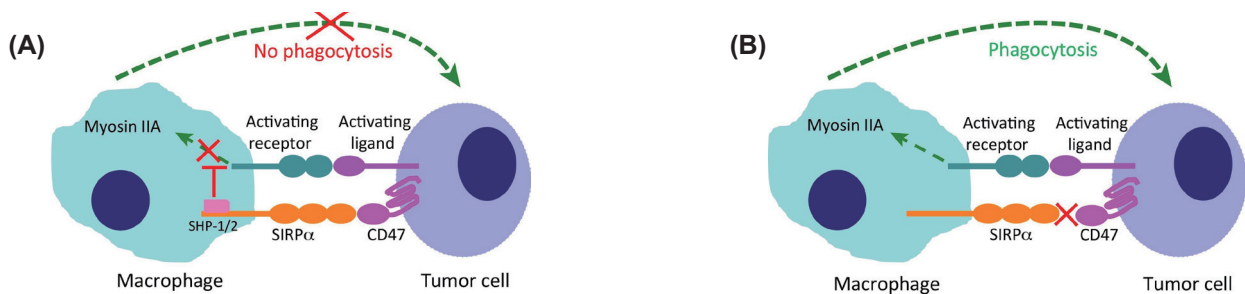


SIRP α /CD47 Blockade Bioassays

检测 Fc 功能型或 Fc 沉默型 SIRP α /CD47 抑制剂活性的新型生物活性检测技术

CD47

● 检测原理



(A) 在肿瘤细胞中过表达的 CD47 和髓样受体 SIRP α 结合，并且传递出“别吃我”的信号来抑制细胞吞噬作用。

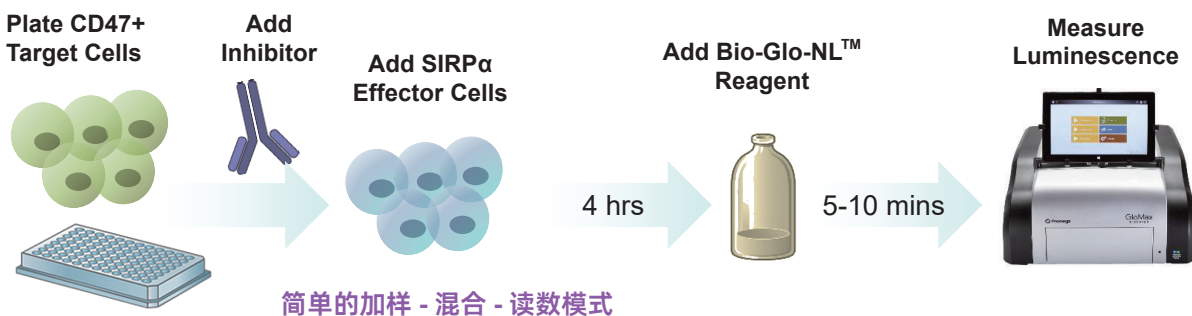
(B) SIRP α /CD47 阻断可促进由促吞噬配体，和 / 或 Fc 功能型 (Fc-functional) 抗体与 Fc γ R 的结合所驱动的肿瘤细胞的吞噬作用 (ADCP)。

(C) SIRP α /CD47 抑制剂在分子结构和作用机理方面有差异，但是可以大致分为 Fc-silent (Fc 沉默型) 和 Fc-functional (Fc 功能型)。

(C)

Agent	Structure	Binds to		
		CD47	SIRP α	FcR
Anti-CD47 antibody-intact		+	-	+
Anti-CD47 antibody-F(ab') ₂		+	-	-
Anti-CD47 antibody-F(ab)		+	-	-
Anti-SIRP α antibody-intact		-	+	+
Anti-SIRP α antibody-F(ab') ₂		-	+	-
Anti-SIRP α antibody-F(ab)		-	+	-
Soluble SIRP α -Fc		+	-	+
Monomeric SIRP α		+	-	-
Anti-CD47 antibody		+	-	-
Anti-CD47 single chain variable fragment		+	-	-

● SIRP α /CD47 Blockade Bioassays 工作流程



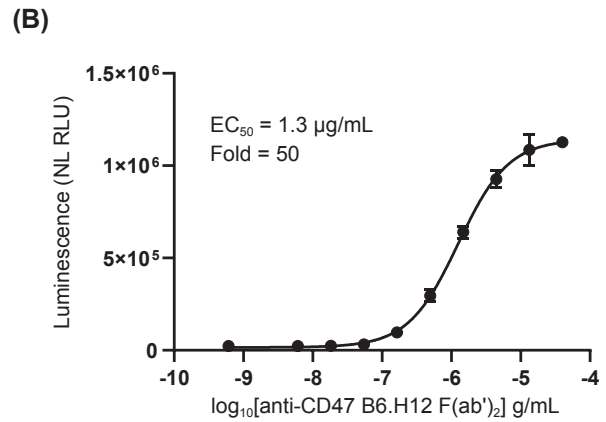
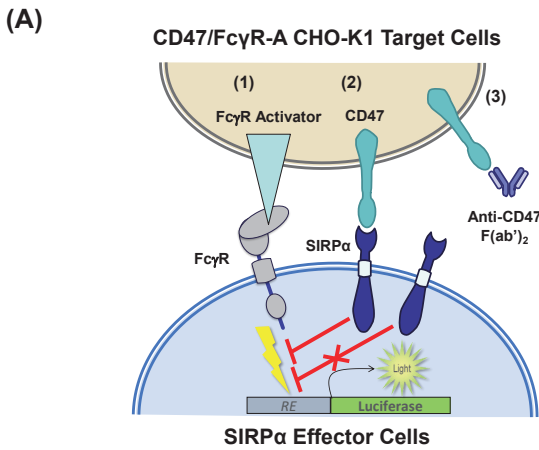
应用数据展示

● 可测定 Fc 沉默型 SIRPα/CD47 阻断抗体的效价

下图表明单核细胞激活的萤光素酶活性受到以下调控：

(A) 被与 FcγRs 结合的 FcγR-A 蛋白诱导产生，被 SIRPα 和 CD47 的结合所抑制

(B) 使用阻断克隆 B6.H12 的抗-CD47 F(ab)₂ 片段进行 CD47 阻断而得以恢复

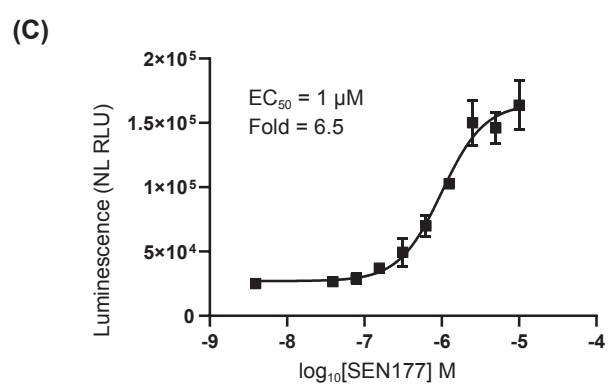
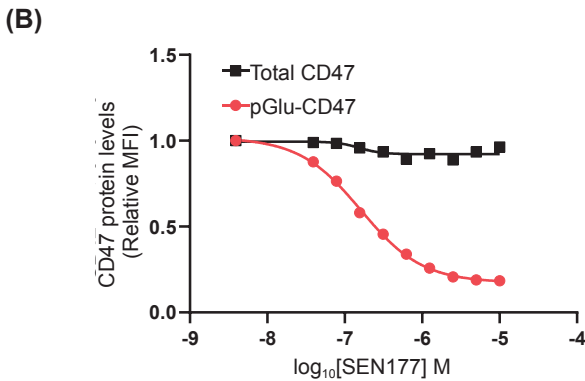
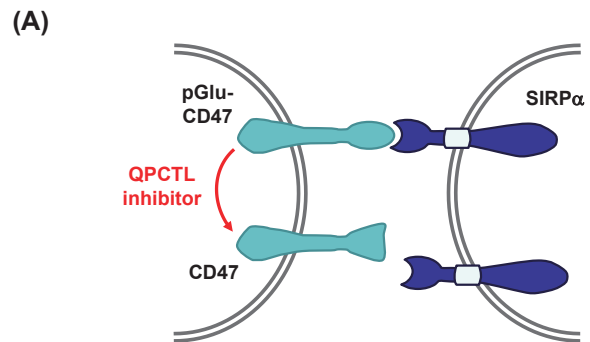


● 可测定小分子 SIRPα/CD47 抑制剂的活性

(A) SIRPα/CD47 相互作用需要谷氨酰胺环转移酶样蛋白 (QPCTL) 修饰 CD47 (pGlu-CD47)。

(B 和 C) 使用 QPCTL 抑制剂 SEN177 预处理 CD47/FcγR-A CHO-K1 靶细胞，结果导致：(B) pGlu-CD47 的特异性降低和

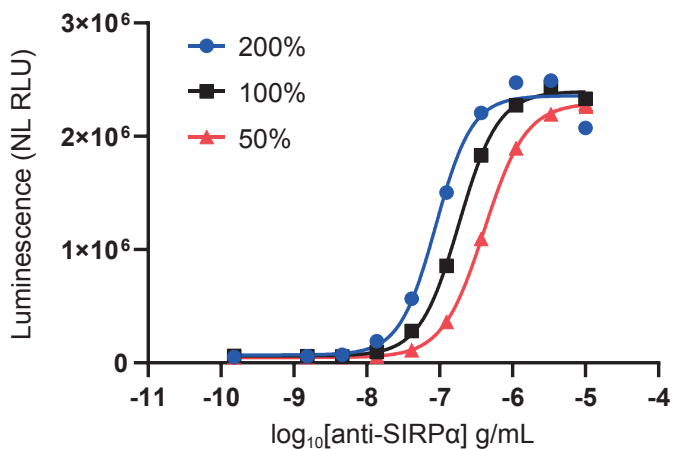
(C) SIRPα/CD47 Blockade Bioassay 中 FcγR 介导的萤光素酶活性的恢复。



应用数据展示

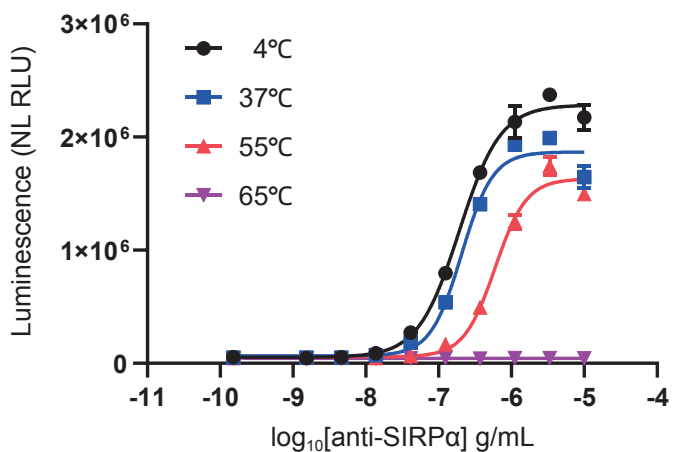
● SIRPα/CD47 Blockade Bioassay 可测定相对效价并指示稳定性

(A) 抗-SIRPα 阻断抗体的相对效价



Expected Relative Potency	Measured Relative Potency
50%	45.1%
200%	208%

(B) 抗-SIRPα 阻断抗体的稳定性



Temperature	EC ₅₀ (μg/mL)
4°C	0.19
37°C	0.21
55°C	0.59
65°C	No assay response

如上图所示, SIRPα/CD47 Blockade Bioassay 使用抗-SIRPα 阻断抗体 (克隆 SE5A5) 完成:

(A) 抗-SIRPα 抗体的模拟效价系列, 并与 100% 参照品作对比, 测得相对效价。

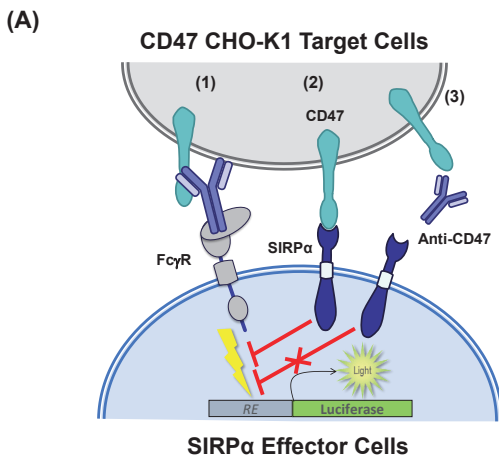
(B) 抗-SIRPα 抗体在指定温度下孵育 24 小时, 然后使用 SIRPα/CD47 Blockade Bioassay 进行分析。

SIRP α /CD47 Blockade Bioassays

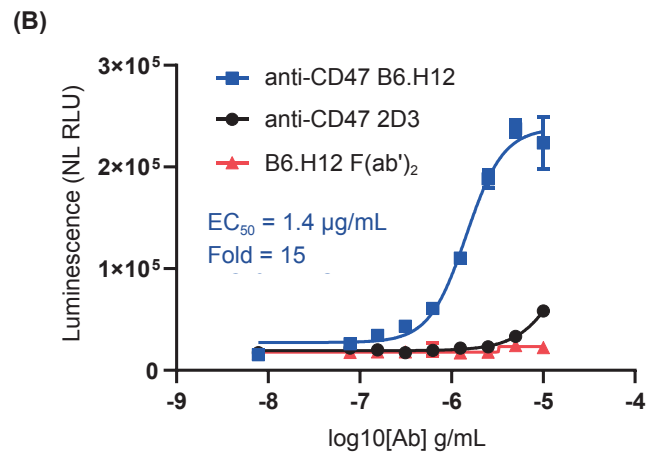
● SIRP α /CD47 Blockade Bioassay, Fc-dependent 可测定 Fc 功能型 (Fc-functional) CD47 阻断抗体的效价

如下图 (A) 所示, 萤光素酶活性 (即单核细胞激活) 受到以下调控:

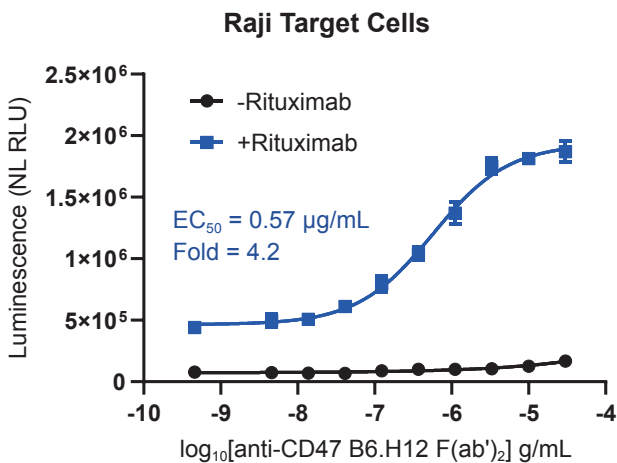
- (1) 通过 Fc 功能型抗-CD47 抗体与 Fc γ R 结合而诱导产生
- (2) 通过 SIRP α /CD47 的结合被抑制
- (3) 当抗-CD47 具有阻断功能时增强



如下图 (B) 所示, 在用 SIRP α /CD47 Blockade Bioassay, Fc-dependent 进行检测时, 使用全长抗-CD47 阻断抗体 (克隆 B6.H12, 小鼠 IgG1 同种型) 时可观察到 Fc γ R 介导的萤光素酶活性, 但当使用 B6.H12 F(ab')₂ 片段或非阻断抗-CD47 抗体 (克隆 2D3, 小鼠 IgG1 同种型) 时则未观察到。



● SIRP α /CD47 Blockade Bioassay 能够使用 CD47+ 癌细胞检测药物组合



如左图所示, SIRP α /CD47 Blockade Bioassay, Fc-dependent 检测是使用 SIRP α 效应细胞和 Raji 靶细胞 (人 B 细胞淋巴瘤, CD47+/CD20+) 完成的。在抗-CD20 抗体 (利妥昔单抗 [rituximab], EC₁₀₀) 存在或不存在的条件下, 以递增的浓度加入抗-CD47 F(ab')₂ 片段。正如预期的那样, 抗-CD47 F(ab')₂ 片段增强了利妥昔单抗介导的萤光素酶活性。单独使用抗-CD47 F(ab')₂ 片段则未观察到应答。

产品列表

● SIRP α /CD47 Blockade Bioassay

产品名称	规格	目录号
SIRP α /CD47 Blockade Bioassay-Control antibody	1 × 50 μ g	K1251
SIRP α /CD47 Blockade Bioassay-Cell Bank, Effector Cells	1 each	GA6000
SIRP α /CD47 Blockade Bioassay-CPM	1 each	JA6012
SIRP α /CD47 Blockade Bioassay-Cell Bank, Target Cells	1 each	GA6040

SIRP α Effector Cells: 表达 SIRP α 和 Bio-Glo-NL 萤光素酶报告基因的 THP-1 细胞;

CD47/Fc γ R-A CHO-K1 Target Cells: 表达 CD47 和工程化的用于激活 Fc γ Rs 的细胞表面蛋白的 CHO-K1 细胞。

● SIRP α /CD47 Blockade Bioassay, Fc-Dependent

产品名称	规格	目录号
SIRP α /CD47 Blockade Bioassay, Fc-Dependent-CPM	1 each	JA4802
SIRP α /CD47 Blockade Bioassay, Fc-Dependent-Cell Bank, Effector Cells	1 each	GA6000
SIRP α /CD47 Blockade Bioassay, Fc-Dependent-Cell Bank, Target Cells	1 each	GA6030

SIRP α Effector Cells: 表达 SIRP α 和 Bio-Glo-NL 萤光素酶报告基因的 THP-1 细胞;

CD47 CHO-K1 Target Cells: 表达 CD47 的 CHO-K1 细胞;

CD47

● 总结

- ◆ **Promega 开发了两种基于细胞的报告基因检测，用于测定多种 SIRP α /CD47 抑制剂的生物活性：**
 - SIRP α / CD47 Blockade Bioassay
适用于无 Fc 功能片段的 Fc 沉默型 CD47 阻断抗体、SIRP α 阻断抗体，和小分子抑制剂
 - SIRP α / CD47 Blockade Bioassay, Fc-dependent (Fc 依赖型)
适用于具有 Fc 功能片段的 Fc 功能型 CD47 阻断抗体、联合用药和双特异性抗体
- ◆ **SIRP α /CD47 Blockade Bioassay 可以使用新鲜的细胞培养物完成实验。**
- ◆ **SIRP α /CD47 Blockade Bioassay 为药物研发、批签发 (lot release) 和稳定性研究提供了一个简单、高通量的平台。**

如需了解更多，请点击下方链接。

<https://www.promega.com/products/reporter-bioassays/innate-immunity-bioassays/>

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司

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

传真：010-58256160

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：2025.02



关注 Promega
生命科学



联系 Promega
授权经销商