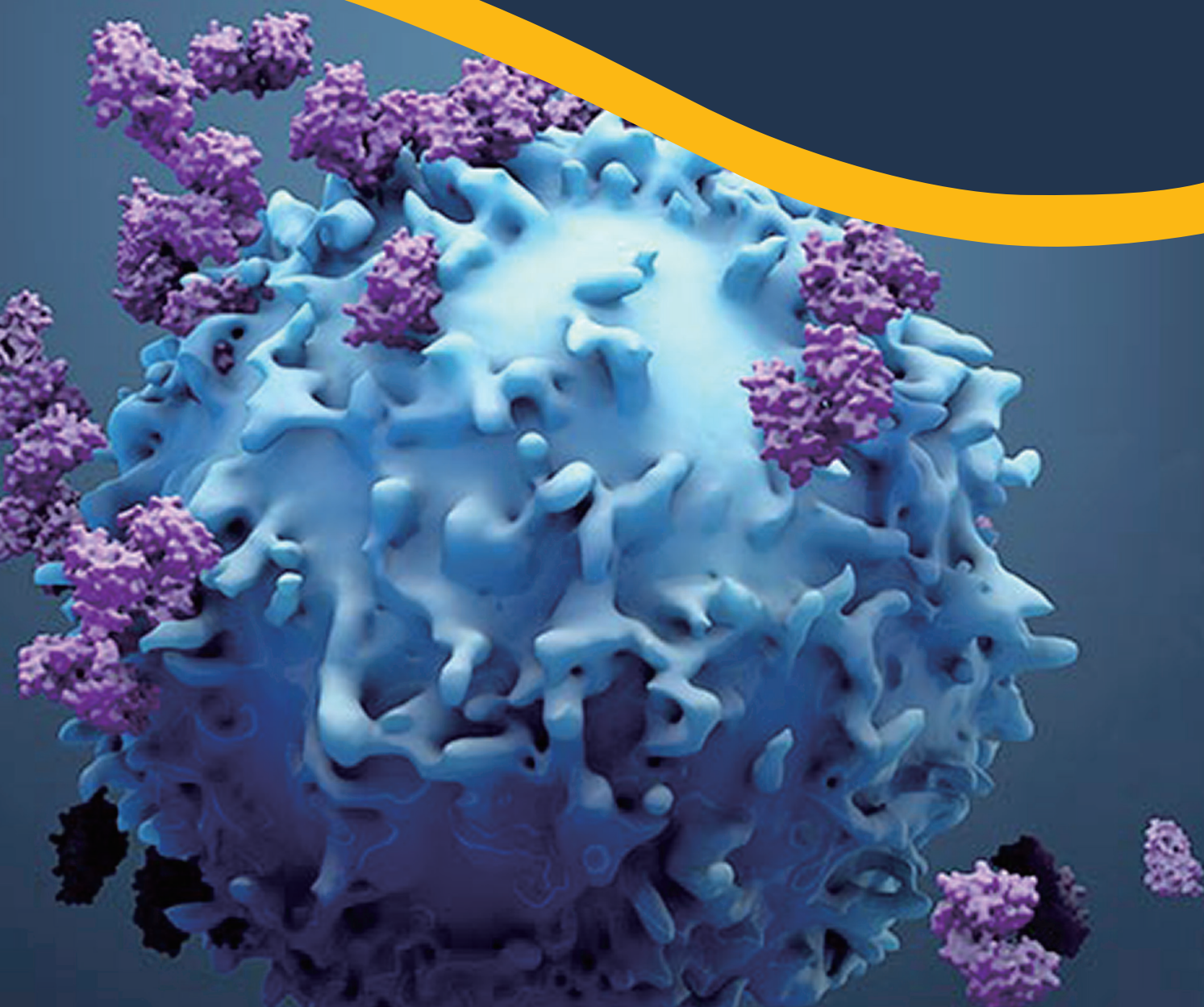


T 细胞免疫治疗研发解决方案

Solutions for the development & manufacture of functional T cell therapies



目录

Table of Content

1. 背景介绍 3

- T 细胞免疫治疗概念
- Promega T 细胞免疫治疗开发解决方案

2. TCR 研发与表征 5

- TCR $\alpha\beta$ -KO 细胞系介绍
- 产品列表

3. T 细胞活化与细胞因子产生 8

- Lumit[®] 细胞因子快速检测技术
- 产品列表

4. 效力检测 11

- HiBiT 靶细胞杀伤检测系统
- 产品列表

5. T 细胞代谢 13

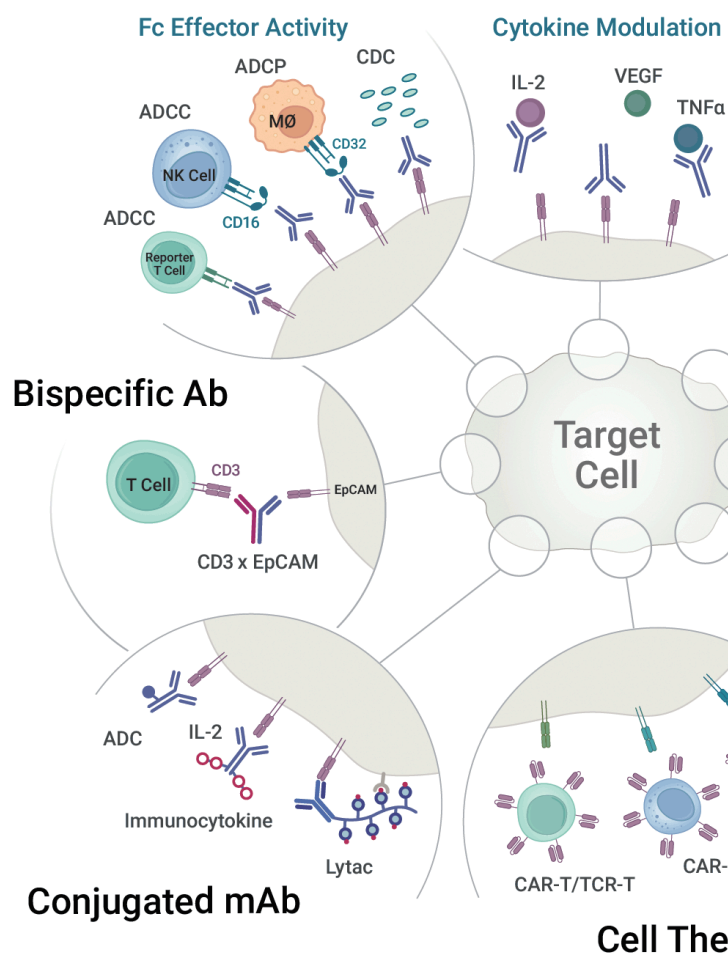
- 代谢物检测产品
- T 细胞的生长和扩增产品

6. 细胞鉴定 16

- GenePrint[®] 24 System
- Spectrum Compact 毛细管电泳仪
- 产品列表

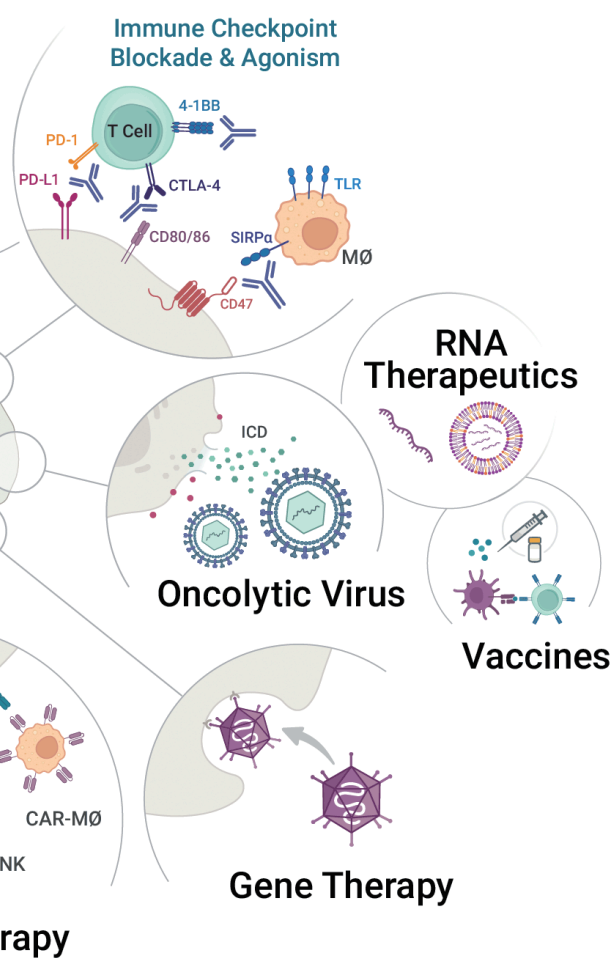
7. 小动物生物发光活体成像 18

Monoclonal Ab



T 细胞免疫治疗

T Cell Immunotherapy



T 免疫细胞治疗属于过继性细胞治疗 (adoptive cell therapy, ACT), 是指从患者体内取出具有抗癌能力的免疫细胞, 在体外增殖修饰, 再注射回患者体内, 这些精密工程细胞指示患者的免疫系统识别并杀死肿瘤细胞。根据细胞来源不同分为自体 and 同种异体。

美国食品药品监督管理局批准的工程 T 细胞疗法涉及用抗原特异性 T 细胞受体 (TCRs) 或嵌合抗原受体 (CARs) 对患者自身的免疫细胞进行基因修饰 (自体疗法)。该领域未来的进展将包括更复杂的功能性 T 细胞工程、新型细胞疗法 (NK 和巨噬细胞疗法) 以及现成的细胞疗法产品 (异体疗法) 等等。

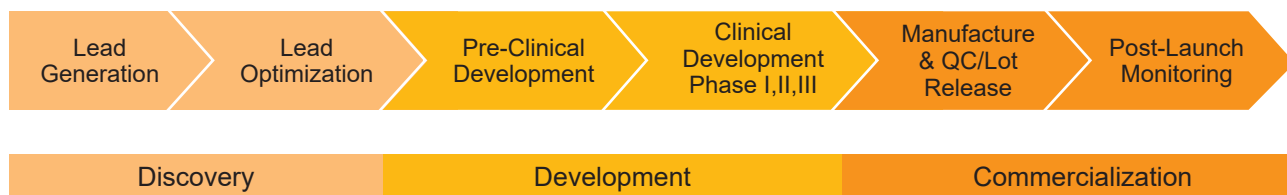
开发和生产功能复杂的 T 细胞疗法需要同样复杂的生化和细胞检测工具箱。利用 Promega 广泛的生物发光检测技术组合, 我们开发了一套检测方法, 用来支持和加速此领域的研发与生产。

Promega T 细胞免疫治疗开发解决方案

如前所述，功能复杂的 T 细胞疗法的开发和生产需要能够化繁为简同时灵敏精准又稳定的生化和细胞分析工具。Promega 依赖久经验证的生物发光分析技术以及 STR 技术，我们开发了一套可用于加速 T 细胞免疫治疗研究和生产的解决方案，帮助用户进行下面这些方向的实验研究，加速研发进程。我们的方法学应用覆盖了从早期研发到后期生产的全部阶段，可用于：



根据细胞治疗产品开发的流程，我们的技术可以从研究阶段一直到批量放行标准的建立与检测



TCR 研发与表征

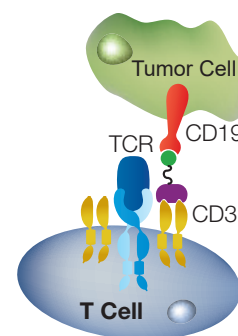
TCR Discovery and Characterization

通过对带有嵌合抗原受体 (CAR) 或转基因 T 细胞受体 (TCR) 的 T 细胞进行基因修饰实现 T 细胞重定向是 T 细胞重定向疗法中采用的重要策略之一，代表了癌症治疗的一种新模式。为了便于筛选和鉴定新的转基因 TCR，我们开发了两种 **TCR $\alpha\beta$ -null 报告 T 细胞系**，它们分别是 CD4+ 或 CD8+。将肽特异性 TCR α 和 β 链重新导入 TCR $\alpha\beta$ 缺失的报告 T 细胞系会导致肽依赖性 TCR 激活。在 TCR $\alpha\beta$ -null 报告 T 细胞系中选择性表达 CD4 或 CD8，可以为 MHC I 和 MHC II 限制的肿瘤抗原靶点开发转基因 TCR。这些生物发光生物测定共同构成了发现和开发基于 T 细胞的免疫疗法的一套新工具。

Promega 开发了一套 T 细胞活化生物活性检测系统，通过 NFAT 或 IL-2 驱动的萤光素酶报告基因的表达来检测 TCR 信号转导。为了更好地帮助研究人员开发工程 T 细胞疗法，我们还开发了一种缺乏内源性 TCR $\alpha\beta$ 链表达的 T 细胞活化生物测定。T 细胞活化生物检测系统 (TCR $\alpha\beta$ -KO) 消除了内源性 α 链和 β 链与转基因 TCR 的交叉配对，提供了更好的检测窗口。

应用

1. 检测转基因 TCR 和 CAR 的活性和效力
2. 敲除内源性 TCR $\alpha\beta$ 的生物活性检测细胞
3. CD4+、CD8+、CD4+CD8+、CD4-CD8- 等检测平台



T 细胞活化生物检测系统 (TCR $\alpha\beta$ -KO) 特点

1

生物发光的生物活性检测

可灵敏的定量检测 TCR 介导的细胞治疗

2

MoA 生物活性检测

可以反映 MoA 和 TCRs 特异性，可用于 TCR 表征

3

可扩增传代，可高通量

可扩增成为 Cell bank，满足不同的生产和工作流程需求

4

经过 FACS 分析的 QA 验证

可用于 Lot release

5

根据 ICH 指南进行预鉴定

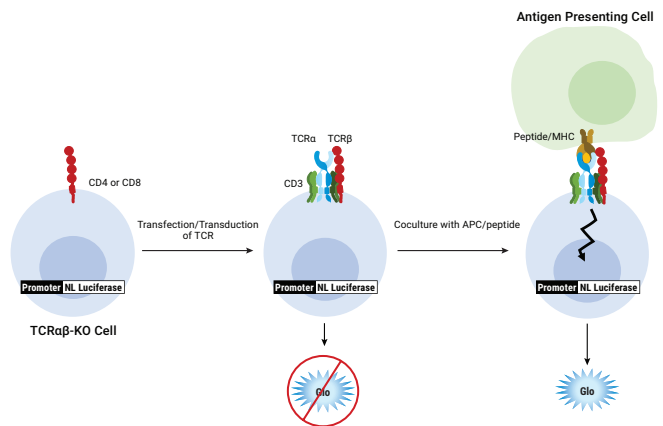
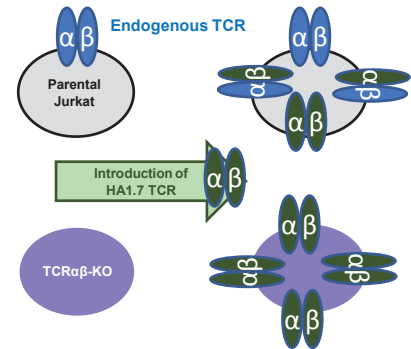
证明效力和稳定性研究中常规使用所需的精密度、准确性和线性

TCR 敲除的 T 细胞活化生物活性检测系统 (TCR $\alpha\beta$ -KO)

T Cell Activation Bioassay (TCR $\alpha\beta$ -KO)

检测 TCR 激活的传统方法操作流程复杂困难，且非常不稳定。TCR $\alpha\beta$ -KO 生物活性检测系统是一种基于生物发光的细胞检测法，克服了现有方法的局限性，能够用于检测转基因 TCR 构建体在不受内源性 TCR 表达限制的情况下活化 T 细胞的效力，对转基因 TCR 进行功能检测，用于抗原排序、特异性和安全性检测，并且可用于质量控制、TCR-T 和 CAR-T 疗法等应用。

此检测系统由基因工程 Jurkat T 细胞系组成，该细胞系使用 CRISPR/Cas9 技术敲除了内源性 TCR α 和 β 链，避免出现 TCR 错配现象。因为一个完整的 TCR 由两条链 (α 链和 β 链) 构成，并且两条链是分别表达，然后结合形成 TCR。因此当把外源的 TCR 转入 T 细胞内之后，加上它本身带有的 TCR，胞内就会存在 2 种 α 链，2 种 β 链，就可能形成四种不同的 TCR，大大降低外源 TCR 的阳性率；同时如果其他两种错配的 TCR 能够识别自身的其他多肽-MHC 复合物，就会有极高的脱靶风险。另外，TCR $\alpha\beta$ -KO 生物活性检测细胞系表达由 TCR 通路依赖性启动子驱动的萤光素酶报告基因。



原理

将 TCR α 和 β 链引入 TCR $\alpha\beta$ -KO 细胞，使转基因 TCR 在细胞表面表达。以同源肽和表达主要组织相容性复合体 (MHC) 的抗原呈递细胞 (APC) 对表达转基因 TCR 的 TCR $\alpha\beta$ -KO 细胞进行激活，如果是有效的 TCR 则可被激活并引起启动子介导的发光。

检测转基因 TCRs 的活性

使用产品：TCR $\alpha\beta$ -KO (CD4 $^{+}$) 细胞系。

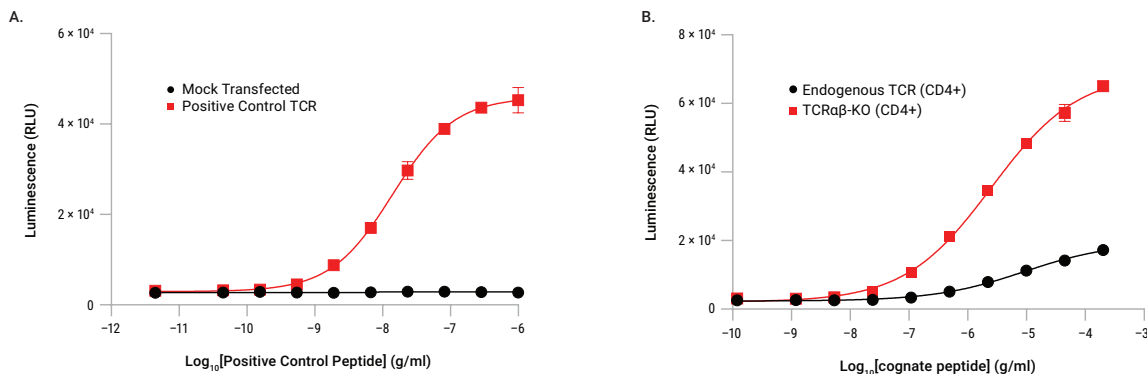


图 A. 用阳性对照 TCR 质粒转染 TCR $\alpha\beta$ -KO(CD4 $^{+}$) 细胞 (或 Mock 转染)，然后与 MHCII APC 细胞 (HLA-DR $^{+}$ 细胞) 共培养，并增加阳性对照肽的浓度。

图 B. 使用 T 细胞活化生物检测法 (内源性 TCR, CD4 $^{+}$) 和 T 细胞活化生物学检测法 (TCR $\alpha\beta$ -KO, CD4 $^{+}$)。T 细胞活化生物活性检测细胞与 HLA DR 阳性细胞和梯度增加的同源肽共同培养。修饰的 T 细胞一旦与肿瘤细胞上的抗原结合就被激活，如发光所示。数据表明，T 细胞活化生物检测可用于筛选用于 T 细胞免疫治疗的转基因 TCR。

基本产品列表：可直接联系各地经销商购买。

细胞系产品	受体 / 配体基因工程化			规格 (10 ⁷ 细胞 /ml)	目录号
	TCRαβ 表达	CD4 内源性表达	CD8 外源性表达		
TCRαβ-KO Cell Line (CD8+)	—	—	+	2×1ml	GA1162
				50×1ml	GA1220
TCRαβ-KO Cell Line (CD4+)	—	+	—	2×1ml	GA1172
				50×1ml	GA1210
TCRαβ-KO Cell Line (CD4+/CD8+)	—	+	+	2×1ml	GA1182
				50×1ml	GA1230
对应检测试剂产品	检测的报告基因			规格	目录号
Bio-Glo-NL™ Luciferase Assay System	NanoLuc®(Nluc)			10ml	J3081
				100ml	J3082
				10×100ml	J3083

稳定转基因表达 TCR 的 TCR-KO 细胞系产品列表：请联系 Promega 咨询详情。

TCR	细胞系来源 (Parental cell line)	同源抗原 (Cognate antigen)	初级肽序列 (Primary peptide sequence)	HLA 限制 (HLA restriction)
DMF4	TCR-KO (CD8+)	Melan-A (MART-1)	EAAGIGILTV	HLA-A*02
DMF5		Melan-A (MART-1)	EAAGIGILTV	HLA-A*02
CMV pp65 (NLVP)		CMV pp65	NLVPMVATV	HLA-A*02
InflA-M1		Influenza A Matrix M1	GILGFVFTL	HLA-A*02
HPV-E6		HPV-16 E6	TIHDIILECV	HLA-A*02
HPV-E7		HPV-16 E7	YMLDLQPET	HLA-A*02
HA1.7	TCR-KO (CD4+)	Influenza hemagglutinin	PKYVKQNTLKLAT	HLA-DRB*01

应用文献：

使用 TCRαβ-KO 细胞系表达新冠病毒特异性 TCR

使用产品：TCRαβ-KO Cell Line (CD8+)

[SARS-CoV-2-reactive T-cell receptors isolated from convalescent COVID-19 patients confer potent T-celleffector function.](#)

Eur. J. Immunol. 2021. 51: 2651–2664

DOI: 10.1002/eji.202149290

使用 T Cell Activation Bioassay 细胞系表达 TCR 来评估突变相关新抗原 (MANA) 的识别

使用产品：T Cell Activation Bioassay (NFAT)

[Transcriptional programs of neoantigenspecific TIL in anti-PD-1-treated lung cancers.](#)

Nature | Vol 596 | 5 August 2021 | 126-164 |

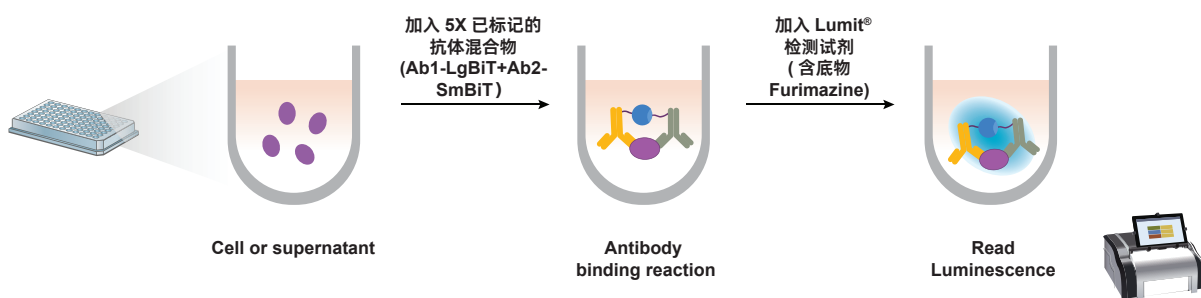
<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03752-4>

T 细胞活化与细胞因子产生

T Cell Activation and Cytokine Production

细胞因子的产生,特别是 IFN- γ 和 IL-2, 是活化的细胞毒性 T 细胞的特征。传统的细胞因子 ELISA 检测方法过程复杂,操作困难。Promega 的新型 Lumit[®] 免疫检测技术完美解决了传统 ELISA 的痛点,可快速完成 T 细胞因子免疫分析。这些检测系统可对关键细胞因子如 IL-2 和 IFN- γ 的释放的进行灵敏的生物发光检测。

简单快速一步法加样 - 混合 - 读数的操作: 总检测时间约 **70** 分钟



Lumit[®] 免疫检测技术特点

1

均质检测, 免洗

可直接将试剂加入到处理后的细胞中

2

免洗, 快速

加样 - 孵育 - 读数的检测模式, 无需转移, 无需洗涤, ~70mins

3

可定量

检测系统配有标准品, 可制作标准曲线进行定量检测

4

高灵敏度, 宽线性范围

LLOD<10pg/ml, 线性范围 $>10^3$ 的浓度范围, 减少对样品稀释的需求

5

高通量

可在 384 孔板中检测, CVs < 10%, Z' 值 > 0.68

Lumit[®] 细胞因子免疫检测系统

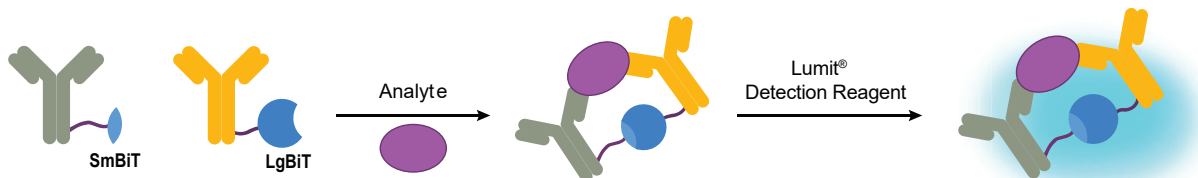
Lumit[®] Cytokine Detection Immunoassay

Lumit[®] Cytokine Immunoassay 是基于 NanoLuc[®] Binary Technology (NanoBiT[®]) 技术开发的一种快速、均质型定量检测方法，最快可以在 **70 分钟** 内检测从培养细胞释放的细胞因子，并且在此过程中无需洗涤，转移样品，快速的“加样 - 读数”模式使之适合低中高任意通量检测。只需一台标准的具有发光检测功能的读板仪即可进行检测。该检测系统有卓越的灵敏度 (LLODs < 10 pg/ml) 和宽广的线性范围 (≥ 3 logs 的细胞因子浓度)，从而大大减少了对样品稀释的需求。

免疫检测系统	lumit [®] IL-2 (Human)	lumit [®] IFN-γ (Human)
检测极限 (LOD; 高于背景 3SD)	11.2 pg/ml	1.7 pg/ml
线性范围	28.2 pg/ml-25 ng/ml	7.3 pg/ml-10 ng/ml
最低检测剂量 (MDD: 高于背景 2 SD)	7.2 pg/ml	1.1 pg/ml

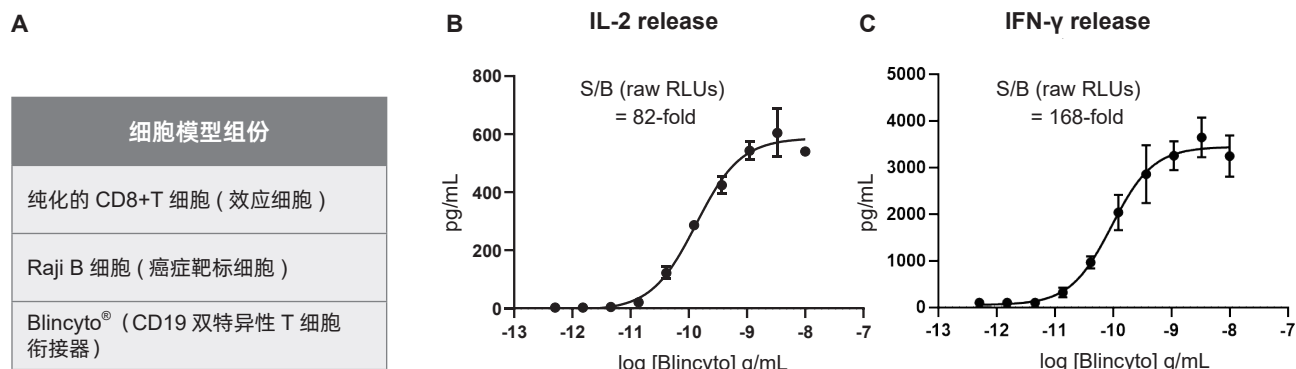
原理

在 Lumit[®] 免疫检测方法中，识别特定细胞因子不同抗原表位的两个单独的一抗分别用 NanoBiT[®] 萤光素酶的 11 个氨基酸的小亚基 (SmBiT) 或其互补的 17.6 kDa 的大亚基 (LgBiT) 进行标记。当这些标记的抗体与靶标细胞因子结合，SmBiT 和 LgBiT 亚基就会重组形成有活性的萤光素酶，在底物 (Furimazine) 存在时产生与待测分析物水平成正比的发光信号。



检测活化的 CD8 T 细胞产生的 IL-2 和 IFN-γ 的活性

使用产品：Lumit[®] IL-2 和 IFN-γ Immunoassays。



上图：将检测试剂直接加入到 96 孔板混合细胞培养模型中 (A)。数据插值采用标准曲线拟合与四参数 logistic 拟合，以此插值计算响应 Blinicyto[®] 处理而产生的 IL-2 (B) 和 IFN-γ (C) 的水平。

产品列表

T 细胞治疗产品细胞因子相关产品	规格	目录号
Lumit [®] IL-2 (Human) Immunoassay	100 assays	W6020
	500 assays	W6022
	1,000 assays	W6021
Lumit [®] IFN- γ (Human) Immunoassay	100 assays	W6040
	500 assays	W6042
	1,000 assays	W6041
其他细胞因子检测产品	规格	目录号
Lumit [®] IL-1 β (Human) Immunoassay	100 assays	W6010
	500 assays	W6012
	1,000 assays	W6011
Lumit [®] IL-1 β (Mouse) Immunoassay	100 assays	W7010
	500 assays	W7012
	1,000 assays	W7011
Lumit [®] IL-4 (Human) Immunoassay	100 assays	W6060
	500 assays	W6062
	1,000 assays	W6061
Lumit [®] IL-6 (Human) Immunoassay	100 assays	W6030
	500 assays	W6032
	1,000 assays	W6031
Lumit [®] IL-10 (Human) Immunoassay	100 assays	W6070
	500 assays	W6072
	1,000 assays	W6071
Lumit [®] HMGB1 (Human/Mouse) Immunoassay	100 assays	W6110
	500 assays	W6112
Lumit [®] TNF- α (Human) Immunoassay	100 assays	W6050
	500 assays	W6052
	1,000 assays	W6051
Lumit [®] IFN- β (Human) Immunoassay	Please Enquire	
Lumit [®] IL-12 (Human) Immunoassay	Please Enquire	
Lumit [®] IL-17A (Human) Immunoassay	Please Enquire	
Lumit [®] IL-8 (Human) Immunoassay	Please Enquire	
Lumit [®] Active IL-18 (Human) Immunoassay	Please Enquire	

效力检测 - 靶细胞杀伤检测

HiBiT Target Cell Killing Assays(TCK)

为了确保 CAR-T 细胞治疗的有效性，使用功能性效力检测系统来评估 CAR-T 细胞识别和杀伤癌症细胞的能力。我们开发了原料药（即 CAR 和 TCR 载体和病毒衣壳）以及药品（即 CAR-T 和 TCR-T）的效力检测系统。CAR-T 功能效力检测包括将 CAR-T 细胞与靶癌症细胞共同培养，并检测关键功能结果，如靶细胞杀伤。这些检测在肿瘤学中 CAR-T 细胞疗法的开发、表征和质量控制中起着至关重要的作用。

效应细胞对肿瘤或感染细胞的靶向杀伤是许多免疫疗法药物的主要作用机制。在药物开发过程中经常需要证明药物对靶细胞的强大和特异性杀伤，但常规的细胞毒性检测不能区分靶细胞和效应细胞。而靶细胞特异性检测通常是复杂费时，并且需要放射性或荧光标记。HiBiT 靶细胞杀伤生物活性检测平台简单、均质、高灵敏度，并提供了一个较大的检测窗口。它能够高度灵敏和特异性地测量多种生物药物诱导的靶细胞杀伤，包括单克隆抗体、双特异性抗体和 CAR-T 细胞。

Promega 开发的 HiBiT 靶细胞杀伤检测系统利用 gain-of-signal 的检测形式和生物发光读数，选择性地量化靶细胞死亡。该方法依赖于检测杀伤后从靶细胞释放 HiBiT 标记的蛋白质。

应用

- 批次间效力比较
- QC/Lot Release 检测

HiBiT 靶细胞杀伤检测系统特点

1

可稳定表达 HiBiT 标签

在 LDH 位点通过 CRISPR 敲入或使用 HaloTag®-HiBiT 的异位表达

2

自发释放率低

使大多数细胞系的检测能够持续 ≥24 小时

3

融合蛋白稳定

LDH-HiBiT 和 HaloTag®-HiBiT 融合蛋白在细胞外培养基中非常稳定

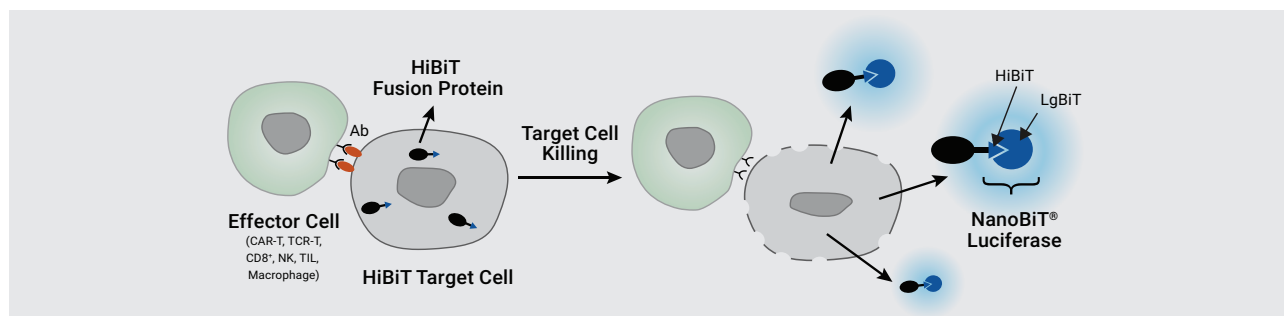
4

检测模式多样化

可进行终点检测或动态检测

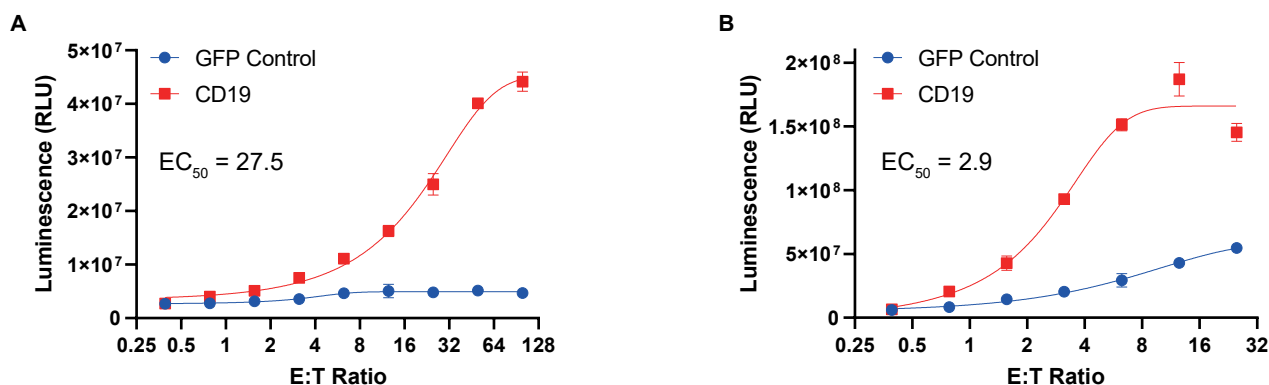
原理

HiBiT 是 11 个氨基酸的肽标签，可与 17.6 kDa 的大亚基 LgBiT（不能透过细胞膜）结合形成 NanoBiT® 萤光素酶。通过异位表达或 CRISPR/Cas9 标记内源 LDH，将靶细胞改造为表达 HiBiT 标签的蛋白，再通过添加含有 LgBiT 和底物的检测试剂（无需去除培养基）来定量检测细胞的裂解。信号强度与靶细胞死亡的数量成正比，并且可以使用终点或动态检测模式进行检测。



延长检测孵育时间可显示连续的 TCK 活性。

将用 CAR-19 或 GFP 对照慢病毒转导的 T 细胞与 HiBiT 靶细胞 (Ramos) 以不同的效应物: 靶 (E:T) 比率组合。孵育 24 小时 (A) 或 48 小时 (B) 后, 加入 NanoBiT[®] 细胞外检测试剂, 并在 GloMax[®] Discover 多孔板读板仪上读取光信号。EC₅₀ 随着时间的推移而左移, 表明在较低的 E:T 比率下 TCK 的连续活动。



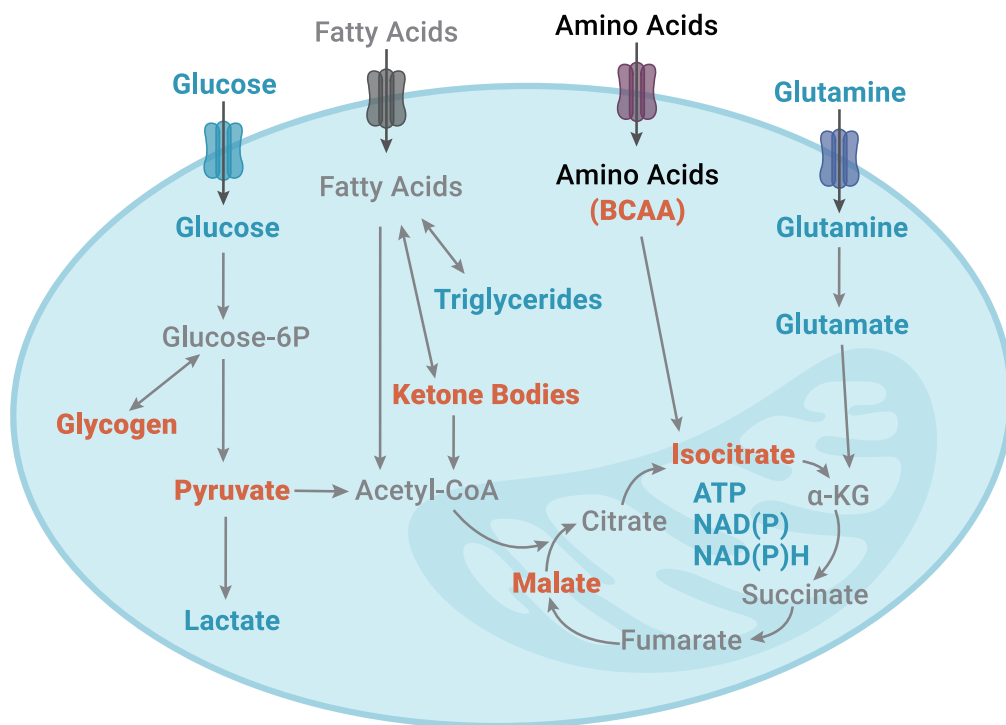
产品列表

细胞系产品	靶细胞	细胞系来源	内源表达的靶点抗原
内源表达靶点抗原的 HiBiT 靶细胞杀伤检测细胞	A549	Lung carcinoma	EGFR
	H929	MM	BCMA, CD38
	OVCAR3	Ovarian carcinoma	MSLN, HER2
	SK-BR-3	Breast cancer	HER2, EpCAM
	SKOV3	Ovarian carcinoma	MSLN, MUC16, HER2, PD-L1
	Raji	B cell lymphoma	CD19, CD20, CD22, CD38
	Ramos	B cell lymphoma	CD19, CD20, CD22, CD38
	U937	Lymphoma	CD33, CLL-1
外源表达靶点抗原的 HiBiT 靶细胞杀伤检测细胞	CHO-K1	hamster ovary	mTNF α Claudin 18.2 SARS-CoV-2-S
	K562	CML	BCMA, CD19, GPC3
TCR-T 靶细胞	T2	Lymphoma	/
	A375	Melanoma	/
	K562/CIITA	CML	/
检测试剂	产品	规格	目录号
胞外检测系统	Nano-Glo [®] HiBiT Extracellular Detection System	10ml	N2420
		100ml	N2421
		10x100ml	N2422

T 细胞代谢

T Cell Metabolism

代谢特征是 T 细胞功能的关键决定因素，也是 CAR-T 细胞有效治疗的关键信息。我们的生物发光细胞代谢检测系统可用于检测 TCR 修饰或 CAR-T 工程 T 细胞对代谢需求、氧化还原环境和营养供应的反应能力。这些基于微孔板的检测系统易于实现自动化，非常适合高通量样本分析。



代谢检测组合概览

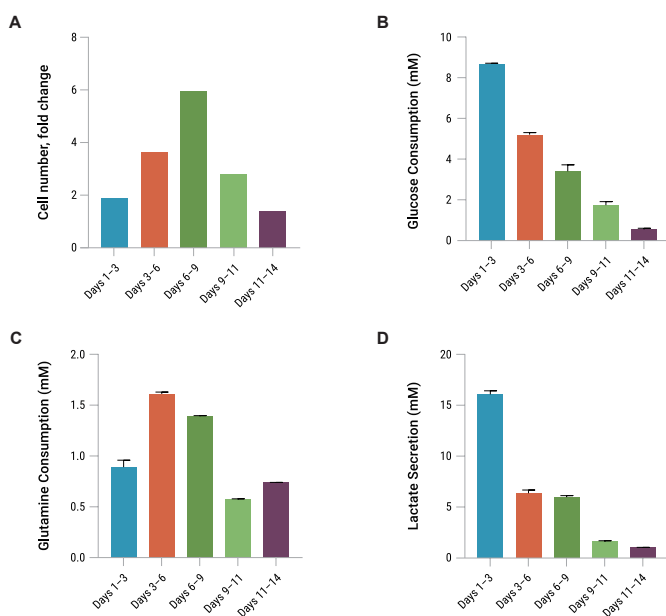
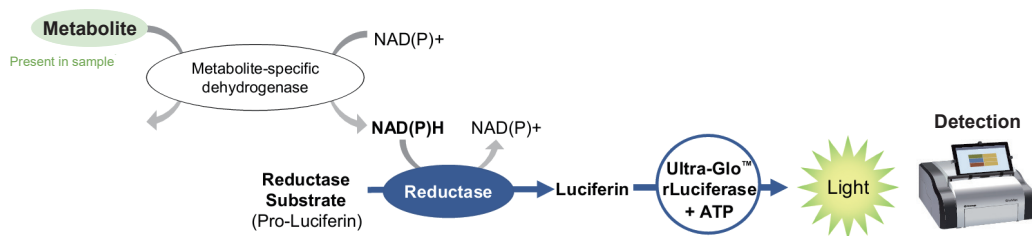
这些生物发光检测系统可检测用于 T 细胞疗法的供体 T 细胞的代谢和氧化应激状态。

这些检测系统可检测：

- 代谢辅助因子 --ATP、NADP；
- 葡萄糖代谢 -- 葡萄糖摄取、乳酸、糖原；
- 氨基酸代谢 -- 谷氨酰胺 / 谷氨酸、BCAA；
- 脂质代谢 -- 甘油三酯 / 甘油、胆固醇 / 胆固醇酯和脂肪酸氧化；
- TCA 循环标记物 -- 苹果酸、异柠檬酸和丙酮酸。

易于使用且灵敏的代谢物检测

NAD(P)H-Glo™ 检测系统的反应示例图。该检测法是一种生物发光、均质、单试剂添加检测法，可定量监测酶促反应中还原型 NADH 和 NADPH 的浓度水平。氧化型 NAD⁺ 和 NADP⁺ 不会被检测到，也不会干扰发光信号。



检测 CAR-T 细胞的代谢动态

CAR-T 细胞的活化和增殖会引发多种代谢变化，从而促进能量的快速生成，并支持 CAR-T 细胞的生物合成需求。值得注意的是，CAR-T 细胞表现出葡萄糖摄取和利用的增加，以及乳酸生成的增强。这些细胞还表现出关键糖酵解酶和转运体的表达增加，从而实现了高效的葡萄糖代谢。

左图: 在 T 细胞活化和扩增过程中, 培养基代谢物的动态变化。
(A) 细胞增殖; (B) 葡萄糖消耗; (C) 谷氨酰胺消耗; 以及;
(D) 乳酸分泌。

产品列表

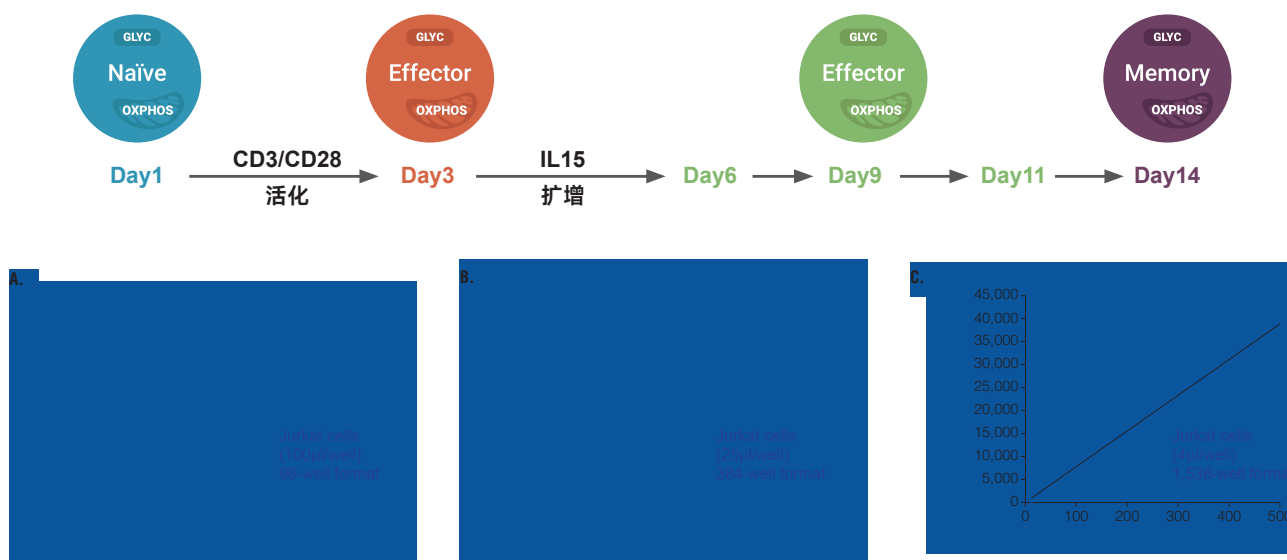
Promega 可提供下列检测靶标的检测系统，更多信息请扫描右侧二维码下载相关资料。



糖代谢	氨基酸代谢	脂代谢	氧化应激	线粒体功能	辅因子
葡萄糖摄取 Glucose Uptake(2DG6P)	谷氨酰胺 Glutamine	甘油三酯 Triglyceride	谷胱甘肽 GSH	ATP	NAD/NADH
葡萄糖 Glucose	谷氨酰胺 Glutamine	甘油 Glycerol	谷胱甘肽 / 还原型谷胱甘肽 GSH/GSSG ratio	苹果酸 Malate	NADP/NADPH
乳酸 Lactate	支链氨基酸 BCAA	胆固醇 Cholesterol	活性氧 ROS	丙酮酸 Pyruvate	NAD(P)H
糖原 Glycogen		胆固醇酯 Cholesterol Ester			
胰高血糖素 Glucagon		β-羟基丁酸 BHB			
胰岛素 Insulin					

T 细胞的生长和扩增

在 CAR-T 开发过程中，T 细胞扩增对治疗产品的产生起着至关重要的作用。在这一过程中，T 细胞从患者血液中分离出来，经过基因改造后表达嵌合抗原受体。然后用各种生长因子（如 IL-2、IL-7 和 IL-15）对这些改造过的 T 细胞进行培养和刺激，以促进它们的增殖和活化。这一扩增阶段会产生大量 CAR-T 细胞，它们能有效识别和靶向癌细胞。了解不断扩大的 CAR-T 细胞群的活力是一个关键因素。我们的细胞存活率测定套件提供了一种简单、加入 - 混合 - 检测、均质的方法，通过检测和量化 **ATP**（代谢活跃细胞的指标）来确定培养物中存活细胞的数量。



上图：使用 CellTiter-Glo® 2.0 检测法检测细胞活力。在 (A) 96 孔板、(B) 384 孔板和 (C) 1536 孔板中，用 CellTiter-Glo® 2.0 检测试剂盒测得的荧光与培养液中存活的 Jurkat 细胞数量在三个数量级上成正比。

产品列表

性能指标	CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay	CellTiter-Glo® 2.0 Assay
产品特点	- 经典金标准检测法（简称 CTG） - 快速，最快 10 分钟孵育 - 灵敏，可检测低至 10 个细胞 - 高通量，轻松兼容 96-1536 通量	- CTG 的迭代产品 - 单一试剂，可直接使用 - 试剂更稳定
细胞类型	2D 培养细胞，3D 培养细胞	2D 培养细胞，3D 培养细胞
3D 培养细胞检测	<350 微米	<350 微米
室温稳定性	12 小时	7 天
4°C 稳定性	3.5 天	1 个月
信号半衰期（小时）	>5 小时	>5 小时
检测灵敏度（384 孔板）	10-15 个细胞	10 个细胞
反应时间	10min	10min
检测仪器	具有生物发光功能的多功能检测仪	
目录号 规格	G7570 10ml G7571 10×10ml G7572 100ml G7573 10×100ml	G9241 10ml G9242 100ml G9243 500ml

细胞鉴别

Cell Line Identity

CAR-T 细胞生产的一个常见挑战是缺乏可用的工具和控制来确保患者细胞的身份和保真度。短串联重复序列 (STR) 是可变的，每个供体都是唯一的。因此，STR 图谱可以用作识别每个供体 CAR-T 的准确工具。Promega 在 STR 检测领域可提供专业高效的 STR 检测试剂和仪器，为细胞鉴定提供完整解决方案。

1

追踪并确认组织标本的来源和细胞谱系

2

检测污染物，包括不相干的组织或混合细胞群

3

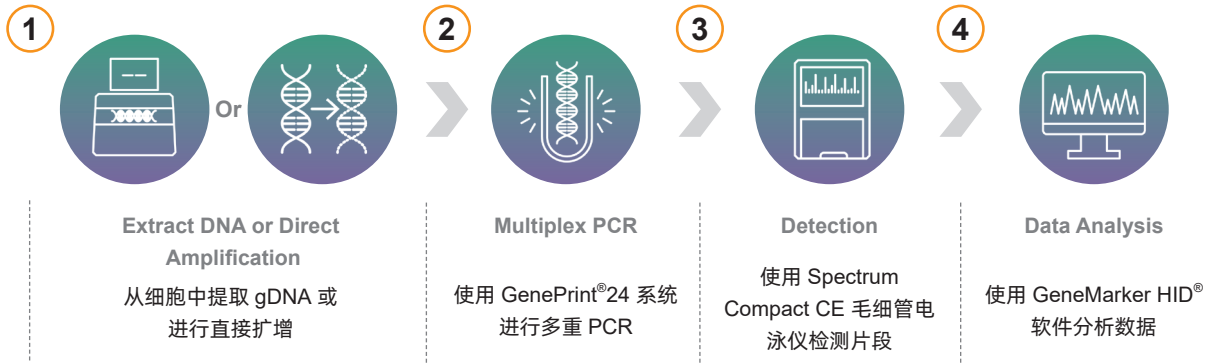
解决来自相关个体或多个来源的复杂混合物

可用于以下应用中基于 STR 的供体鉴定：

- CAR-T 生产质量控制：在 CAR-T 细胞制造过程中监测其独特的 STR 图谱，以确认其身份。
- 混合样本分析：确定 CAR-T 细胞和天然细胞混合物中异体 CAR-T 细胞的百分比。

从提取到检测的完整解决方案

Maxwell RSC System + GenePrint® 24 System + Spectrum Compact 毛细管电泳仪



Loci	Donor2006		Donor7001	
	T 细胞	CAR-T	T 细胞	CAR-T
AMEL	XY	XY	XX	XX
D3S1358	15	15	17,18	17,18
D1S1656	14,16	14,16	15,17	15,17
D2S441	10	10	10,11	10,11
D10S1248	13,14	13,14	13,14	13,14
D13S317	12,14	12,14	12,13	12,13
Penta E	12,16	12,16	10,12	10,12
D16S539	11,12	11,12	11,12	11,12
D18S51	12	12	12,16	12,16
D2S1338	22,23	22,23	16,17	16,17
CSF1PO	12	12	12	12
Penta D	13,14	13,14	9,13	9,13

Loci	Donor2006		Donor7001	
	T 细胞	CAR-T	T 细胞	CAR-T
TH01	6,9	6,9	8	8
vWA	18	18	16	16
D21S11	28,32,2	28,32,2	28,30	28,30
D7S820	12	12	8,12	8,12
D5S818	11	11	11,13	11,13
TPOX	8,11	8,11	8,9	8,9
DYS391	11	11	N/A	N/A
D8S1179	14,15	14,15	12	12
D12S391	17,20	17,20	17,18	17,18
D19S433	13	13	14,16	14,16
FGA	19,26	19,26	24	24
D22S1045	15	15	14,15	14,15

上图：STR 图谱数据的一致性。将未修饰的 T 细胞和工程 CAR-T 产品点在 FTA 卡上。使用 GenePrint® 24 系统进行直接扩增，并在 Spectrum Compact CE 系统上进行分析。结果证实，工程 CAR-T 细胞与原始供体细胞之间的等位基因一致性为 100%。



GenePrint® 24 System

可在从各种人类衍生的生物来源中生成 5 色荧光染料、24 个位点的人类 DNA 谱。

- 可分析混合样本的 24 位点 STR 检测系统
- 基因座的数量允许对密切相关的样本进行解读，具有更高的分辨力。与世界各地的数据库兼容，可以快速确认身份和计算匹配概率，提高实验室的整体效率。
- 兼容 2.5 至 5ng 的提取的 DNA 样本，反应体积更小，PCR 循环更少。
- 更合理的试剂盒（100 个反应）规格和低反应体积（12.5μl），对实验室采购更为友好。



Spectrum Compact 毛细管电泳仪

一款集成高效的仪器，在实验室可独立完成 Sanger 测序和片段分析，操作简便，有效掌控程序的每一个环节。本仪器兼容 Promega 及市场上其他 4 色、5 色和 6 色 STR 试剂盒。

- 样品处理灵活化
 - » 无需等待批量样品或将样品送到外部实验室
- 工作流程更高效
 - » 4 个八联管检测分析 32 个样本
 - » 4 道毛细管阵列
- 节省时间，减少试剂浪费

注意：您可能需要针对您的实验室仪器优化方案，包括模板 DNA 的数量、循环数、注射条件和装载量。使用 GeneMapper® 和 GeneMarker® 软件自动分配基因型时需要 Panel 和 Bin 文本文件，可供下载。

产品列表

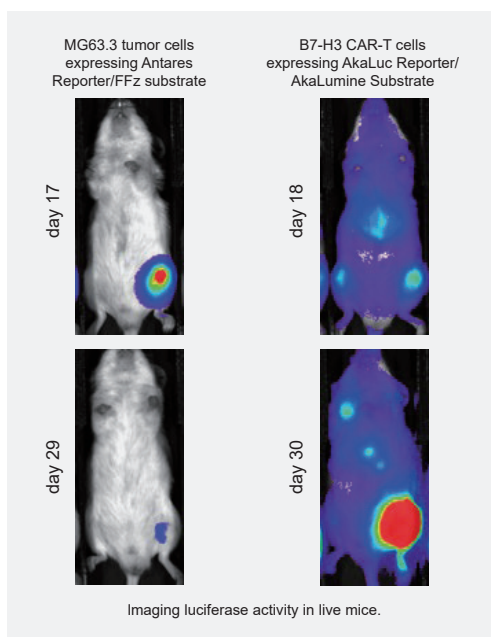
产品	规格	目录号
GenePrint® 24 System	100 reactions	B1870
	400 reactions	B1874
Spectrum Compact CE System	1 each	CE1304

小动物生物发光活体成像

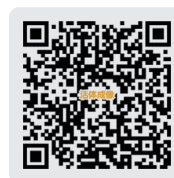
In Vivo Bioluminescence

事实证明，生物发光成像（BLI）是在动物模型中同时研究 CAR-T 细胞和肿瘤靶细胞的绝佳技术，可以深入了解 CAR-T 细胞对肿瘤生长、疾病进程、药物疗效的影响，并对潜在的细胞或基因疗法进行评估。通过使用正交萤光素酶 / 萤光素组合，可以对同一动物体内的多种萤光素酶进行可视化。BLI 能够无创跟踪和监测这些相互作用，因此特别适合此类研究。利用 BLI，研究人员可以全面了解 CAR-T 细胞如何在生物体的复杂环境中发挥作用，为开发和完善癌症靶向治疗提供重要信息。

- 生物发光无需外部激发光源，与荧光报告子相比，本底更低，灵敏度更高。
- 同一报告工具可用于体外和体内研究，简化了转化研究。
- 萤火虫萤光素酶（FLuc）和 NanoLuc[®] 萤光素酶（NLuc）提供了理想的双成像解决方案，因为这两种酶具有底物特异性。
- 这种方法可在同一动物体内监测不同的细胞事件或不同的细胞群。
- 底物依次递送，使初始信号在读取第二个信号之前衰减。



了解更多小动物生物发光活体成像技术请扫描下方二维码，下载相关技术资料。



应用文献：

使用 NanoLuc[®] 萤光素酶进行 CAR-T 在体内的表征

使用产品：NanoLuc[®] Luciferase 和 Nano-Glo[®] In Vivo Substrate

[Novel NanoLuc substrates enable bright two-population bioluminescence imaging in animals.](#)

Nature Methods | VOL 852 17 | August 2020 | 852–860

<https://doi.org/10.1038/s41592-020-0889-6>

用于活体成像研究的萤光素酶底物

Nano-Glo[®] Fluorofurimazine In Vivo Substrate (FFz)

NanoLuc[®] 报告基因在小鼠浅表组织成像时提供了高灵敏度和低背景，并已成功用于深部组织的成像事件。Nano-Glo In Vivo Substrate, Fluorofurimazine (FFz)，是一种优化的试剂，专门设计用于体内检测 NanoLuc[®] 萤光素酶，NanoLuc[®] 融合蛋白，或重组 NanoBiT[®] 萤光素酶。这种水溶性试剂增加了底物在体内的生物利用度，产生明亮的信号，处理方法与体内工作流程相兼容。此外，底物特异性使得 NanoLuc[®] 可以和萤火虫萤光素酶一起用于双萤光素酶分子成像研究，为创建整个动物报告模型提供了更多的选择。

产品列表

萤光素酶	产品特点	名称	目录号	规格 (mg)
NanoLuc [®] 萤光素酶	光信号更强	Fluorofurimazine (FFz)	N4100	1 each
			N4110	5 each
萤火虫萤光素酶	钾盐，经过内毒素含量检测的活体成像底物	VivoGlo [™] Luciferin, In Vivo Grade	P1041	50mg
			P1042	250mg
			P1043	1000mg

T Cell Immunotherapy

T 细胞免疫治疗



关注 Promega 生命科学公众号，您可获得



产品信息



价格查询



中文说明书



讲座视频



技术资料



实验工具



市场活动



经销商信息

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司
Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

地址：北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心 B 座 907-909

电话：010-58256268

网址：www.promega.com

技术支持电话：400 810 8133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

更新时间：2024.08