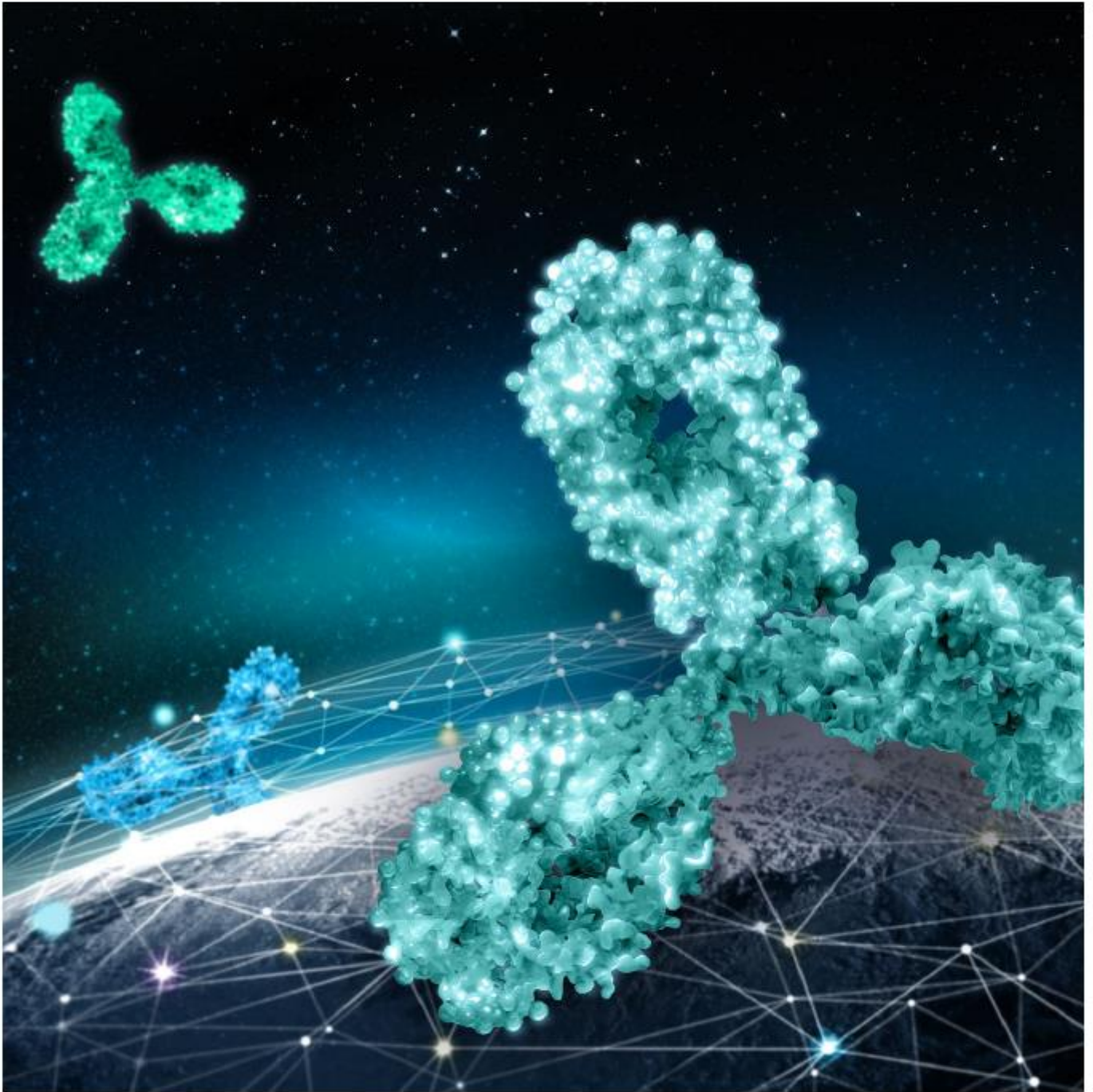


抗体アドバイスガイド

抗体の選択からアプリケーションまで



抗体の選択

抗体の使用に関するベストプラクティスに従うことで、論文掲載可能な結果を得ることができ、トラブルシューティングに費やす時間が最小限に抑えられます。この抗体アドバイスガイドでは、抗体の選択、取り扱い、使用方法に関する詳細な推奨事項を紹介しています。また、標的を理解することの重要性についても考察しており、役立つツールとプロトコールへのリンクを提供しています。

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録



Table of Contents



抗体の選択

04

抗体の構造とクラス	04
抗原エピトープ	05
モノクローナル vs ポリクローナル抗体	05
宿主とターゲット種	05
抗体フォーマット	06
抗体組成	07
抗体の検証	07
蛍光標識抗体	08



抗体の取扱い

10

保存	10
分注	10
無菌状態	11
解凍	11



ターゲットを知る

12

発現	12
細胞内局在	12
分子量	12
複合体内のターゲット	13



抗体の使用

14

プロトコール	14
コントロール	14
作業用希釈と滴定	16
緩衝液	17
抗体の詳細な記録	17



付録

18

用語集	18
抗体選択ツール	19
人気の資料	19



抗体の選択 [Selecting Your Antibody]

抗体の選択

抗体、または免疫グロブリン (Ig) は、B細胞により産生されるY字型の大型タンパク質です。すべての抗体は、異なる標的または抗原に特異的に結合します。抗体は免疫系の重要な部分を構成し、それにより、人体が感染に対して免疫応答を生じることが可能になります。抗体には、特定のタンパク質に選択的に結合する能力があるため、ライフサイエンス研究における有用なツールとして、細胞や細胞溶解物中の標的タンパク質の検出や捕捉を可能にします。そのため、抗体は商業的に生産されており、ウエスタンブロッティング、フローサイトメトリー、免疫組織化学(IHC)などの技術で汎用されています。

抗体の取り扱い

一次抗体は目的の標的に特異的に結合します。二次抗体は一次抗体に結合し、通常は酵素や色素を結合させて、目的の標的を間接的に検出可能にします。場合によっては、一次抗体に酵素や色素を結合させて、二次抗体なしで検出可能です。お客様の実験では、一次抗体と二次抗体、または一次抗体のみを使用することができます。

このセクションでは、抗体と関連用語を紹介し、抗体データシートとウェブページに掲載されている情報について説明します。この情報は、抗体選択時に役立ちます。

標的を知る

抗体の構造とクラス [Structure and Class]

抗体構造として最も多くみられるのは、2本の重鎖 (H鎖:Heavy Chains) と2本の軽鎖 (L鎖:Light Chains) によって形成される特徴的なY字型です。各重鎖は軽鎖と会合して、標的タンパク質に特異的な抗原結合部位をN末端に含む抗原結合フラグメント (Fab:Antigen Binding Fragment) ドメインを生成します。2本の重鎖は相互作用してフラグメント結晶化可能 (Fc:Fragment, Crystallizable) ドメインを形成します。これは、マクロファージなどの免疫細胞との抗体相互作用のために重要です (図1)。

ヒトの場合、抗体は5種類の重鎖を持ち、Igクラス、別名アイソタイプと呼ばれるものを定義します。体内では、これらのクラスが免疫反応の種類と段階に応じて機能します。IgA、IgG免疫グロブリンは、さらにサブクラスに分類できます (表1)。血液中の免疫グロブリンの大部分はIgG型であり、免疫グロブリンの主要なクラスとなっています。すべての市販抗体は、クラス、場合によりサブクラスにより特徴付けられます。これは、抗体データシートまたはウェブページの「アイソタイプ(Isotype)」の項目で確認できます。実験室では、Igクラスが実験での抗体性能に影響を与える可能性があります。二次抗体については、一次抗体の宿主種に加えて、検出するために一次抗体のアイソタイプも一致させる必要があります。

表1. ヒトおよびマウスのIgサブクラス。

ヒト Ig サブクラス	マウス Ig サブクラス
IgA1	IgG1
IgA2	IgG2a
IgG1	IgG2b
IgG2	IgG3
IgG3	
IgG4	

抗体の使用

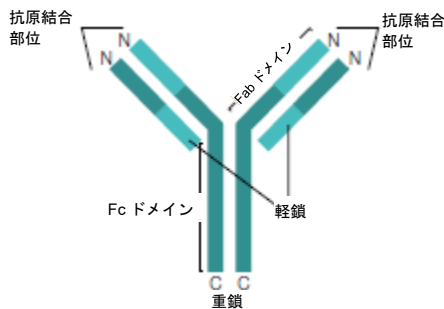


図1. 抗体構造。 Fab、抗原結合フラグメント；Fc、結晶化可能フラグメント；C、C末端；N、N末端。

各哺乳動物のアイソタイプとそれらに関連する結合価の詳細な説明については、[Immunoglobulins: Classes and Subclasses](#) (免疫グロブリン: クラスとサブクラス) のウェブページを参照してください。

付録

抗原エピトープ [Antigen Epitopes]

エピトープは、抗体の抗原結合部位により認識される抗原の一部です（図2）。同じタンパク質に対する異なる抗体は、異なるエピトープを認識することができます。

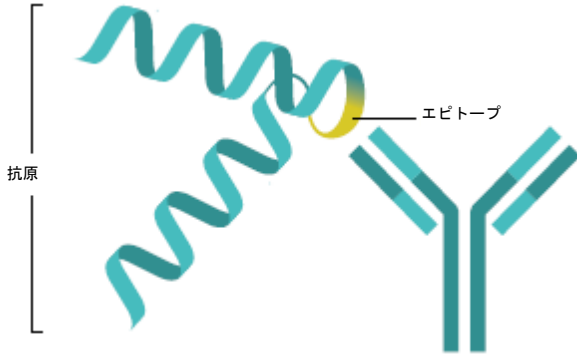


図2. 抗原の構造。

ほとんどの場合、タンパク質を検出しようとする際、そのタンパク質を標的とする抗体を選ぶだけでよいのです。ただし、標的タンパク質の特定のエピトープを検出するための抗体が必要になることがあります。この場合、抗体作製時に標的となったエピトープまたは配列に関する情報が提供されている抗体を探してください。例えば、タンパク質のC末端内の領域を検出する場合、C末端配列が免疫原として使用されている抗体を選ぶことが重要です。この情報は、抗体データシートまたはウェブページの「免疫原(Immunogen)」で確認できます。エピトープはタンパク質の部位であり、タンパク質は細胞内の様々な場所（細胞膜、細胞質、核など）に存在します。標的エピトープの細胞内局在も、以下の実験条件に影響を与える可能性があります。

- **緩衝液の選択**—細胞内エピトープでは、抗体がその標的に接近可能にするために透過性緩衝液が必要です。核エピトープでは、他の細胞内エピトープよりも厳しい透過性が必要となる場合があります。
- **固定**—固定により細胞膜の透過性が高まり、抗体が細胞内エピトープに接近可能になります。細胞膜を損傷させることなく固定と透過性を最適化するために、慎重に固定処理を選択することが重要です。
- **ELISAの抗体適合性**—エピトープは、酵素結合免疫吸着法（ELISA）の捕捉(Capture)抗体と検出(Detection)抗体のいずれでも利用できる必要があります。


モノクローナル抗体とポリクローナル抗体

モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体の

いずれかを購入します。

- **モノクローナル抗体** (mAb: Monoclonal Antibody) は、単一の標的タンパク質上の固有のエピトープを認識します。mAbは、1つのB細胞のクローン集団から生成され、クローン名で識別できます。同じクローン名の抗体はいずれも同一のB細胞から生成されるため、実験を通して一貫した抗体を選択するのに役立ちます。クローン名は、抗体の製品データシートかウェブページで確認できます。
- **ポリクローナル抗体** (pAb: Polyclonal Antibody) は、単一の標的タンパク質上の複数のエピトープを認識します。B細胞の非クローン集団から生成されるため、抗体の混合物と見なすことができます。

モノクローナル抗体とポリクローナル抗体のいずれを選択するかは、実験の目標によって決まり、いずれにも長所と短所があります。



Monoclonal and Polyclonal Antibodies (モノクローナル抗体とポリクローナル抗体)に関する専用ウェブページを参照してください。抗体の種類間での違い、それぞれの長所と短所について概説しています。

宿主種と標的種 [Host and Target Species]

抗体産生のために、マウスなどの宿主動物に、異なる標的種からの抗原を注射します。種を識別するために、抗体にラベル付けることがよくあります（図3）。

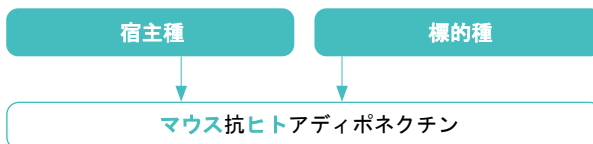


図3. 抗体の命名規則。

ヒトのタンパク質を標的とするためにマウスで産生された抗体は、マウスでヒトのタンパク質に対して産生されたと言うこともできます。抗体の選択時には、理想的には、標的種は細胞または組織の種と一致していなければなりません。例えば、ヒトの皮膚細胞を研究する場合、ヒトのタンパク質を標的とする抗体を選択しなければなりません。ただし、一部のタンパク質の構造については、種間でほとんど違いがない場合があります。従って、ヒトのタンパク質に対して産生された抗体は、そのマウス型タンパク質も認識する可能性があります。これは種間交差反応性(Species Cross-Reactivity)と呼び、実験計画時に役立つように抗体データシートに記載されていることが多いです。

抗体の選択

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録

表 2. 従来の動物ベースの方法により生成された抗体に関連する機能。

抗体フォーマット	説明	詳細
抗血清(Antiserum)	抗原を注射した動物からの部分精製された血液（赤血球と凝固タンパク質が除去されている）	<ul style="list-style-type: none"> ポリクローナル抗体 実験に影響を与える他の抗体など、不要なタンパク質が含まれている可能性がある。
Ig 画分	追加精製された抗血清	<ul style="list-style-type: none"> ポリクローナル抗体
組織培養上清 (TCS: Tissue Culture Supernatant)	ハイブリドーマ組織培養からの上清。ハイブリドーマは、抗原を注射された動物から抗体産生 B 細胞を回収して不活化細胞株と融合させることにより産生される。	<ul style="list-style-type: none"> モノクローナル抗体 濃度が不明な場合がある。 精製されたものよりも濃度が低い場合がある。
精製された免疫グロブリン	組織培養上清から精製された抗体。	<ul style="list-style-type: none"> モノクローナル抗体 濃度がわかっている。 通常、他の形態よりも高濃度。
腹水(Ascites fluid)	腹腔内でハイブリドーマ細胞を増殖させるために使用される、マウスまたはラットから得られた腹水（腹腔内の体液貯留）。	<ul style="list-style-type: none"> モノクローナル抗体 高濃度であることが多い。 実験に影響を与える他の血清タンパク質が含まれている。

Ig : 免疫グロブリン

二次抗体の標的種は、一次抗体の宿主種と一致していなければなりません。例えば、ヤギ抗マウス二次抗体は、マウス抗ヒト一次抗体に結合します。

抗体フォーマット [Format]

抗体は、その製造方法に応じて、様々なフォーマットで入手可能です。フォーマットに関する一部の情報は、抗体製品の詳細において「フォーマット (format)」、「精製 (purification)」、「製造 (manufacturer)」に記載されているはずですが、必要に応じて、製造元に詳細情報をお問い合わせください。フォーマットを理解することで、実験に最適な抗体を選択しやすくなります。

従来の抗体産生

従来の動物を使用した抗体産生法には長所と短所があります（表 2）。抗体の産生方法を知る必要はないかもしれませんが、この情報は、お客様の必要条件を満たす最適な抗体を選択する際や、実験のトラブルシューティングに役立ちます。

データシートを読み取る際は、細胞培養、腹水、血清に由来する抗体は、精製されたフォーマットである可能性が高いことに注意してください。抗体の特定の製造方法に関する詳細については、追加の情報源を参照しなければならない場合があります。

組換え抗体産生

動物を使用した従来の産生法に対する代替法として、モノクローナル抗体は組換え技術により産生することができます。動物の免疫系を利用して抗体を産生する代わりに、*in vitro* で抗体を産生させます。この目的のために、抗体遺伝子を発現ベクター中にクローン化した後、細菌細胞、酵母細胞、または哺乳動物細胞に導入します。

例えば、ファージディスプレイライブラリーは、細菌宿主により選択され、産生されることができ発現ベクター中にクローン化された巨大な抗体遺伝子群です。この方法により、モノクローナル抗体が産生されます。

組換え抗体の産生には、従来の方法と比較して様々な利点があります。

- **一貫性**—組換え技術による抗体産生では、抗体の正確な配列がわかっているため、バッチ間の一貫性が保たれます。さらに、従来のモノクローナル産生に関連するハイブリドーマドリフトの可能性がなくなり、一貫性とデータの再現性が向上します。
- **フォーマットの柔軟性**—抗体のアイソタイプ、サブタイプ、または種の変更がはるかに簡単です。
- **迅速な産生**—通常、組換え抗体の産生では、従来のモノクローナル抗体ほど時間がかかりません。
- **動物を使用しない**—抗体産生に関する動物福祉の懸念がなくなります。

市販品として入手可能な組換え抗体があります。オーダーメイドの組換え抗体生成サービスも多くの企業により提供されています。ヒト免疫レパートリーの 95%以上をカバーするヒト抗体遺伝子を集めた Human Combinatorial Antibody Libraries (HuCAL®)™を使用した組換え抗体産生サービスをバイオ・ラッドから提供しています。これらの遺伝子をファージミドベクター中にクローン化させて、大腸菌でスクリーニングします。



HuCAL 組換え抗体産生に関する詳細は、[HuCAL® Technology Explained](#)のウェブページをご覧ください。

標識抗体 [Conjugated Antibodies]

精製フォーマットの他、標識抗体が利用可能です。これらの抗体は、酵素または蛍光色素に結合させることができます。多くの二次抗体は、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) に結合させて、イムノブロットングで化学発光を検出できます。一部の用途として、特定波長の光の下で蛍光を発する色素に抗体を結合させることが有用です。結合した抗体にレーザー光を当てると蛍光が生じ、適切な撮像装置、顕微鏡、またはフローサイトメーターで検出可能です。蛍光によって、目的タンパク質の発現の有無 (及び細胞内局在) が示されます。抗体を酵素または蛍光色素に結合させる場合、これは製品名に反映されています (例えば、「マウス抗ヒトアディポネクチン:HRP」では、抗体をHRPに結合させていることを示します)。この章の「蛍光標識抗体」のセクションで、蛍光色素結合抗体の詳細について確認できます。

抗体組成 [Antibody Formulation]

抗体組成は、バイアル中に存在する緩衝液、防腐剤、安定剤を表します。組成は実験に直接影響しうるため、上手く選択することが重要です。抗体は液体や凍結乾燥 (フリーズドライ) でも提供されるため、再懸濁が必要になります。汎用される緩衝液、防腐剤、安定剤について以下に説明しますが、それがすべてではないことに注意してください。

緩衝液 [Buffers]

水性緩衝液は、多くの抗体製剤の基剤となります。pH を一定に維持するのに役立ち、通常は無毒です。最もよく使用される2つの緩衝液は、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) とトリス緩衝生理食塩水 (TBS) です。ただし、PBS はアルカリホスファターゼ検出法には使用できません。塩化ナトリウムは、pH を一定に維持するためにも使用できます。

防腐剤 [Preservatives]

防腐剤を使用して、微生物の増殖や他の望ましくない変化による分解から抗体を保護します (表 3)。

*ハイブリドーマドリフト (Hybridoma Drift): ハイブリドーマ細胞が分裂を繰り返すにつれて抗体をコードする遺伝子の塩基配列が経時的に変化する遺伝的浮動 (Genetic Drift) により、ハイブリドーマから産生される抗体が変化すること。

**日本国内では、ジーンフロンティア株式会社より「抗体職人」として本受託作成サービスを提供しております。詳しくはジーンフロンティア株式会社 (<https://www.genefrontier.com>) までお問合せください。利用制限があります。最終ページをご確認ください。

表 3. 一般的な抗体保存剤。

保存剤	目的	使用不可
EDTA	脂質保存用キレート剤	機能アッセイ インテグリン検出
ゲンタマイシン硫酸塩	抗生物質 (タンパク質合成を阻害)	-
グリシン	抗菌剤および抗ウイルス剤	-
プロクリン (ProClin)防腐剤	広範囲の抗菌性を持ち保存期間を延長することができます。	セルソーターの生細胞の免疫染色に対して悪影響を与える可能性がある。
アジ化ナトリウム	防腐剤	生細胞の染色 インビボ試験と機能アッセイ HRP 検出ラベル アミン基を含む結合
ホウ酸ナトリウム	抗菌剤	-
チメロサル (メルチオレートとしても知られている)	防腐剤および抗真菌剤	-

EDTA: エチレンジアミン四酢酸 HRP: 西洋ワサビペルオキシダーゼ (Hoseradish Peroxidase)

安定剤 [Stabilizers]

安定剤により抗体の物理的な完全性を保持します (表 4)。

表 4. 一般的な抗体安定剤。

安定剤	目的	使用不可
BSA	安定剤	担体タンパク質不含抗体を必要とするアッセイ* 抗体標識 (コンジュゲーション)
タンパク質安定剤 (#BUF069A)	タンパク質用の安定剤	-
E-アミノ-n-カプロン酸	酵素活性阻害用の安定剤	補体試験 (安定剤は <i>in vitro</i> で補体活性を阻害する)
トレハロース	タンパク質用の安定剤; 溶液中での酵素活性を保持し、凍結乾燥時に凍結保護をもたらす。	-

* BSA を含まない抗体は、担体タンパク質不含 (Carrier protein-free) または担体不含 (Carrier-free) と呼ばれることが多い。担体不含抗体は、マサイトメトリー、*in vivo* 試験、機能アッセイなどの多くの用途に最適である。BSA: ウシ血清アルブミン

抗体の検証 [Antibody Validation]

市販抗体については、目的の用途で作用すること、経時的な分解がないこと、結果を混雑させうる高レベルの非特異的結合がないことを確認するためにある程度検査されている必要があります。


抗体の選択

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録

抗体の選択	<p>しかし、抗体の最も基本的な要件として、目的のタンパク質に正確に結合することがあります。抗体を選択する際には、抗体メーカーのデータを見て、どの程度の検証がなされているのかを理解することが重要です。</p>	<p>際に検出できます。抗体を選択するための一般原則の他、蛍光標識抗体を選択する際には以下を考慮してください。</p>
抗体の取り扱い	<p>ターゲットへの正確な抗体結合を検証するためにいくつかの方法があります。ウエスタンブロッティングにより、抗体が標的を正確に検出していることを確認できます。抗体により、複数のサンプル型で同様のバンドが生成される必要があります。しかし、より決定的な検査があります。一般的な方法として、標的タンパク質がノックアウトされた細胞株とその野生型の細胞株からのサンプルを並べて、抗体を検査します。抗体が標的タンパク質に特異的である場合、野生型細胞株ではバンドが認められ、ノックアウト (KO) 細胞株では認められません。抗体を検証する他の方法として、免疫沈降とそれに続く質量分析 (IP-MS) および siRNA (Short Interfering RNA) ノックダウンがあります。</p>	<p>励起波長 / 蛍光放出波長 [Excitation and Emission]</p>
標的を知る	<p>複数の細胞株や用途で検査された抗体を選択するのが最良であり、KO、siRNA、または IP-MS の検証データが利用可能であればさらに好ましいです。パイオ・ラッドの PrecisionAb 抗体 は、ウエスタンブロッティングを目的として複数の細胞株で検証されており、多くは KO 細胞株、siRNA、または IP-MS を使用した、強化された検証も受けています。</p>	<p>蛍光物質には、励起スペクトル (照射に必要なレーザー光の波長) と蛍光放出スペクトル (蛍光に必要な波長の幅) があります。いずれも、検出装置と適合する必要があります。フローサイトメトリーを使用する場合、ご使用のフローサイトメーターのレーザーと検出器に適合する蛍光物質を結合した抗体を選択してください。</p>
抗体の使用	<p>細胞処理後に翻訳後修飾または活性化されたタンパク質に特異的な抗体を選択することは、処理細胞と未処理細胞の間でのいくつかの比較に有用です。パイオ・ラッドの Phospho-Specific PrecisionAb 抗体 については、処理細胞溶解物と未処理細胞溶解物のリン酸化レベルを比較や、ウエスタンブロット膜を脱リン酸化によって検証されています。</p>	<p>複数の蛍光標識抗体 (マルチプレックス) を使用する場合、それらの蛍光スペクトルが重複しないようにしてください。重複すると、いずれの抗体が蛍光に対応しているのかを区別するのが困難になることがあります。</p>
付録	<p> パイオ・ラッドは他社と協力し、抗体の基準向上に努力しております。詳細については、Our Antibody Validation Principles をご覧ください。</p>	<p> 当社の Spectraviewer オンラインツール は、波長が重複しない、適合性のあるフルオロフォアを選択するのに役立ちます。</p>
	<p>蛍光標識抗体 [Fluorescent Antibodies] 蛍光標識抗体は、蛍光色素に結合させた抗体です。一次抗体または二次抗体を蛍光色素に結合させることができ、これを検出することで、目的のタンパク質における空間的または時間的変化を明らかにすることができます。蛍光物質がより短い波長の光による励起に続いて特定の波長の光を放出する</p>	<p>輝度 [Brightness] バックグラウンド蛍光と区別できるように、蛍光物質が十分に明るいことが重要です。メーカーのデータを製品ページで確認することで、その輝度を評価できます。例えば、フローサイトメトリーや蛍光抗体法のデータは、実験で検出可能な輝度を評価するのに役立ちます。</p>
	<p> パイオ・ラッドは他社と協力し、抗体の基準向上に努力しております。詳細については、Our Antibody Validation Principles をご覧ください。</p>	<p>検出分解能を最適化するには、明るい蛍光物質を使用して希少タンパク質を検出するのが最良です。暗い蛍光物質は、アバンタントなタンパク質の検出に使用できます。</p>
	<p> パイオ・ラッドは他社と協力し、抗体の基準向上に努力しております。詳細については、Our Antibody Validation Principles をご覧ください。</p>	<p> フローサイトメトリー用の蛍光抗体の選択に関するガイダンスについては、フローサイトメトリー基礎ガイド のウェブページをご覧ください。</p>

[抗体の選択](#)

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録



抗体の取扱い [Handling Your Antibody]

抗体を受け取ったら、損傷したり劣化したりしないように適切に保存することが重要です。抗体を保存場所から取り出す場合も同様です。いくつかの簡単なガイドラインに従うことで、今後の実験のための抗体の適切な保存に役立ちます。

保存 [Storage]

推奨される保存条件については、抗体の製品データシートを参照してください。抗体の保存温度は主に抗体のフォーマットと組成により決まりますが、ほとんどの抗体は+4°Cから-20°Cで安定に保存できます。一部のデータシートには、「+4°Cまたは必要に応じて-20°C」と記載されています。これは、抗体を冷蔵庫で短期保存できることを示していますが、-20°Cで長期保存するのが最良です。

抗体のフォーマットとその保存の詳細については、表5を参照してください。

表 5. 抗体保管に関する推奨事項

形態または成分	保存	説明
凍結乾燥抗体 (再懸濁前)	+4°Cまたは -20°C	凍結乾燥状態で供給された抗体は、凍結乾燥中の水分除去により抗体の有効期間が延びるため、+4°Cまたは-20°Cで凍結乾燥された状態で何年も安定している。
凍結乾燥抗体 (再懸濁後)	データシートを参照してください。	製品を再懸濁すると、有効期間が短くなる可能性があります。
抗菌剤を含まないフォーマット (例、アジ化ナトリウム、プロクリン [ProClin]防腐剤)	凍結	温度上昇時には、微生物の蓄積により抗体活性が損われる可能性がある。
血清および腹水	凍結	温度上昇時には、サンプル中のプロテアーゼにより抗体が分解される可能性がある。
酵素結合抗体	凍結させない。	酵素は温度変化に弱く、凍結と解凍を繰り返すと触媒活性が低下する可能性があります。

抗体溶液の凝固点を-20°C未満に下げするために、保存前に抗体に50%滅菌グリセロールなどの凍結防止剤を常時添加する研究者もいます。これによって、抗体構造を損傷させる氷結晶の形成が防止されます。この方法では、ほとんどの抗体の性能に影響を及ぼすことはないと考えられますが、凍結防止剤の存在下で保存された抗体の安定性に関するデータはバイオ・ラッド社にはありません。

保存温度に関係なく、抗体を損傷する温度変動を避けるために、次の推奨事項に従ってください：

- 温度変化が少ない冷蔵庫や冷凍庫の奥側に抗体を保存してください。ドア付近では、冷蔵庫や冷凍庫の開閉時に温度が変動します。
- 氷を蓄積させないために温度変動サイクルがある、霜取り機能付き機器に抗体を保存しないでください。

分注 [Aliquoting]

凍結融解により損傷させないための別の方法として、抗体を小さなバイアルに分注し、使用のたびに抗体のバイアルを保存場所から取り出す回数を減らす方法があります。既知の容量に分注することで、抗体の残量を簡単にモニターできるという別の利点があります。

短時間のマイクロ遠心分離により容器の壁や蓋に付着する溶液をスピンドアウンした後、タンパク質低吸着性マイクロ遠心チューブに抗体溶液を分注します。容量が少ないほど蒸発により濃度が増加しやすいので、各チューブに10 µl以上の容量を分注してください。

蛍光結合抗体や酵素結合抗体を分注する際には、光により結合体が損傷する可能性があるため、暗色のマイクロ遠心チューブを使用するか、透明なチューブはアルミホイル等で遮光することが重要です。

低濃度 (<1 mg/ml) で抗体を保存すると、分解しやすく、また、チューブ壁に付着しやすいので、分注前に希釈しないでください。低濃度で販売されている抗体には、血管壁への抗体の付着を低減するために、BSAなどの担体タンパク質が含まれていることが多いです。

無菌状態 [Aseptic Contidions]

無菌技術を十分に活用し、結果に影響を及ぼしうる混入がないことを確認してください。抗体は細菌汚染に非常に弱く、冷蔵温度でも経時的に抗体が分解することがあります。抗体を分注し、同じチューブ内でのピペティングをしないことで、細菌混入リスクがさらに軽減されます。

解凍 [Thawing]

抗体の使用時には、抗体が損傷しないように解凍時に特に注意してください。急速解凍は避けてください（例、手で温める）。代わりに、抗体を氷上で徐々に解凍させ、使用時には氷上に置いてください。突然の温度変化により、抗体構造が不安定になる可能性があります。

同じ実験で複数の分割量を使用する際には、すべて同じ数の凍結融解サイクルを経ていること、すべての分割量の内容物がプールされていることを確認してください。これにより、使用する抗体溶液の均一性が保たれます。

保証期限 [Guarantee]

抗体製品は有効期限とは別にメーカーが製品の保証をする保証期限が示されている場合があります。バイオ・ラッドの抗体製品では、日本国内倉庫の発送日から12か月もしくは製品に貼付されたラベル日付のいずれか早い日付になります。

輸送温度 [Transport temperature]

近年、メーカー各社は地球環境保全のため、梱包材削減などの取組みを実施しています。抗体製品においてもバイオ・ラッドのみならず、世界中で梱包材の削減や保冷剤の削除が行われています。そのため、現在、多くの抗体製品は常温輸送されています。抗体は非常に安定なタンパク質のため、常温輸送により、活性喪失等の影響を受ける可能性はほとんどありません。

ただし、納品された抗体はデータシートの推奨条件に従って直ちに適切な条件で保管する必要があります。

製品のデータシートについては、製品に添付されている場合と [Web](#) からカタログ番号で検索して参照する場合があります。

抗体の選択

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録



標的を知る [Knowing Your Target]

標的タンパク質の生物学的特性を理解することは、それを認識する抗体を理解することよりもさらに重要です。特定のタンパク質を研究対象として選択した場合、その局在、発現、活性についてすでに十分な知識がある可能性が高いです。実験計画時には、プロトコールによって成功に導かれるように、タンパク質に関するすべての知見を検証することが重要です。

発現 [Expression]

標的タンパク質の発現レベルは、細胞株や細胞の状態により変動します。有効な結果を得るには、標的タンパク質をその発現時に検出することができる抗体が必要です。タンパク質が存在しないということが事実であり、抗体によりタンパク質の存在を検出できなかったことによるものではないことを実証する必要がある場合、陽性コントロールを用いてください。

細胞中に少量しか存在しないタンパク質を検出するには、抗体濃度を上げてみてください(次章 p16の「作業用希釈と滴定」に関する推奨事項を参照)。あるいは、以下のようにサンプルを濃縮してみてください。

- **細胞溶解物の使用時には**、溶解緩衝液を減らして細胞を調製するか、免疫沈降によりサンプルを濃縮してください。
- フローサイトメトリーに**単一の細胞懸濁液を使用する際は**、細胞を少量のシース液に懸濁し、より多くの細胞を収集することで細胞を濃縮します。



Cell Frequencies in Common Samples

には、一般的なヒト、マウス、ラット組織における抗原の相対頻度が示されています。これらの表を実験計画に役立ててください。



The Human Protein Atlas や **UniProt** などのウェブサイトや査読済みの文献の調査を通じて多くの標的の発現プロファイルを評価することもできます。

細胞局在 [Cellular Localization]

抗体を標的抗原に接近可能にするには、細胞内での標的タンパク質の位置を知ることが不可欠です。例えば、ウエスタンブロット分析を実施する際、細胞の透過処理が必要かどうかを判断し、溶解緩衝液の選択に有用です。

細胞分画は、細胞内成分やその中のタンパク質を物理的に分離するプロセスです。このプロセスは、標的タンパク質の位置を特定するのに有用です。また、サンプル中に少量しかない標的タンパク質を濃縮したい場合にも特に有用です。この手法は、特定の条件下で標的タンパク質が1つの細胞内区画から別の細胞内区画に移動するかどうかを判断するためにも使用できます。例えば、核・細胞質キットは、核画分を細胞質画分から分離し、その中のタンパク質を同定可能にします。

標的が細胞内エピトープと細胞外エピトープの両方を伴う膜結合タンパク質である場合、これらのエピトープのどちらに抗体が結合するかを知ることが重要です。例えば、CD3 受容体には、細胞外領域、膜貫通領域、細胞内領域があります。バイオ・ラッドのマウス抗ヒト CD3 モノクローナル抗体 (#MCA2184) により、 δ - ϵ または γ - ϵ サブユニット複合体のいずれかを含むヒト CD3 複合体の細胞外エピトープが認識されます。したがって、フローサイトメトリー実験でこの抗体を使用する際には、結合する CD3 の領域に接近可能にするために透過処理は不要です。

分子量 [Molecular Weight]

ウエスタンブロットングを実施する際、抗体による正確な同定を判断するには、選択した標的の分子量を知ることが不可欠です。標的、そして実施する実験に応じて、様々なアイソフォームの発現、グリコシル化、他の翻訳後修飾により分子量がどのように変化するかを知る必要があります。

抗体の選択

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録

例えば、標的タンパク質がリン酸化されている場合、各リン酸化基は約 80 Da 増加するため、膜上でのバンドの位置に影響を与えます。UniProt などのウェブサイトは、タンパク質の予想分子量に関する情報を得るのに有用です。

複合体内の標的 [Target in Complex]

標的タンパク質が他のタンパク質と複合体を形成している場合、タンパク質間相互作用によってエピトープがマスクされる可能性があるため、エピトープを抗体で検出することはできません。多くの異なるタンパク質を含むサンプルから標的タンパク質を免疫沈降(Immunoprecipitation)により分離・濃縮することができます。

ウエスタンブロッティングによる検出では、タンパク質が他のタンパク質と複合体を形成している場合、単独の場合よりも分子量が大きくなります。溶解物をゲルに添加する前に十分に変性・還元されていない場合、複合体中のタンパク質がサンプル調製や電気泳動中に完全に解離せず、目的のタンパク質で観察される分子量が、予測される単量体型よりも実質的に大きくなることに注意してください。

抗体の選択

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録



抗体の使用 [Working with Your Antibody]

新たに抗体を入手した際には、他の抗体とまったく同じ方法で使用しようと思うかもしれませんが、それは間違っていることがあります。新たな抗体を使用した実験を最大限に活用するには、プロトコール、コントロール、作業濃度、緩衝液を再検討しなければならないかもしれません。

プロトコール [Protocols]

実験計画時に、メーカーが提供する特定用途向けプロトコールは、プロセスの各工程を案内するのに有用です。これらの推奨プロトコールには、特定の条件に基づいた一般的な手順が示されており、実験設定に応じて最適化するための枠組みとして使用してください。

発表された論文の「Material and Methods」に記載されているプロトコールは、お客様のプロトコールを設計・最適化するための優れた情報源になります。ほとんどの場合、要件(例、同じ試薬の使用、同じサンプルタイプでの操作、同じ細胞の検証、同じ研究分野)を満たすプロトコールを見つけることができます。

バイオ・ラッド社では、次のようなたくさんの**推奨プロトコール**を提供しています：

- 特定アプリケーション用プロトコール：ELISA、フローサイトメトリー、イメージング、ウエスタンブロットティング
- 特定製品向けプロトコール：[TidyBlot ウエスタンブロット検出試薬:HRP](#) および [alamarBlue 試薬](#)



バイオ・ラッド製抗体を用いた個別の実験ガイダンスについては、[テクニカルサポート](#)にお問い合わせください。

コントロール [Controls]

すべての実験において、適切なコントロールを置くことにより結果を正確に解釈し、問題解決するために極めて重要です。使用すべきコントロールの種類は、用途と実験要件によって決まります。厳密には、抗体の使用とは無関係の内容が以下に含まれていますが、実験を成功させるためには、適切なコントロールに関する知識が重要になります。

陽性コントロールと陰性コントロール

陽性コントロールとは、ポジティブな結果をもたらすことがわかっているサンプルのことです。陽性コントロールにより、観察されたネガティブな実験結果は間違いではなく、抗体により標的を検出可能であることが確信できます。陽性コントロールがないと、ネガティブな実験結果を実験の失敗として解釈する可能性があります。

陰性コントロールとは、ネガティブな結果をもたらすことがわかっているサンプルのことです。陰性コントロールにより、観察されたポジティブな実験結果は間違いではなく、抗体からのポジティブシグナルが、単にバックグラウンド結合によるものではないことが確認できます。

二次単独コントロール [Secondary-only Controls]

二次単独コントロールは、二次抗体を使用する際に実験に含める必要がある陰性コントロールの一種です。この場合では、一次抗体を除外し、二次抗体のみを加えます。これにより、陽性が、二次抗体の非特異的結合による偽陽性ではなく、一次抗体への二次抗体の結合によるものであることが確認されます。

未染色コントロール [Unstained Controls]

フローサイトメトリー、蛍光免疫組織化学、免疫細胞化学については、未染色コントロール(抗体で染色されていないサンプル)を必ず含めてください。未染色コントロールにより、実験手順に起因する偽陽性が否定され、細胞からのバックグラウンド蛍光や自家蛍光のレベルを決定するのに有用です。

アイソタイプコントロール (Isotype Controls)

アイソタイプコントロール抗体は、一次抗体とほぼ同じ特性(同じ宿主および標的種、同じアイソタイプ、同じ標識)をもっていますが、標的特異性は同じではありません。代わりに、分析対象の細胞型には存在しない抗原に対して産生されています。

抗体の選択


抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録

アイソタイプコントロールを使用し、免疫細胞にある Fc 受容体や他の細胞タンパク質への一次抗体の非特異的結合を排除します。最適な結果を得るには、アイソタイプコントロールを一次抗体と同じ濃度で使用してください。アイソタイプコントロールは、フローサイトメトリー実験でよく使用され、免疫組織化学、免疫沈降、ウエスタンブロットティング、ELISA でも使用できます。



フローサイトメトリーでのアイソタイプコントロールの使用の詳細については、[Isotype Controls in Flow Cytometry](#) もしくは、「[フローサイトメトリーで必要とされるさまざまなコントロール](#)」のウェブページをご覧ください。また、[Crucial Controls and Tips for Immunohistochemistry Experiments](#) (免疫組織化学実験の重要なコントロールとヒント)の記事をお読みください。

フローサイトメトリーコントロール

既に述べたコントロールの他、フローサイトメトリー実験に必要な他のいくつかのコントロールがあります。

生存コントロール [Viability Controls]

生存コントロールは、死細胞と生細胞を識別し、いくつかの異なるメカニズムを利用できます。[PI](#)、[7-AAD](#)、[DAPI](#) などの DNA 結合色素は、死細胞や死にかけている細胞の DNA にもみ接近できます。そのため、これらの細胞だけが蛍光を発します。[VivaFix Cell Viability Assays](#) などでのタンパク質結合色素は、死細胞内の第一級アミンにのみ接近できます。

コンペンセーションコントロール [Compensation Controls]

コンペンセーションコントロールにより、各蛍光物質の特定のシグナルだけが分析されます。各抗体が個々に染色されて (単一染色)、他の検出器チャネルへの蛍光物質発光のスピルオーバーを示します。このスピルオーバーシグナルは、コンペンセーションと呼ばれるプロセスで数学的に除かれます。あるいは、コンペンセーションビーズを使用することができます。これは、抗体に結合し、コンペンセーションを算出できるポジティブシグナルを生成します。

FMO コントロール [Fluorescence Minus One]

FMO コントロールは、ゲーティング境界の特定を補助します。FMO コントロールには、完全な抗体パネルから 1 つの抗体を引いたものが含まれ、結果における存在しない抗体の影響が明らかになります。データによって、隣接するチャネルへの各抗体染色の拡散が示され、陰性集団から陽性を判定するのに有用であるため、ゲート設定に導かれます。


Fc ブロックコントロール [Fc Block Controls]

Fc ブロックコントロールを含めることで、

偽陽性が防止されます。Human Seroblock (#BUF070) や Mouse Seroblock FcR (#BUF041) などの Fc ブロッキング試薬を加えることで、一部の免疫細胞に存在する Fc 受容体が、抗体の定常 Fc ドメインに結合しなくなります。

ダブレット除去 [Doublet Exclusion]

コントロールとは別に、ダブレットを除去することで、単一細胞のみがカウントされ、2 個の細胞が同時に分析されなくなります。ダブレット内の 2 個の細胞の一方が陽性であると、両方の細胞が陽性としてカウントされることがあります。




フローサイトメトリーの最良実施例に関する詳細については、[フローサイトメトリー基礎ガイドの第 5 章](#)を参照してください。フローサイトメトリー実験の最適化について記載されています。



フローサイトメトリー用コントロールの詳細については、当社のガイド [Take Control - Crucial Controls for Flow Cytometry](#) (コントロールの準備 - フローサイトメトリー用の重要なコントロール)をお読みください。また、当社のブログ [To Control or Not to Control, That Is the Multicolor Flow Question...](#)もお勧めします。

ウエスタンブロットティング用コントロール

ローディングコントロールにより、ウェル間のタンパク質量を比較可能です。等量のタンパク質がウエスタンブロットのすべてのウェルに確実に添加され、転写されます。これによって、目的のタンパク質の発現において認められる差が正しいことが確信できます。通常は、ハウスキーピング遺伝子によってコードされるタンパク質など、構成的に発現されるタンパク質を検出する抗体を用いています。あるいは、総タンパク質染色か、Stain-Free テクノロジーにより測定された総タンパク質の標準化 (TPN: Total Protein Normalization) により、各サンプルの総タンパク質量を測定することができます。



添加コントロールと標準化に関する詳細については、[The How and Why of Normalizing Your Western Blots](#) (ウエスタンブロットを標準化する方法と理由) および [Loading Controls](#) のウェブページを参照してください。

分子量スタンダードにより、標的タンパク質のサイズを推定できる他、電気泳動の進行状況をモニタリングし、転写効率をチェックできます。

抗体の選択


抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録

抗体の選択	<div data-bbox="306 331 885 526" style="border: 1px solid black; padding: 5px;">  <p>ウエスタンブロットング用コントロールの詳細については、Introduction to Western Blotting (ウエスタンブロットング入門) ガイドをお読みください。また、Taking Control of Your Western Blotting Troubles (ウエスタンブロットングのトラブルをコントロールする) の記事もお勧めします。</p> </div> <p>最も基本的なレベルでは、ネガティブコントロールとしてブランクサンプルを ELISA に含めてください。ただし、コントロールを追加することで、データの信頼性が増します。他の方法により検証された分析対象物の濃度でコントロールサンプルを追加することで、アッセイで得られた結果の正確性が保証されます。</p> <p>スパイクコントロール（既知量の分析対象物を ELISA に追加し、その後の回収率を評価する）により、アッセイの性能を判定可能です。</p>	<p>雑音比 (SN 比) を与える濃度を選択することができます。抗体が過剰量であると、標的タンパク質以外のタンパク質への非特異的結合によってバックグラウンドシグナルを生じることがありますが、抗体が少量すぎると目的のタンパク質を検出できないことがあります。</p> <p>新しいバッチの抗体バイアルを入手したら、滴定しなければなりません。これは通常、ラベルのバッチコードで識別できます。各バッチの機能に差はないはずですが、わずかな差が製品性能に影響を与える可能性があります。そのため、抗体の新しいバッチと古いバッチの機能に差がないことを確認することをお勧めします。最適濃度が用途により異なる場合があるため、使い慣れた抗体でも、新しい用途で使用する場合には滴定する必要があります。</p>														
抗体の取り扱い	<div data-bbox="306 922 885 1070" style="border: 1px solid black; padding: 5px;">  <p>詳細については、ELISA Basic Guide をお読みください。ELISA コントロール に関する特定のセクションが掲載されています。</p> </div>	<p>新しい抗体バッチで、または新しい用途で滴定する場合にはいくつかの点を考慮してください。他の実験的要因（細胞や組織の種類および二次抗体など）を比較可能にするのが最良です。染色量を増やす必要がある場合、抗体量も増やして濃度を一定に保ってください。マルチプレックス実験では、すべての抗体を別々に滴定してください。様々な用途で実施可能な滴定を以下に例示します。</p>														
標的を知る	<p>免疫組織化学用コントロール [IHC Controls]</p> <p>染色前に組織での自然蛍光を観察するには、未染色のバックグラウンド組織コントロールが不可欠です。これは、自家蛍光が高い組織について特に重要です。</p> <p>吸収コントロールは、一次抗体が、その産生のために使用された抗原に排他的に結合するか否かを示すネガティブコントロールの一種です。これらのコントロールでは、一次抗体が、実験でのその使用前に精製抗原に吸収されます。この種のコントロールは、ペプチド免疫原で最も高い機能を発揮します。</p>	<p>フローサイトメトリー用抗体の滴定</p> <p>陽性集団と陰性集団の分離比である染色指数 (SI: Stain Index) を用いて最適な抗体濃度を見つけます。SI が最大となる抗体希釈率を選択する必要があります。例として、ラット抗マウス CD3 : StarBright Violet 440 (# MCA500SBV440) を C57BL/6 脾細胞で滴定しました。図 4 には、結果として得られた SI をプロットしており、最適濃度が抗体原液の 0.5~1 倍であることがわかります。</p>														
抗体の使用	<div data-bbox="306 1541 885 1688" style="border: 1px solid black; padding: 5px;">  <p>どのコントロールを含めるのか、またその理由の詳細については、Crucial Controls and Tips for Immunohistochemistry Experiments (免疫組織化学実験の重要なコントロールとヒント) のウェブページを参照してください。</p> </div>	 <table border="1"> <caption>Figure 4 Data (Approximate)</caption> <thead> <tr> <th>濃度 (Concentration)</th> <th>SI (Stain Index)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.0</td><td>0</td></tr> <tr><td>0.1</td><td>10</td></tr> <tr><td>0.2</td><td>20</td></tr> <tr><td>0.3</td><td>25</td></tr> <tr><td>0.5</td><td>28</td></tr> <tr><td>1.0</td><td>30</td></tr> </tbody> </table>	濃度 (Concentration)	SI (Stain Index)	0.0	0	0.1	10	0.2	20	0.3	25	0.5	28	1.0	30
濃度 (Concentration)	SI (Stain Index)															
0.0	0															
0.1	10															
0.2	20															
0.3	25															
0.5	28															
1.0	30															
付録	<p>作業用希釈と滴定 [Dilutions and Titration]</p> <p>抗体メーカーでは、データシートに作業濃度や希釈率を記載することがよくあります。有用な出発点となりますが、社内検査に基づいているため、実験において理想的ではないことがあります。抗体を広範囲の濃度や希釈で検査することは、滴定 (Titration) とも呼ばれ、実験のために最大の信号対</p>	<p>図 4. C57BL/6 脾細胞におけるラット抗マウス CD3 (# MCA500SBV440) の滴定。C57BL/6 脾細胞を 2 倍希釈系列により抗体染色した。算出された SI 値を図中にプロットした。SI、染色指数。</p>														



フローサイトメトリーにおいて抗体滴定が非常に重要である理由、滴定実験の設定方法、染色指数に関する詳細情報については、[その抗体濃度は最適ですか？フローサイトメトリーにおける抗体濃度最適化の必要性](#)をご覧ください。

ウエスタンブロッティング用抗体の滴定

ウエスタンブロッティングでは、抗体量を減らし、プロットの連続レーンで滴定し、最適な抗体濃度を視覚的に決定することで非特異的結合を最小限に抑えることができます。例として、分子量スタンダード、比較用の参照抗体バッチ、二次抗体のみのコントロールを含む実験においてマウス抗ヒト F-アクチン (#MCA358G) の段階希釈物を分析しました。図5は、ウサギ F(ab')₂ 抗マウス IgG:HRP 二次抗体 (#STAR13B) で可視化された、結果として得られたプロットを示し、最適な抗体濃度が抗体原液の 500 分の 1 希釈であることがわかります (シグナル対バックグラウンド比が最良であると思われます)。

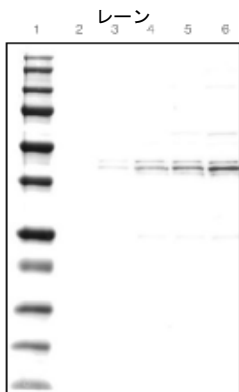


図5. マウス抗ヒトFアクチン (#MCA358G) の滴定。
抗体の原液を段階希釈した。レーン1、マーカー；レーン2、二次抗体のみ (#STAR13B, 1/12,000 希釈)；レーン3、4、5、6、マウス抗ヒト F アクチン (#MCA358G) のそれぞれ 1/2,000、1/1,000、1/500、1/200 希釈。HRP 標識二次抗体で抗体染色を可視化する。

ELISA 抗体滴定 [ELISA Antibody Titration]

ELISA で抗体を段階希釈し、最適な抗体濃度を決定します。実験例では、マウス抗 hCG (#MCA1026) を 10 回段階希釈しました。実験には、2つの異なるロットのマウス抗 hCG 抗体 (L1803 および 0409) が含まれました：コーティング抗原を伴う二次抗体のみのコントロール、コーティング抗原を伴わない二次抗体のみのコントロール。図6は、二次抗体ウサギ F(ab')₂ 抗マウス IgG:HRP (#STAR13B) を使用した、ELISA での読み取り値のプロットを示しています。Y 軸上の吸光度値が減少し始める X 軸上の点を決定することで最適な希釈率を読み

取ることができます。

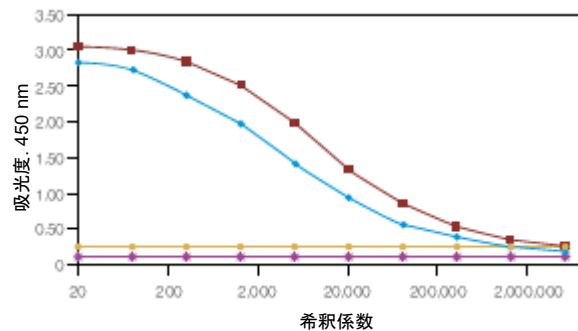


図6. マウス抗 hCG (#MCA1026) の滴定。抗体の原液を段階希釈し、HRP 標識二次抗体で抗体染色を可視化した。ELISA の読み取り値を図中にプロットした。■、MCA1026 (0409)；◆、MCA1026 (L1803)；*、固相化抗原および二次抗体；●、二次抗体のみ。

緩衝液 [Buffers]

ほとんどの抗体を標準的なアッセイ緩衝液で使用できます。例えば、脱脂粉乳または BSA をブロッキング成分として含む PBS 緩衝液中で、ウエスタンブロッティング用抗体のほとんどを使用できます。ただし、特定の緩衝液を必要とする抗体もあり、重要なこととして、抗体データシートを読んで、緩衝液に関する要件が定められていることを確認してください。緩衝液に関する要件が定められている抗体およびアッセイの例を以下に示します。

- マウス抗ヒト S100 タンパク質抗体クローン 6G1 (#MCA2770) は、EDTA や他の二価結合剤に弱いです。アッセイ緩衝液中に 5 mM CaCl₂ が存在することで、性能を改善させることができます。
- ヤギ F(ab')₂ 抗ラット IgG:FITC (#STAR69) とマウス IgG の交差反応性は吸着によって低減されました。マウス組織で使用するために 10% (v/v) 正常マウス血清を含む緩衝液を使用することでさらに低減させることができます
- ヤギ抗マウス IgG:FITC (#STAR70) は、10% 正常ラット血清を含む緩衝液で希釈することで、残留する交差反応性を除去することができます。
- マウス抗ヒトミエロペルオキシダーゼ抗体 (#MCA1757) は、骨髄細胞と白血病のフローサイトメトリー試験に使用できます。標的結合には細胞透過性が必要です。
- サイトカイン染色では、プレフェルジン A やモネンシンなどのゴルジ阻害剤が必要です。
- 機能アッセイでは、アジ化ナトリウム不含溶液が必要です。

抗体の詳細な記録

実験に使用した抗体製品カタログ番号とバッチ番号は忘れずに記録してください。抗体の性能を経時的にバッチ間で比較でき、トラブルシューティング時にメーカーに製品情報を要求する際に必要になります。

抗体の選択

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録



付録 [Appendix]

抗体の選択

用語集

抗血清(Antiserum) : 注射された抗原に対する抗体を含む動物の血液で、赤血球と凝固タンパク質が除去されています。

腹水液(Ascites Fluid) : 腹腔内に蓄積した液体です。マウスやラットの腹腔内での抗体産生ハイブリドーマ細胞の増殖に起因する可能性があります。

クローン名(Clone Name) : 特定のハイブリドーマ細胞株により産生された抗体に固有の識別名。

エピトープ(Epitope) : 抗体の抗原結合部位により認識される抗原部分。

Fab ドメイン(Fab Domain) : 1本の重鎖、1本の軽鎖、1つの抗体結合部位で構成される抗体の抗体結合領域。

Fc 受容体(Fc Receptor) : 抗体の Fc 領域に結合する特定の免疫細胞の細胞表面受容体。

Fc ドメイン(Fc Domain) : Fc 受容体が結合する、抗体結合領域を含まない抗体定常領域。

蛍光物質(Fluorophore) : 抗体が結合されうる蛍光物質/蛍光タンパク質。

フォーマット(Format) : 抗体の供給形態(精製または標識色素など)。

宿主種(Host Species) : 抗体が産生される動物種。

ハイブリドーマ(Hybridoma) : リンパ球腫瘍細胞の樹立された組織培養株と特定の抗体産生細胞の融合により形成された体細胞ハイブリッドであり、特定のモノクローナル抗体の *In vitro* 産生のために使用されます。

Ig 画分(Ig Fraction) : ポリクローナル抗体を含む精製抗血清。

免疫原(Immunogen) : 免疫細胞と抗体により特異的に結合される抗原。

免疫グロブリン (Ig:Immunoglobulin) : 抗体の別称用語。

アイソタイプ(Isotype) : 免疫グロブリン遺伝子ファミリー内の表現型変異で、変異型免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖をコード化するものです。

モノクローナル(Monoclonal) : 「単一のクローン」であるモノクローナル抗体は、単一のB細胞親クローンから産生され、そのため、標的タンパク質の単一のエピトープに結合します。

ポリクローナル(Polyclonal) : 「多くのクローン」であるポリクローナル抗体は、複数のB細胞により産生される抗体の混合物であり、各抗体が同じ標的タンパク質上の異なるエピトープを認識します。

組換え抗体(Recombinant Antibodies) : 従来の動物免疫方法ではなく、免疫グロブリンの可変領域の重鎖と軽鎖をコードする遺伝子を用いて生成された抗体。

種間の交差反応性(Species Cross-Reactivity) : 抗体が複数の種において標的タンパク質を認識する性質。

標的種(Target Species) : 抗体を作用させる動物種(組織または細胞)。

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録

抗体選択ツール

適切な抗体の選択は複雑なプロセスになる可能性があります。バイオ・ラッドではお客様に有用な複数のツールを提供しています（表6）。

表 6. 抗体選択ツール。

リソース	種類とフォーマット
Interactive Human Cell Marker Selection Tool	対話型オンラインツール
Interactive Mouse Cell Marker Selection Tool	対話型オンラインツール
Lineage Biomarkers of Human Immune System Guide	冊子；印刷物と PDF
Lineage Biomarkers of Murine Immune System Guide	冊子；印刷物と PDF
Human Immune Cell Lineage & Antigen Expression Poster	ポスター；印刷物と PDF
Biomarker Expression Patterns in Human Immune Cells Poster	ポスター；印刷物と PDF
Mouse Immune Cell Lineage & Antigen Expression Poster	ポスター；印刷物と PDF
Biomarker Expression Patterns in Murine Immune Cells	ポスター；印刷物と PDF
Biomarker Expression Poster in Bovine, Canine, Porcine, and Avian Immune Cells	ポスター；印刷物と PDF

他のリソース

バイオ・ラッドには、研究のガイドとなる資料を豊富にご用意しております。

一般的な資料

- [Antibody and Kit Brochures](#)
- [Articles, Educational Summaries, Mini-reviews and Application Notes](#)
- [Posters, Pathways, Guides, and Interactive Tools](#)
- [Batch/Lot Specific Datasheets](#)
- [Spin Break: Podcasts](#)
- [Antibody Webinars](#) と [Antibody Videos](#)

アプリケーション別資料

- [Antibody Applications](#)
- [Western Blot: What is Western Blotting?](#)
- [ELISA and Immunoassays](#)
- [Flow Cytometry Explained](#)
- [Immunofluorescence](#)
- [Immunohistochemistry](#)
- [Immunoprecipitation](#)
- [Recommended Antibody Protocols](#)

Technical Brief～日本語での新製品や技術情報

人気のあるツール

- [amarBlue Colorimetric and Fluorometric Calculators](#)
- [Fluorescent Spectraviewer](#) -フローサイトメトリー、蛍光顕微鏡、ウエスタンブロットティングをサポートします。
- [フローサイトメトリー用のマルチカラーパネルビルダー](#)
- [二次抗体選択ツール](#)

Lab Crunches ブログ

- [“Is it the antibody?” Tips for caring for your antibody for consistent results](#)
- [Making the Switch to Non-Animal Derived Antibodies](#)
- [Standardizing Antibody Validation](#)

Technical Support

- [Product Troubleshooting](#)
- [Antibody Support : FAQs](#)
- [バイオ・ラッド Technical Q&A](#)

他のリソースについては、[bio-rad-antibodies.com](#) にアクセスしてください。

抗体の選択

抗体の取り扱い

標的を知る

抗体の使用

付録

詳細については、[bio-rad-antibodies.com/AntibodyAdvice](https://www.bio-rad-antibodies.com/AntibodyAdvice) をご参照ください。

“BIO-RAD”は、Bio-Rad Laboratories, Inc.の商標です。HuCAL は、特定の法域における MorphoSys AG 社の商標です。本書で使用しているすべての商標が、それぞれの所有者に帰属します。

HuCAL 人工抗体の利用制限について

HuCAL 人工合成抗体作製サービスでご提供する抗体は、研究用途での使用に制限されており、医薬開発（therapeutic、prophylactic、palliative を含む）目的でご使用頂くことはできません。また、商業利用、治験内および診断用途で使用する場合は、別途契約が必要となります。

HuCAL generated antibodies are not intended for use in humans, and may not be used for therapeutic, prophylactic or palliative purposes. Bio-Rad is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. in certain jurisdictions. HuCAL, HuCAL PLATINUM, CysDisplay and RapMAT are trademarks of MorphoSys AG.



ライフサイエンス

[bio-rad.com](https://www.bio-rad.com)

本社 〒140-0002 東京都品川区東品川 2-2-24 Tel : 03-6361-7000 Fax : 03-5463-8480

製品の学術的なお問い合わせは

Mail : life_ps_jp@bio-rad.com Tel : 03-6404-0331 Fax : 03-6404-0334

*価格・仕様は予告なく変更になることがあります。

*価格(税抜き)は 2022 年 10 月現在のもので、メーカー希望小売価格です。

*本ガイドに記載されている会社名、商品名は各社の商標または登録商標です。

*本ガイドに記載されている製品は、研究用であり、診断目的にはご利用いただけません。