシー染色により判定）
- e. 特記事項：・染色したゲル写真の貼付をお願いいたします。
特定のタグなどが付加されている場合は事前にお知らせください。

第2のタンパク質：マウス由来 <パニング及び ELISA で使用>

- a. 必要量：0.5mg
- b. 性状：水溶液に可溶性（バッファーは PBS を使用し、界面活性剤や還元剤、BSA 等の添加物は不可）
- c. 濃度：150 μ g/mL 以上
- d. 純度：80% 以上（3 μ g のサンプルを還元条件下 SDS-PAGE のクーマシー染色により判定）
- e. 特記事項：・染色したゲル写真の貼付をお願いいたします。
特定のタグなどが付加されている場合は事前にお知らせください。

3、抗体作製の流れ



< パニング >

抗体提示ファージライブラリ (HuCAL PLATINUM) から、第1のタンパク質に結合するファージを選択する。第2のタンパク質への反応と、反応しないファージのPBS及びPBSTによる洗浄、反応したファージの回収と増幅を3回繰り返す。

第1ラウンド： 第1のタンパク質を抗原として使用する。

第2ラウンド： 第2のタンパク質を抗原として使用する。

第3ラウンド： 第1ラウンドに同じ。

< スクリーニングELISA >

のパニングで得られたファージの抗体遺伝子を大腸菌で発現させ、得られた抗体クローンの抗原に対するスクリーニングを、以下の2枚のプレートを用いたELISAで行う。

プレート1： 第1のタンパク質を固定する。

プレート2： 第2のタンパク質を固定する。

プレート1と2においてELISA陽性 (ELISAシグナルがバックグラウンドに対して3倍以上)となるクローンをスクリーニングする。

< シーケンシング >

のスクリーニング ELISA にて陽性となった抗体クローンは、クローンに重複がある可能性があるため、ランダムに選択したクローンのシーケンシングを行いクローンに重複がないように選定する。

通常のサービスでは 10 クローンのシーケンシングを行います。追加のシーケンシングをご希望の場合は 10 クローンにつき定価 5 万円（税別）で承ります。

< 候補抗体の調製 >

のシーケンシングにてそれぞれ独立したクローンであることが確認された抗体クローンを大腸菌で発現させ、精製したものを候補抗体とする。得られた候補抗体（最大 5 クローン）は、抗原への反応性を、以下の ELISA にて検証する（QC ELISA）。

プレート 1：第 1 のタンパク質を固定する。

プレート 2：第 2 のタンパク質を固定する。

候補抗体の納品基準

プレート 1 と 2 に対する ELISA シグナルが、バックグラウンドに対して 5 倍以上であること。

納品させていただく候補抗体のフォーマット

2 価の Myc-His タグ付きヒト Fab 抗体

（ お選びいただけます <http://www.genefrontier.com/products/kotai/formats.html> ）

《**パニング開始から候補抗体の納品までは、最短で 7 週間となります。**》

5 クローンを超える候補抗体が得られた場合、候補抗体の追加をご希望の場合は 1 クローンにつき 5 万円（税別、200µg ずつ）で承ります。

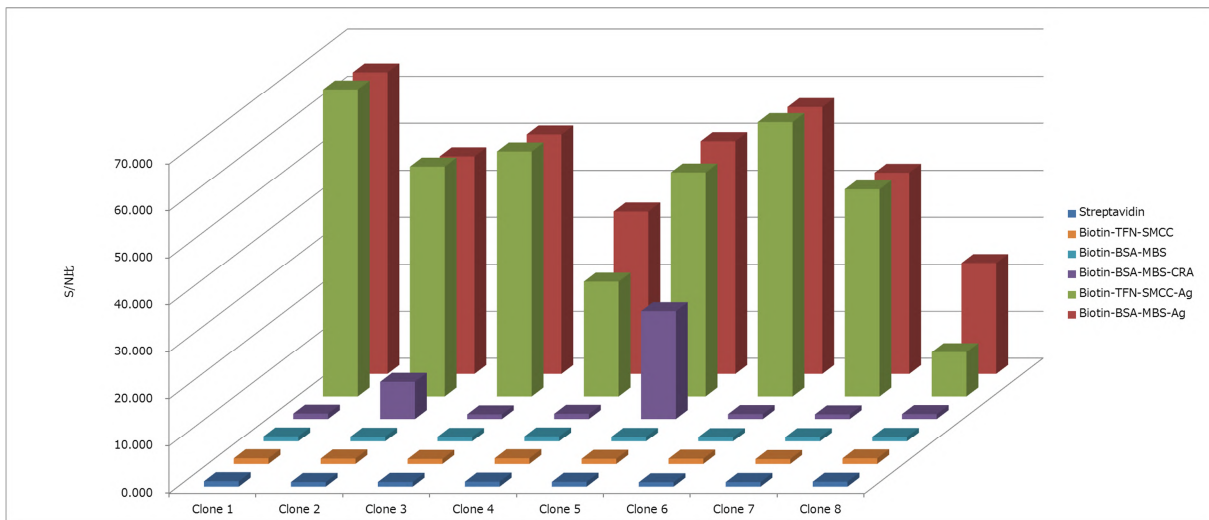
< 最終抗体の調製 >

の候補抗体の中から選択いただいた 1 クローン（最終抗体）を、1mg 追加で発現、精製し、最終抗体の納品を以てサービスを完了とする。

最終抗体納品と同時に納品させていただきます追加注文分の最終抗体は、1mg あたり 7 万円（税別）で承ります。

最終抗体クローンは 5 年間保存いたしますので、その間、何度でも追加調製が可能です。追加調製をご用命いただく場合は 15 万円/mg（税別）で承ります（2mg 以降は 7 万円/mg（税別））。

4、QC ELISA の結果 (例)



5、応用編

抗原にペプチドを用いることで、より配列を絞り込んでパニングを行うことができます。パニングのラウンドごとに抗原をペプチドとタンパク質の交互で行うことができます。また、スクリーニングの段階で、抗原の種類を増やすこともできます。