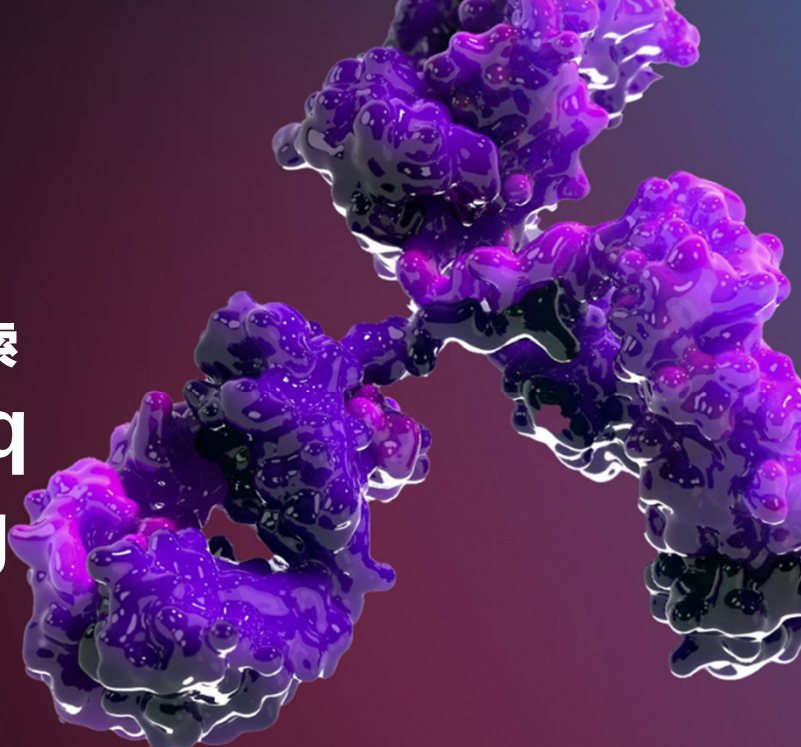


ハイスループット自己抗体探索 HuScan® PhIP-Seq Antibody Profiling 受託解析サービス



ヒトプロテオーム全体に対するエピトープレベルの抗体探索

ファージ免疫沈降シーケンシング (PhIP-Seq) は、DNAハイスループットシーケンシングと次世代プロテオミクスを組み合わせた強力なマルチプレックス解析法であり、個人の抗体プロファイルの包括的な解析が可能です。従来の抗原特異的アッセイと比べて最も高いカバレッジを有しており、オーバーラップする長鎖ペプチドを介して、ほぼすべての抗原に対して抗体を検出することができます。HuScan®は、ファージディスプレイおよび免疫沈降シーケンシングにより、NCBI ヒトプロテオーム全体 (48,921のタンパク質およびアイソフォーム) に対して、エピトープレベルの自己抗体プロファイリングを同時に行うことができます。

HuScan final library contains

731,724

unique peptide sequences

HuScan detects antibodies against

48,921

proteins and isoforms



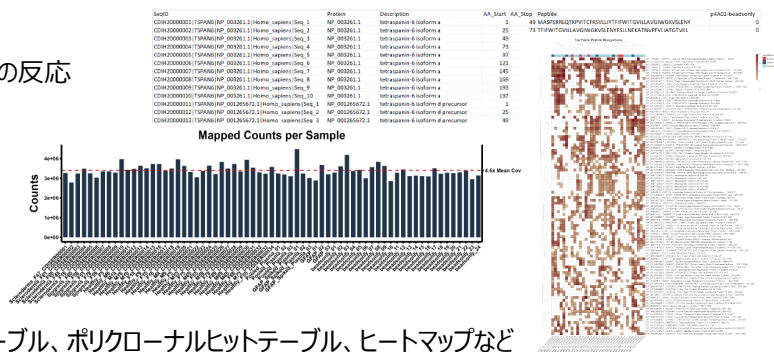
- ✓ プリメイドファージライブラリー使用
- ✓ 731,724のユニークペプチド配列
- ✓ 48,921のタンパク質とアイソフォームに対する抗体を検出

サービスの仕様と成果物

[作業内容]

1. サンプル (血清やその他抗体含有溶液) とファージライブラリーの反応
2. Protein A/Gブルダウンアッセイ
3. PCR増幅 (バーコードおよびシーケンスアダプター付加)
4. 次世代シーケンシング (Novaseq6000, PE150)
5. データ解析 (正規化および定量化)

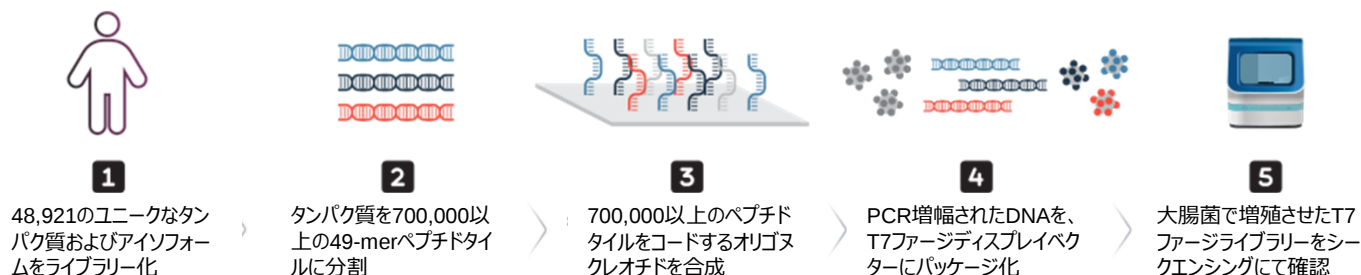
[成果物]: サマリーレポート、リードカウント結果、ペプチドヒットテーブル、ポリクローナルヒットテーブル、ヒートマップなど



HuScan PhIP-seq技術の概要

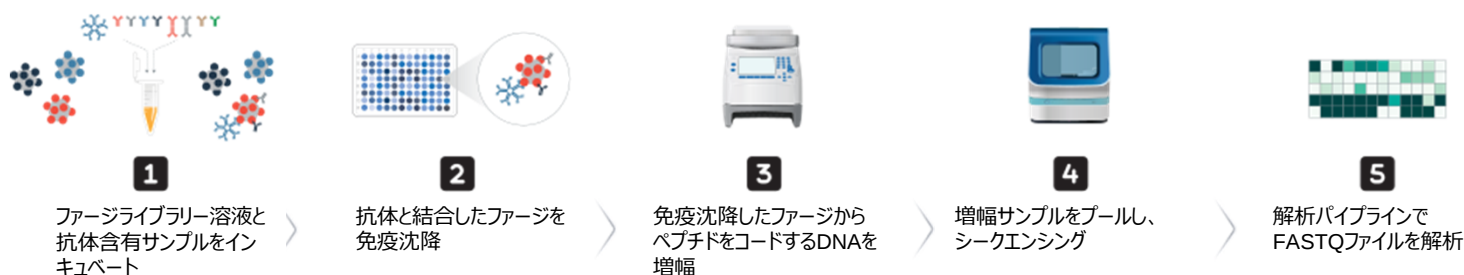
HuScan®サービスでは、患者サンプル（血清、血漿、CSFなど）におけるRefSeqヒトプロテオーム全体に対する自己抗体の存在を、定量的なシーケンシングリード出力を用いたシングルウェルアッセイで解析することができます。

HuScan PhIP-seqライブラリーのキュレーションと制作



HuScanヒトプロテオームPhIP-Seqライブラリーは、NCBI RefSeqデータベースにおける全てのアノテーション付きヒトタンパク質配列を含み、これには公開および計算により予測された全てのスプライスバリエーションとコーディング領域が含まれています。このデータセットは2015年11月に取得され、99%の配列同一性でクラスタリングして重複や部分エントリを削除しました。各タンパク質は25 aaずつオーバーラップするようにさらに49 aaペプチドに分割されました。異なるアイソフォームやホモログの同一領域からの冗長な配列を排除するため、49 aaペプチドをクラスター化し、アミノ酸の違いが2つ以下のペプチドを1つの代表配列で表すように、同一性95%で結合しました。最終的なライブラリーには、48,921のタンパク質とタンパク質アイソフォームからなる完全なヒトプロテオームを表す731,724のユニークなペプチド配列が含まれています。これらのペプチド配列をコードするオリゴヌクレオチドを合成し、クローニング用のアダプターを使用してPCR増幅後、大腸菌発現用T7ファージディスプレイベクターに組み込みました。

HuScan PhIP-seqメソッドと解析



ファージライブラリー溶液と、希釈した患者血清またはその他の抗体含有溶液と反応させます。結合した抗体をプロテインA/Gビーズで免疫沈降し、沈殿物をPCRで増幅し、次世代シーケンシングおよび解析パイプラインによって配列を定量します。このパイプラインでは、親ライブラリー内の個々のペプチドの全体的なクローン頻度の観点から、患者サンプルのIPリードカウントを抗体入力なしのネガティブコントロール（モックIP）と比較します。次に、ペプチドレベルとペプチドレベルで出力データが作成されます。このプロセスのより詳細な説明については、[Mohan, et. Al., 2018]をご参考いただけます。

サンプル要件

- ・血清または血漿：サンプルあたり20 μ L
- ・受入サンプル数：最少12サンプル
- ※ 12サンプル単位で受け付け（例）x12、x24、x36、x48：標準96穴プレートの全列
- ※ 48サンプル以上は任意のサンプル数で受付可。

※ 弊社が提供する解析サービスは研究用途のみとなっており、医療・診断および食品や医薬品の製造・品質管理等への利用はできかねますこと、予めご了承ください。

Filgen  **フィルジェン株式会社**
biosciences & nanosciences

【お問い合わせ】 受託解析部

TEL：052-624-4388 E-mail：support@filgen.jp

URL：https://filgen.jp/

代理店