

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

检测转基因 TCRs 效力的新型生物发光分析方法

TCR

● 技术优势

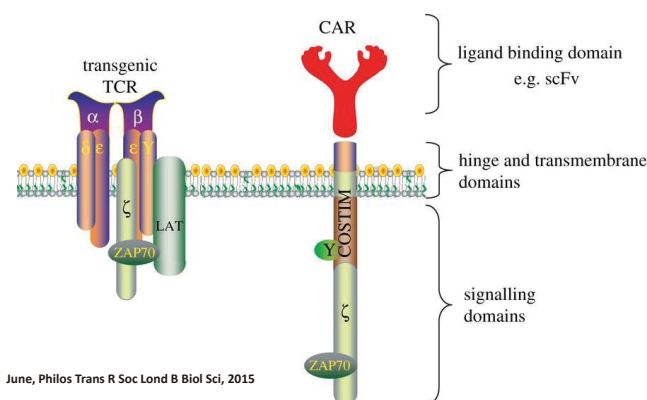
- 根据 ICH 指南进行方法预认证：该生物活性检测方法证明了其具备在效力和稳定性研究中常规使用所需的精密度、准确度和线性。
- 简单而稳定可靠的操作流程：无需专业技能培训便可操作使用。
- 适合抗体筛选和药物研发：该生物活性检测方法适于 96 孔和 384 孔板操作。

● 概述

过继性 T 细胞免疫治疗是一种重要的癌症治疗策略，该方法通过引入转基因抗原受体使转基因 T 细胞具有肿瘤特异性并被激活，从而提高它们识别和破坏肿瘤的能力。过继性 T 细胞免疫治疗可分为 T 细胞受体改造的 T 细胞（TCR-T）治疗和嵌合抗原受体 T 细胞（CAR-T）治疗两种类型。

若使用传统方法测量 TCR 活化需依靠繁琐的操作步骤和非常易变的检测终点。

TCR $\alpha\beta$ -KO Bioassay 成功克服了现有方法的局限性，可对转基因 TCRs 进行功能测试，比如用于质量控制、TCR-T 和 CAR-T 治疗等应用的抗原分级、特异性和安全性试验。

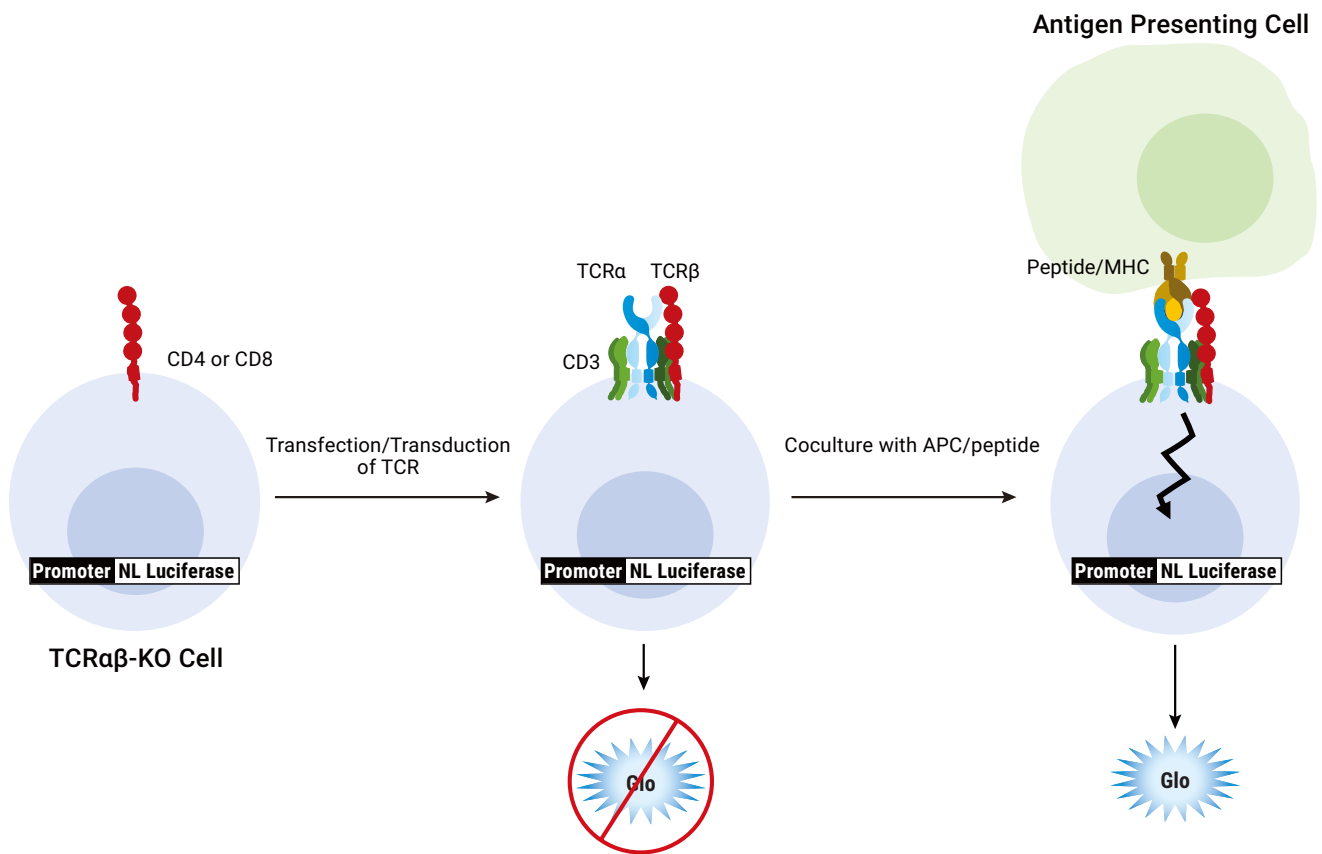


T Cell Activation Bioassay (TCR $\alpha\beta$ -KO) 是一种基于细胞的生物发光分析方法，可用于测量转基因 TCR 构建体在不受内源性 TCR 表达限制的情况下激活 T 细胞的效力。该方法由经基因工程改造的 Jurkat T 细胞系组成，其内源性 TCR α 和 β 链通过基因编辑工具 CRISPR/Cas9 敲除。这些细胞所表达的萤光素酶报告基因由 TCR 通路依赖性启动子驱动。

原理及应用

● 检测原理

T Cell Activation Bioassay (TCR $\alpha\beta$ -KO), Propagation Model 利用基于细胞的生物发光报告基因分析方法，克服了现有检测方法的局限性。将 TCR α 和 β 链引入 TCR $\alpha\beta$ -KO 细胞可使细胞表面出现转基因 TCR 的表达。通过表达同源肽和主要组织相容性复合体 (MHC) 的抗原呈递细胞 (APCs)，从而激活表达转基因 TCR 的 TCR $\alpha\beta$ -KO 细胞，可导致 TCR 有效的激活，以及由下游启动子介导的萤光素酶的表达和发光信号的产生。



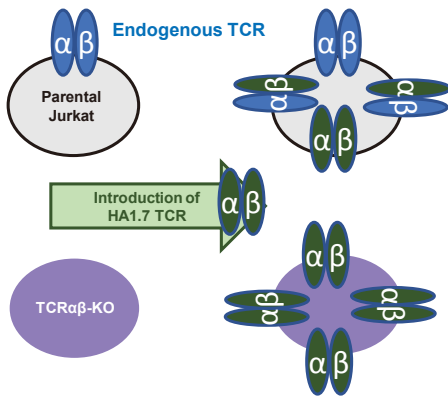
● 技术应用

- 确定 CAR-T 细胞受体的活性。
- 检测抗原的活性和特异性。
- 测量双特异性抗体的效力和稳定性。

性能数据展示

● 转基因 TCR 的表达分析和功能性检测

A.



B.

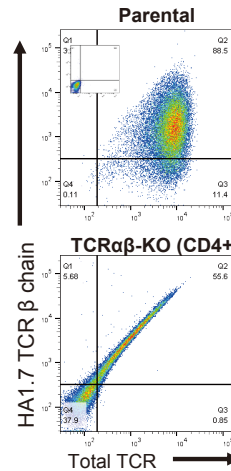
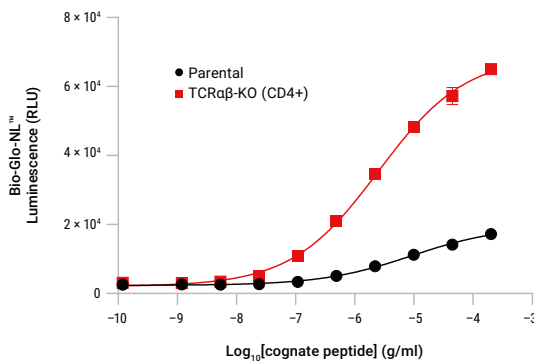


图 A. 将转基因 TCR 引入亲本 Jurkat 细胞和 TCRαβ-KO 细胞的示意图。将转基因 TCR 引入亲本 Jurkat 细胞会导致由内源性和转基因 TCRαβ 链混搭组成的 TCR 链的表达。由于缺乏内源性 TCR，TCRαβ-KO 细胞中的转基因 TCR 表达可导致单一类型的 TCRαβ 配对。

图 B. 分析转染后的细胞，表面总 TCR 的表达 (x 轴)，HA1.7 TCR β 链的表达 (y 轴)。

C.



D.

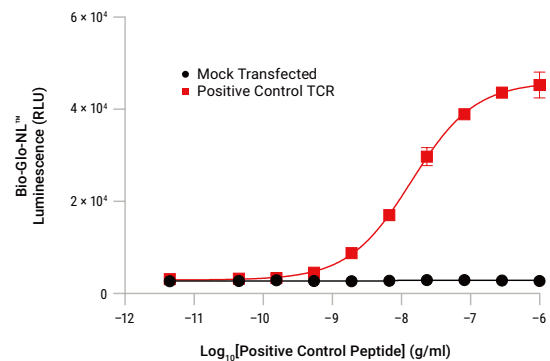


图 C. 将 TCR 转染的亲本 Jurkat 细胞 (内源性 CD4+)、TCRαβ-KO (CD4+) 细胞、HLA-DR-positive 细胞和浓度梯度的同源肽共同孵育。细胞孵育 6 小时后，加入 Bio-Glo-NL™ Reagent 并使用 GloMax® Discover System 对发光信号进行定量检测。使用 GraphPad Prism® 软件将数据拟合为四参数逻辑曲线。TCRαβ-KO (CD4+) 细胞和亲本 Jurkat 细胞的 EC₅₀ 值分别为 2.5 μg/ml 和 9.1 μg/ml，诱导倍数分别为 22 和 8。

图 D. 使用 Lonza Nucleofector™ System 将 Positive Control TCR 质粒 (或模拟转染) 转染进 TCRαβ-KO (CD4+) 细胞。转染 48 小时后，将该细胞与 MHCII APC 细胞共同培养并滴定 Positive Control Peptide。在 37°C 下、细胞培养 6 小时后，加入 Bio-Glo-NL™ Reagent 并使用 GloMax® Discover System 对发光信号进行检测。结果只有外源表达 positive control TCR 的细胞会产生应答。

TCR

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

● 产品综合列表

T Cell Activation Bioassays(TCR $\alpha\beta$ -KO)				
产品	受体 / 配体 基因工程化	组分	规格	目录号
TCR $\alpha\beta$ -KO Cell Line (CD8+) , Propagation Model	TCR $\alpha\beta$ knocked out CD4 knocked out CD8 exogenously expressed	TCR $\alpha\beta$ -KO (CD8+) Cells (CPM)	2x1ml	GA1162
TCR $\alpha\beta$ -KO Cell Line (CD4+) , Propagation Model	TCR $\alpha\beta$ knocked out CD4 endogenously expressed	TCR $\alpha\beta$ -KO (CD4+) Cells (CPM)	2x1ml	GA1172
TCR $\alpha\beta$ -KO Cell Line (CD4+/CD8+) , Propagation Model	TCR $\alpha\beta$ knocked out CD4 endogenously expressed CD8 exogenously expressed	TCR $\alpha\beta$ -KO (CD4+, CD8+) (CPM)	2x1ml	GA1182
TCR $\alpha\beta$ -KO Cell Line (CD4+) , Cell Bank	TCR $\alpha\beta$ knocked out CD4 endogenously expressed	TCR $\alpha\beta$ -KO (CD4+) Cells (CPM)	50x1ml	GA1210
TCR $\alpha\beta$ -KO Cell Line (CD8+) , Cell Bank	TCR $\alpha\beta$ knocked out CD4 knocked out CD8 exogenously expressed	TCR $\alpha\beta$ -KO (CD8+) Cells (CPM)	50x1ml	GA1220
TCR $\alpha\beta$ -KO Cell Line (CD4+/CD8+) , Cell Bank	TCR $\alpha\beta$ knocked out CD4 endogenously expressed CD8 exogenously expressed	TCR $\alpha\beta$ -KO (CD4+, CD8+) (CPM)	50x1ml	GA1230

检测试剂				
产品	检测荧光素酶	组分	规格	目录号
Bio-Glo-NL™ Luciferase Assay System	NanoLuc® (Nluc)	Bio-Glo-NL™ Luciferase Assay Buffer Bio-Glo-NL™ Luciferase Assay Substrate	10ml	J3081
			100ml	J3082
			10X100ml	J3083

Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

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

网址: www.promega.com

微网站: wechat.promega.com.cn

技术支持电话: 400 810 8133(手机拨打)

技术支持邮箱: chinatechserv@promega.com

印刷时间: 2021.9



欢迎关注 Promega 官方微信