

8. Antikörperservice

8.1 Monoklonale Antikörper aus Maus – Komplettprogramme	467	8.6 Markierung – Kopplung an Antikörper	475
8.1.1 Monoklonal „Basisprogramm“	467	8.6.1 Fluoreszenzfarbstoffe *	475
8.1.2 Monoklonal „Standardprogramm“	467	8.6.2 Phycobiliproteine * (z.B. PE)	475
8.2 Monoklonale Antikörper aus Maus – Individuelle Service Module	468	8.6.3 Peroxidase * (POD)	475
8.2.1 Immunisierung Balb/c Mäuse	468	8.6.4 Alkalische Phosphatase * (AP)	475
8.2.2 Fusion	468	8.6.5 Biotin und LC-Biotin	475
8.2.3 Analyse	468	8.7 Testentwicklung	475
8.2.4 Reklonierung	468		
8.2.5 Produktion von Kulturüberstand	469		
8.2.6 Reinigung monoklonaler Antikörper	469		
8.2.8 Fragmentierung von Antikörpern	469		
8.3 Monoklonale Antikörper aus Kaninchen	470		
8.4 Polyklonale Antikörper – Komplettprogramme	472		
8.4.1 Komplettprogramm „Basis“	472		
8.4.2 Komplettprogramm „Standard“	472		
8.4.3 Komplettprogramm „Plus“	472		
8.5 Polyklonale Antikörper – Individuelle Service Module	473		
8.5.1 Antigene (Design – Synthese – Kopplung)	473		
8.5.2 Immunisierung	473		
8.5.3 Antikörper-Affinitätsreinigung aus Seren	474		
8.5.4 Herstellung von Affinitätsmatrices	474		

8.1 Monoklonale Antikörper aus Maus – Komplettprogramme

8.1.1 Monoklonal „Basisprogramm“

Preis (EUR)

Immunsierung*
3 Balb/c Mäuse, je 4 Immunsierungen innerhalb von 3 Monaten, ELISA zur Bestimmung der Antikörpertiter

Fusion
Milzzellen-Präparation der Maus mit dem höchsten Antikörper-Titer, Fusion, Aussaat in 96-well Platten,
Selektion der Hybridzellen, 10 Platten gesamt

Analyse
Nachweis spezifischer Antikörper in Kulturüberständen, ELISA mit 1 Antigen, Versand von 20 Kulturüberständen
mit der stärksten Immunreaktivität, Weiterzucht von 5 positiven Klonen, Versand von 5 vitalen bzw. (falls gewünscht)
kryokonservierten Klonen

gesamt: 5.980,-

8.1.2 Monoklonal „Standardprogramm“

Preis (EUR)

Immunsierung*
3 Balb/c Mäuse, je 4 Immunsierungen innerhalb von 3 Monaten, ELISA zur Bestimmung der Antikörper-Titer

Fusion
Milzzellen-Präparation der Maus mit dem höchsten Antikörper-Titer, Fusion, Aussaat in
96-well Platten, Selektion der Hybridzellen, 20 Platten gesamt

Analyse
Nachweis spezifischer Antikörper in Kulturüberständen, ELISA mit 1 Antigen,
Versand von 30 Kulturüberständen mit der stärksten Immunreaktivität, Weiterzucht von 10 positiven Klonen,
Versand von 10 vitalen bzw. (falls gewünscht) kryokonservierten Klonen

gesamt: 9.830,-

∞

Antikörperservice

*Anmerkung: Sollte aufgrund niedriger Immunogenität des Antigens keines der Tiere einen ausreichend hohen positiven Titer entwickelt haben, kann der Herstellungsprozess hier gestoppt werden, ohne dass weitere Kosten entstehen.

Je nach Bereitstellung der Ausgangsmaterialien (Antigene, etc.)
sind die Lieferzeiten individuell und erfolgen nach Absprache.
Alle Preise verstehen sich zzgl. Mehrwertsteuer und Transportkosten.

Telefon 040 / 45 06 70, Telefax 040 / 45 06 74 90
E-Mail: info@dianova.de
Antikörperservice im Internet: www.dianova.de

8.2 Monoklonale Antikörper aus Maus – Individuelle Service Module

8.2.1 Immunisierung Balb/c Mäuse

	Preis (EUR)
Mausstamm: Balb/c (andere Stämme auf Anfrage); Dreifach-Nachimmunisierung über einen Zeitraum von 3 Monaten; ELISA zur Kontrolle des Serum-Antikörpertiters; bei paralleler Immunisierung mehrerer Tiere: Selektion des Tieres mit dem höchsten Antikörpertiter für die erste Fusion (*)	
Preis je Tier	287,-
Die Weiterhaltung parallel immunisierter Tiere bei monatlicher Auffrischung der Immunisierung zwecks einer potentiellen weiteren Fusion ist möglich	
Preis je Tier und Monat	65,-

8.2.2 Fusion

	Preis (EUR)
Präparation der Milzzellen, Fusion mit der Maus-Myelomzelllinie P3-X63-Ag8.653; Aussaat in 96-well Platten (i.d.R. werden bei einer Fusion 6-10 Platten ausgesät; zusätzliche Platten sind möglich); Selektion der Hybridomzellen	
Preis je 96-well Platte	290,-

8.2.3 Analyse

	Preis (EUR)
Standardanalyse (Nachweis spezifischer monoklonaler Antikörper in Kulturüberständen, ELISA von 96 Überständen mit 1 Antigen (Immunisierungs-Antigen); Kryokonservierung aller Antigen-positiven Kulturüberstände; Versand von 20 Kulturüberständen mit der stärksten Immunreaktivität Versand von 5 positiv getesteten, vitalen Klonen oder 5 kryokonservierten Klonen)	
Preis je fusionierter Platte	254,-
Standardanalyse mit Kontrolle (Nachweis spezifischer monoklonaler Antikörper in Kulturüberständen, Doppel-ELISA mit 2 Antigenen (Immunisierungs-Antigen + Kontrolle); Kryokonservierung aller Antigen-positiven Kulturüberstände; Versand von 20 Kulturüberständen mit der stärksten Immunreaktivität; Versand von 5 positiv getesteten, vitalen Klonen oder 5 kryokonservierten Klonen)	
Preis je fusionierter Platte	406,-
Einlagerung Lagerung eines kryokonservierten Zellklons in N2 (fl.) zur Sicherung	
Preis je Klon und Jahr	102,-
Anzucht Revitalisierung und Anzucht eines kryokonservierten Zellklons	
Preis je Klon	150,-
Isotyp-Analyse Preis je Antikörper	67,-

8.2.4 Reklonierung

	Preis (EUR)
Revitalisierung (falls kryokonserviert) und Anzucht des Zellklons; Reklonierung; Nachweis spezifischer monoklonaler Antikörper in Kulturüberständen durch ELISA mit dem Immunisierungs-Antigen; Versand des vitalen Zellklons oder des kryokonservierten Klons mit dem höchsten Antikörpertiter an den Kunden	
Preis je reklonierter Hybridomlinie	1.803,-
Preis für jede weitere Hybridomlinie parallel	510,-

8.2.5 Produktion von Kulturüberstand

	Preis (EUR)
Vitale oder kryokonservierte Zellen werden vom Auftraggeber zur Verfügung gestellt und in Kultur genommen. Die Produktionsrate der Zellen kann ggf. ermittelt und optimiert werden. Produktion von Kulturüberstand (ZKÜ)	
bis 500 ml ZKÜ	199,-
bis 1000 ml ZKÜ	278,-
jede weitere 1000 ml ZKÜ	+ 141,-

8.2.6 Reinigung monoklonaler Antikörper

	Preis (EUR)
Affinitätsreinigung Reinigung monoklonaler Antikörper aus Kulturüberstand (ZKÜ); Ammoniumsulfat-Fällung des Kulturüberstands (Produktionsrate > 10 µg/ml); Affinitätschromatographie an Protein A bzw. G ; Aufkonzentrierung des Eluats; Dialyse; Proteinbestimmung; Reinheitsbestimmung durch FPLC-analytische Gelausschlusschromatographie; ausführliche Dokumentation	
Small scale Reinigung (bis zu 30 mg gereinigtem Antikörper): Basis-Preis (Reinigung von bis zu 30 mg aus bis zu 1000 ml jeder weitere Liter ZKÜ (Reinigung bis insgesamt 30 mg)	450,- + 95,-
Large scale Reinigung (über 30 mg gereinigtem Antikörper) Preis je mg gereinigtem Antikörper (Basis-Preis bereits mit inbegriffen):	
30 - 100 mg	15,-
100 – 500 mg	14,-
500 – 1000 mg	11,-
Lyophilisierung zur Konservierung größerer MAK-Mengen auf Anfrage bulk	auf Anfrage

SDS-PAGE Gelelektrophorese 2 Minigele mit je 1 Standard und je bis zu 8 Proben/PAGE; Coomassie-Färbung; digitaler Print	
je PAGE	275,-

8.2.8 Fragmentierung von Antikörpern

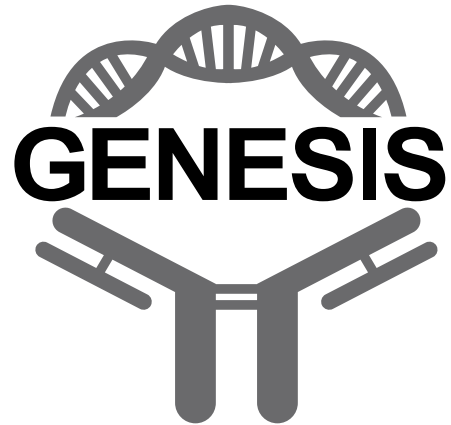
	Preis (EUR)
Herstellung von Maus Fab-Antikörperfragmenten* Papain-Spaltung von bis zu 3 mg gereinigtem Maus-IgG; präparative Abtrennung der Bruchstücke und Isolierung der Fab-Fragmente; Aufkonzentrierung, Umpufferung und OD280-Bestimmung; FPLC-analytische Reinheitskontrolle durch Gelausschlusschromatographie; Bestimmung der Gesamtausbeute pauschal	650,-
*Maus IgG1 auf Anfrage	

SDS-Page Gelelektrophorese Analyse der Fragmentierungsprodukte über SDS-PAGE Gelelektrophorese; 2 Minigele mit je 1 Proteinstandard und je bis zu 8 Proben pro Gel	
je PAGE	275,-

Lyophilisierung von affinitätsgereinigten Antikörpern
Probenvorbereitung (Dialyse); Lyophilisierung von bis zu 280 mg Antikörper je batch in Portionen von 1 mg; Etikettierung
Preis pro batch auf Anfrage

8.3 Monoklonale Antikörper aus Kaninchen

Monoklonale Antikörper aus dem Kaninchen zeichnen sich gegenüber in der Maus erzeugten Antikörpern in der Regel durch eine höhere Sensitivität, Spezifität und Affinität aus. Zudem können im Kaninchen hohe Titer auch gegen Antigene erzielt werden, die anderweitig nur eine geringe oder keine Immunantwort auslösen. Die neue Technologie der monoklonalen Antikörperproduktion im Kaninchen vereint damit die Vorteile der monoklonalen Antikörperproduktion aus Maus oder Ratte mit den Vorteilen von polyklonalen Kaninchen-Seren.



Dauer des Projektes:

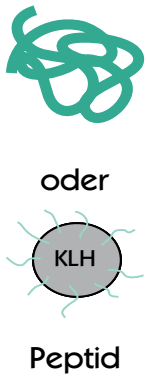
ca. 3-4 Monate bis zur Lieferung von 20 Hybridomüberständen und 30ml polyklonalem Antiserum
 ca. 7-9 Monate für das Gesamtprojekt

Kosten: auf Anfrage

8

Schema der Synthese monoklonaler Kaninchen Antikörper

gereinigtes Antigen



Immunisierung

Kaninchen



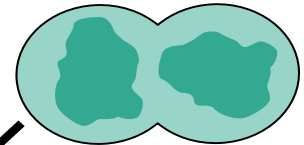
Antiserum

Titerbestimmung



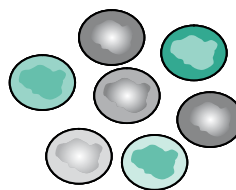
Zellfusion

Plasmazellen



Plasmazytomzellen

HAT Selektion

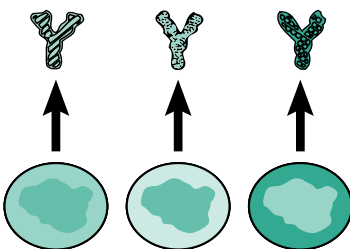


Hybridome

Screening

ELISA

Monoklonale Antikörper



Monoklonale Hybridome

Antikörperservice

Projektplan für die Synthese von Monoklonalen Kaninchen Antikörpern

Zeit	Projektdurchführung	Auftraggeber
ca 2 Monate	2. Immunisierung von 2 Kaninchen 3. Überprüfung der Immunantwort und Erstellung eines Zwischenberichtes.	1. Bereitstellung des gereinigten Antigens oder Peptides. (15 % Anzahlung)
		Konnte keine ausreichende Immunantwort generiert werden, kann hier über die Fortsetzung des Projektes entschieden werden. Die Beendigung des Projektes ist ohne weitere Kosten ist möglich.
3-4 Wochen	4. Isolierung der Milz des Kaninchens mit der besten Immunantwort. 5. Durchführung der Zellfusion 6. ELISA-Screening der Hybridom-Überstände.	
3-4 Wochen	7. Versand von bis zu 20 positiven Hybridomüberständen und Antisera an den Kunden Konnten nicht wenigstens 3 Klone mit den gewünschten Eigenschaften generiert werden, kann hier über die Fortsetzung des Projektes entschieden werden.	Kosten: Rechnungstellung über 40% der vereinbarten Gesamtsumme bei Fortsetzung des Projektes Oder 20% wenn das Projekt beendet wird.
innerhalb von 2 Wochen		8. Durchführung von weiteren Tests und Auswahl von 3 Hybridomazellen zur weiteren Anzucht*.
ca. 2 Monate	9. Subklonierung der ausgewählten Klone und Screening der monoklonalen Antikörper im ELISA. Weiterzucht von einem geeigneten monoklonalen Hybridom von jedem der Kandidaten. 10. Versand von 3 Kulturüberständen (je ca. 1ml) an den Auftraggeber zur Durchführung weiterer Analysen.	
innerhalb von 2 Wochen		11. Durchführung weiterer Analysen und Auswahl von maximal 3 Hybridomen pro Projekt.
1-2 Monate	12. Versand der Hybridome an den Auftraggeber Alternativ kann die Antikörperproduktion und Reinigung auch im Auftrag des Kunden sowohl in Taiwan als auch in Deutschland weitergeführt werden.	Fälligkeit von 45% der Gesamtsumme Oder 22.5% wenn das Projekt ohne den Versand von Klonen hier beendet wird

*Alternativ kann die Selektion geeigneter Klone in Absprache mit dem Kunden von Genesis durchgeführt werden.

8.4 Polyklonale Antikörper – Komplettprogramme

8.4.1 Komplettprogramm „Basis“

		Preis (EUR)
Antigen	Peptidsynthese (Reinheit >80%, 5-20 mg, bis 15 AS); HPLC- und MS-Analyse Unterstützung bei der PeptidAuswahl (Protean™ Sequenzanalyse); Konjugation des Peptids an KLH (2 mg Peptid, 20 mg KLH); Dokumentation	
Immunisierung	2 SPF Kaninchen, 70 Tage Standardprotokoll; 4 Immunisierungen je Kaninchen; 1 Präimmunserum; 2 Serumproben; Entblutung (ca. 140 ml)	
Gesamt:		1.150,-

8.4.2 Komplettprogramm „Standard“

		Preis (EUR)
Antigen	Peptidsynthese (Reinheit >80%, 5-20 mg, bis 15 AS); HPLC- und MS-Analyse Unterstützung bei der PeptidAuswahl (Protean™ Sequenzanalyse); Konjugation des Peptids an KLH (2 mg Peptid, 20 mg KLH); Dokumentation	
Immunisierung	2 SPF Kaninchen, 70 Tage Standardprotokoll; 4 Immunisierungen je Kaninchen; 1 Präimmunserum; 2 Serumproben; Entblutung (ca. 140 ml)	
Analyse	ELISA Serumtiterkontrolle (von beiden Kaninchen) vor Entblutung	
Gesamt:		1.250,-

8.4.3 Komplettprogramm „Plus“

		Preis (EUR)
Antigen	Peptidsynthese (Reinheit >80%, 5-20 mg, bis 15 AS); HPLC- und MS-Analyse Unterstützung bei der PeptidAuswahl (Protean™ Sequenzanalyse); Konjugation des Peptids an KLH (2 mg Peptid, 20 mg KLH); Dokumentation	
Immunisierung	2 SPF Kaninchen, 70 Tage Standardprotokoll; 4 Immunisierungen je Kaninchen; 1 Präimmunserum; 2 Serumproben; Entblutung (ca. 140 ml)	
1. Analyse	ELISA Serumtiterkontrolle (von beiden Kaninchen) vor Entblutung	
Reinigung	Herstellung einer Peptid-Affinitätsäule (1 ml Matrix); Affinitätsisolierung monospezifischer Antikörper aus 50 ml Serum; sequentielle Elution von bis zu 3 unterschiedlich affinen Fraktionen; Reinheitskontrolle der monospezifischen Antikörper; Proteinbestimmung; ausführliche Dokumentation; Chromatogramme	
2. Analyse	ELISA-Qualitätsbestimmung (Bestimmung der Verdünbarkeit) der 3 affinitätsgereinigten Antikörper-Fraktionen	
Gesamt:		1.895,-

* Immunisierungsschemata und Preise für andere Tierarten erhalten Sie auf Anfrage.

8.5 Polyklonale Antikörper – Individuelle Service Module

8.5.1 Antigene (Design – Synthese – Kopplung)

	Preis (EUR)
Hapten-Design PeptidAuswahl durch Protean™ Sequenzanalyse; Modelling von niedermolekularen Verbindungen	auf Anfrage
Chemische Synthese und Derivatisierung von niedermolekularen Verbindungen zur Kopplung an Trägerproteine	auf Anfrage
Peptidsynthese, Standard; 5-20 mg Synthese des Peptids; HPLC-Reinigung des Peptids; Lyophilisierung; MS-Analyse und Dokumentation; Reinheit > 80%; Acetylierungen und Amidierungen kostenfrei (N-terminal sollte ein Cystein vorhanden sein zur späteren gerichteten Kopplung an Trägerproteine)	
Standard; 5-10 mg	
je Aminosäure	26,-
10-20 mg	
je Aminosäure	39,-
Peptid-Modifikationen und Spezialsynthesen Phosphorylierung; Zyklisierung; Biotinylierung; Tracer-Aminosäuren; Einbau nicht-proteinogener Aminosäuren	auf Anfrage
Kopplung von Peptiden an Trägerproteine gerichtete Kopplung von Peptiden über Cystein (SMCC-Kopplung) an immunogene Trägerproteine, z.B. KLH, THY, BSA, Ovalbumin etc.; Abtrennung unkonjugierten Peptids 1 mg Peptid gekoppelt an 10 mg KLH (ausreichend für 1 Immunisierungsreihe/Kaninchen)	110,-
je weiteres mg Peptid gekoppelt an jeweils 10 mg KLH	+ 29,-
Antikörper-Titerbestimmung (ELISA) aus polyklonalen Seren Titerbestimmung einer Serumprobe mit 7 Verdünnungen in Doppelbestimmung plus 2 Kontrollen parallele ELISA-Bestimmung: 1 Bestimmung	85,-
jede weitere Bestimmung	+ 35,-

8.5.2 Immunisierung

	Preis (EUR)
Immunisierung: SPF-Kaninchen * Stamm NZW, Immunisierungsschema nach Standardprotokoll (4 Injektionen an den Tagen 0, 28, 42 und 56); Abnahme von 2 Serumproben (Tag 38 u. 52); Entblutung am Tag 70; Präimmenserum wird auf Wunsch vor der 1. Injektion versandt; Immunisierungen erfolgen subkutan mit Hilfe von Adjuvans; Zusendung von Serum (1. und 2. Probe je 3-5 ml), Entblutungsserum ca. 70 ml, gesamt ca. 80 ml.	
Immunisierungsreihe für 1 Kaninchen	328,-
jeder weitere Haltungsmonat	59,-
jede weitere Immunisierung	6,50
jede weitere Immunisierungsprobe**	22,-
Serum-Zwischenabnahmen (Ohr, ca. 15-30 ml)	27,-

Je nach Bereitstellung der Ausgangsmaterialien (Antigene, etc.)
sind die Lieferzeiten individuell und erfolgen nach Absprache.
Alle Preise verstehen sich zzgl. Mehrwertsteuer und Transportkosten.

Telefon 040 / 45 06 70, Telefax 040 / 45 06 74 90
E-Mail: info@dianova.de
Antikörperservice im Internet: www.dianova.de

8.5.3 Antikörper-Affinitätsreinigung aus Seren

Preis (EUR)

Affinitätschromatographische Isolierung von Immunglobulinen aus Serum Ammoniumsulfatfällung des Serums; Dialyse; präparative Protein A bzw. Protein G Affinitätschromatographie; Aufkonzentration durch Ultrafiltration; Proteinbestimmung; Reinheitsbestimmung mittels analytischer Gelfiltration; Dokumentation	
Einzelpreise für die Antikörper-Isolierung aus Serum:	
bis 100 ml pro mg	14,50
100 – 500 ml pro mg	12,50
nur bei Mengen < 30 mg/Reinigung berechnet sich ein Setup-Preis:	450,-

Affinitätschromatographische Isolierung Antigen-spezifischer Antikörper aus Serum Ammoniumsulfatfällung der Immunglobuline aus Serum; Dialyse des Präzipitats gegen PBS; Affinitätschromatographie an einer Antigen-spezifischen Gelmatrix HYDRA®* ; Sequenzielle Isolierung von Antikörpern nach Affinität; Elution von bis zu 3 unterschiedlich affinen Antikörperfraktionen; Aufkonzentrierung der Eluate durch Ultrafiltration; Dialyse gegen PBS; Reinheitsbestimmung mittels analytischer Gelfiltration; Proteinbestimmung; Dokumentation	
bis 50 ml Serum	475,-*
50-100 ml Serum	585,-*
100-250 ml Serum	695,-*
250-500ml Serum	785,-
über 500 ml Serum	auf Anfrage

* Preis enthält nicht die Kosten für die Herstellung der Affinitätssäule (siehe 8.5.4)

8.5.4 Herstellung von Affinitätsmatrices

Preis (EUR)

Herstellung einer HYDRA® Antigen-Affinitätssäule* zur Isolierung Antigen-spezifischer Antikörper aus Serum Kopplung eines Proteins, rek. Proteins (6M Harnstoff), Peptids bzw. einer niedermolekularen Verbindung an eine Hydra®- Gelmatrix (hydrophile multifunktionale Spacer, Kopplung über hydrolysestabile SquareLinque® Technologie); 1 chromatographische Leerelution *Affinitätssäule ist Kundeneigentum, für weitere Reinigungen einsetzbar	
Einzelpreise zur Herstellung einer präparativen Affinitätssäule mit:	
1 ml Hydra®-Gelmatrix	210,-
jeder weitere ml Hydra®-Gelmatrix	+ 59,-

Immobilisierung von Biomolekülen Kovalente Kopplung von Biomolekülen an (Magneto-) Beads, Zellulose, Glas, Mikrotiterplatten	auf Anfrage
---	-------------

8.6 Markierung – Kopplung an Antikörper

8.6.1 Fluoreszenzfarbstoffe *

	Preis (EUR)
Kopplung von FITC, Rhodamin Red-X, TRITC etc. an Antikörper; Abtrennung unkonjugierten Farbstoffs; Bestimmung des Markierungsgrades; Dokumentation	
Kopplung von 1 mg Protein mit Fluorescein, Rhodamin oder TRITC etc. jedes weitere mg Antikörper	185,- + 30,-

* weitere Fluoreszenzfarbstoffe auf Anfrage

8.6.2 Phycobiliproteine * (z.B. PE)

	Preis (EUR)
Kopplung von 1 mg Antikörper* an R-Phycoerythrin; FPLC-chromatographische Reinigung; Bestimmung des Kopplungsgrades; Dokumentation	
Kopplung von 1 mg Antikörper	625,-

* weitere Phycobiliproteine auf Anfrage

8.6.3 Peroxidase * (POD)

	Preis (EUR)
Thioether-Kopplung mittels heterobifunktionaler Crosslinker; FPLC-chromatographische Aufreinigung; Bestimmung des Kopplungsgrades; Dokumentation	
Kopplung von 1 mg Antikörper jedes weitere mg Antikörper	450,- + 98,-

* weitere Enzyme auf Anfrage

8.6.4 Alkalische Phosphatase * (AP)

	Preis (EUR)
Thioether-Kopplung mittels heterobifunktionaler Crosslinker, AP > 7000 U/mg; FPLC-chromatographische Aufreinigung; Bestimmung des Kopplungsgrades; Dokumentation	
Kopplung von 1 mg Antikörper jedes weitere mg Antikörper	550,- + 170,-

* weitere Enzyme auf Anfrage

8.6.5 Biotin und LC-Biotin

	Preis (EUR)
kontrollierte Kopplung von Biotin oder LC-Biotin an Antikörper; Abtrennung unkonjugierten Biotins; Dokumentation	
Kopplung von 1 mg Antikörper jedes weitere mg Antikörper	165,- + 29,-

8.7 Testentwicklung

Testentwicklung	Preis (EUR)
<ul style="list-style-type: none"> • Entwicklung von maßgeschneiderten immunologischen Tests (ELISA, Streifentests, Beads, Schnelltests,...) • Test-Optimierung • Test-Validierung • OEM-Produktion 	
	auf Anfrage

Je nach Bereitstellung der Ausgangsmaterialien (Antigene, etc.)
sind die Lieferzeiten individuell und erfolgen nach Absprache.
Alle Preise verstehen sich zzgl. Mehrwertsteuer und Transportkosten.

Telefon 040 / 45 06 70, Telefax 040 / 45 06 74 90
E-Mail: info@dianova.de
Antikörperservice im Internet: www.dianova.de