

# 抗体評価データベースのご紹介

# 抗体の質をめぐる問題

# 市販抗体をめぐるさまざまな問題

## サプライヤーの問題

- 特性解析が不十分な抗体の販売
- 情報の非開示
- 情報フォーマットの不均一性
- OEM製品の反乱

## ユーザーの問題

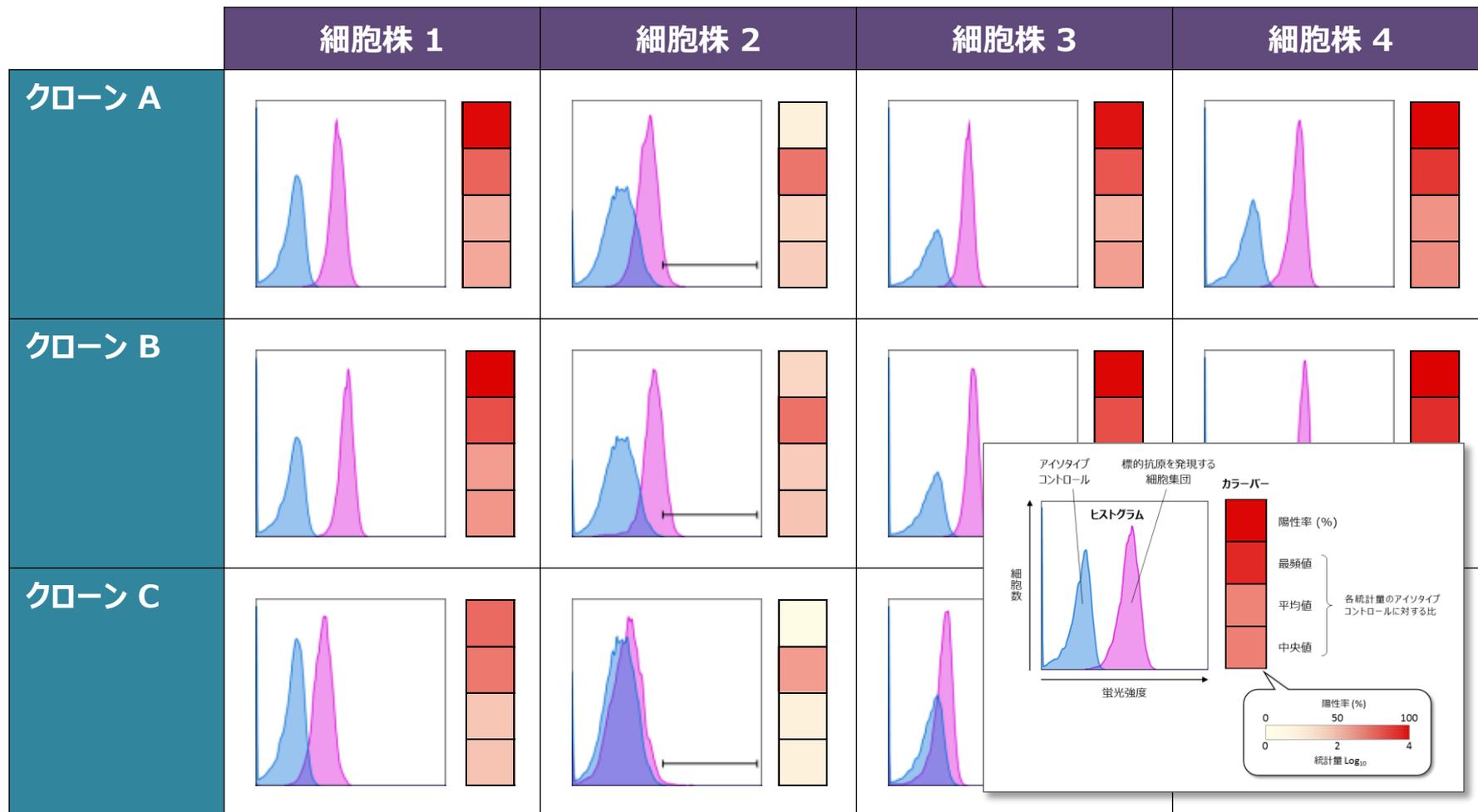
- 適用用途外での使用
- 使用する抗体の性能確認不足
- Amazon効果（納期を優先）

## コミュニティの問題

- 有用サイトの周知不足
- 口コミによる不正確な情報の拡散

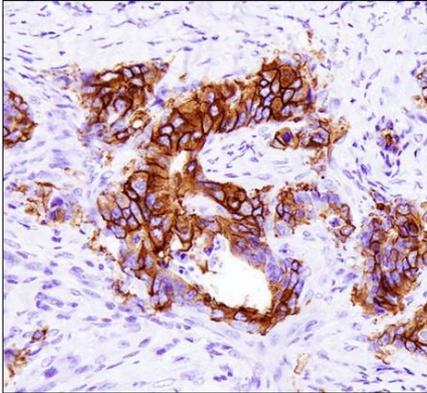
# 抗体のクローンの違いによる検出パターンの比較

同一表面抗原を標的とする異なる3種類のクローンの抗体を用いた  
フローサイトメトリーによる検出パターンの違い

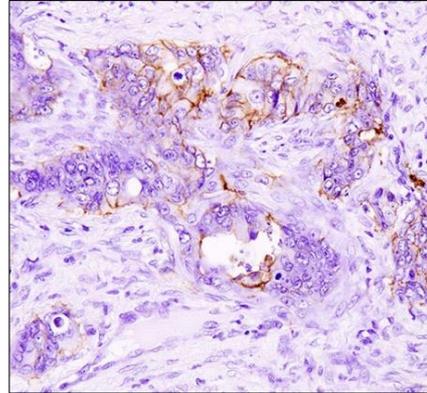


# 同一標的抗体による連続切片の免疫組織染色像

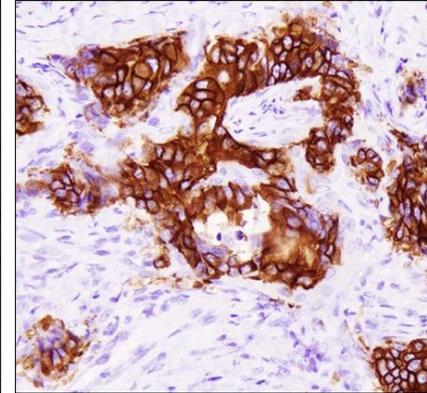
## 体外診断用医薬品



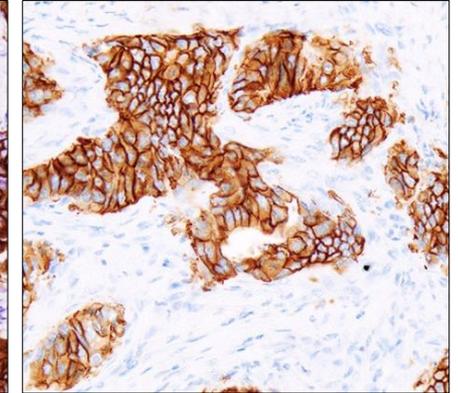
A 社



B 社(モノクローナル)

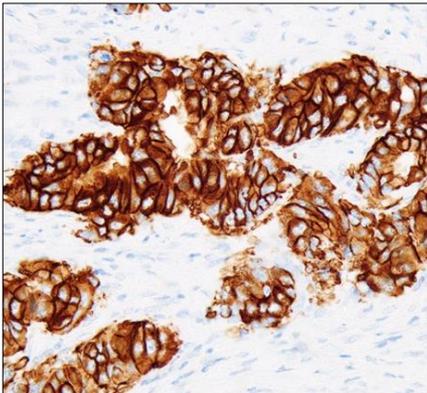


B 社(ポリクローナル)

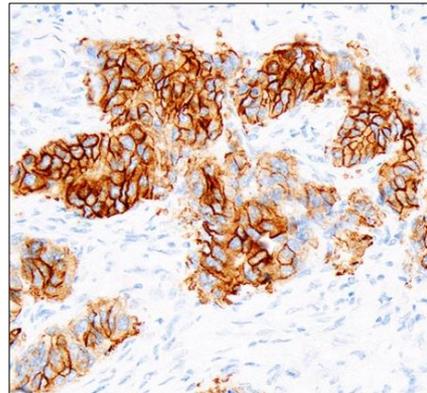


C 社

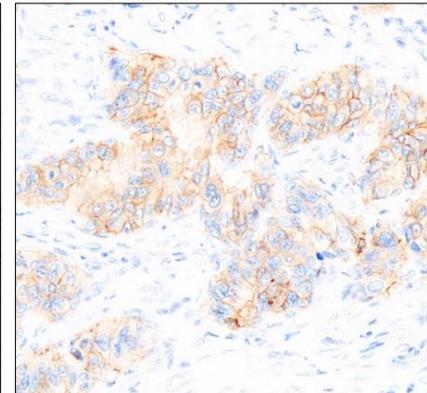
## 市販抗体



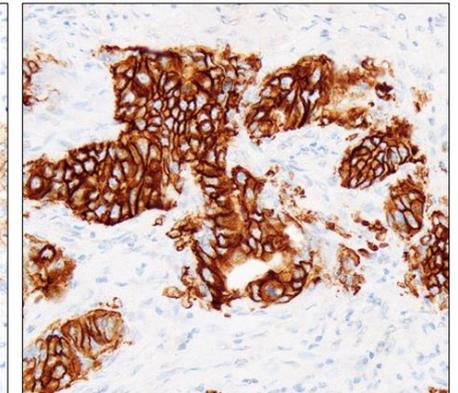
A 社



D 社(クローンA)



D 社(クローンB)



E 社

サプライヤーの違い、ホストの違い、クローンの違いで結果が変わる

**優良品質の抗体を使用する**

**使用した抗体の特質を見定めて  
結果を解釈する**

# 福島事業の抗体評価

# 市販抗ヒトタンパク質抗体の評価

# ヒトタンパク質マイクロアレイ による特異性検証

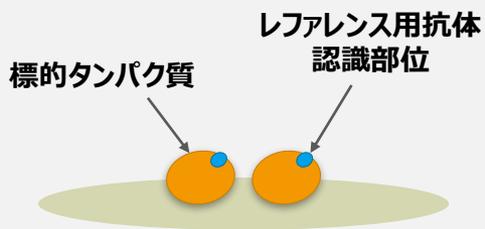
# ヒトタンパク質マイクロアレイ (順相)

**順相** : 各スポットは異なる **1種類**のヒトタンパク質 で構成

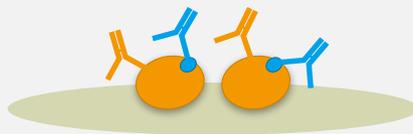
ブロッキング

評価する抗体とレファレンス用抗体  
を加えてインキュベート

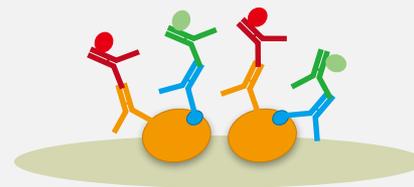
2種類の蛍光色素標識二次抗体  
を加えてインキュベート



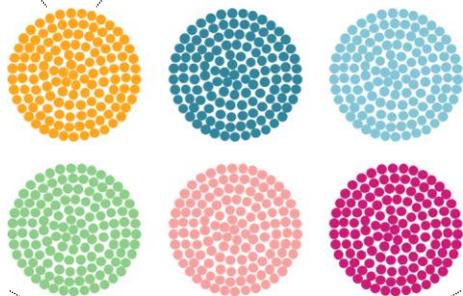
単一タンパク質



単一タンパク質

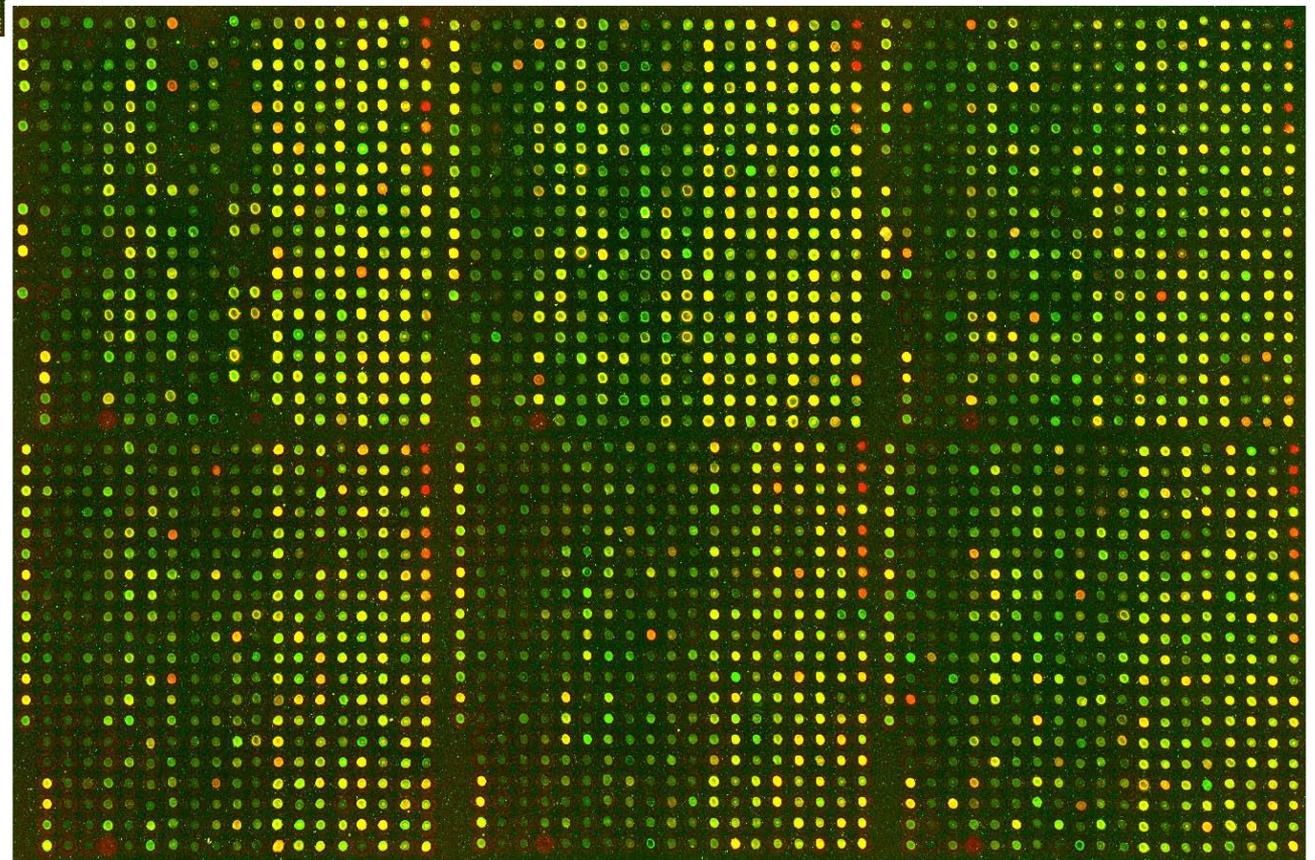
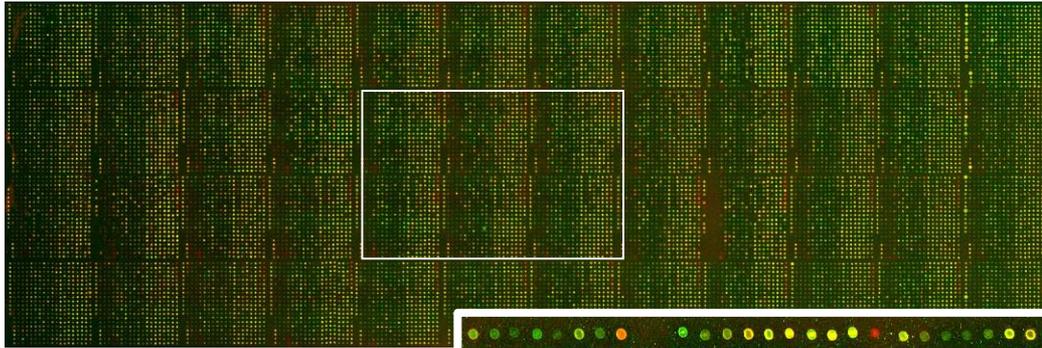


単一タンパク質

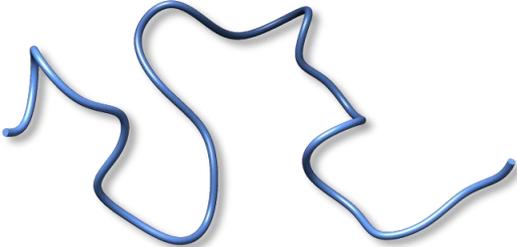
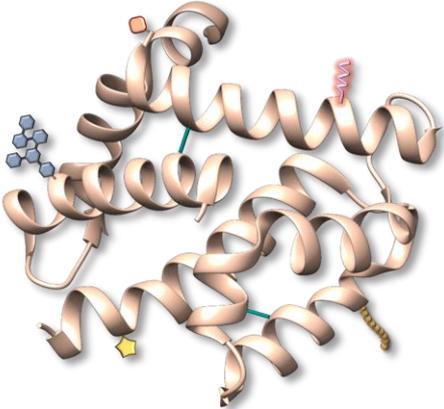


-  評価する抗体
-  レファレンス用抗体
-  蛍光色素 (赤) 標識二次抗体
-  蛍光色素 (緑) 標識二次抗体

# タンパク質マイクロアレイの蛍光像



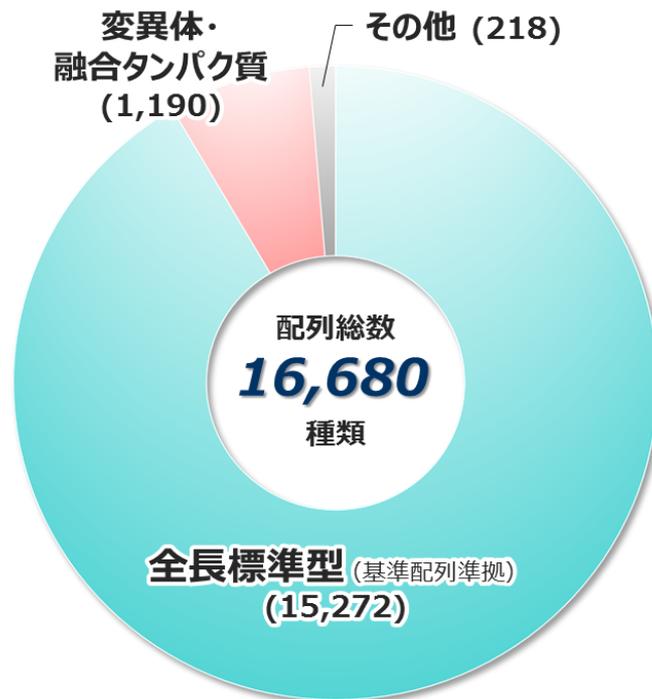
# 特性が異なる2種類の固定化サンプル

	システム①	システム②
概念図		
合成法	<b>インビトロ（無細胞）系</b> コムギ胚芽 ★単一プラットフォーム	<b>インビボ（生細胞）系</b> ヒト細胞、動物細胞、昆虫細胞・バキュロウイルス、 酵母、大腸菌、植物個体など
立体構造	<b>不完全</b>	<b>形成</b> （宿主に依存）
全長性	<b>完全長</b>	<b>完全長、成熟配列、フラグメント</b>
付加配列	<b>あり</b> （共通）	<b>サンプルによって異なる</b>
分子修飾	<b>なし</b>	<b>あり</b> （宿主に依存）
レパートリー	<b>約 16,000 遺伝子に相当</b> ★全遺伝子の70%以上をカバー <b>標準型のほか、変異体も豊富</b>	<b>約 3,000 遺伝子に相当</b>

# 特性が異なる2種類の固定化サンプル

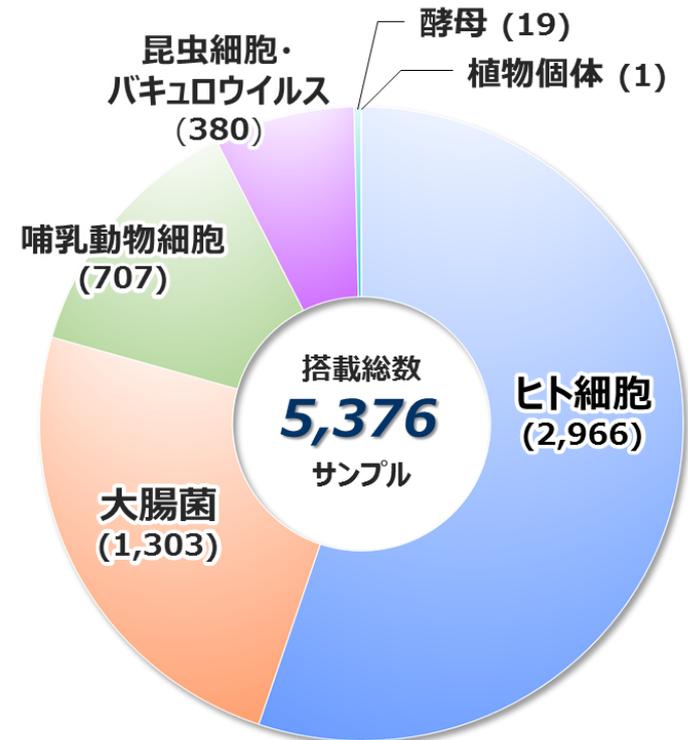
内 訳

システム①



※ 配列の種類による分類

システム②



※ 発現系による分類

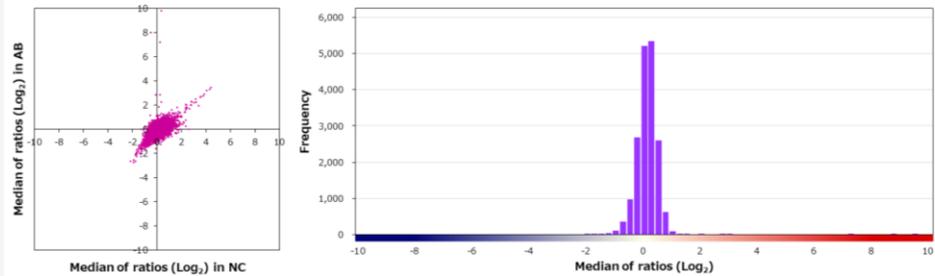
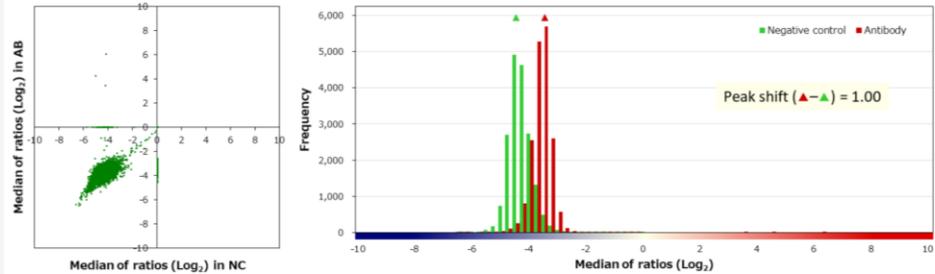
# 特異性検証データの概要

# 特異性検証データの概要

測定値(Raw)

## シグナル強度分布

- タンパク質マイクロアレイで検出したシグナル強度の測定値と独自のノーマライズ手法による補正值の分布をスクアッタグラムとヒストグラムで表示
- 評価抗体 (■) とネガティブコントロール (■) の測定値分布のピーク差が大きいほど、非特異的な結合 (不特定多数の抗原に対する反応) があることを示す



## 標的結合性 & 交差反応性

- タンパク質マイクロアレイ上の標的タンパク質 (On target) と非標的タンパク質 (Off target) に対するシグナル強度補正值をリストと棒グラフで表示
- 標的に対する反応性 (標的結合性) が非標的に対する反応性 (交差性) よりも有意に高い場合、評価抗体の標的抗原特異性が高いことを示す

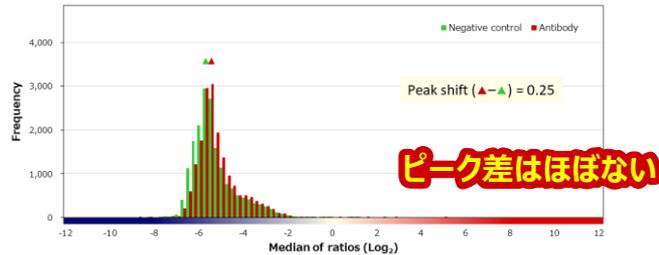
Rank	Gene	Protein	Score	Median of ratios (Log <sub>2</sub> )
<b>On target</b>				
1	EPHA2	NP_004422.2	8.556	~8.5
<b>Off target</b>				
2	OR1J4	NP_001004452.1	2.977	~2.8
3	PRKCG	NP_002730.1 (Q210H)	2.672	~2.5
4	NDUFA13	NP_057049.5	1.912	~1.8
5	PARP3	NP_005476.4	1.779	~1.7
6	GIMAP4	NP_060796.1	1.767	~1.7
7	EPS15L1	NP_001245304.1	1.277	~1.2
8	ATF6B	NP_004372.3	1.226	~1.2
9	CCDC47	NP_064583.2	1.202	~1.2
10	PLK2	NP_006613.2	1.186	~1.2
11	CMTM3	NP_653202.1	1.170	~1.2
12	CATSPER2	NP_001269239.1	1.133	~1.1
13	SETBP1	NP_001123582.1	1.097	~1.1
14	FAM96A	NP_115607.1	1.093	~1.1
15	WDR26	NP_079436.4	1.071	~1.1
16	IFI27L1	NP_660292.1	1.069	~1.1
17	TMEM245	Q9H330-3	1.055	~1.1
18	TBC1D20	Q96BZ9-2	1.027	~1.0
19	GHDC	NP_001138095.1 (D420G)	1.017	~1.0
20	NOL4	NP_001185478.1 (Q257R/Q352H)	1.006	~1.0

# 特異性検証データの例 さまざまなパターン

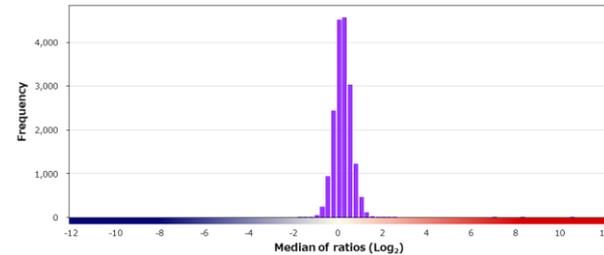
# 標的のみに結合 (交差反応なし)

## 抗 GPRC5A モノクローナル抗体

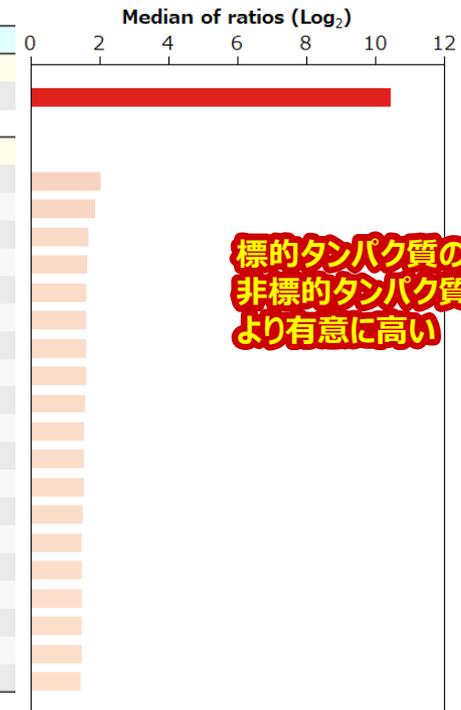
測定値分布



補正值分布



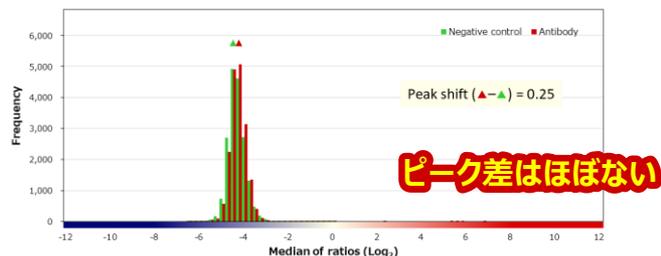
Rank	Gene	Protein	Score
<b>On target</b>			
1	GPRC5A	NP_003970.1	10.444
<b>Off target</b>			
2	DTNA	NP_001185871.1	2.041
3	KCNK5	NP_003731.1	1.881
4	ZFP91	NP_001183980.1 (V37I)	1.674
5	VPS37D	NP_001071089.1	1.665
6	TFG-ALK	T3;A20	1.619
7	MAST1	NP_055790.1	1.617
8	CALML5	NP_059118.2 (S58G/K74R)	1.608
9	TAGLN2	NP_003555.1	1.607
10	XIAP	NP_001158.2	1.582
11	SMARCE1	NP_003070.3	1.566
12	GABARAPL1	NP_113600.1	1.557
13	AVP	NP_000481.2	1.548
14	C3AR1	NP_004045.1	1.530
15	SACM1L	NP_001306001.1	1.509
15	BOP1	NP_056016.1	1.509
17	BIN3	NP_061158.1	1.496
18	TPD52L2	NP_003279.2	1.494
19	MYL3	NP_000249.1	1.482
20	TSR1	NP_060598.3 (S386G)	1.478



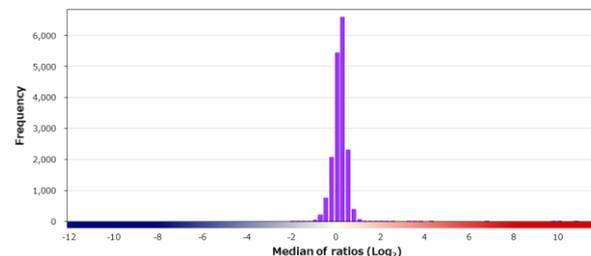
# 標的に結合 & 特異的な交差反応

## 抗 BMI1 モノクローナル抗体

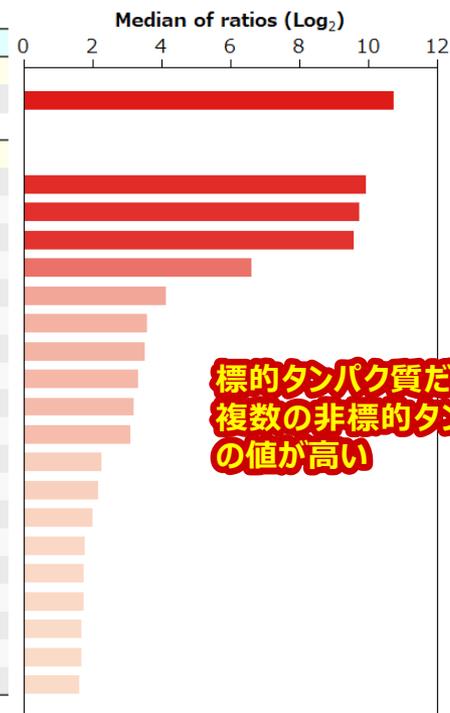
測定値分布



補正值分布



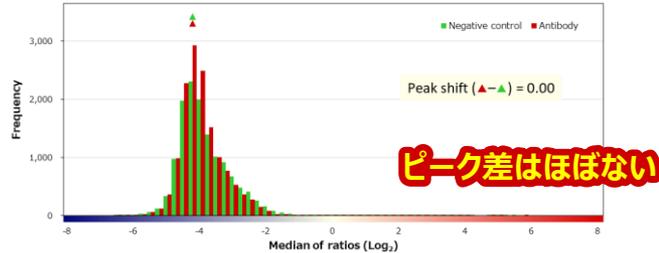
Rank	Gene	Protein	Score
<b>On target</b>			
1	BMI1	NP_005171.4	10.723
<b>Off target</b>			
2	SPRTN	NP_114407.3 (P296L)	9.930
3	COMMD3-BMI1	NP_001190991.1	9.743
4	POLR2C	NP_116558.1	9.574
5	STN1	NP_079204.2 (T151A/S248C)	6.602
6	ZDHHC5	NP_056272.2	4.139
7	EMX2	NP_004089.1	3.598
8	RBM14	NP_006319.1	3.508
9	MEGF10	NP_001295048.1	3.331
10	C2orf57	NP_689827.2 (S261P)	3.187
11	UBAP2	NP_001269459.1	3.098
12	HABP4	Q5JVS0-2	2.273
13	TFAP2B	NP_003212.2	2.162
14	NRSN2	NP_079234.1	2.000
15	CACTIN-AS1	Q8N118	1.791
16	STRBP	NP_060857.2	1.756
17	DDAH2	NP_039268.1	1.739
18	ATF6B	NP_004372.3	1.677
19	CROT	NP_001137407.1	1.675
20	TAP1	NP_000584.2 (Q226R)	1.634



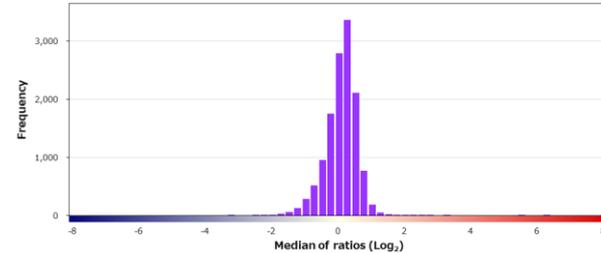
# 交差反応のみ（標的に結合なし）

## 抗 PPP2R1A モノクローナル抗体

測定値分布



補正值分布



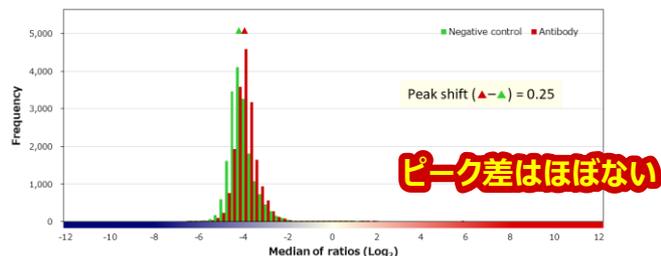
Rank	Gene	Protein	Score
<b>On target</b>			
-	PPP2R1A	NP_055040.2	0.000
<b>Off target</b>			
-	PPP2R1B	NP_002707.3	0.762
-	PPP2R3A	NP_001177376.1	0.579
-	PPP2R2A	NP_002708.1	0.310
-	PPP2R3B	NP_037371.2 (A519V)	0.280
-	PPP2R2B	Q00005-1	-0.050
1	DHPS	NP_001921.1	7.890
2	FAM174A	NP_940909.1	6.055
3	CHMP4B	NP_789782.1	5.403
4	TJP3	NP_001254490.1	3.156
5	C12orf66	NP_689653.3	2.687
6	NAIF1	NP_931045.1	2.670
7	ERO1B	NP_063944.3 (D129V)	2.262
8	EGFR	NP_005219.2;p.G863S	2.063
9	TCF15	NP_004600.2	1.836
10	PHTF1	NP_006599.2	1.822
11	CSH2	NP_066271.1	1.747
12	NBPF4	NP_001137461.1	1.687
13	TRAM1L1	NP_689615.2	1.674
14	SMARCD2	NP_001091896.1	1.584



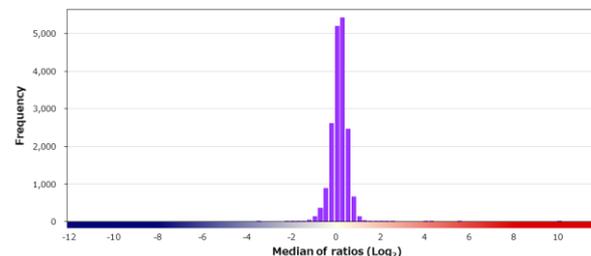
# 標的に結合 & ファミリーに対する交差反応

## 抗 GYS1 モノクローナル抗体

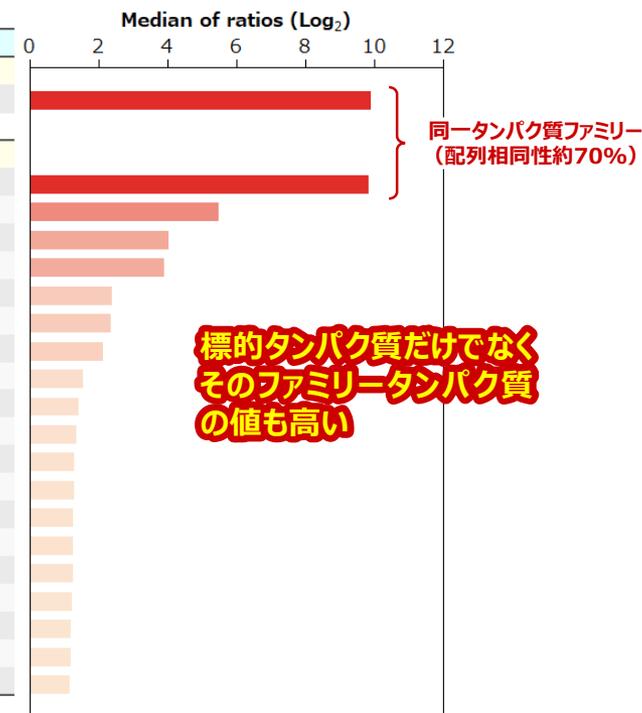
測定値分布



補正值分布



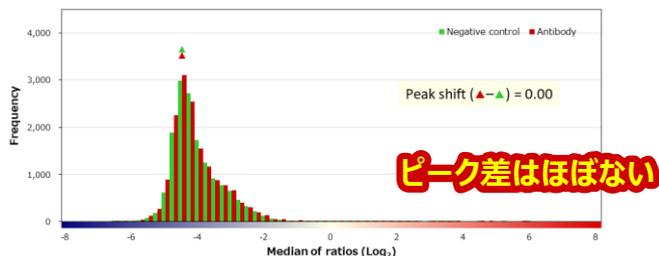
Rank	Gene	Protein	Score
<b>On target</b>			
1	GYS1	NP_002094.2	9.898
<b>Off target</b>			
2	GYS2	NP_068776.2 (M363V)	9.830
3	SNAI1	NP_005976.2	5.493
4	MIOX	NP_060054.4	4.028
5	PHGDH	NP_006614.2	3.901
6	GALNT7	NP_059119.2	2.381
7	SHCBP1	NP_079021.3	2.366
8	CEP57L1	NP_776191.1	2.148
9	INO80D	Q53TQ3-1 (A358V)	1.555
10	OR12D2	NP_039224.2 (S104F)	1.422
11	WBSCR27	NP_689772.2 (Q107R/S171W)	1.361
12	TNKS1BP1	Q9C0C2-2	1.313
13	BCL11A	NP_060484.2	1.298
14	DCDC2B	NP_001092904.1	1.276
15	SH3GLB1	NP_057093.1	1.254
16	ACKR2	NP_001287.2	1.253
17	ZDHHC20	NP_694983.2	1.235
18	TEX10	NP_060216.2	1.198
19	ZNF112	NP_001076804.1 (F159L/E446Q/Y485H)	1.197
20	STAC	NP_003140.1	1.181



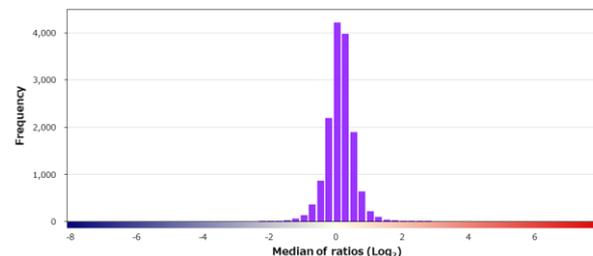
# ヒトタンパク質との反応性が全体的に低い

## 抗 MYOD1 モノクローナル抗体

測定値分布



補正值分布



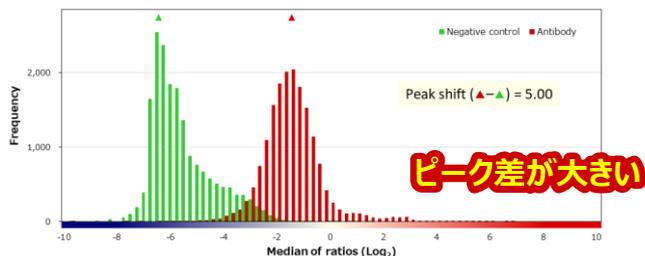
Rank	Gene	Protein	Score
<b>On target</b>			
-	MYOD1	NP_002469.2	0.000
<b>Off target</b>			
1	RGS10	NP_001005339.1	2.700
2	LRRC17	NP_001026862.1	2.488
3	BECN1	NP_003757.1	2.216
4	ACOT13	NP_060943.1	1.947
5	JPH2	NP_065166.2	1.922
6	STAT2	NP_005410.1	1.900
7	ST6GAL1	NP_003023.1	1.891
8	UGT2B28	NP_444267.1 (L365H/I447R/H458D)	1.850
9	CAPN11	NP_008989.2 (I521V)	1.845
10	VPS50	NP_060137.2	1.812
11	UTP3	NP_065101.1	1.779
11	ISCA1	NP_112202.2	1.779
13	GANAB	NP_938148.1	1.777
14	HMGN4	NP_006344.1	1.756
15	FAM76B	Q5HYJ3-3	1.740
16	ULK4	NP_060356.2 (S348G/K569R/S640A/A715T)	1.736
17	VWA3B	Q502W6-4	1.730
18	KIT	NP_001087241.1:p.D812H	1.722
19	AKT2	NP_001617.1	1.695



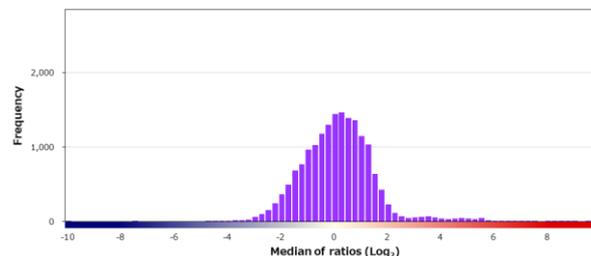
# 不特定多数のヒトタンパク質または夾雑物に反応

## 抗 VEGFA モノクローナル抗体

測定値分布



補正值分布



Rank	Gene	Protein	Score
<b>On target</b>			
3	VEGFA	NP_001165097.1	9.269
<b>Off target</b>			
1	CHMP5	NP_057494.3	9.741
2	FAM84B	NP_777571.1	9.606
4	ALDH8A1	NP_001180409.1	8.949
5	PTTG1	NP_004210.1	8.939
6	TEX12	NP_112565.1	8.759
7	LINC00526	Q96FQ7	8.711
8	RNF2	NP_009143.1	8.474
9	CABP4	NP_001287824.1	8.447
10	CACNB4	NP_001005746.1	8.207
11	CD86	NP_787058.4 (A310T)	8.170
12	KPNA1	NP_002255.3 (S73N)	8.151
13	SLC23A2	NP_005107.4	7.981
14	FGA	NP_000499.1 (T331A)	7.979
15	UBAC1	NP_057256.2	7.897
16	HGS	NP_004703.1	7.474
17	TST	NP_003303.2	7.301
18	CACNB3	NP_000716.2	7.269
19	TP53	ΔC-ter_ΔDBD_p53	7.105
20	FAM9B	Q8IZU0-2	7.080

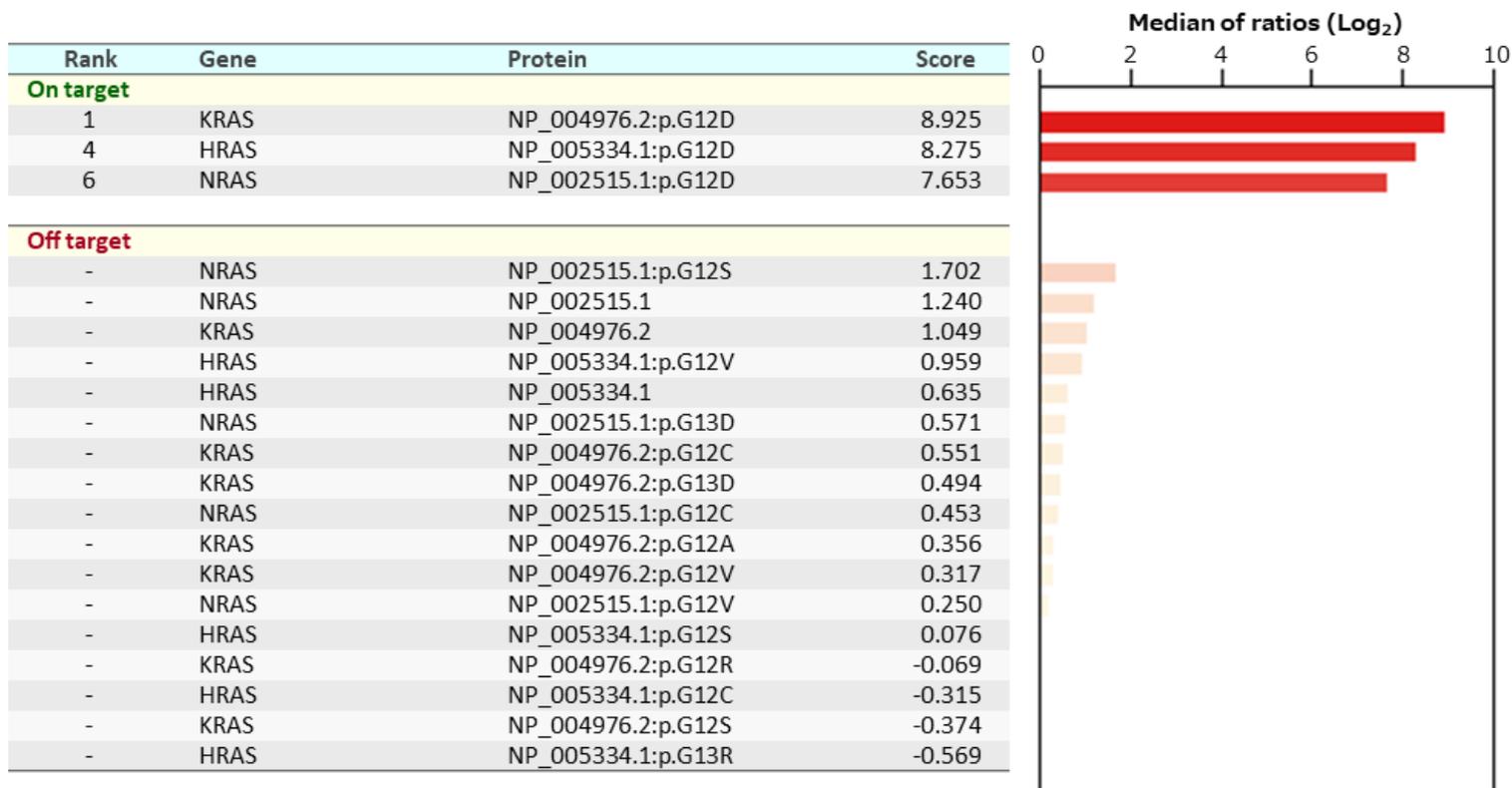


# 変異認識抗体の例 変異導入箇所に着目

# 標的変異のみに反応

## 抗 RAS (G12D) モノクローナル抗体

RAS ファミリーの標準型および各種 G12/G13 変異体に対する結果を抽出



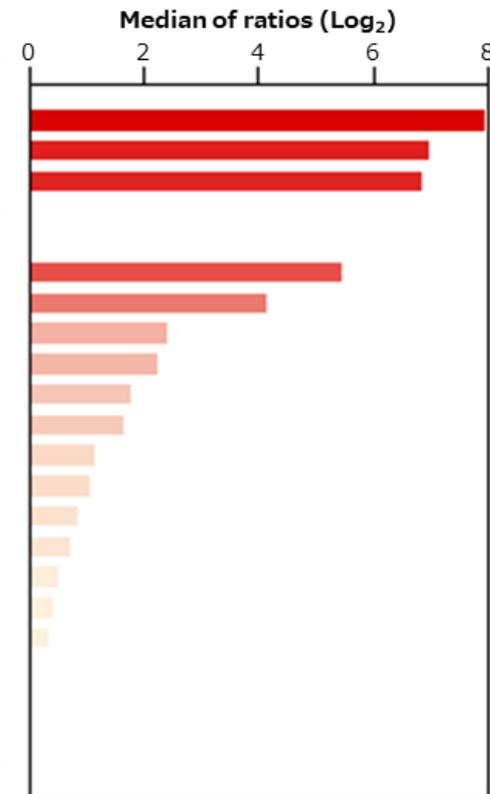
標準型や標的と異なるタイプの変異体への反応は検出されない

# 標的以外の変異にも反応

## 抗 RAS (G12V) モノクローナル抗体

RAS ファミリーの標準型および各種 G12/G13 変異体に対する結果を抽出

Rank	Gene	Protein	Score
<b>On target</b>			
1	HRAS	NP_005334.1:p.G12V	7.929
4	KRAS	NP_004976.2:p.G12V	6.977
6	NRAS	NP_002515.1:p.G12V	6.854
<b>Off target</b>			
-	NRAS	NP_002515.1:p.G12S	5.470
-	KRAS	NP_004976.2:p.G12A	4.162
-	HRAS	NP_005334.1	2.430
-	HRAS	NP_005334.1:p.G12S	2.233
-	NRAS	NP_002515.1	1.773
-	KRAS	NP_004976.2	1.645
-	KRAS	NP_004976.2:p.G12S	1.172
-	NRAS	NP_002515.1:p.G13D	1.053
-	NRAS	NP_002515.1:p.G12C	0.861
-	KRAS	NP_004976.2:p.G12C	0.741
-	NRAS	NP_002515.1:p.G12D	0.504
-	KRAS	NP_004976.2:p.G12D	0.431
-	KRAS	NP_004976.2:p.G13C	0.364
-	HRAS	NP_005334.1:p.G13V	0.000
-	KRAS	NP_004976.2:p.G12R	-0.154
-	HRAS	NP_005334.1:p.G12C	-0.635
-	HRAS	NP_005334.1:p.G12D	-0.841



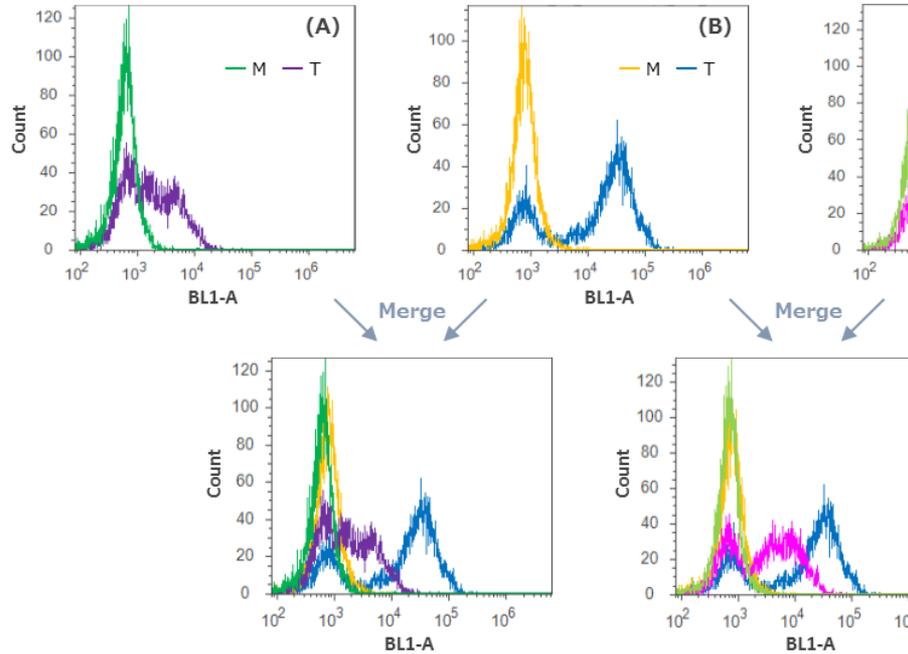
標的と異なるタイプの変異体への反応が検出された

# 遺伝子強制発現細胞 を用いた適用性評価

# 標的タンパク質を過剰に発現させた 人工的な細胞

# 膜タンパク質 & 分泌タンパク質

# 遺伝子強制発現細胞を用いた評価データの概要

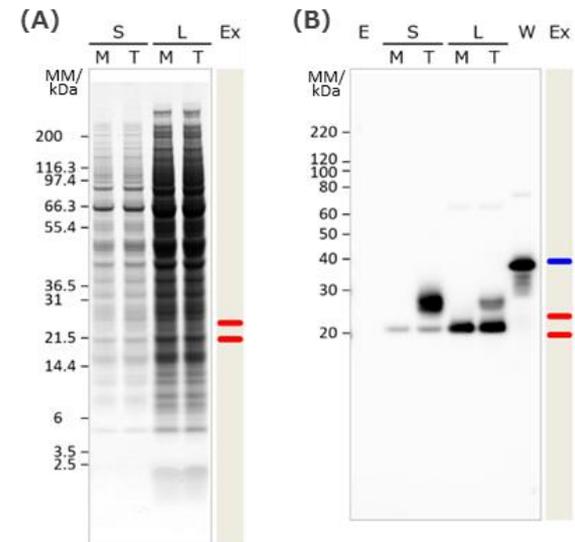


## フローサイトメトリー

- 細胞表面の標的膜タンパク質に対する反応性
- ビオチン標識等による活性の変化

## ウェスタンブロッティング

- 細胞ライセート中の標的タンパク質に対する反応性
- 培養液中に分泌した標的タンパク質に対する反応性
- インビトロ合成タンパク質との比較



# 最適な抗体を選ぶ

# 福島データベースコレクション 抗体評価データベース

## 細胞検索システム

用途に応じたがんモデルを検索・選択するためのデータベース



- 福島事業で保有するがんモデル
- DNA解析データ
- RNA解析データ
- 表面抗原解析データ
- 薬剤感受性試験データ

## 抗体評価データベース

市販抗体の品質の見定め、優良抗体の探索を支援するデータベース



- 福島事業で保有する市販抗体
- 標的特異性検証データ
- 適用性評価データ

# 福島データベースコレクション 抗体評価データベース

## 細胞検索システム

用途に応じたがんモデルを検索・選択するためのデータベース



- 福島事業で保有するがんモデル
- DNA解析データ
- RNA解析データ
- 表面抗原解析データ
- 薬剤感受性試験データ

## 抗体評価データベース

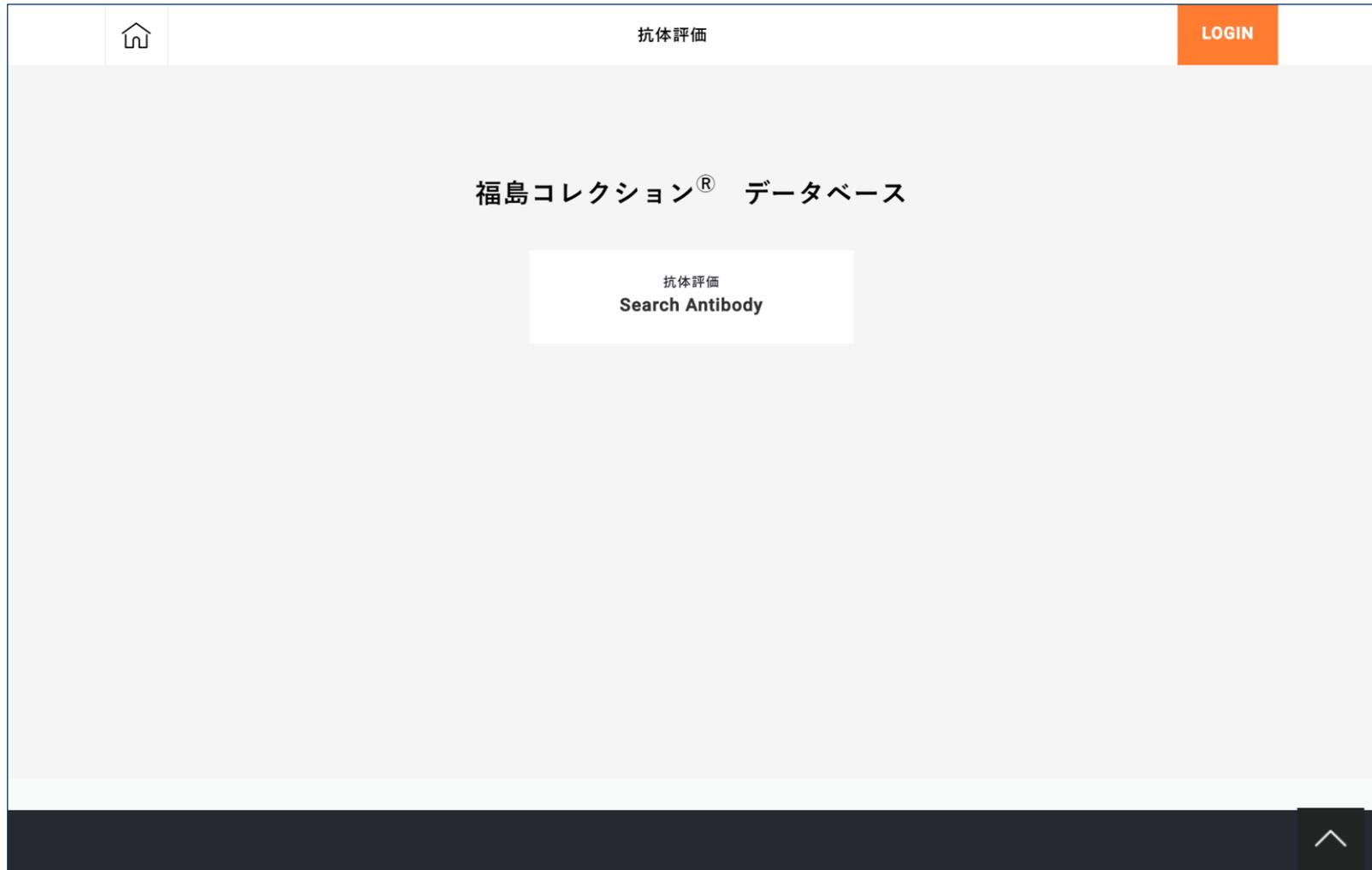
市販抗体の品質の見定め、優良抗体の探索を支援するデータベース



- 福島事業で保有する市販抗体 **8,000品目以上**
- 標的特異性検証データ **対16,000遺伝子以上**
- 適用性評価データ

# 抗体評価データベースの利用

# 抗体評価データベース エントランス



[https://fdbc.ftrf.jp/\\*\\*\\*\\*\\*](https://fdbc.ftrf.jp/*****) (準備中)

# 抗体評価データベース 検索条件設定

## Search Antibody

標的抗原名

(例) **VEGFA**

リストから選択

### — その他の条件設定

免疫動物

**Mouse**

クローナリティ

モノクローナル  ポリクローナル

クラス

\*

適用

WB  SW  ELISA  FCM  ICC

リセット

検索する

### 検索可能な標的抗原遺伝子

A - B - C - D - E - F - G - H - I - J - K - L - M - N - O - P - R - S - T - U - V - Y - Z

Gene symbol	Gene name
ABCB1	ATP binding cassette subfamily B member 1
ABCG2	ATP binding cassette subfamily G member 2 (Junior blood group)
ACO2	aconitase 2
ACTB	actin beta
ACTN1	actinin alpha 1
ACTN2	actinin alpha 2
ACTN3	actinin alpha 3 (gene/pseudogene)
ACTN4	actinin alpha 4
AGO1	argonaute 1, RISC catalytic component
AKT1	AKT serine/threonine kinase 1
ALDH1L1	aldehyde dehydrogenase 1 family member L1
ALK	anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase
ARHGEF1	Rho guanine nucleotide exchange

# 抗体評価データベース プレビュー表示

抗体ID	標的抗原	特性	評価データ
ABV#000016	Target: VEGFA Gene symbol: VEGFA Gene ID: 7422	Host: Mouse Clonality: Monoclonal Isotype: IgG1 Application: WB,ELISA,B/N	 PMA①
ABV#000017	Target: VEGFA Gene symbol: VEGFA Gene ID: 7422	Host: Mouse Clonality: Monoclonal Isotype: IgG1, kappa Application: ICC,IF,IP,WB,ELISA,IHC	 PMA①
ABV#000018	Target: VEGFA Gene symbol: VEGFA Gene ID: 7422	Host: Mouse Clonality: Monoclonal Isotype: IgG2a Application: FCM	 PMA①
ABV#000019	Target: VEGFA Gene symbol: VEGFA Gene ID: 7422	Host: Mouse Clonality: Monoclonal Isotype: IgG2b Application: WB,ELISA,B/N	 PMA①
ABV#000020	Target: VEGFA Gene symbol: VEGFA Gene ID: 7422	Host: Mouse Clonality: Monoclonal Isotype: IgG2a, kappa Application: ELISA,PLA,WB	 PMA①
ABV#000021	Target: VEGFA Gene symbol: VEGFA Gene ID: 7422	Host: Mouse Clonality: Monoclonal Isotype: IgG1, kappa Application: ELISA,IHC,IP,WB	 PMA①
			 PMA①

# 抗体評価データベース 評価データ閲覧

PDFダウンロード 

Anti-Human VEGFA | ABV#000024

評価データシートの  
ダウンロード

## 基本情報

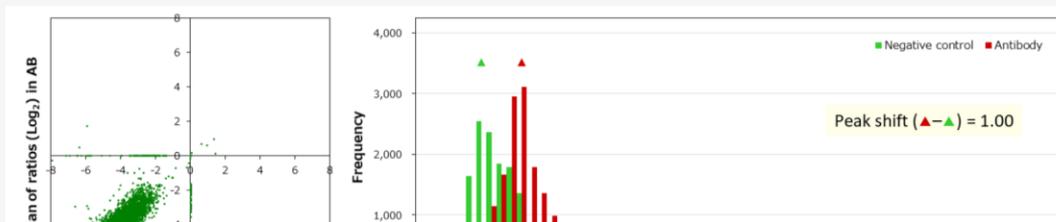
Supplier (Brand)	*****		
Product code	*****	Lot #	*****
Product name	*****		
Host	Mouse	Clonality	Monoclonal
Isotype	IgG1, kappa	Clone	*****
Applications	<input checked="" type="checkbox"/> WB <input type="checkbox"/> SW <input type="checkbox"/> ELISA <input type="checkbox"/> FCM <input type="checkbox"/> ICC <input type="checkbox"/> IF <input type="checkbox"/> IHC <input type="checkbox"/> IP <input type="checkbox"/> B/N		
Note			

サプライヤー、製品名などの情報は当財団まで

## 評価データ

### タンパク質マイクロアレイ①

#### 測定値(Raw)



一般財団法人  
**福島医大トランスレーショナルリサーチ機構**