

靶细胞杀伤

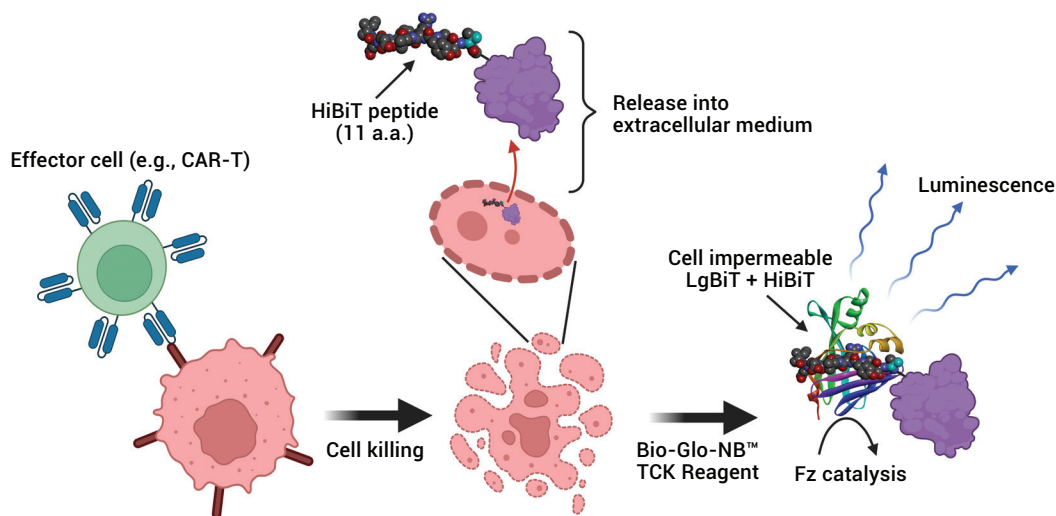
的新型生物发光检测方法

Target Cell Killing

● 技术原理

可选择性监测靶细胞死亡并且灵敏易用的检测方法将有益于细胞免疫疗法的开发。为了解决这个问题，我们开发了一种方法，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。该方法依赖于在细胞被杀伤后从靶细胞释放 HiBiT 标记的蛋白质。HiBiT 是一种 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，重组形成 NanoBiT[®] 萤光素酶。通过异位表达或 CRISPR/Cas9 标记内源 LDH，使靶细胞表达 HiBiT 标记的蛋白，再通过添加含有 LgBiT 和 furimazine 底物的检测试剂（无需去除培养基）来定量检测细胞的杀伤。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。

该检测方法提供了一个灵敏、简单的数据读出方式，以支持药物发现研究和 / 或 QC lot release（批签发）应用。



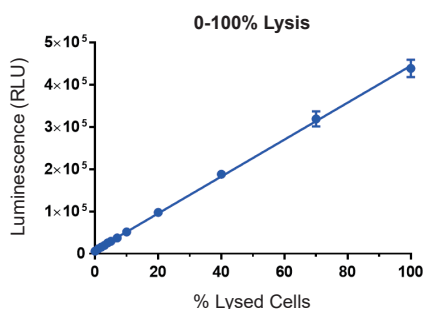
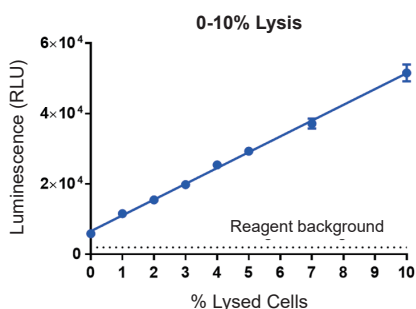
Created with BioRender.com

● 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 |

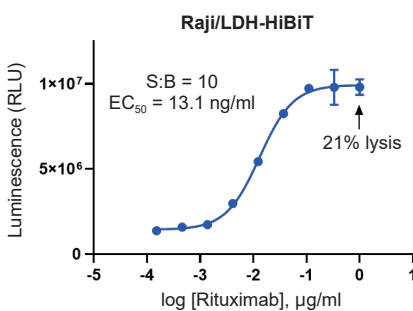
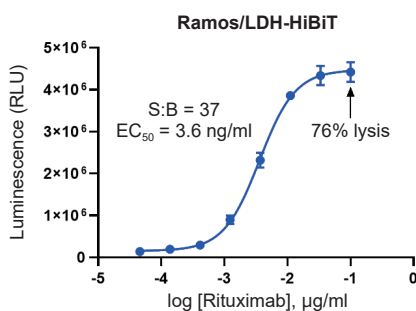
应用数据展示

● 宽线性范围和高灵敏度



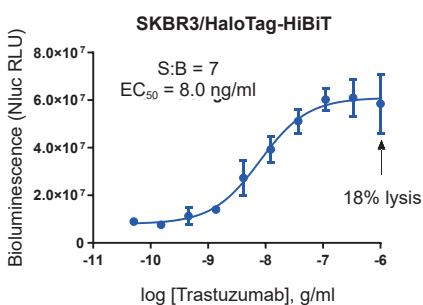
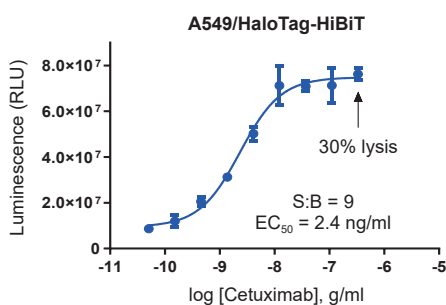
左图：超声处理实验展示终点检测模式的线性范围和灵敏度。K562/HiBiT 细胞经超声裂解或不予处理。细胞裂解液以不同比例与未处理细胞混合，以每孔 1000 个细胞铺板。发光信号在裂解程度为 0-100% 的范围内均呈线性。S/B, 5% 裂解 = 5 (未减去本底)；S/B, 100% 裂解 = 75。

● 使用 PBMCs 进行 ADCC 检测



左图：使用 PBMCs 和利妥昔单抗 (Rituximab) 进行 ADCC 检测。

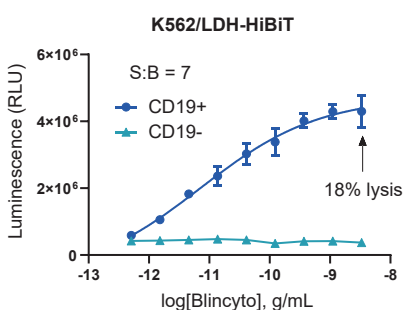
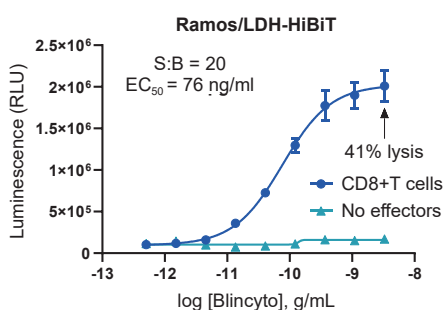
在不同浓度的利妥昔单抗存在的条件下，将表达 LDH-HiBiT (CRISPR 敲入) 的 Ramos & Raji 克隆用 PBMCs (效靶比 20: 1; 每孔 2500 个靶细胞) 处理 5 小时。



左图：使用 PBMCs 和西妥昔单抗 (Cetuximab) / 曲妥单抗 (Trastuzumab) 进行 ADCC 检测。

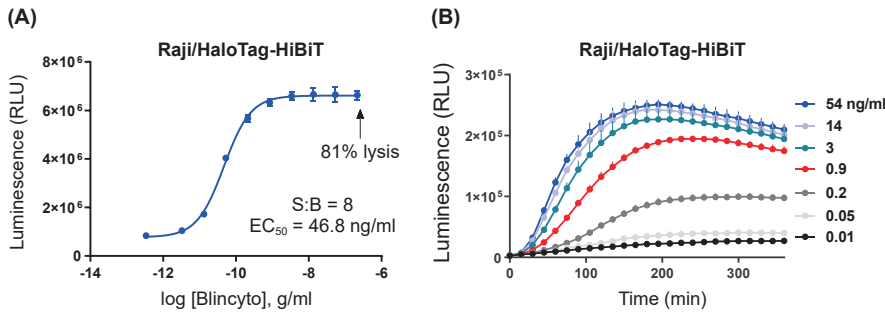
在不同浓度的抗体存在下，将表达 HaloTag-HiBiT 的 A549 和 SKBR3 细胞用 PBMCs (效靶比 20: 1; 每孔 2500 个靶细胞) 处理 5 小时。

● 使用双特异性抗体 Blincyto 对 T 细胞毒性重定向



左图：使用 CD8+ T 细胞和双特异性抗体 Blincyto 进行 TDCC 检测。在不同浓度的 Blincyto (抗 CD19 BiTE) 存在下，将表达 LDH-HiBiT (CRISPR 敲入) 的 Ramos 和 K562 克隆用活化的 CD8+ T 细胞 (效靶比 10: 1; 每孔 2500 个靶细胞) 处理过夜。K562/CD19+ 细胞是通过随机整合编码 CD19 的质粒 DNA 产生的。

● 使用双特异性抗体 Blincyto 对 T 细胞毒性重定向

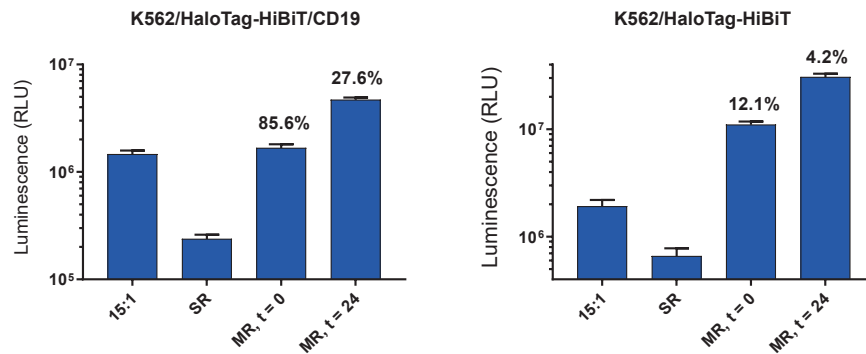


左图：使用 TALL-104 细胞和双特异性抗体 Blincyto 进行 TDCC 检测。在不同浓度的 Blincyto（抗 CD19 BiTE）存在下，将表达 HaloTag-HiBiT 的 Raji 克隆用 TALL-104 细胞（T 淋巴母细胞系）处理。

(A) 效靶比 20: 1；每孔 10000 个靶细胞；在 6h 时进行终点检测。

(B) 效靶比 5: 1；每孔 10000 个靶细胞；动态检测模式。

● CAR-T 细胞毒性检测



左图：用终点检测模式监测由抗 CD19 CAR-T 细胞（ProMab PM-CAR1003）诱导的靶细胞杀伤。

将 K562 / HaloTag-HiBiT / CD19 或 K562 / HaloTag-HiBiT 亲本细胞与抗 -CD19 CAR-T 细胞（效靶比 15:1）在 37°C 共培养 24 小时。在零时或 24 小时加入 digitonin，使用最大释放测量值计算裂解值百分比。MR 和 SR 对照都只包含靶细胞。

产品列表：

产品名称	规格	目录号
H929 (HiBiT) TCK Bioassay, Propagation Model	2 vials	M2412
H929 (HiBiT) Cell Bank	50 vials	GA6080
Ramos (HiBiT) TCK Bioassay, Propagation Model	2 vials	M2472
Ramos (HiBiT) Cell Bank	50 vials	GA6070
Raji (LDH-HiBiT) CD19-KO TCK Bioassay, Propagation Model	1 each	M2042
Raji (LDH-HiBiT) CD20-KO TCK Bioassay, Propagation Model	1 each	M2062
Raji (LDH-HiBiT) CD19/20-KO TCK Bioassay, Propagation Model	1 each	M2072
Raji (LDH-HiBiT) TCK Bioassay, Propagation Model	1 each	M2432
Raji (HT-HiBiT) TCK Bioassay, Propagation Model	2 vials	M2452
Raji (HT-HiBiT) Cell Bank	50 vials	GA6050
Raji (LDH-HiBiT) Cell Bank	1 each	GA6060
Raji (LDH-HiBiT) CD19-KO Cell Bank	1 each	GA6100
Raji (LDH-HiBiT) CD20-KO Cell Bank	1 each	GA6120
Raji (LDH-HiBiT) CD19/20-KO Cell Bank	1 each	GA6130




TCK

Target Cell Killing Assay





● HiBiT TCK Bioassay:

靶细胞

血液瘤靶点

-  • B 细胞淋巴瘤 / 白血病细胞系 (Raji 和 Ramos) 表达 CD19、CD20 和 CD22, 以及 CD19-KO、CD20-KO 和 CD19/20-KO。
-  • 髓系白血病细胞系 (U937 和 K562) 表达 CD33 和 CLL-1。
-  • 多发性骨髓瘤细胞系 (H929) 表达 BCMA 和 CD38。

实体瘤靶点

-  • 卵巢癌细胞系 (OVCAR3 和 SKOV3) 表达 HER2、MSLN、5T4、WT 和 MUC16。
-  • 乳腺癌细胞系 (SK-BR-3) 表达 HER2 和 EpCAM。
-  • 肺癌细胞系 (A549) 表达 EGFR。
-  • 黑色素瘤细胞系 (A375) 表达 HER2、CD70 和 B7-H3。

外源表达靶点

- K562 细胞表达 CD19、BCMA 和 CIITA。
- CHO-K1 细胞表达 Claudin 18.2、膜结合 TNF α 和 SARS-CoV-2 刺突蛋白。

效应细胞

- 原代人外周血单个核细胞 (PBMC)、CD8 T 细胞和巨噬细胞。

* 如对上述产品感兴趣, 请咨询 Promega。

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