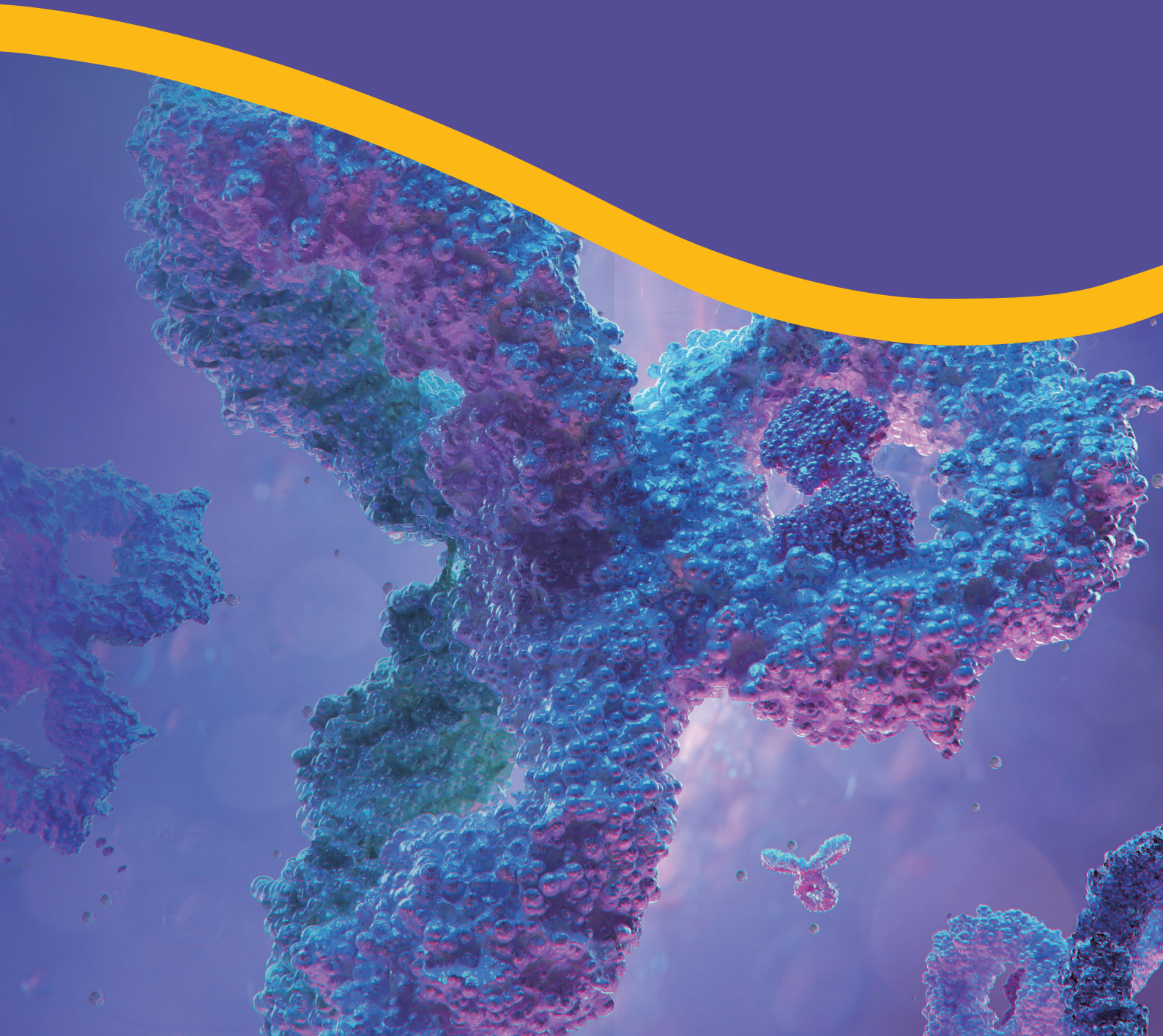
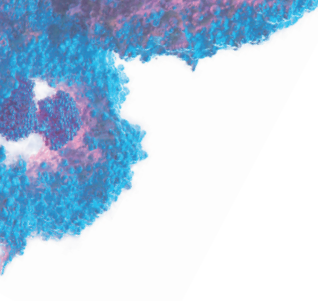


Fc Receptors Function Analysis & Characterization

Fc 受体功能分析与表征





Fc 受体活性和结合检测

Fc Effector Activity and Binding Assays

单克隆抗体疗法已经彻底改变了广泛的癌症和自身免疫疾病治疗的格局。这些免疫调节分子通过多种机制发挥作用，其中最重要的一种机制是通过抗体与 Fc 受体的相互作用实现。当这类抗体与病变目标细胞或病原体结合后，这些 Fc 受体会介导诸如**抗体依赖性细胞毒性（ADCC）**和**抗体依赖性细胞吞噬作用（ADCP）**等效应细胞功能。

Promega 公司已经开发出一系列广泛的生物发光工具，使生物药物开发者能够从先导化合物筛选直至成品批放行全程评估其抗体治疗药物的 Fc 效应器功能：

- 通过 **Lumit™ 免疫检测法**可以简单、可扩展且快速地测定 **Fc 受体结合亲和力**。
- 在符合成品批放行效力要求的条件下，使用**反映药物作用机制（MOA）的细胞报告基因检测**来定量 **ADCC 或 ADCP 活性**。
- 在生理相关的**原代细胞模型**中进行**桥接研究**。**HiBiT 靶细胞杀伤检测**采用已验证 ADCC 活性的 PBMCs，以节省时间并提供高度一致的结果。

Fc 受体结合检测

生化水平结合的免疫检测

- 分析抗体-Fc 受体相互作用
- 确定单克隆抗体及其效应机制的血清半衰期
- 高通量筛选 Fc 工程化抗体库

Fc 效应器活性检测

使用工程化的 ADCC 或 ADCP 报告基因效应细胞进行基于细胞的检测

- 基于 MOA 的检测方法，用于测定 Fcγ 受体功能
- 用于单克隆抗体批次放行和稳定性研究
- 区分单克隆抗体的糖基化和岩藻糖基化水平
- 相较于传统的原代细胞检测方法，降低变异程度

靶细胞杀伤检测

与工程化的表达 HiBiT 标签蛋白的靶细胞相结合的原代细胞检测

- 检测针对 ADCC 合格效应细胞的靶细胞特异性杀伤活性
- 使用具有高度生理相关性的人类细胞模型
- 支持从药物发现和表征到批次放行的桥接研究

从先导 化合物到 成品批放行

从生化水平的体外研究到具有生理相关性的原代细胞检测，充分利用强大的生物发光工具，在整个生物药物开发过程中分析 Fc 效应器功能。

Fc 受体结合检测

Fc Receptor Binding Assays

通过 **Lumit™ Fc Receptor Binding Immunoassays** 测定治疗性单克隆抗体 (mAb) 与人新生儿 Fc 受体 (FcRn) 或 Fcγ 受体 (FcγR) 之间的相互作用。这些检测方法无需固定或洗涤步骤，完全的均质型检测。

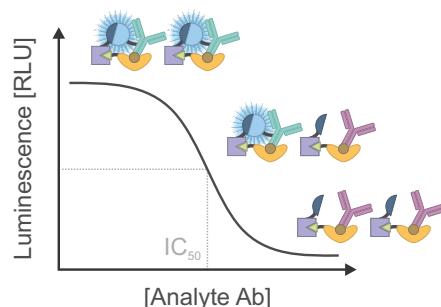
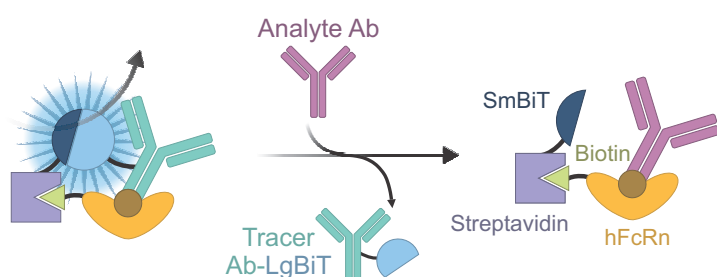
Lumit™ 免疫检测基于多功能 NanoBiT® 互补报告系统，该系统由两个互补亚基——LgBiT 和 SmBiT 组成。其中，SmBiT 被设计表现出对 LgBiT 部分极低的亲和力 ($K_d = 190 \mu\text{M}$)，这使得 NanoBiT® 非常适合用于相互作用分析。当标记有 LgBiT 或 SmBiT 的两种蛋白质相互作用时，会重组形成功能性的 NanoBiT® 荧光素酶，在其底物存在下生成稳定且明亮的生物发光信号。

在 Fc 结合检测中，采用了一种标记了 LgBiT 的人 IgG1 (Tracer Ab-LgBiT) 和一种与 SmBiT 标记的链霉亲和素偶联的生物素化 Fc 受体 (hFcR-Biotin-Streptavidin-SmBiT)。在没有待测抗体 (Analyte Ab) 的情况下，Tracer 抗体会与标记的 hFcR 结合，从而产生最大化的生物发光信号。待测抗体的结合由浓度依赖性的信号显示。且当待测抗体通过竞争方式置换 Tracer 时，该信号会相应减弱。

Lumit™ Fc Receptor Binding Immunoassays 可用于检测人的 FcRn 以及三种不同的人 FcγRs，以及这些受体的重要多态性变体。

- FcRn
- FcγRI
- FcγRIIa (H131)
- FcγRIIa (R131)
- FcγRIIIa (V158)
- FcγRIIIa (F158)

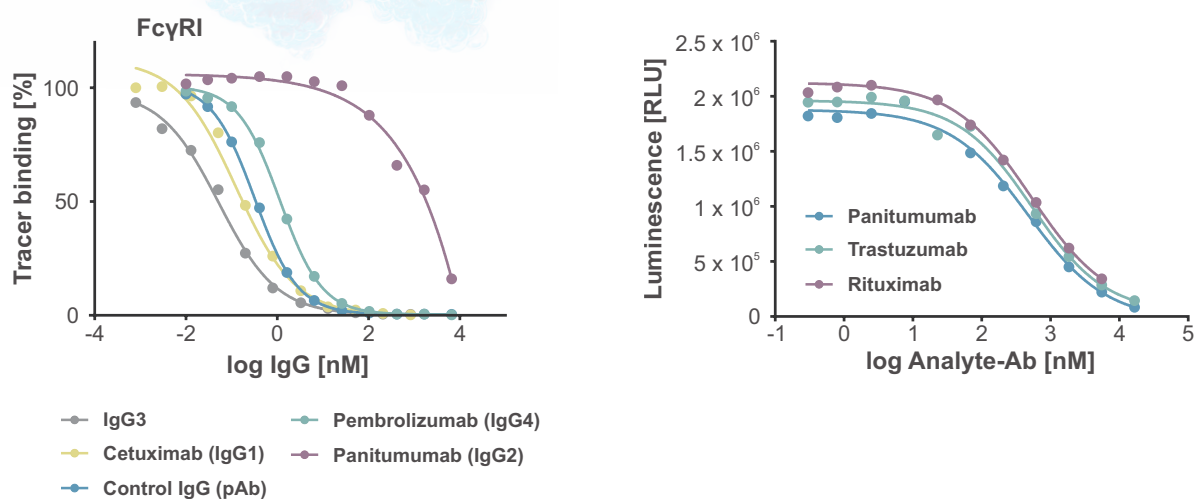
检测原理



特点和优势

- 针对 mAbs（单克隆抗体）进行平行和自动化的 Fc 亲和力筛选
- 无需固定，减少实验操作引起的假象
- 高灵敏度的生物发光读出结果
- 无细胞的，基于溶液的检测，无需进行洗涤和转移
- 最快 70 分钟内出结果
- 可扩展至 384 孔板模式

代表性数据



(A) Lumit™ FcγRI Binding Immunoassay. 在 Lumit Immunoassay 中，FcγRI 是以亚类特异性方式与 IgG 结合，其 IC_{50} 值反映了相对的 IgG 亲和力 (IgG3 > IgG1 > IgG4 >>> IgG2). **(B) Lumit™ FcRn Binding Immunoassay.** 一组治疗性抗体被用于测试它们对 FcRn 的亲和力。

参考文献

- » Nath, N. *et al.* (2022) A homogeneous bioluminescent immunoassay for parallel characterization of binding between a panel of antibodies and a family of Fc receptors. *Sci Rep* 12, 12185.
- » Nath, N. *et al.* (2021) Deciphering the interaction between neonatal Fc receptor and antibodies using a homogeneous bioluminescent immunoassay. *J Immunol.* 207(4), 1211–1221.
- » Tian, Z. *et al.* (2021). Harnessing the power of antibodies to fight bone metastasis. *Sci Adv.* 7(26), eabf205

Fc 效应器的效能检测

Fc Effector Potency Assays

通过基于细胞的 **ADCC 和 ADCP Reporter Assays**，测定结合或激活 Fc 受体的治疗性抗体或其他生物制品的效力及稳定性。

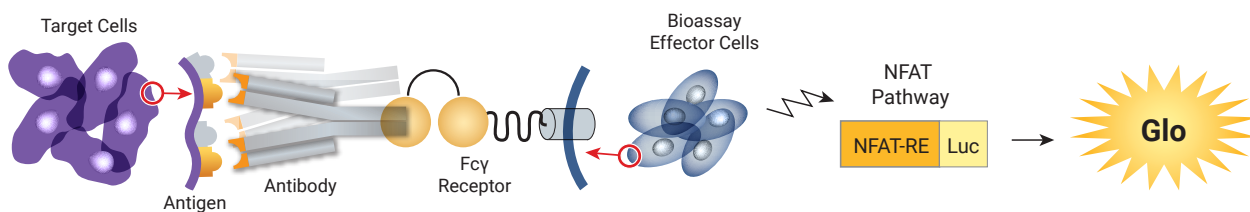
这些检测方法使用的是稳定表达相关 Fcγ 受体变异体和由 NFAT 反应元件（NFAT-RE）调控的萤火虫萤光素酶报告基因的 Jurkat 或 THP-1 效应细胞。当此类效应细胞与靶细胞上相应抗体的 Fc 区域相互作用时，表达相关 Fcγ 受体的效应细胞会传递胞内信号，进而导致 NFAT 介导的萤光素酶活化并轻松地进行定量分析。

该实验流程简单易行，适用于 96 孔板和 384 孔板格式，并且相较于传统的基于原代细胞的检测方法，能够提供具有低变异性、高准确度的 ADCC 和 ADCP 定量检测。

Fc Effector Potency Assays 已被开发用于定量抗体与以下 Fc 受体结合介导的细胞内信号：

- Human FcγRIIIa (V158 和 F158 variants)
- Human FcγRIIIa (H131 和 R131 variants)
- Human FcγRI
- Human FcγRIIb
- Mouse FcγRIV
- Mouse FcγRIII

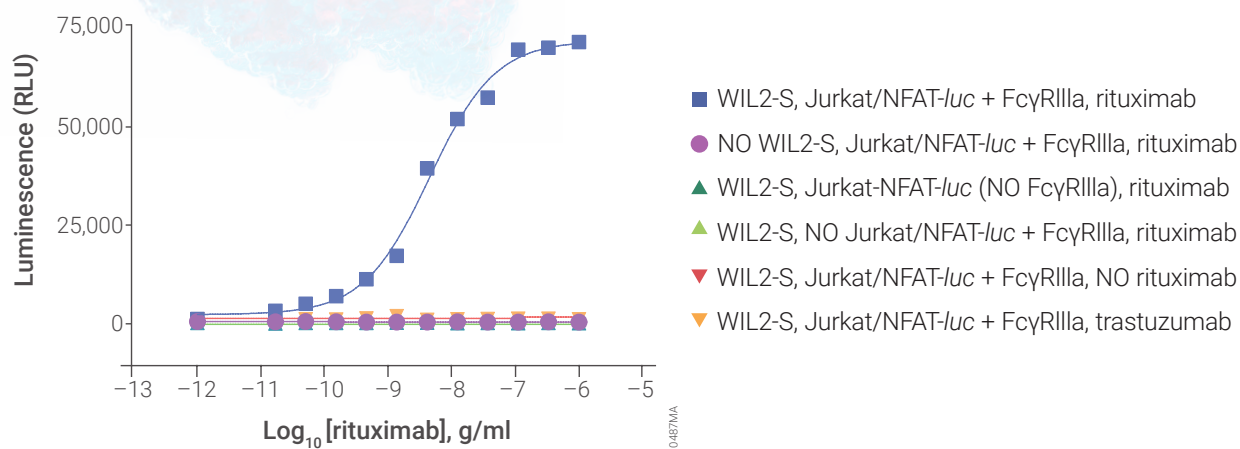
检测原理



特点和优势

- 抗体 MOA 的生物学相关性测定
- 遵循 ICH 指南进行预资格认证
- 与原代细胞实验关联
- 相较传统的原代细胞检测方法具有更低的变异性
- 即融即用细胞形式
- 可扩展至 384 孔板模式

代表性数据



将 Rituximab (anti-CD20) 和 Trastuzumab (anti-Her2) 进行系列稀释, 无抗体实验溶剂作为对照, 在 37°C 条件下分别与经过工程改造的 Jurkat 效应细胞 (ADCC Bioassay Effector Cells) 共同孵育 6 小时, 添加或不添加 ADCC Bioassay Target Cells (WIL2-S 细胞) 如上图所示。

参考文献

- » Zhang, X., *et al.* (2019) A recombinant human IgG1 Fc multimer designed to mimic the active fraction of IVIG in autoimmunity. JCI InSight 4, e121905.
- » Hu, Z., *et al.* (2018) Targeting tissue factor for immunotherapy of triple-negative breast cancer using a second-generation ICON. Cancer Immunol. Res. 6, 671–684.3.
- » Kommineni, V., *et al.* (2019) In vivo glycan engineering via the mannosidase I inhibitor (kifunensine) improves efficacy of Rituximab manufactured in *Nicotiana benthamiana* plants. Int. J. Mol. Sci. 20, 194.
- » Kauder, S.E., *et al.* (2018) ALX148 blocks CD47 and enhances innate and adaptive antitumor immunity with a favorable safety profile. PLoS ONE 13, e0201832.

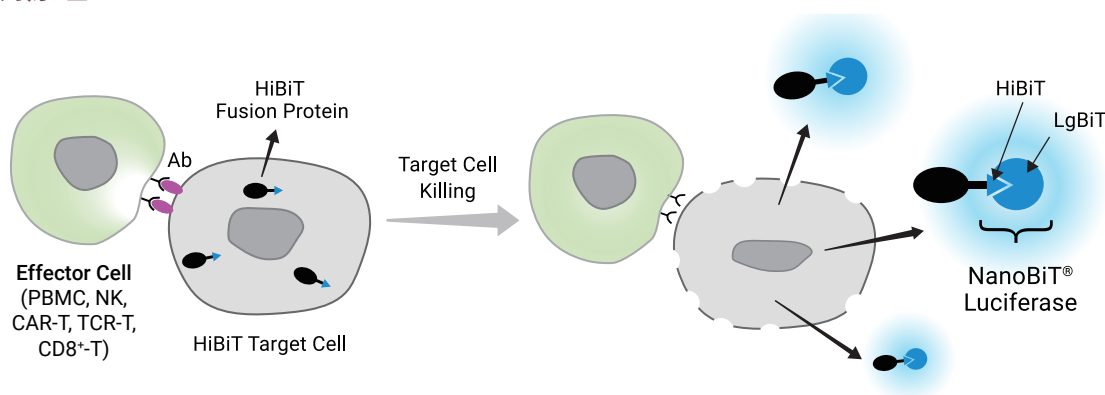
靶细胞杀伤检测

Target Cell Killing Assays

使用 **HiBiT 靶细胞杀伤 (TCK) 平台**，可检测多种大分子药物诱导的靶细胞杀伤效果，这些大分子药物包括单克隆抗体 (mAbs)、双特异性 T 细胞衔接器 (BiTE) 抗体、T 细胞受体工程改造 T 细胞 (TCR-T) 或嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T) 等。

TCK 检测方法基于稳定表达 HiBiT 融合蛋白的工程改造的靶细胞系。HiBiT 是一种含有 11 个氨基酸残基的肽标签，它与 NanoBiT[®] 萤光素酶的互补 LgBiT 亚基具有皮摩尔级别的高亲和力。当靶细胞通过与效应细胞和 / 或抗体孵育后被裂解时，HiBiT 会被释放到细胞培养上清液中，并且可通过添加 LgBiT 轻易地检测到。重组后的 NanoBiT[®] 萤光素酶在添加试剂后会发出稳定明亮的发光信号。此信号与死亡细胞的数量呈正相关关系。

检测原理



靶细胞

HiBiT 靶细胞可以与多种原代效应细胞联合使用，例如外周血单核细胞 (PBMC)、自然杀伤细胞 (NK)、CD8⁺ T 细胞 (CD8⁺-T)、CAR-T 细胞或 TCR-T 细胞。

对于大多数流行的免疫治疗靶点 (如: CD19、CD20、BCMA 等)，HiBiT 靶细胞都以冷冻保存即融即用的形式提供，或者作为可增殖的细胞模型供应。由于我们不断致力于开发新的细胞系，因此建议您联系 Promega 获取最新可用 HiBiT 靶细胞的完整列表。

原代效应细胞（ADCC 验证的）

Promega 与 BioIVT 合作，提供经质量控制（QC）测试、即融即用的原代效应细胞，用于测定治疗性抗体的 ADCC 活性。

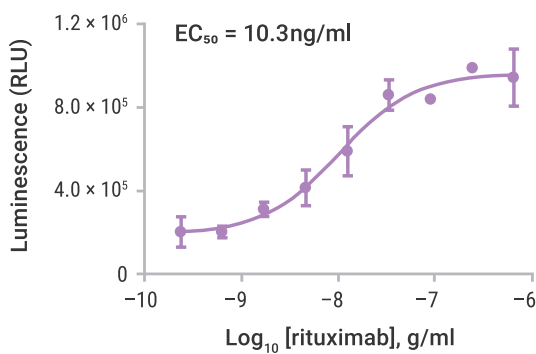
这些原代细胞既可以单独购买，也可以作为生物检测试剂盒的一部分提供，该试剂盒包含有 HaloTag®-HiBiT 靶细胞、FBS（胎牛血清）、细胞培养基和 Nano-Glo® HiBiT 胞外检测系统。

通过结合经过资格验证的原代效应细胞和 HiBiT 靶细胞，克服了传统使用新鲜分离自供体血液中的 PBMCs 或 NK 细胞进行的原代细胞实验所存在的劳动强度大且变异系数高的局限性。这一组合为 TCK（靶细胞杀伤）提供了简单、特异且灵敏的测定方法。

特点和优势

- 用于 ADCC 的筛选与效力测试
- 生理学相关的人类细胞模型
- 共培养体系中的高特异性
- 终点检测与动力学检测模式
- 选择适用于热门免疫治疗靶点的 HiBiT 靶细胞
- 无需血液分离和处理：提供高质量的原代效应细胞，以即融即用的形式确保最大程度的便捷性和最低限度的实验变异性。

代表性数据



PBMC ADCC Bioassay: 通过抗肿瘤治疗性单克隆抗体利妥昔单抗，评估由 PBMC 介导的对 Raji（HiBiT 标记）靶细胞的杀伤。

参考文献

» Garvin, D. *et al.* (2021). Determining ADCC activity of antibody-based therapeutic molecules using two bioluminescent reporter-based bioassays. *Current Protocols* 1, e296. doi: 10.1002/cpz1.296

订购信息

Ordering Information

Fc Receptor Binding Assays

产品	规格	目录号
FcRn Binding Immunoassay	100 assays	W1151
	1000 assays	W1152
FcγRI Binding Immunoassay	100 assays	Please enquire
FcγRIIA (H131) Binding Immunoassay	100 assays	Please enquire
FcγRIIA (R131) Binding Immunoassay	100 assays	Please enquire
FcγRIIA (R131) Binding Immunoassay	100 assays	Please enquire
FcγRIIA (R131) Binding Immunoassay	100 assays	Please enquire
FcγRIIIa (F158) Binding Immunoassay	100 assays	Please enquire

Fc Effector Potency Assays

产品	规格	目录号
Human ADCC Reporter Bioassays		
FcγRIIIa (V158) ADCC Reporter Bioassay (Raji Target Cells)	Cell Propagation Model*	G7102
CD38-KO ADCC Reporter Bioassay	Propagation Model*	Please enquire
FcγRIIIa (F158) ADCC Reporter Bioassay	Cell Propagation Model*	G9302
Target Cells for ADCC Reporter Bioassays		
Membrane TNFα Target Cells	Cell Propagation Model*	J3322
Membrane VEGF Target Cells	Cell Propagation Model*	J3342
Membrane RANKL Target Cells	Cell Propagation Model*	J3362
Mouse ADCC Reporter Bioassays		
mFcγRIV ADCC Reporter Bioassay	Cell Propagation Model*	M1212
mFcγRIII ADCC Reporter Bioassay	Cell Propagation Model*	

Human ADCP Reporter Bioassays		
FcγRIIa-H ADCP Reporter Bioassay	Cell Propagation Model*	G9871
FcγRIIa-R ADCP Reporter Bioassay	Cell Propagation Model*	Please enquire
FcγRI ADCP Reporter Bioassay	Cell Propagation Model* Cell Bank**	GA1323 GA1330
THP-1 ADCP Reporter Bioassay	Cell Propagation Model*	Please enquire
Other FcγR Reporter Bioassays		
FcγRIIb Reporter Bioassay	Cell Propagation Model*	Please enquire
Control Ab, Anti-CD20	1 x 5 µg	GA1130

Target Cell Killing Assays

产品	规格	目录号
PBMC ADCC Bioassay Kit (Raji)	1x or 5x	Please enquire
PBMC ADCC Bioassay Kit (Ramos)	1x or 5x	Please enquire
PBMC ADCC Bioassay Kit (SK-BR-3)	1x or 5x	Please enquire
PBMC ADCC Bioassay Kit (H929)	1x or 5x	Please enquire
PBMC ADCC Bioassay Kit (A549)	1x or 5x	Please enquire
PBMC ADCC Bioassay Kit (SKOV3)	1x or 5x	Please enquire
Target Cells		
HaloTag®-HiBiT Target Cells (e.g., <i>Raji</i> , <i>Ramos</i> , <i>A539</i> , <i>SK-BR-3</i> , <i>H929</i> , <i>U937</i> , <i>OVCAR3</i> , <i>SKOV3 T2</i> , etc.) Each target cell can be paired with PBMCs.	Cell Propagation Model ⁴	Please enquire for complete list

*Propagation Model: 2 vials of cryopreserved cells that can be thawed, propagated, and banked for long-term use

**Cell Bank: 50 vials of cryopreserved cell bank that can be thawed and propagated for functional testing

请注意：目录号标注为 Please enquire 的产品均为早期定制（EA）产品，此类产品暂时未在官网的目录中列出。如果您需要更多关于 EA 产品的信息，请通过 TailoredSolutions@promega.com 与我们联系。

仅供科研使用，不可用于诊断研究。

Fc Receptors

Function Analysis & Characterization



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

印刷时间：2024.3