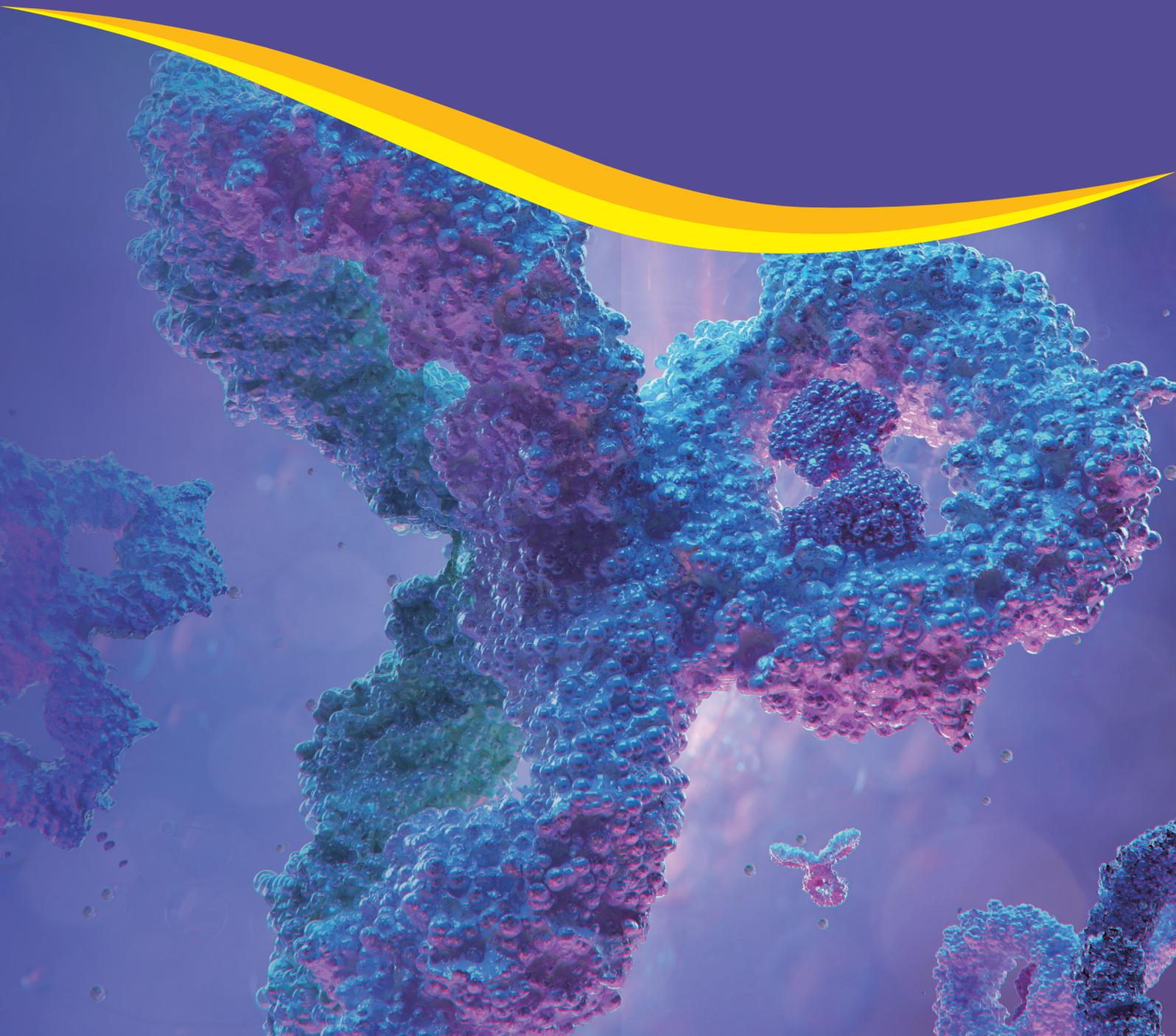


Fc 受体功能分析与表征

*Fc Receptors Function
Analysis & Characterization*



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**。
- ✔ 实现 Fc 工程抗体库的**高通量筛选**。
- ✔ 在生理学相关的**原代细胞模型**中进行**桥接研究**。**HiBiT 靶细胞杀伤生物活性测定法**采用已验证 ADCC 活性的 PBMC 和已验证 ADCP 活性的巨噬细胞，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

- ④ 分析抗体-Fc 受体相互作用
- ④ 确定单克隆抗体及其效应机制的血清半衰期
- ④ 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

- ④ 基于 MOA 的检测方法，用于测定 Fcγ 受体功能
- ④ 用于单克隆抗体批次放行和稳定性研究
- ④ 区分单克隆抗体的糖基化和岩藻糖基化水平
- ④ 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

- ④ 检测针对已验证 ADCC 和 ADCP 的原代效应细胞的靶细胞特异性杀伤活性
- ④ 使用具有高度生理相关性的人类细胞模型
- ④ 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 Fc γ 受体 (Fc γ R) 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。

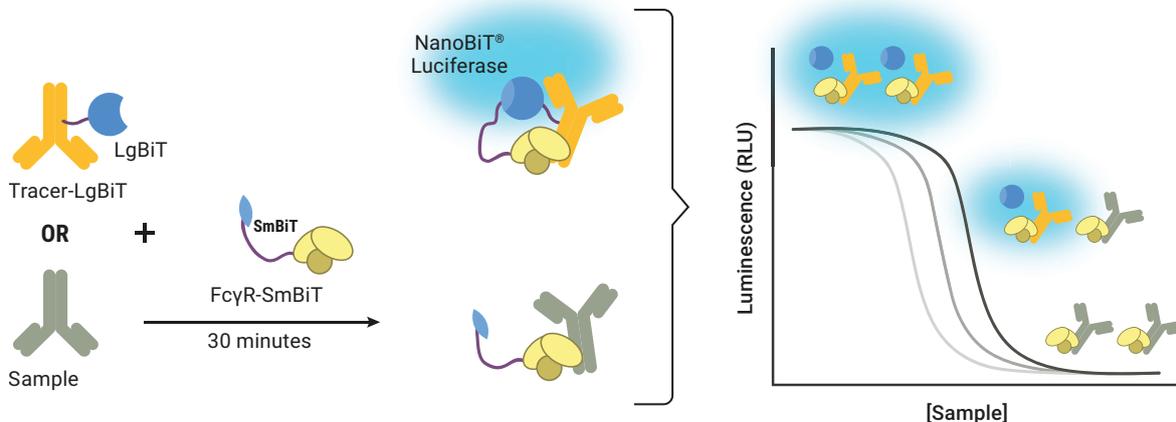
Lumit[®] 免疫检测基于多功能 NanoBiT[®] 互补报告系统，该系统由两个互补亚基——LgBiT 和 SmBiT 组成。其中，SmBiT 被设计表现出对 LgBiT 部分极低的亲和力 ($K_d = 190 \mu\text{M}$)，这使得 NanoBiT[®] 非常适合用于相互作用分析。当标记有 LgBiT 或 SmBiT 的两种蛋白质相互作用时，会重组成功能性的 NanoBiT[®] 萤光素酶，在其底物存在下生成稳定且明亮的生物发光信号。

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。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 以及四种不同的人 Fc γ Rs，以及这些受体的重要多态性变体。

- ☑ FcRn
- ☑ Fc γ RI
- ☑ Fc γ RIIa (H131)
- ☑ Fc γ RIIa (R131)
- ☑ Fc γ RIIIa (V158)
- ☑ Fc γ RIIIa (F158)
- ☑ Fc γ RIIb
- ☑ C1q

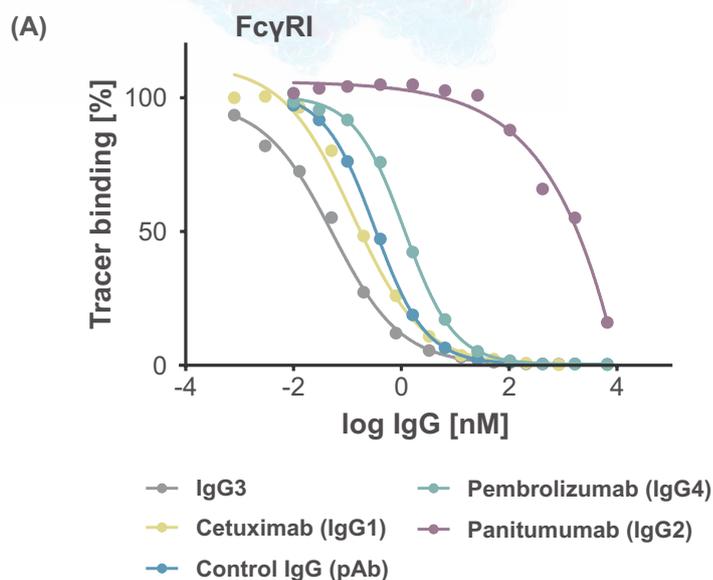
检测原理



特点和优势

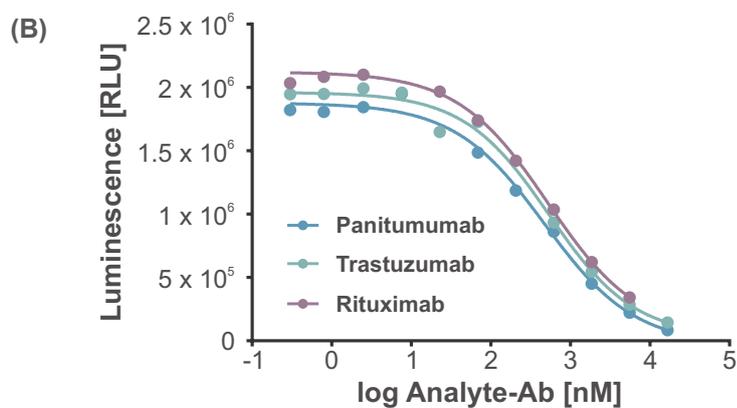
- ✔ 针对 mAbs (单克隆抗体) 进行平行和自动化的 Fc 亲和力筛选
- ✔ 无需固定, 减少实验操作引起的假象
- ✔ 高灵敏度的生物发光读出结果
- ✔ 无细胞的, 基于溶液的检测, 无需进行洗涤和转移
- ✔ 最快 70 分钟内出结果
- ✔ 可扩展至 384 孔板模式

代表性数据



Lumit[®] FcγRI Binding Immunoassay.

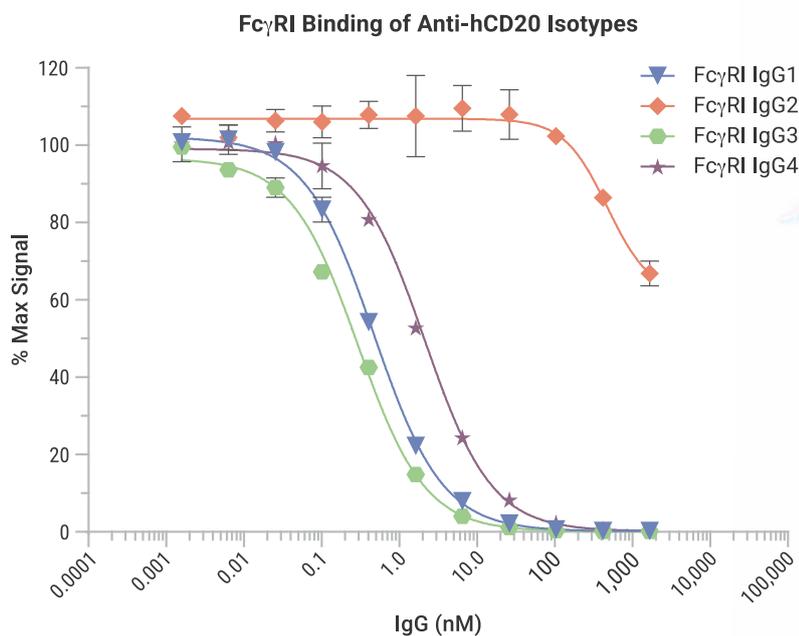
在 Lumit Immunoassay 中, FcγRI 是以亚类特异性方式与 IgG 结合, 其 IC₅₀ 值反映了相对的 IgG 亲和力 (IgG3 > IgG1 > IgG4 >>> IgG2).



Lumit[®] FcRn Binding Immunoassay.

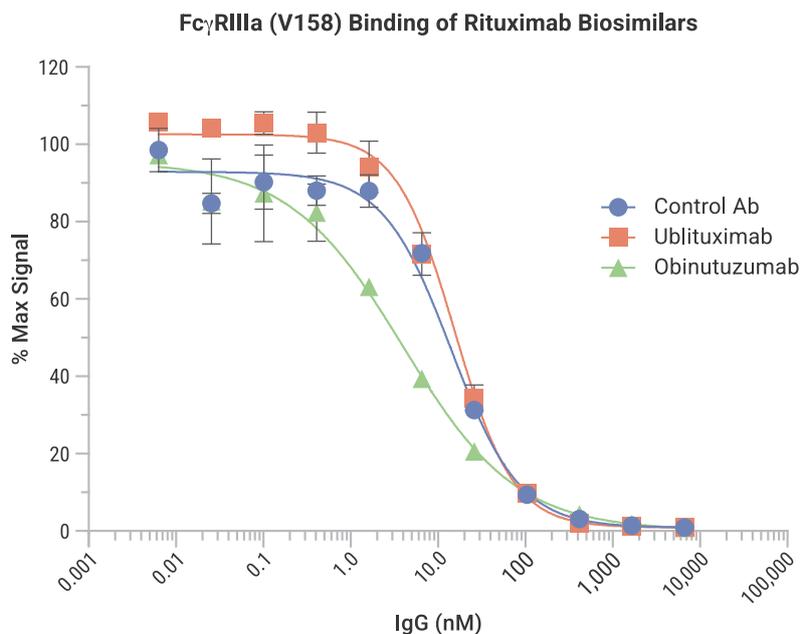
一组治疗性抗体被用于测试它们对 FcRn 的亲和力。

(C)



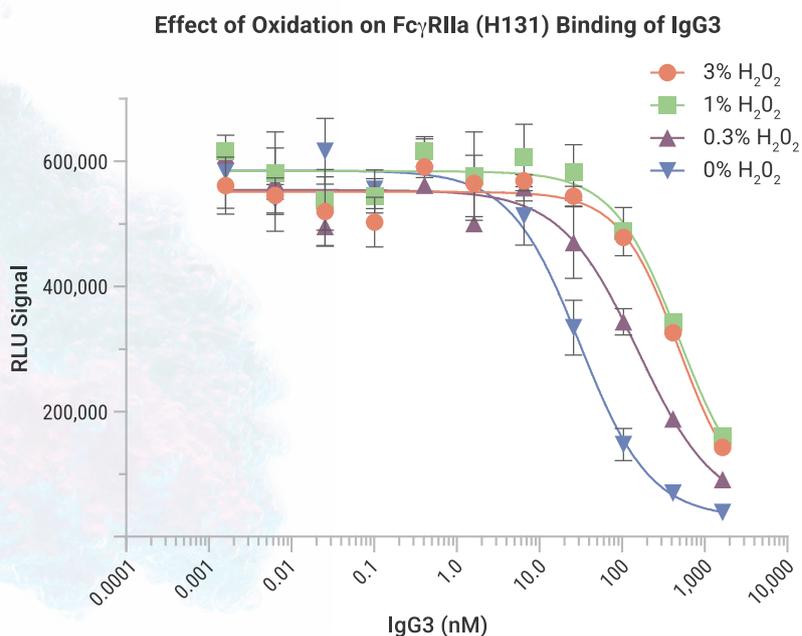
利用 Lumit[®] Fc γ RI 结合免疫测定法检测到的抗人 CD20 同种型与高亲和力 Fc γ RI 的差异结合。图中展示的是抗人 CD20 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 与 Fc γ RI 相互作用的代表性结合曲线，以归一化生物发光信号表示。不存在分析物 (0 nM 抗体) 时产生的最大生物发光信号被定义为 100%，每个抗体浓度下的信号均表示为该最大值的百分比。采用四参数对数回归模型对数据进行拟合，并使用 $1/y^2$ 权重来确定 IC_{50} 值。

(D)



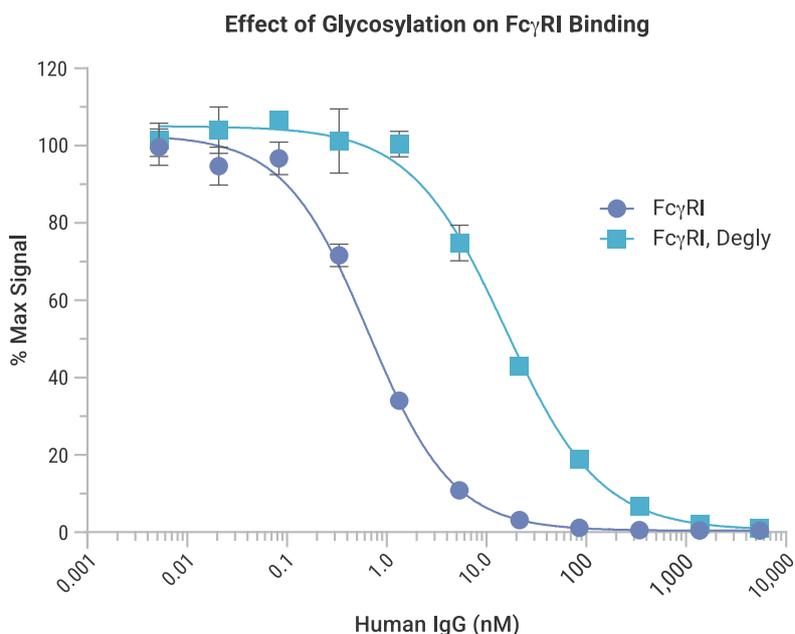
采用 Lumit[®] Fc γ RIIIa (V158) 结合免疫测定法检测利妥昔单抗生物类似药与 Fc γ RIIIa (V158) 的结合情况。图中展示了对照抗 CD20 IgG1、乌妥昔单抗和奥比妥珠单抗的代表性结合曲线，以归一化生物发光信号表示。不存在分析物 (0 nM 抗体) 时观察到的最大生物发光信号被定义为 100%，每个抗体浓度下的信号均表示为该最大值的百分比。采用四参数对数回归模型对数据进行拟合，并使用 $1/y^2$ 权重来计算表观 IC_{50} 值。

(E)



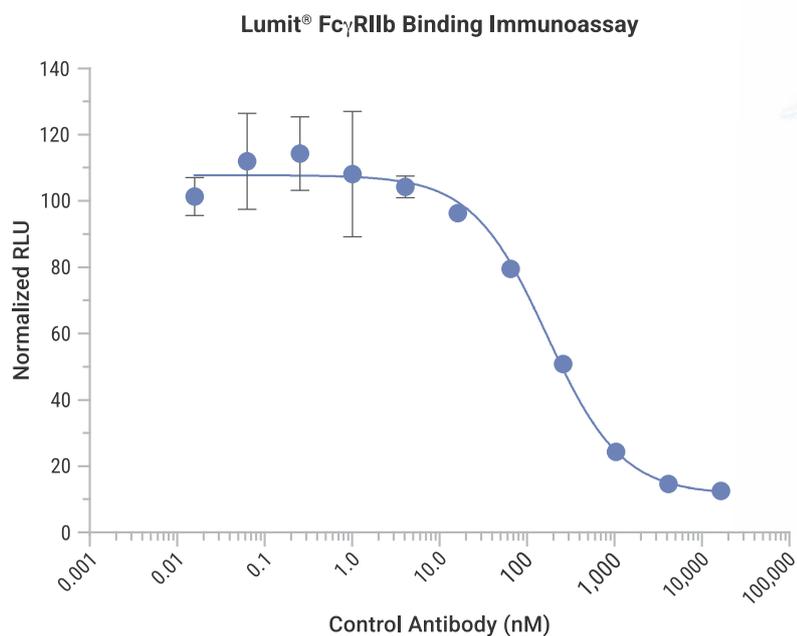
采用 Lumit[®] Fc γ R1a 结合免疫测定法检测 H₂O₂ 介导的氧化对人 IgG3 与 Fc γ R1a (H131) 结合的影响。将人 IgG3 添加到 H₂O₂ 溶液中, 使最终过氧化物浓度分别达到 3%、1%、0.3% 或 0% (对照)。样品在室温下暴露 2 小时, 然后去除残余的 H₂O₂。对各处理后的抗体进行系列稀释测定, 并绘制原始发光值 (RLU) 对 IgG3 浓度的关系曲线。采用四参数对数回归模型 (使用 $1/y^2$ 权重) 拟合曲线, 以确定表观 IC₅₀ 值。

(F)



采用 Lumit[®] Fc γ RI 结合免疫测定法检测去除 Fc 聚糖对 Fc γ RI 结合的影响。图中展示了天然人 IgG 和经 PNGase F 去糖基化处理的 IgG 的代表性结合曲线。去糖基化处理在 37°C 下进行过夜 (IgG 浓度为 4 mg/ml; 每 20 mg IgG 使用 1 ml PNGase F)。不存在分析物 (0 nM IgG) 时获得的最大生物发光信号被定义为 100%, 每个 IgG 浓度下的信号均表示为该最大值的百分比。采用四参数对数回归方程 (使用 $1/y^2$ 权重) 对数据进行拟合, 以计算表观 IC₅₀ 值。

(G)



Lumit® Fc γ RIIb 结合免疫测定法。图中展示了 Fc γ R 对照抗体的代表性标准曲线，以归一化数据绘制。归一化发光值的计算方法是：将不存在分析物时观察到的最大生物发光信号设为 100%，并将存在分析物时的信号表示为此最大值的百分比。采用四参数对数回归方程对数据进行拟合，并使用 $1/y^2$ 权重。

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。

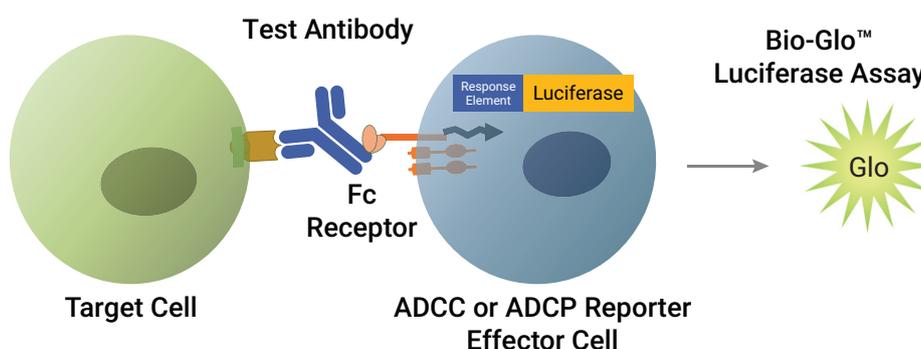
这些检测方法使用的是稳定表达相关 Fcγ 受体变异体和 FcγR 依赖性反应元件调控的萤火虫萤光素酶报告基因的 Jurkat 或 THP-1 效应细胞。当此类效应细胞与靶细胞上相应抗体的 Fc 区域相互作用时，表达相关 Fcγ 受体的效应细胞会传递胞内信号，进而反应元件介导的萤光素酶活性表达并轻松地进行定量分析。

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
- ✓ ADCP (THP-1)

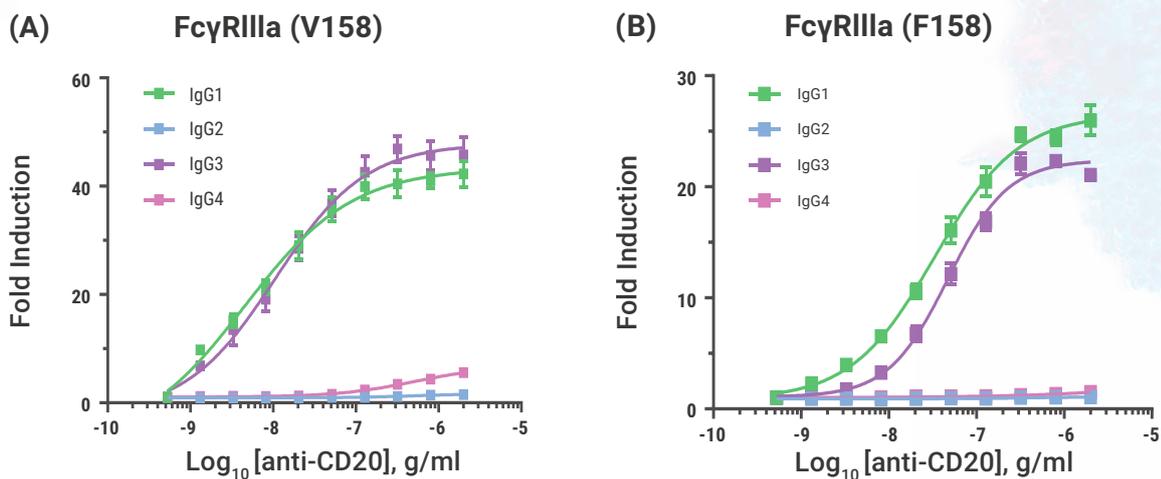
检测原理



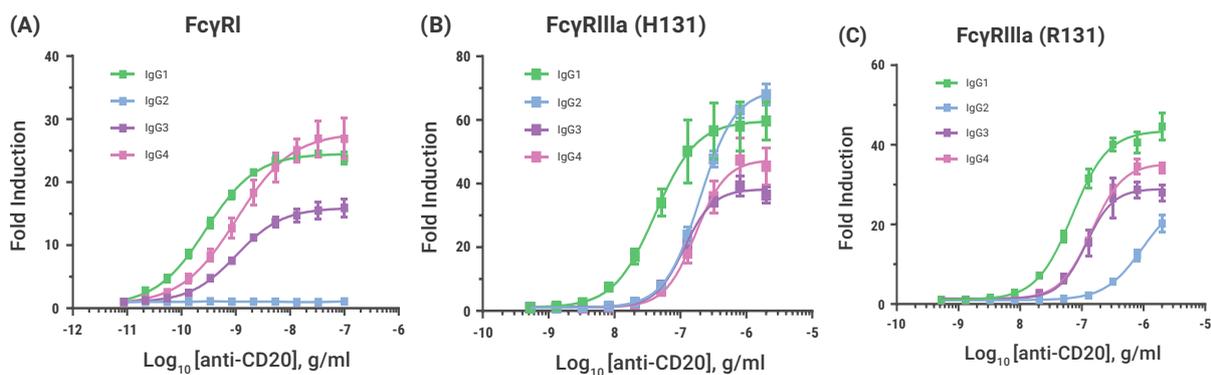
特点和优势

- ✓ 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



ADCC 报告基因生物活性测定能够反映抗体的作用机制 MoA 和特异性，这些抗体旨在结合并激活 FcγRIIIa，同时表现出适当的同种型特异性。单个 FcγR 在报告细胞中呈递。(图 A) FcγRIIIa (V158) 生物测定。(图 B) FcγRIIIa (F158) 生物测定。如图所示，在存在 CD20+ 靶细胞 (Raji) 和 FcγR 效应细胞的情况下，对抗 CD20 抗体利妥昔单抗的 IgG 变异体进行了检测。



FcγRI 和 FcγRIIIa ADCP 报告基因生物活性测定能够反映旨在结合并激活 FcγRI 和 FcγRIIIa 的抗体的作用机制和特异性。上述数据是在存在 Raji 靶细胞的情况下使用抗 CD20 抗体获得的。(图 A) FcγRI ADCP 生物活性测定。(图 B) FcγRIIIa (H131) ADCP 生物活性测定。(图 C) FcγRIIIa (R131) ADCP 生物活性测定。

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.

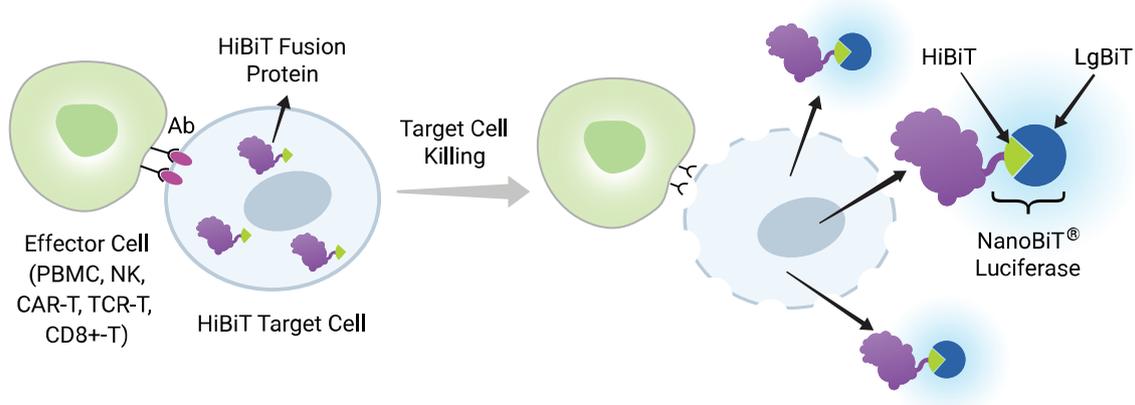
靶细胞杀伤检测

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。

**您是否需要一种
特定的靶细胞系?**

Promega Biologics Assay Development and Services
提供定制细胞系生成、检测开发等服务：
www.promega.com/CustomBiologics

原代效应细胞（ADCC 和 ADCP 验证的）

Promega 提供经过 QC 检测、即融即用型原代效应细胞，用于测定治疗性抗体的 ADCC 和 ADCP 活性。

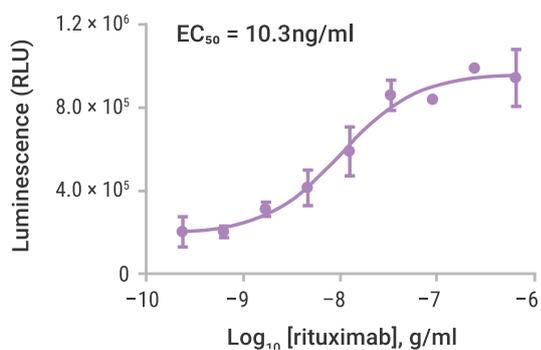
这些原代细胞既可作为独立小瓶单独购买，也可作为生物活性检测试剂盒的一部分提供，试剂盒包含可选择的 HaloTag®-HiBiT 靶细胞、FBS、细胞培养基和 Bio-Glo-NB™ TCK 萤光素酶检测底物。

将经质控的原代效应细胞与 HiBiT 标记的靶细胞相结合，克服了传统原代细胞检测法（即便使用经作用机制质控的原代效应细胞）所存在的操作繁琐且变异性高的局限性，并提供了一种简单、特异且灵敏的靶细胞杀伤测定方法。

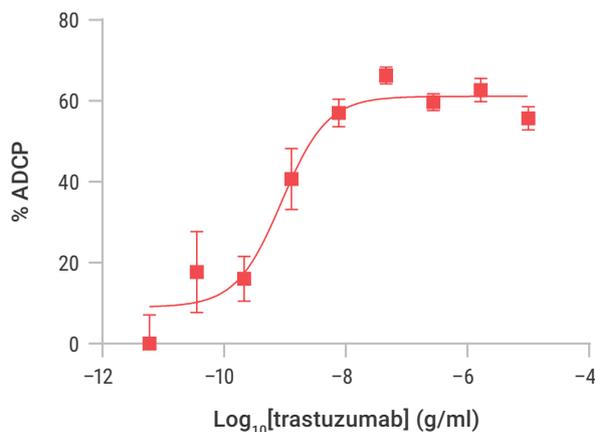
特点和优势

- ✓ 用于 ADCC 和 ADCP 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。



巨噬细胞 ADCP Bioassay 可定量对靶细胞的吞噬性杀伤作用：将即用型、经 ADCP 验证的人巨噬细胞与 HiBiT 靶细胞及曲妥珠单抗联合使用，以测定 ADCP 活性。

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 |
| FcRn Binding Immunoassay 10X | 1000 assays | W1152 |
| FcγRI Binding Immunoassay | 100 assays | W7080 |
| FcγRI Binding Immunoassay 10X | 1000 assays | W7081 |
| FcγRIIIa (H131) Binding Immunoassay | 100 assays | W7070 |
| FcγRIIIa (H131) Binding Immunoassay 10X | 1000 assays | W7071 |
| FcγRIIIa (R131) Binding Immunoassay | 100 assays | W7060 |
| FcγRIIIa (R131) Binding Immunoassay 10X | 1000 assays | W7061 |
| FcγRIIIa (V158) Binding Immunoassay | 100 assays | W7050 |
| FcγRIIIa (V158) Binding Immunoassay 10X | 1000 assays | W7051 |
| FcγRIIIa (F158) Binding Immunoassay | 100 assays | W7040 |
| FcγRIIIa (F158) Binding Immunoassay 10X | 1000 assays | W7041 |
| FcγRIIb Binding Immunoassay | 100 assays | W7030 |
| FcγRIIb Binding Immunoassay 10X | 1000 assays | W7031 |
| C1q Binding Immunoassay | 100 assays | Please inquire |

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 |
| 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* | Please inquire |
| Human ADCP Reporter Bioassays | | |
| FcγRIIa-H ADCP Reporter Bioassay | Cell Propagation Model* | G9871 |
| FcγRIIa-R ADCP Reporter Bioassay | Cell Propagation Model* | Please inquire |
| FcγRI ADCP Reporter Bioassay | Cell Propagation Model* Cell Bank** | GA1323 GA1330 |
| THP-1 ADCP Reporter Bioassay | Cell Propagation Model* Cell Bank** | GA1272 GA6020 |
| Other FcγR Reporter Bioassays | | |
| FcγRIIb Reporter Bioassay | Cell Propagation Model* | Please inquire |
| Control Ab, Anti-CD20 | 1 x 5 μg | GA1130 |
| Cynomologus FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa, FcγRIIIb Reporter Bioassay | | Please inquire |
| Mouse FcγRIIb Reporter Bioassay | | Please inquire |

Target Cell Killing Assays

| 产品 | 规格 | 目录号 |
|---|----------|----------------|
| PBMC ADCC Bioassay Kit | 1x or 5x | Please inquire |
| Kits available for: Raji, Ramos, SK-BR-3, H929, A549, SKOV3 | | |
| Macrophage ADCP Bioassay Kit | 1x or 5x | Please inquire |
| Kits available for: Raji, Ramos, SK-BR-3, H929 | | |

| Target Cells | | |
|---|-------------------------|----------------------------------|
| HaloTag [®] -HiBiT Target Cells (e.g., Raji, Ramos, A539, SK-BR-3, H929, U937, OVCAR3, SKOV3 T2, etc.) Additional cell lines available.. | Cell Propagation Model* | Please inquire for complete list |

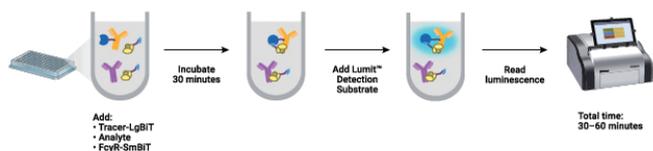
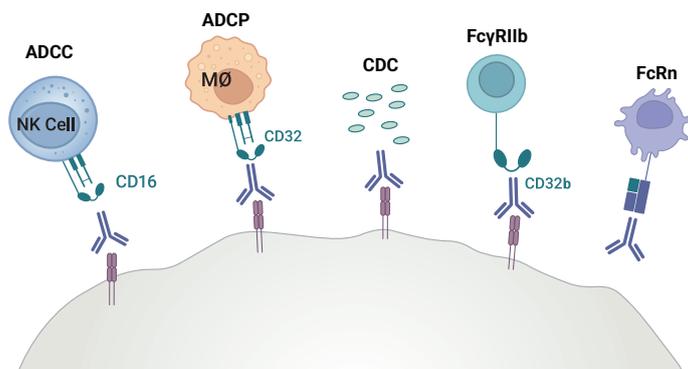
*Propagation Model: 2 vials of cryopreserved cells that can be thawed, propagated, and banked for long-term use

**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 inquire 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。

Additional Resources

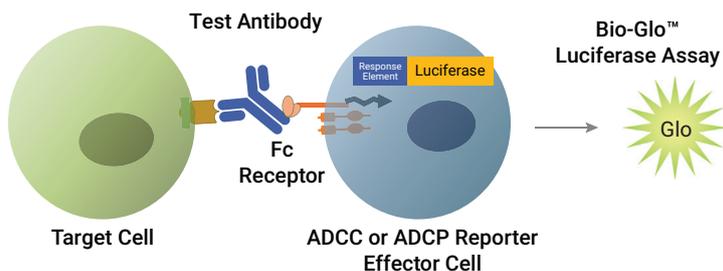


Lumit® FcγR 结合免疫测定是基于溶液的均质型检测方法，无需洗涤或样本转移步骤。

Fc Effector Activity Assays for Antibody Therapeutics

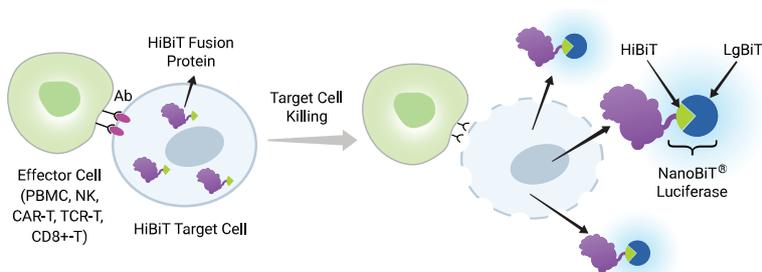


Lumit® FcγR Immunoassays



报告基因生物活性测定直接使用 ICH 认证的工程化效应细胞测量 Fcγ 受体激活。

ADCC & ADCP Bioassays



HiBiT 靶细胞杀伤生物活性测定法通过使用 MOA 认证的原代细胞（用于 ADCC 和 ADCP 活性）确认 Fc 效应功能。

HiBiT Target Cell Killing Bioassays



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

更新时间：2026.03