



体外药效评价 解决方案

IN VITRO
PHARMACOLOGY
SOLUTIONS

www.genscriptprobio.cn



CONTENTS

目录

关于金斯瑞蓬勃生物	01
体外药效实验服务	02
综合功能分析平台	
抗体介导的细胞毒性实验 — ADCC	03
补体依赖的细胞毒性实验 — CDC	05
抗体介导的细胞吞噬实验 — ADCP	06
细胞因子中和实验	07
双特异性 T 细胞或 NK 细胞 engager 实验	09
免疫细胞刺激及细胞因子释放实验	10
药物高通量筛选服务	
GPCR 靶向药物筛选与评价	11
抗体内化实验筛选服务	13
定制化体外药效服务	
报告基因实验服务	15
定制化报告基因细胞系及活性方法开发	16
检定细胞系及检测方法开发服务	18
假病毒中和实验检测平台	20
CAR-T 细胞体外功能评价服务	22



金斯瑞生物药 CDMO—蓬勃生物 为什么选择蓬勃生物？

Proactive

Proactive in anticipating customers' needs

Professional

Professional solutions with high integrity

Process

Efficient processes rooted in good science and phase appropriate quality

金斯瑞成立于 2002 年，并于 2015 年在港交所主板挂牌上市。金斯瑞蓬勃生物是金斯瑞生物科技股份有限公司旗下的生物医药 CDMO 业务，旨在启发、加速与共创生物药创新。

金斯瑞蓬勃生物提供从靶点到临床样品生产的一站式生物药发现和开发解决方案。利用前沿的抗体药发现和开发技术平台，我们为您的抗体药发现阶段提供具有良好活性、成药性和安全性的抗体候选分子，并在开发阶段向您交付稳健、可靠、高产、符合法规要求的生产工艺和药物产品，致力于启发、加速与共创生物药创新。

先导抗体分子发现

- 单 B 细胞筛选平台
- 杂交瘤平台
- 单域抗体文库
- 全人源转基因小鼠
- SMAB 双特异性抗体发现平台

先导抗体分子优化

- 抗体人源化
- 亲和力成熟
- 成药性评估
- 生物活性分析 & 评估

生物药开发

- 细胞系开发
- 工艺开发
- 分析方法开发
- 临床样品生产



体外药效实验平台

在体外进行抗体药的筛选和功能性检测是抗体药早期发现决定抗体药候选分子命运的关键一步。金斯瑞蓬勃生物开发了一系列基于细胞的抗体药体外活性检测平台，确保您的抗体药研发项目可以顺利进行并最终获得具有优质药效的先导分子。该平台也可以为您构建抗体药研发过程中所需要的检定细胞系和功能细胞系。体外药效实验服务均满足新药申报合规性要求。



体外药效平台为抗体药体外活性分析提供标准活性检测方案及定制化活性分析方法开发。

体外药效部下设细胞工程功能模板和生物活性分析功能模块，并拥有多个 BLS-2 级别实验室，有独立的入口、缓冲间、通风、换气系统，用于病毒包装和人原代细胞实验。



BD FACSMelody™
细胞分选仪

多激发光，多探测器，
适用于最多 6 参数的样品
简化的操作节省时间，
获得高质量的分选结果



EnVision 2105
多功能酶标仪

最先进的双探测器
采用专有的 Direct Optics™ 技术
实现最高速度和灵敏度激光技术
实现高通量监测



FLIPR Tetra
高通量实时荧光检测
分析系统

可根据库大小、检测模式、筛选方式、
实验类型和靶标进行配置，易于使用，通量
高、全自动，可用于检测 GPCR 和离子通道



抗体介导的细胞毒性实验—ADCC

抗体介导的细胞毒性作用（Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity, ADCC）是一个由抗体分子介导的先天免疫细胞的应激反应。抗体的 Fab 端特异性识别靶细胞上的靶点分子后，抗体 Fc 端对效应细胞上的 Fcγ 受体亲和力增强并与之结合，效应细胞随之产生一系列反应释放穿孔素和颗粒酶来裂解靶细胞。能够对靶细胞产生 ADCC 效果是靶向癌相关抗原（Tumor-Associated Antigen, TAA）的抗体药候选分子的一个重要功能性指标。Rituximab 和 Cetuximab 两款已经上市的抗体药被业界认为是在癌症微环境中对癌细胞起到了 ADCC 的效果而产生了抗癌疗效。在靶向 TAA 或者非 TAA 的抗体新药的研发过程中，ADCC 实验被业界普遍认为是必要的验证或者排除抗体候选分子 ADCC 体外功能的实验方法。金斯瑞蓬勃生物针对您的 ADCC 实验需求提供了三套方案。

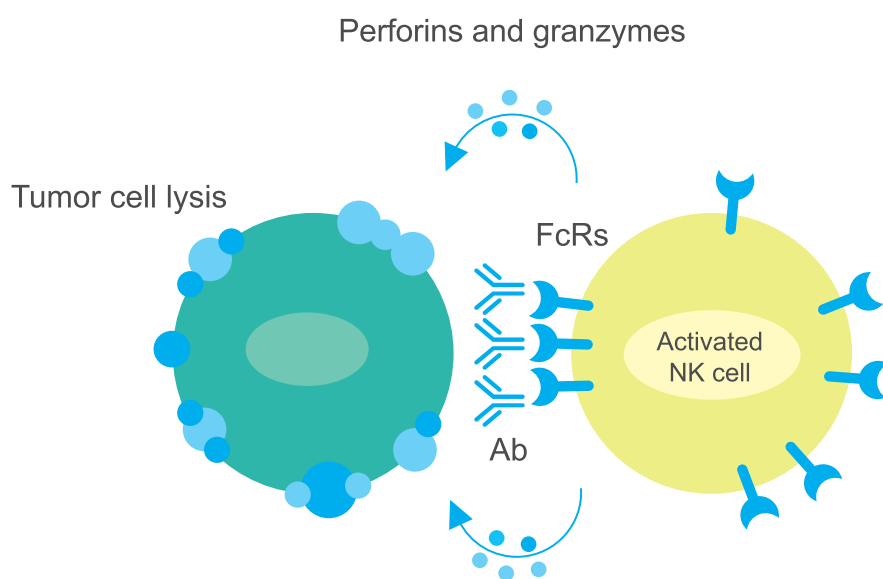


图 1 抗体介导的细胞毒性反应示意图（ADCC），以 NK 细胞为例

方案	靶细胞	效应分子	优势	劣势	使用情形
1	肿瘤细胞系	原代 PBMC / NK 细胞	接近体内免疫微环境	成本相对较高 ¹ ，实验批次间重复性较低，由于肿瘤细胞系表面的复杂性造成的实验风险较大	抗体药筛选后期功能性确认
2	过表达靶点的工程细胞系	原代 PBMC / NK 细胞	接近人源免疫细胞真实杀伤效果，靶细胞使用过表达细胞系会提升实验成功率	构建细胞系产生额外成本 ² ，使用原代效应细胞成本较高，实验批次间重复性较低	抗体药早期筛选或者后期功能性确认
3	肿瘤细胞系 / 过表达靶点的工程细胞系	ADCC 报告基因细胞系	实验成本低，可重复性高，成功率高	报告基因细胞系模拟细胞激活的信号，不完成对靶细胞杀伤过程	抗体药早期筛选 ³ ，CMC 阶段质量放行

1 不同供体的 PBMC 的 ADCC 活性会有较大差异，蓬勃生物对不同供体的 PBMC 会进行早期 ADCC 活性筛选，降低客户成本；

2 蓬勃生物拥有众多过表达细胞系，如已有库存，则将为客户免费提供；

3 早期筛选包括抗体药发现的鼠抗阶段和人鼠嵌合抗体阶段。

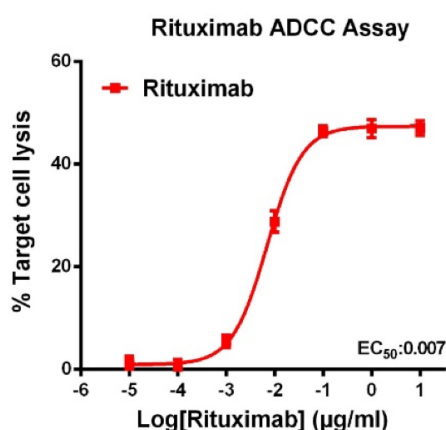


ADCC 实验服务特点

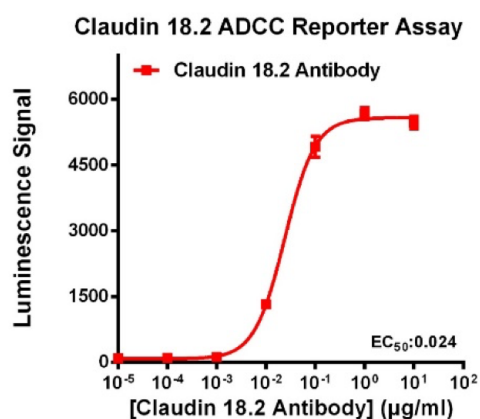
团队拥有超百余项目的实验经验；
靶细胞细胞库已有超 200 种癌细胞系和 100 余种过表达细胞系；
对抗体药业界常见的靶点 * 有阳性抗体参照可以免费提供；
对原代效应细胞会进行 ADCC 功能性筛选以提高实验一次性成功率；
拥有通过方法学验证的 ADCC 报告基因细胞系分析平台；
可以满足新药申报合规性文件要求；
多台通过验证并可以进行审计追踪的各式酶标仪；
*CD20, Her2, CD38, EGFR, PD-L1, mTNF- α , B7H3, Claudin 6, Claudin 18.2 等。

案例分享

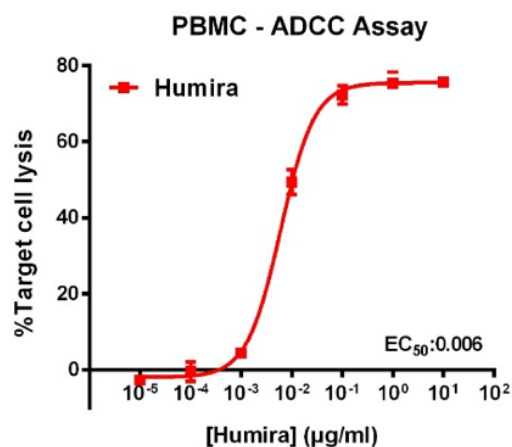
金斯瑞提供多样化的 ADCC 功能实验方案，所构建报告基因细胞系具有窗口高，稳定性佳等特点；或可基于原代 PBMC 和原代 NK 细胞，为您提供真实、可靠的抗体 ADCC 功能筛选报告。



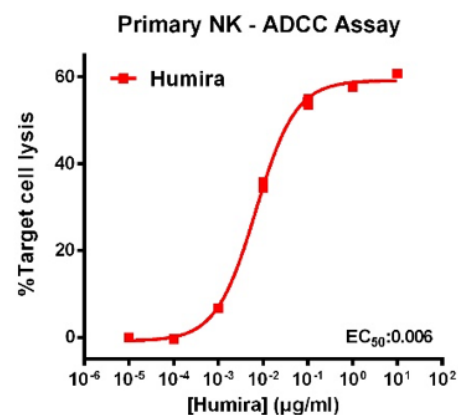
案例一：Rituximab 介导原代 PBMC 的 ADCC 量效曲线。针对常规靶点，可通过优化后得到极佳的量效曲线。



案例二：ADCC 报告基因细胞系对过表达 Claudin 18.2 的靶细胞的 ADCC 量效曲线。金斯瑞提供通过方法学验证的 ADCC 报告基因细胞系，其窗口高，稳点性好。



案例三：Adalimumab 介导的原代 PBMC 对过表达 mTNF- α 的 CHO 靶细胞的 ADCC 量效曲线。



案例四：Adalimumab 介导的原代 NK 细胞对过表达 mTNF- α 的 CHO 靶细胞的 ADCC 量效曲线。



补体依赖的细胞毒性实验—CDC

补体依赖的细胞毒性作用（Complement-Dependent Cytotoxicity, CDC）是一个由抗体分子介导的体液免疫反应。抗体的 Fab 端结合到靶细胞上的靶点之后，血浆中的补体分子会结合到抗体的 Fc 端并被激活，而后产生一系列补体分子的切割和结合连锁反应并最终形成膜攻击复合物来裂解靶细胞。CDC 作用是抗体分子的一项重要 Fc 效应机理。针对 TAA 类型的靶点，CDC 实验被认为是一个重要的功能性实验，著名药物 Adalimumab 在临床上的重要作用机理之一便是 CDC 反应。金斯瑞蓬勃生物为您的抗体药开发提供了两种 CDC 实验方案。

方案	靶细胞	效应分子	优势	劣势	使用情形
1	癌细胞系	人源血清 / 补体分子 ¹	使用人源癌细胞系更接近真实癌细胞杀伤效果	癌细胞系靶点表达量较低，细胞表面复杂，实验风险较大	抗体药筛选后期功能性确认
2	过表达靶点的工程细胞系	人源血清 / 补体分子	使用过表达细胞系会增强 CDC 效果，实验成功率大幅提升	细胞系构建有额外费用 ² ，且周期较长	抗体药早期筛选 ³ ，或者后期功能性确认

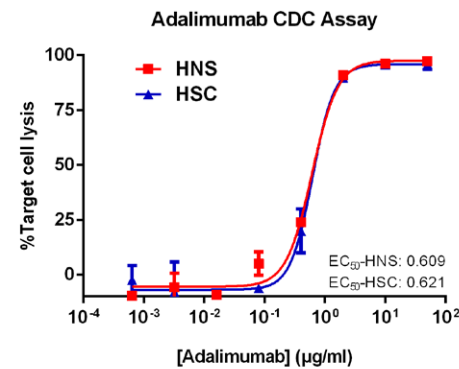
- 1 人源血清（HNS, Human Normal Serum）和补体分子（HSC, Human Serum Complement）拥有类似的 CDC 实验效果，使用补体分子的成本相对更低；
- 2 蓬勃生物拥有众多过表达细胞系，如已有库存，则将为客户免费提供；
- 3 早期筛选包括抗体药发现的鼠抗阶段。

CDC 实验服务特点

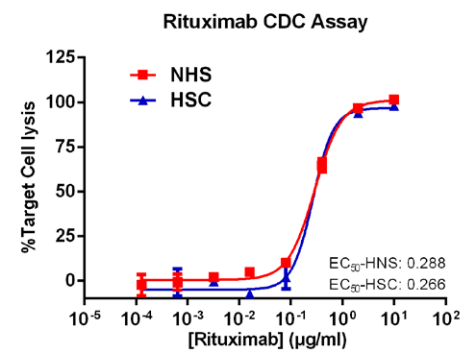
团队拥有超百余项目的实验经验；
靶细胞细胞库有超过 200 种癌细胞系和 100 种过表达细胞系；
对抗体药业界常见的靶点 * 有阳性抗体参照可以免费提供；
使用补体分子作为 CDC 效应分子可获得更加稳定的实验结果；

可以满足鼠源抗体的检测需求；
可以满足新药申报合规性文件要求；
多台通过验证并可以进行审计追踪的各式酶标仪，包括：
*CD20, Her2, CD38, EGFR, PD-L1, mTNF- α , B7H3, Claudin 6, Claudin 18.2 等。

案例分享



案例一：Adalimumab 使用 HNS 人源血清和 HSC 补体分子的 CDC 实验。人源血清和补体分子量效曲线表现出高度的一致性和稳定性。



案例二：针对常规靶点和新靶点，金斯瑞拥有丰富的靶点和项目经验。图示为针对 CD20 靶点，Rituximab 使用 NHS 人源血清和 HSC 补体分子的 CDC 实验。

抗体介导的细胞吞噬实验—ADCP

抗体介导的细胞吞噬作用（Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis, ADCP）主要依赖于巨噬细胞上表达的 FcγRIIa 和 FcγRI 受体蛋白与抗体的 Fc 端结合后，触发一系列信号联级反应，介导肿瘤细胞的吞噬。ADCP 是抗体药研发人员和疫苗标记物在确定产品疗效时需考虑的重要 MOA。金斯瑞蓬勃生物体外药效部针对您的 ADCP 实验需求提供了三套方案。

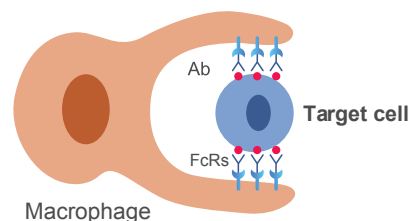


图 1：抗体依赖细胞吞噬作用 (ADCP)

方案	靶细胞	效应细胞	优势	劣势	使用情形
1	肿瘤细胞系	M1/M2 型巨噬细胞 ¹	该模型最接近体内免疫微环境	原代效应细胞成本较高，实验批次间重复性较低，癌细胞系靶点表达量较低且会表达“不要吃我”信号，实验风险较大	抗体药筛选后期功能性确认
2	过表达靶点的工程细胞系	M1/M2 型巨噬细胞	该模型接近人源巨噬细胞真实吞噬效果，靶细胞使用过表达细胞系不会表达“不要吃我”信号，成功率较高	构建细胞系成本高 ² ，周期长，使用原代效应细胞成本较高，实验批次间重复性相对较低	抗体药早期筛选 ³ ，或者后期功能性确认
3	过表达靶点的工程细胞系	ADCP 报告基因细胞系	该模型检测成本低，可重复性高，成功率高	不能反应真实细胞吞噬效果	抗体药早期筛选，CMC 阶段质量放行

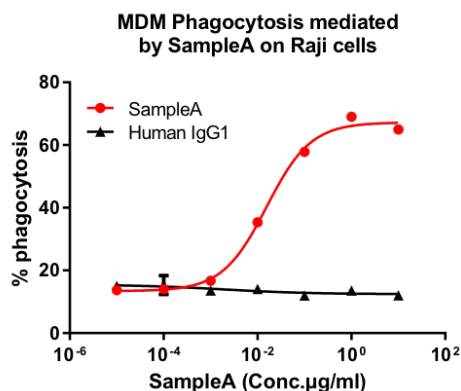
- 1 巨噬细胞可选择分化为 M1 型或 M2 型；
- 2 蓬勃生物拥有众多过表达细胞系，如已有库存，则将为客户免费提供；
- 3 早期筛选包括抗体药发现的鼠抗阶段和人鼠嵌合抗体阶段。

ADCP 实验服务特点

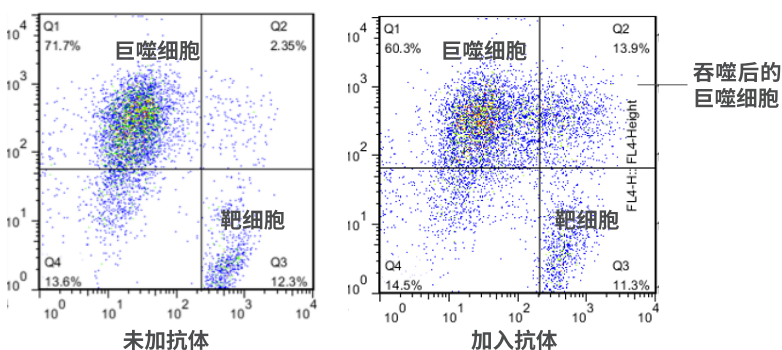
有超过 100 个项目的实验经验；
靶细胞细胞库有超过 200 种癌细胞系和 100 种过表达细胞系；
对抗体药业界常见的靶点 * 有阳性抗体参照可以免费提供；
巨噬细胞在分化和成熟过程中有充分的 QC 检测规程；
拥有通过方法学验证的 ADCP 报告基因细胞系实验体系；
可以满足新药申报合规性文件要求；
*CD20, CD38, CD47, SIRPα, Claudin 18.2 等

ADCP 效应检测方法介绍：

使用两种荧光染色试剂分别标记靶细胞和巨噬细胞，巨噬细胞吞噬靶细胞后，会呈双阳信号（见下图 Q2 象限）。巨噬细胞吞噬率计算方法可以是 $Q2/(Q2+Q3)*100\%$ 。



案例分享



案例一：CD20 靶点的 ADCP 吞噬率量效曲线，MDM 作为效应细胞，Raji 为靶细胞

细胞因子中和实验

细胞因子是一种多功能分泌蛋白，其主要作用是调控免疫细胞的免疫反应（促炎或抗炎），因此它们在体内的表达受到严格的调控。持续和过度的炎症细胞因子的分泌会导致自身免疫性疾病和癌症，针对这些细胞因子的中和抗体药物已有许多成功临床案例。金斯瑞细胞因子中和实验平台为您提供基于细胞因子生物学特征和下游信号通路转导等定制化的高质量细胞因子中和活性测定方法。

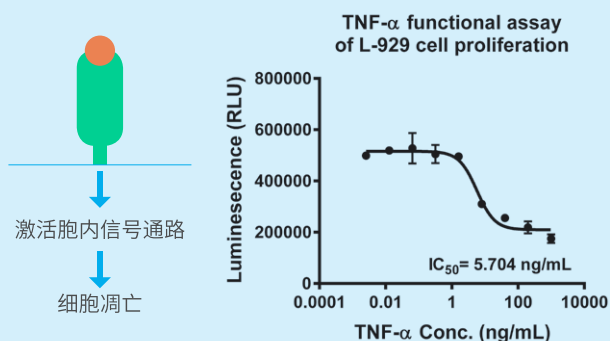
细胞因子中和实验模式

靶细胞	刺激分子	检测项	使用情形
细胞系或原代细胞	人源细胞因子	生物学活性 (如靶细胞增殖、凋亡、细胞因子释放) 和靶细胞内信号通路激活 (如激酶磷酸化)	抗体药筛选和功能性确认
报告基因细胞系	人源细胞因子	报告基因活性	抗体药筛选，CMC 阶段 活性质量放行

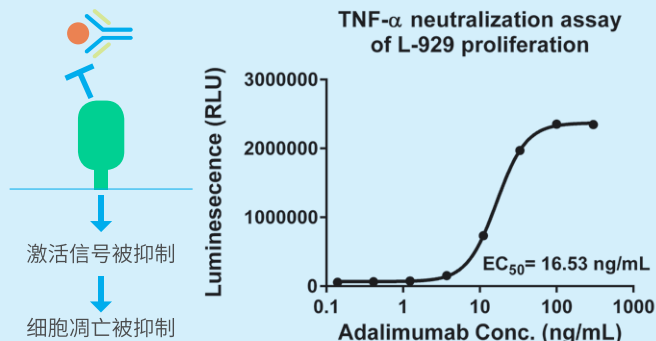
案例分享

案例一：TNF- α 的中和实验

肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 在调控系统性炎症中起到重要作用，其分泌的失调被认为与许多人类疾病有关，包括阿兹海默氏症、癌症、重度抑郁障碍和肠炎。TNF- α 诱导的 L-929 细胞死亡是研究细胞程序性坏死的重要模型。基于此模型，金斯瑞建立了 TNF- α 蛋白以及其中和抗体体外功能表征方法。细胞增殖抑制实验显示 TNF- α 对 L-929 细胞的杀伤作用，而其中和抗体 Adalimumab 抑制了 TNF- α 对细胞的杀伤。



细胞增殖抑制实验显示 TNF- α 对 L-929 细胞的杀伤作用



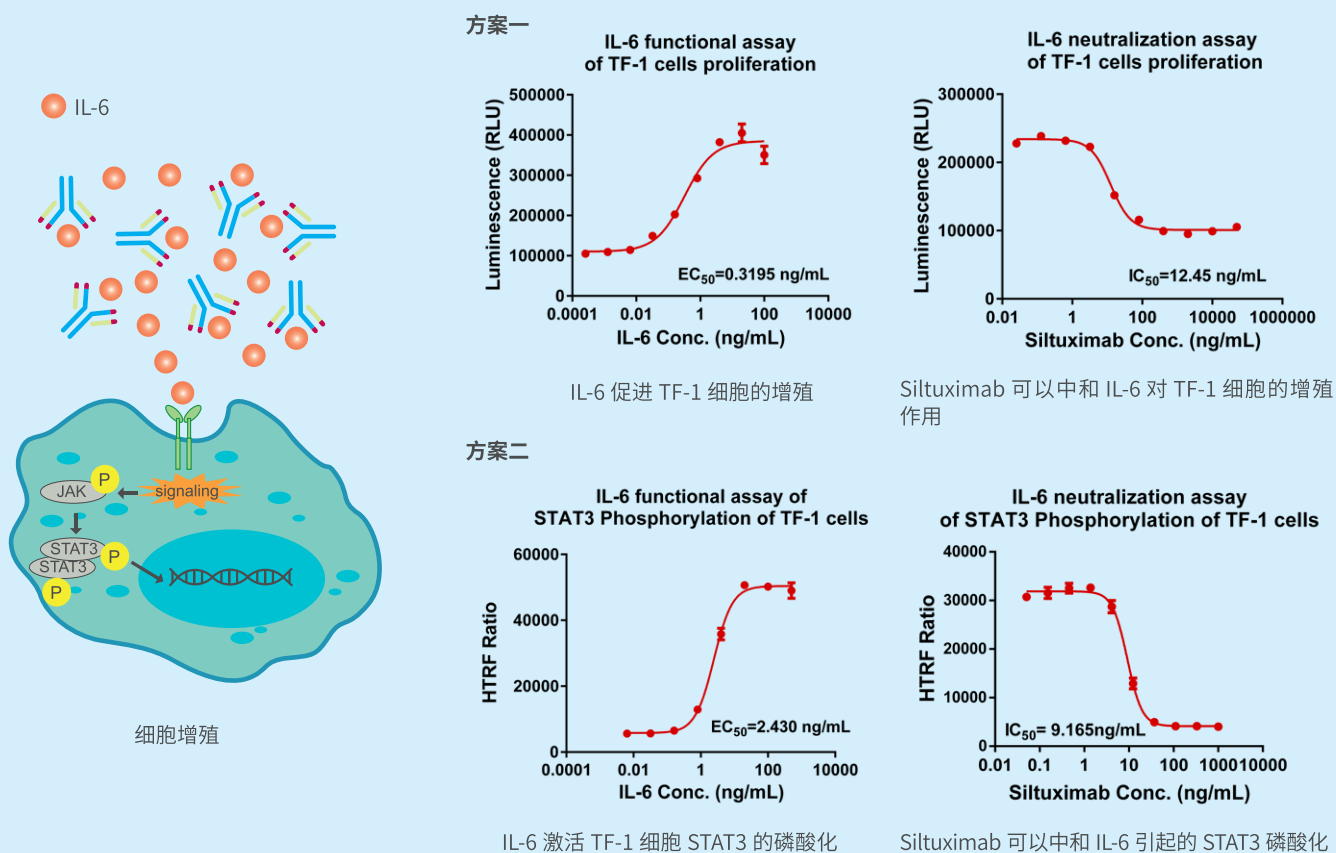
细胞增殖抑制实验显示 Adalimumab 中和了 TNF- α 对细胞杀伤的作用



案例二：IL-6 的中和实验

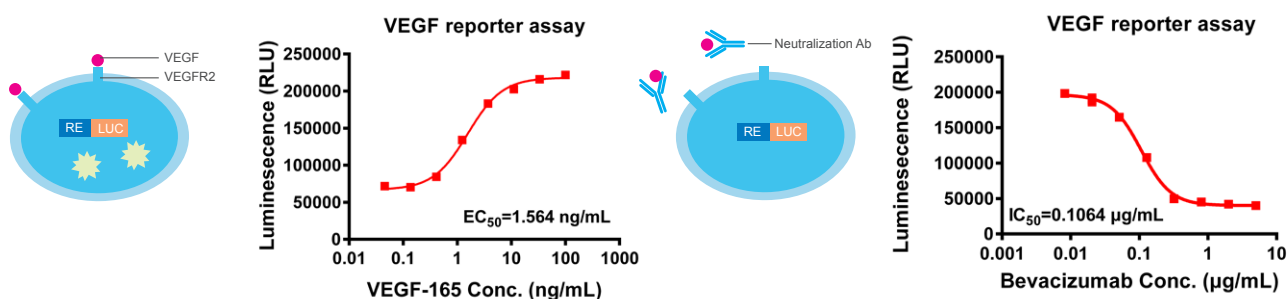
白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 是一种多功能细胞因子, 可同时起到调节免疫应答和抗感染免疫反应的作用。临床研究结果显示, IL-6 水平的升高与肿瘤、呼吸道以及肾脏疾病密切相关。阻断或者中和 IL-6 已成为治疗自身免疫疾病的新一代疗法。

根据 IL-6 的信号通路和生物学功能, 金斯瑞建立了多种体外功能活性检测方法。以 TF-1 细胞为靶细胞, IL-6 通过 JAK 信号通路激活胞内 STAT3 磷酸化并促进细胞增殖。IL-6 的中和抗体 Siltuximab, 抑制了 IL-6 对 JAK 信号通路的激活, 减弱 STAT3 磷酸化, 继而 TF-1 细胞的增殖被抑制。



案例三：VEGF 报告基因法

血管内皮生长因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF) 可与内皮细胞具有特异性结合, 从而诱导血管新生。在有肿瘤生长的情况下, 多种致癌因素触发致使促血管内皮细胞生长因子的分泌水平增高, 促进肿瘤组织生成大量不规则的新血管, 为肿瘤提供了优越的生长环境。本实验使用金斯瑞自主构建的 VEGF 报告基因细胞系, VEGF 和 VEGFR 的结合可以激活报告基因的表达。VEGF 中和抗体 Bevacizumab 可以阻断两者的结合, 减弱报告基因的表达。



双特异性 T 细胞或 NK 细胞 engager 实验

T 细胞和自然杀伤 (NK) 细胞分别是适应性免疫和先天性免疫细胞的重要成员,可以抑制癌细胞的生长和扩散,也可以在肿瘤微环境 (TME) 中的炎症趋化因子的引导作用下,将循环的 T 细胞和 NK 细胞募集到肿瘤发生的部位,从而杀死被病毒感染的细胞或癌细胞。

双特异性抗体分子可同时结合两种抗原,能够将靶细胞桥接到效应细胞上从而让效应细胞可以直接作用在靶细胞上,或者能与同个靶点上的两个不同表位结合以获得更佳药效。现已有多个双特异性抗体获得上市批准,仍有众多药物在临床研究阶段,应用的适应症范围从传统的癌症扩展到传染病和遗传病等其他疾病领域。目前,双特异性抗体的开发思路主要集中在招募免疫细胞、阻断信号通路和递送毒性药物等方面。

金斯瑞蓬勃生物拥有自主的 SMAB 双抗合成平台,可以提供双抗设计,合成,生产及功能筛选一站式服务。金斯瑞蓬勃生物体外药效部目前已经建立多个针对双抗功能筛选的实验方案以供客户选择。

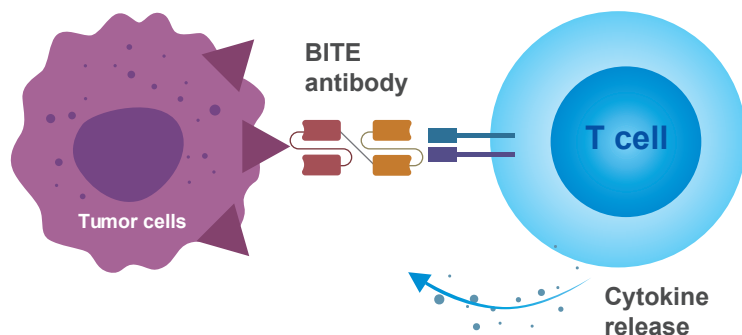


图 1. T 细胞衔接器相关抗体作用机制

服务内容

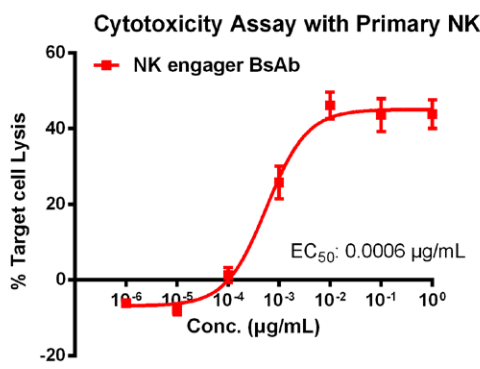
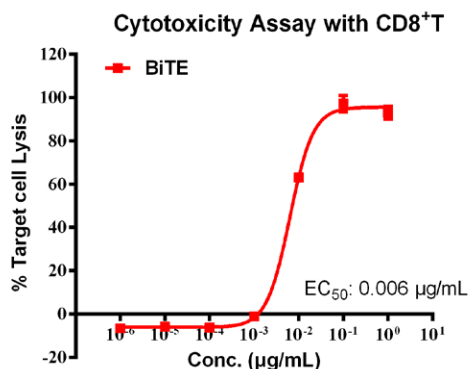
实验方案	靶细胞	效应细胞	使用范围	周期
T 细胞 /NK 细胞 依赖的细胞杀伤	癌细胞系 / 过表达靶点的 工程细胞系	报告基因细胞系	早期抗体功能性筛选和 CMC 阶段质量 放行	2 周
		原代 T 细胞 / NK 细胞	动物实验之前的功能性确认	2 周
T 细胞 /NK 细胞激 活	N/A	原代 T 细胞 / NK 细胞	动物实验之前的功能性确认	2 周

服务特点

- 高性价比的一站式服务
- 经验丰富的专业团队帮您制定实验方案

案例分析

金斯瑞蓬勃生物可以提供 T 细胞 /NK 细胞依赖的细胞杀伤实验,优化后量效曲线窗口高,稳定性好,可以根据客户需求提供定制化实验方案。



免疫细胞刺激及细胞因子释放实验

免疫细胞的过度抑制或激活是肿瘤及自身免疫疾病发生、发展的重要原因。原代免疫细胞刺激实验是通过评价抗体对机体分离出的免疫细胞的激活或抑制作用，筛选出有功能活性的抗体分子的体外实验方法。已上市的抗体药 Keytruda® 被业界认为是通过抑制 PD1 和 PDL1 的结合，激活免疫细胞杀伤肿瘤，进而产生抗癌效果。原代免疫细胞实验能够更真实地反应抗体药物在体内的活性，帮助研究者在研发阶段更精准地筛选到高活性的抗体药分子。金斯瑞蓬勃生物针对您的抗体药研发需求可以提供原代免疫细胞相关的定制化体外实验方案。

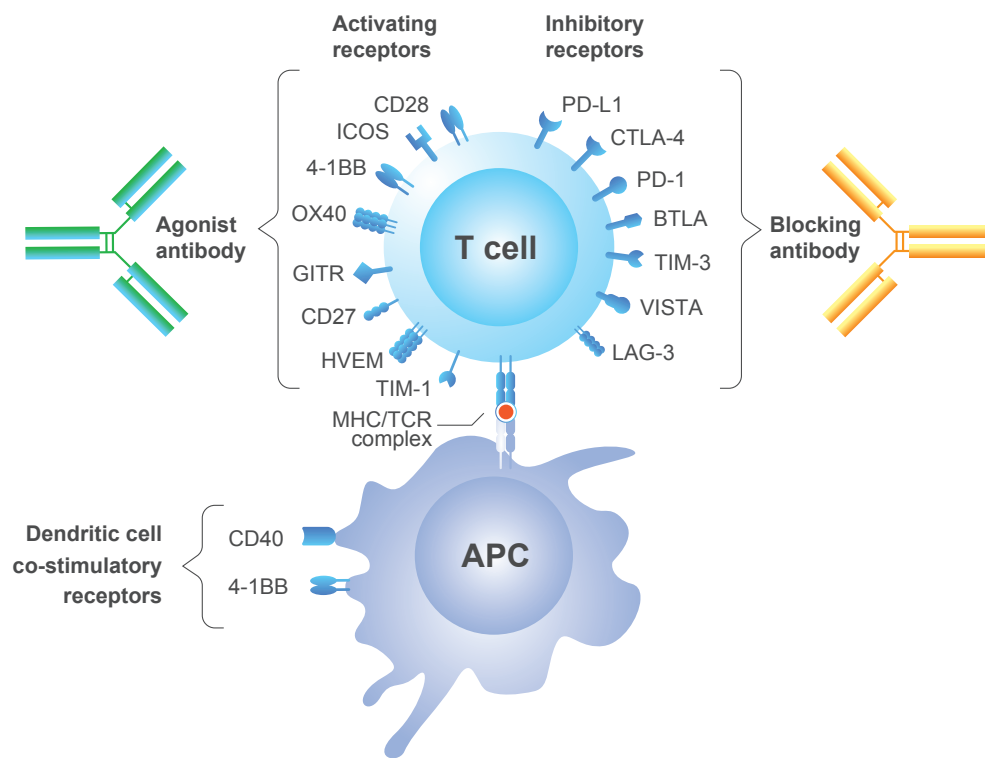


图 . T 细胞免疫检查点调节抗体药物（癌症免疫疗法）

服务细节

实验类型	免疫细胞刺激实验、混合淋巴细胞反应 (MLR)
抗体药种类	阻断 / 中和抗体、激活型抗体、T/NK 细胞 engager
刺激物	CD3/CD28 抗体偶联磁珠 (或抗 CD3 及抗 CD28 抗体)、PMA/ionomycin、LPS、TNF- α 、IL-1 β 、IL-2、抗原、DC 等
细胞	PBMC、CD3 ⁺ T 细胞、CD4 ⁺ T 细胞、CD8 ⁺ T 细胞、NK 细胞、Treg 细胞、树突状细胞、巨噬细胞 等
检测指标	细胞增殖 (CellTiter-Glo、CFSE)、细胞因子释放 (单个或多个因子同时检测、ELISA/Luminex)、细胞表面标志物蛋白的表达或免疫分型 等
种属	人、猴、鼠、犬 等



服务特点

团队拥有上百个针对不同靶点的免疫细胞功能实验成功经验，可分离各种原代细胞以满足不同类型抗体药的体外评价需求；

有免费的阴性抗体参照和阳性抗体参照可提供给客户；

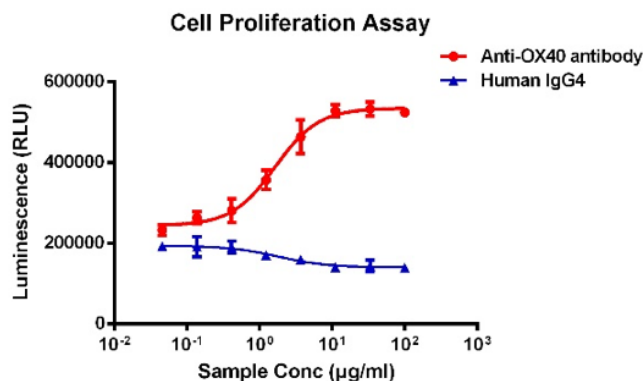
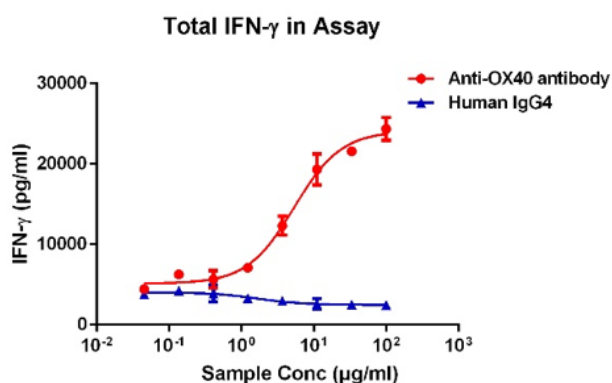
原代细胞的来源可追溯，有合格的 BSL-2 级实验室，满足新药申报合规性文件要求；

多台通过验证并可以进行审计追踪的各式酶标仪；

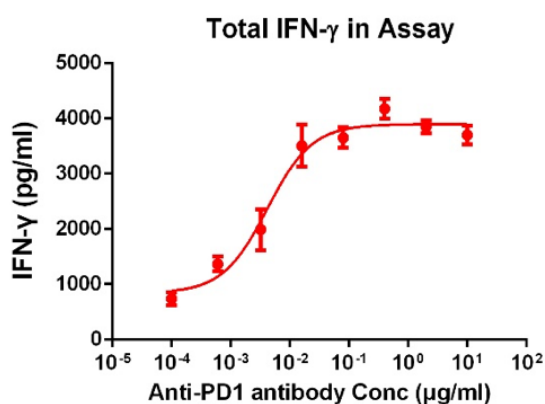
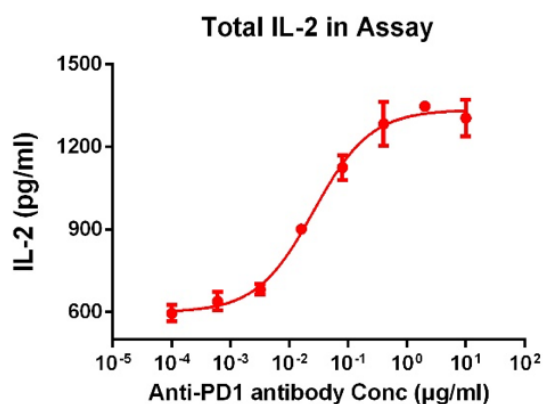
可以根据客户需求提供定制化服务并保证交付周期。

案例分享

金斯瑞可以提供原代免疫细胞（PBMC、T 细胞、NK 细胞、Treg 细胞、树突状细胞、巨噬细胞等）刺激实验以及混合淋巴细胞反应（MLR）实验服务，多样化的检测指标类型（细胞增殖、细胞因子释放、细胞表面标志物蛋白的表达等），根据您的需求提供定制化的实验服务。



案例一：通过实验优化，金斯瑞可有效扩大检测窗口。所示案例中，OX40 抗体增加了 CD4⁺ T 细胞 IFN-γ 的释放（左）及细胞增殖（右）。



案例二：MLR 实验：抗 PD1 抗体促进了 CD4⁺T 细胞 IL-2（左）和 IFN-γ（右）的释放。

GPCR 靶向药物筛选与评价

G 蛋白偶联受体是受体蛋白家族中最大的成员之一，在细胞信号转导过程中发挥重要生物学功能，是重要的药物靶点。金斯瑞团队历经多年，开发了 150 种以上具有知识产权的 GPCR 稳定细胞株，以满足客户对 GPCR 药物活性筛选与评价的需求。

服务特点

丰富的 GPCR 靶点：150 种以上具有知识产权的 GPCR 稳定细胞株。

细胞株构建：可以提供 GPCR 稳定细胞株构建服务。

检测周期短：仅需三周即可完成检测。

经验丰富的定制化服务：

药物功能：针对不同类型的靶点提供激动模式，拮抗模式，反向激动模式和变构调节模式的药物筛选与评价。

筛选策略：基于钙流、cAMP 定量和报告基因式的高通量筛选平台。

钙流：GPCRs 信号通过 Gq 通路使细胞内钙释放，因此通过钙离子敏感荧光探针检测细胞内钙释放，即可检测通过 Gq 途径进行信号转导的 GPCRs 的功能变化。

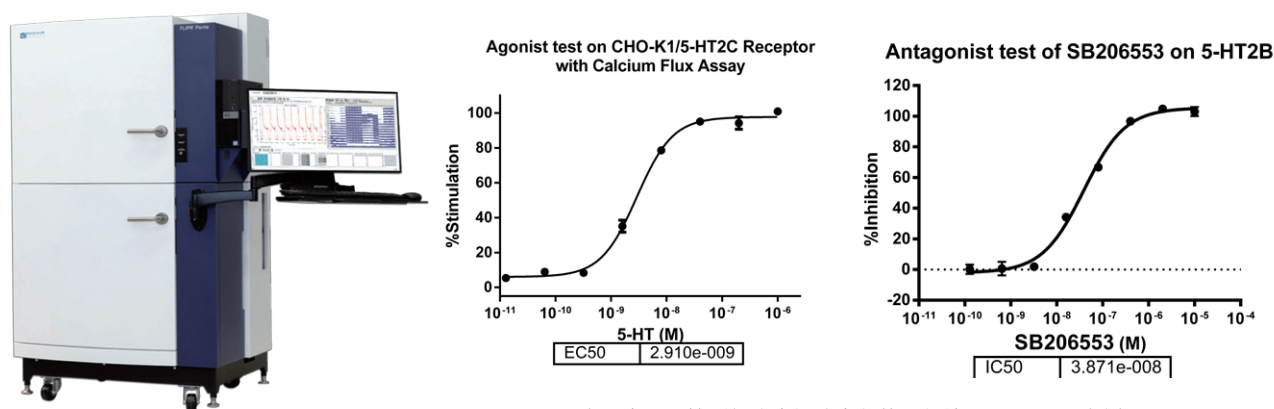


图 1. 用于高、中通量检测细胞内钙流变化的工作站 -FLIPR 以及案例展示

cAMP：GPCRs 信号通过 Gi 或 Gs 会导致细胞内 cAMP 水平的上升或下降，检测 cAMP 的水平也能够实现对 GPCRs 的筛选。

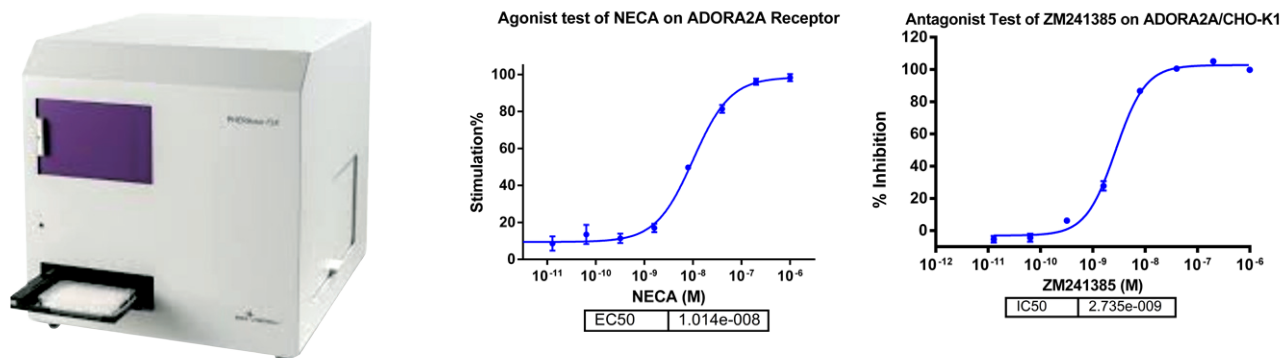
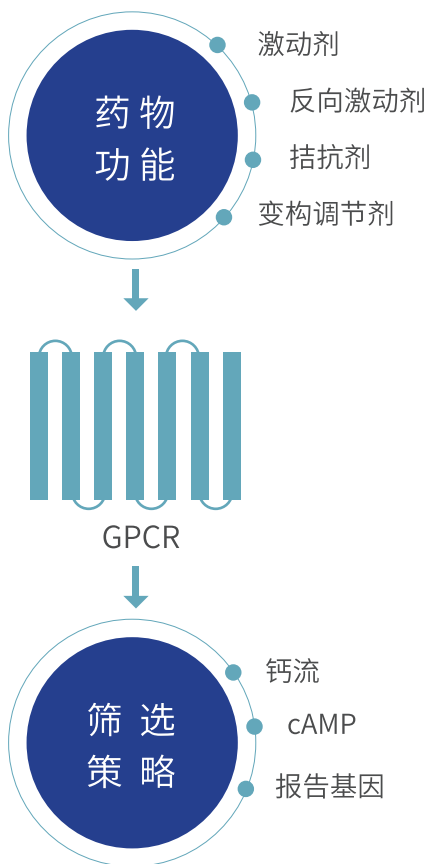


图 2 用于高、中通量检测细胞内 cAMP 变化的酶标仪 -Pherastar® 以及案例展示。



丰富选择，助力抗体药开发

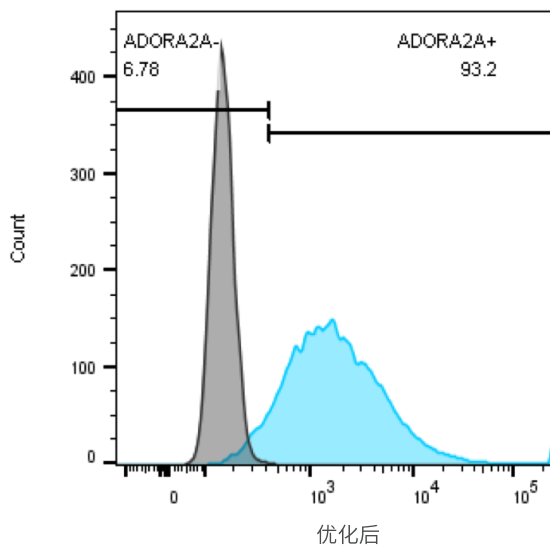
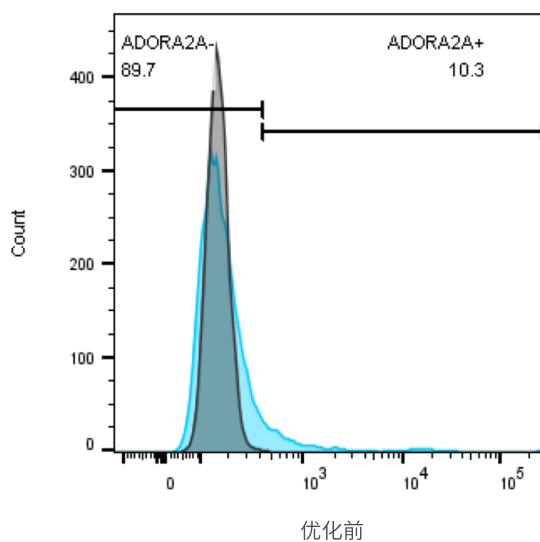
金斯瑞蓬勃生物提供多种 GPCR 靶向检测实验，可以为您的样品进行激动，拮抗，反向激动和异构调节活性检测。



No.	部分已开发细胞及靶点名
1	CHO-K1/ADRA1A
2	CHO-K1/MC3/Gα15
3	CHO-K1/ADORA2A/Gα15
4	1321N1/P2Y1
5	CHO-K1/5-HT2A
6	CHO-K1/5-HT2C
7	1321N1/P2Y12/Gα15
8	CHO-K1/OPRK1/Gα15
9	1321N1/P2Y4
10	1321N1/P2Y11
11	CHO-K1/OPRM1/Gα15
12	CHO-K1/OPRD1/Gα15
13	CHO-K1/ADORA1/Gα15
14	CHO-K1/ADORA2B/Gα15
15	CHO-K1/5-HT1A/Gα15
16	CHO-K1/5-HT4/Gα15
17	CHO-K1/OPRL1/Gα15
18	CHO-K1/GLP1/Gα15
19	CHO-K1/ADORA3/Gα15
20	CHO-K1/Gα15/CXCR1

案例分享—GPCR 过表达细胞系助力 GPCR 靶点的药物发现与筛选

GPCR 在体内的本底表达水平极低且常规过表达效果不佳，不利于研究 GPCR 结构与功能。金斯瑞蓬勃生物通过载体及序列优化，成功将 ADORA2A 蛋白高表达在细胞膜上，助力药物活性的筛选和开发。



抗体内化实验

在抗体药的治疗作用中，抗体内化带来的治疗机制越来越受到关注。抗体药物偶联物（Antibody-Drug Conjugate, ADC）是通过一个化学链接将具有生物活性的细胞毒性药物连接到单抗上。单抗作为载体将小分子药物靶向投递到靶细胞上，与细胞表面的抗原结合后发生内吞，小分子药物随之进入靶细胞并发挥毒性效应。比较荧光信号和抗体药分子浓度的量效关系可反应抗体内吞的差异由于抗体与抗原结合后不一定会被靶细胞内吞，所以抗体内化能力是 ADC 药物早期筛选的一项重要指标。金斯瑞蓬勃生物体外药效部给您提供一个高效，稳定的抗体内化实验方案，帮助您快速，高通量筛选 ADC 候选分子。

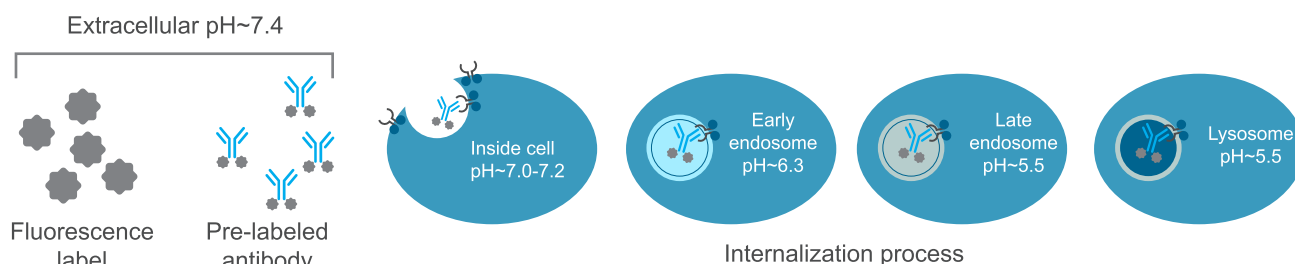


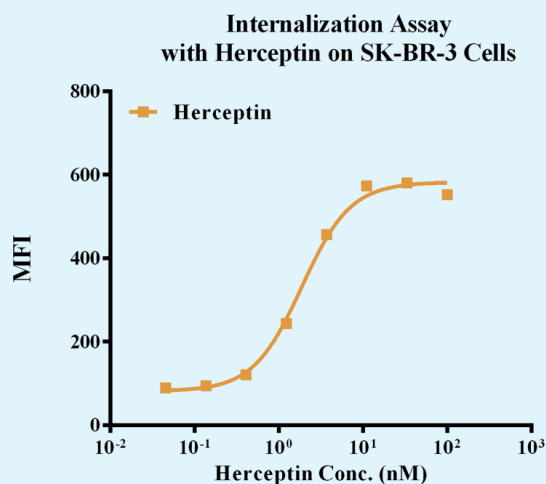
图 1：抗体内化过程

抗体内化实验服务特点

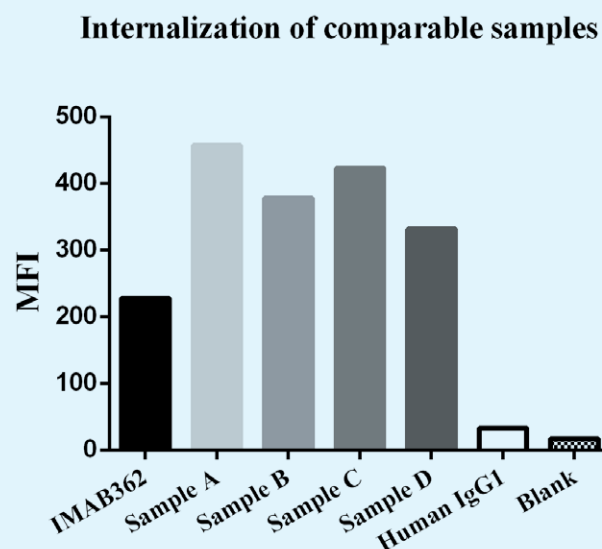
具有出色的信号 - 背景比，适用于流式细胞术分析；
稳定的内化量效曲线，已在 CD20, Her2, EGFR、Claudin 18.2 等多个靶点上验证；
靶细胞细胞库有超过 200 种癌细胞系和 100 种过表达细胞系可供选择；

案例分享

被酸碱度敏感染料标记的抗体只有在被靶细胞吞噬进入胞内体被酸化之后才会释放荧光信号，可以使用流式细胞仪捕捉并分析该荧光信号。



案例一：比较荧光信号和抗体药分子浓度的量效关系可反应抗体内化效应曲线，通过优化实验，金斯瑞可有效扩大检测窗口，提供高信噪比，稳定的量效曲线。图示案例中，标记的 Herceptin 被 SK-RB-3 细胞内化，发出明亮的荧光，清晰的显示出特异性的抗体内化信号。



案例二：S/N ≥ 10 ，易于区分同一靶点不同内化能力的候选抗体分子。图示案例中，针对 Claudin 18.2 靶点的不同单抗样品（Sample A-D）内化程度的比较。

报告基因实验服务

人类后天免疫系统是通过复杂的抑制和刺激受体网络的作用来调节的，这些受体在促进病原体清除的同时能够保持机体对自身抗原的耐受性。免疫检查点受体在维持机体免疫平衡，调控癌症发生发展及自身免疫性疾病中都起着至关重要的作用。在靶向免疫检查点，炎症相关细胞因子和肿瘤血管生成靶点等抗体新药的研发过程中，报告基因实验一直是作为筛选抗体体外功能的有效方法，不仅在前期抗体发现阶段应用广泛，在 CMC 阶段也是进行药品功能批次放行的首选方法。金斯瑞蓬勃生物体外药效部已经建立一系列热门靶点的报告基因功能实验方法，满足您的抗体药研发需求，已为全球超过 500 个客户提供了优质的服务。

实验流程

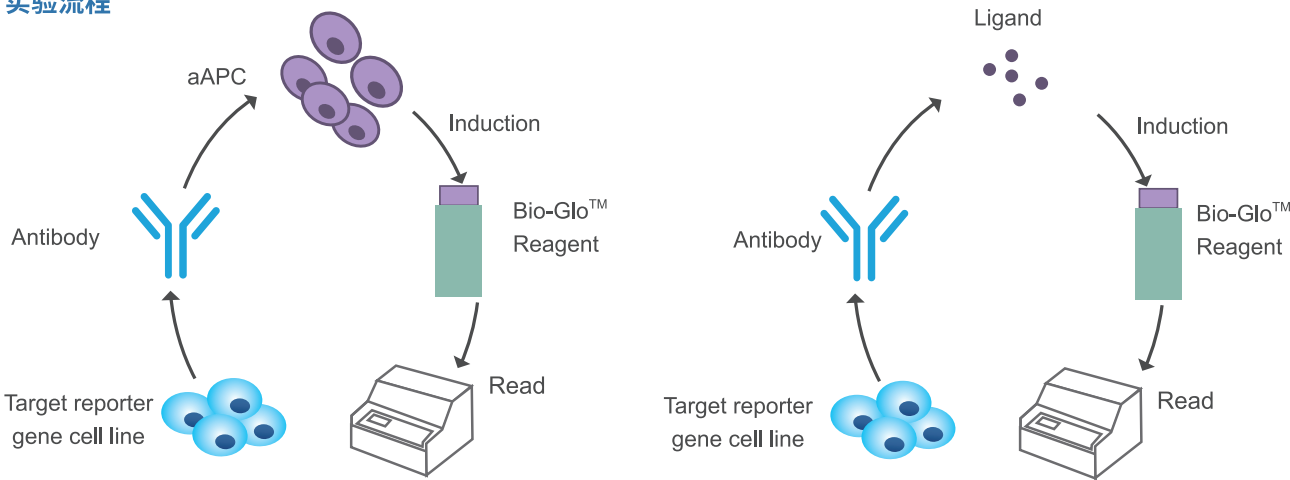


图 1：免疫共抑制检查点（左图）和免疫共刺激检查点（右图）实验模式图

靶点类型	名称		特色	使用范围	周期
免疫共刺激检查点	OX-40 CD-40	GITR 4-1BB	可兼容高通量实验 全面质量控制： 信号窗口稳定， 重复性好 成熟的质量体系，可满足临床申报 经验丰富： 完成超过 1000 个项目	抗体发现阶段的功能性筛选和 CMC 阶段的质量放行	两周
免疫共抑制检查点	PD-1 PD-L1 CTLA-4	TIGIT LAG3 TIM-3			
双免疫检查点	PD-1/TIGIT PD-1/LAG3	PD-1/4-1BB PD-1/CTLA-4			
肿瘤血管生成靶点	VEGF-VEGFR2 TIE2-ANG2				
炎症相关靶点	IL-1β IL-1α	IL-33 IL-36			
髓系细胞免疫检查点	CD47-SIRPα				

注：使用该服务可以在实验中免费加入抗体药业界常见靶点的阳性参照；



定制化报告基因细胞系及活性方法开发

已成功交付百余例细胞系项目

快至 12 周的高度定制化服务

抗体药开发前期需要从大量的候选分子中筛选出药效显著的分子，因此体外生物活性检测是抗体药开发中至关重要的一环。传统生物活性检测使用原代细胞，其操作繁琐且批次间差异较大，不适合大规模抗体筛选。金斯瑞蓬勃生物可根据客户需求，定制化开发报告基因功能性细胞系，消除对原代细胞的培养要求，克服传统方法的局限性，适用于大规模高通量抗体药筛选、生物活性测定、稳定性测定、质量批次放行等方面，为抗体药开发提供一个稳定且价廉的工具。金斯瑞蓬勃生物拥有专业的科学家团队，深刻理解多种类型靶点的功能细胞系相关检测方法开发，提供从常规靶点到难度靶点，双靶点等多种类型的检测方法开发服务。

报告基因功能细胞系构建策略关键点

MOA



基于药物开发原理
设计实验方案

Pathway



评估靶点相关
信号通路

Cell type



根据细胞特性
选择合适细胞模型

Sequence



针对特异靶点的
序列设计及优化

服务特点

一站式定制化服务：

金斯瑞提供从功能细胞系开发策略，质粒合成，下游检测，到方法优化全套解决方案。不论是经典靶点或是最新表位，您只需提供靶点名称及药物开发机制，金斯瑞即可交付细胞及对应活性分析方法。

丰富经验，保驾护航：

基于业界领先的技术平台，金斯瑞已成功交付百余例功能细胞系项目。

完善的合规性建设：

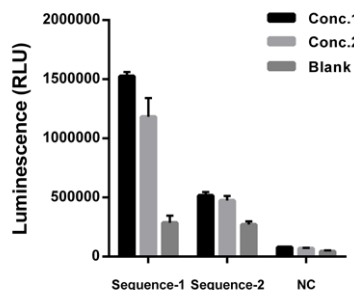
细胞来源清晰可追溯，可提供整套实验记录和报告。



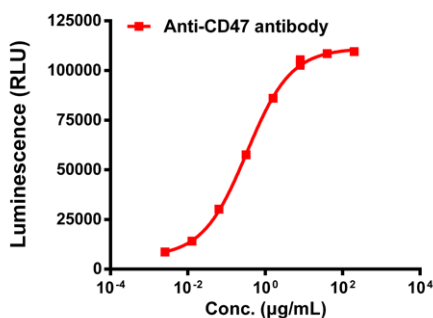
服务内容

功能细胞系种类		部分开发功能细胞系
免疫检查点抑制类	免疫检查点激活类	CD47-SIRP α Blockade Bioassay TIGIT/CD155 Blockade Bioassay LAG3/MHCII Blockade Bioassay PD-1/PD-L1 Blockade Bioassay
		GITR Activation Bioassay 4-1BB Activation Bioassay OX-40 Activation Bioassay CD27 Activation Bioassay CD40 Activation Bioassay
组合生物测定类	Fc 受体生物活性测定类	PD-1+TIGIT CD3+CD19 CD3 Bispecific antibody series CD16 Bispecific antibody series
		ADCC Reporter Bioassay ADCP Reporter Bioassay
细胞因子和信号通路 报告基因类		NFAT Reporter cell line NF- κ B Reporter cell line NF- κ B/AP-1 Reporter cell line IL-2 promoter Reporter cell line STAT-5 Reporter cell line VEGF Reporter cell line ANG2 Reporter cell line

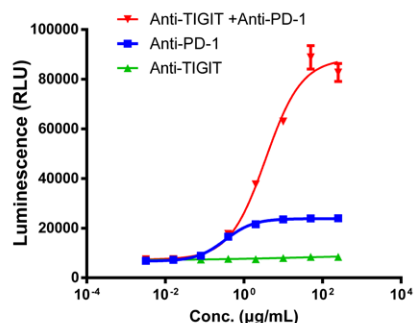
案例展示



案例 1: 通过序列优化, 金斯瑞可有效扩大检测窗口。所示案例中, A 为序列优化之后的检测结果, B 为序列优化前检测结果, 检测窗口约扩大 3 倍。



案例 2: 基于专业的科学家团队, 金斯瑞蓬勃生物深刻理解多种类型靶点的功能细胞系相关检测方法开发, 提供从常规靶点到难度靶点, 双靶点等多种类型的检测方法开发服务。案例左图所示为金斯瑞蓬勃生物开发的 CD47-SIRP α 阻断检测细胞系; 右图为 PD-1/TIGIT 双靶点检测方法。



检定细胞系及检测方法开发服务

500+ 检定细胞系构建成功案例
100+ 可用于抗体药开发的检定细胞系

稳定细胞系构建是指将外源基因整合至宿主细胞染色体上，使外源基因在宿主细胞中长期稳定表达。稳定细胞系在生物学研究及抗体药发现中扮演着非常重要的角色，包括基因功能研究、抗体药候选分子的结合 / 阻断筛选，跨物种交叉结合筛选等。

金斯瑞蓬勃生物拥有专业的科学家团队、稳定细胞系构建前沿技术及丰富的哺乳动物细胞培养及改造经验，可通过 CRISPR、Tet-On 技术、慢病毒感染、电转及核转等方式构建稳定细胞系和报告基因功能性细胞系。对于分泌蛋白或不稳定蛋白的过表达，通过增加辅助因子、改造剪切位点、阻断降解通路等多种策略，成功将分泌蛋白或不稳定蛋白过表达在细胞膜上。金斯瑞蓬勃生物已成功构建 500 多种稳定细胞系，其中有 100 多种可用于抗体药物研发，包括但不限于 PD-1、PD-L1、Tim3、CTLA4、Lag3 及 Siglec15 等热门免疫检查点、肿瘤相关抗原和 GPCR 相关稳定细胞系。

部分用于抗体药物研发的稳定细胞系列表

种类	系细胞	种类	细胞系
免疫检查点	CHO-K1/siglec 15	免疫检查点	CHO-K1/PD-1
免疫检查点	CHO-K1/mouse siglec 15	免疫检查点	CHO-K1/mouse PD-1
免疫检查点	CHO-K1/cyno siglec 15	免疫检查点	CHO-K1/cyno PD-1
免疫检查点	CHO-K1/CD73	免疫检查点	Daudi/PD-1
免疫检查点	CHO-K1/mouse CD73	免疫检查点	CHO-K1/PD-L1
免疫检查点	CHO-K1/cyno CD73	免疫检查点	CHO-K1/mouse PD-L1
免疫检查点	CHO-K1/NKG2D	免疫检查点	CHO-K1/cyno PD-L1
免疫检查点	CHO-K1/cyno NKG2D	免疫检查点	Raji/PD-L1
免疫检查点	CHO-K1/LAG3	免疫检查点	CHO-K1/CD47
免疫检查点	CHO-K1/cyno CXCR4	免疫检查点	CHO-K1/mouse CD47
免疫检查点	CHO-K1/CD70	免疫检查点	CHO-K1/cyno CD47
肿瘤相关抗原	CHO-K1/Claudin18.2	免疫检查点	CHO-K1/CTLA4
肿瘤相关抗原	HEK293/Claudin18.2	免疫检查点	CHO-K1/mouse CTLA4
肿瘤相关抗原	BxPc-3/Claudin18.2	免疫检查点	CHO-K1/cyno CTLA4
肿瘤相关抗原	HEK293/mouse Claudin18.2	免疫检查点	CHO-K1/4-1BB
肿瘤相关抗原	HEK293/Claudin18.1	免疫检查点	CHO-K1/mouse 4-1BB
免疫检查点	CHO-K1/cyno CD40	免疫检查点	CHO-K1/cyno 4-1BB

服务特点

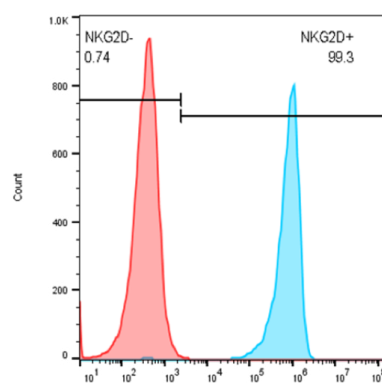
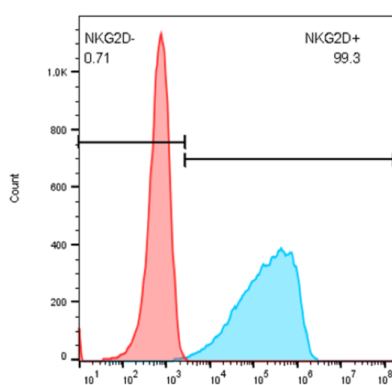
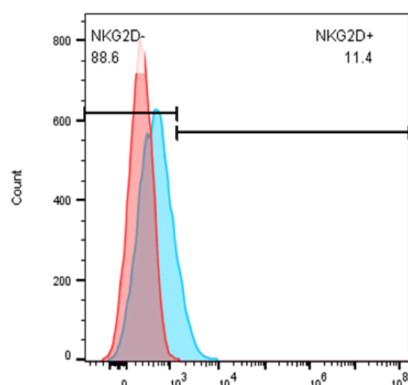
- 一站式服务：**提供从载体构建到单克隆筛选整套服务。您只需要提供靶点信息，即可获得检定细胞系。
- 单细胞克隆性证明：**Molecular Devices CloneSelect Imager 成像系统证实细胞的单克隆性。
- 定制构建表达载体：**通过多启动子、2A、IRES 及融合表达等手段，可在一个质粒里同时表达两个或两个以上基因。同时，还可根据您的需求选择启动子和标签。
- 配套多种检测服务：**提供 qPCR、RT-PCR、ELISA、Immunofluorescence、FACS 及 Western Blot 的方法从 mRNA 和蛋白层面检测蛋白表达情况。
- 质量保证：**确保交付细胞系无真菌，细菌及支原体污染，细胞复苏活率达 90% 以上。
- 合规性保证：**宿主细胞来源清晰，完整检定细胞构建记录，可提供原始实验数据。
- 开发周期短：**仅需 10-15 周即可获得单细胞克隆。



案例分享 1- 有效提升不稳定蛋白的过表达水平

目的蛋白表达量较低，但 mRNA 翻译水平较高的情况是在构建过表达细胞系过程中的一大困扰。金斯瑞蓬勃生物基于丰富的翻译调控及翻译后修饰的经验，有效提升目的蛋白的表达。案例中通过添加辅助因子，使蛋白表达水平提升了 1000 倍。

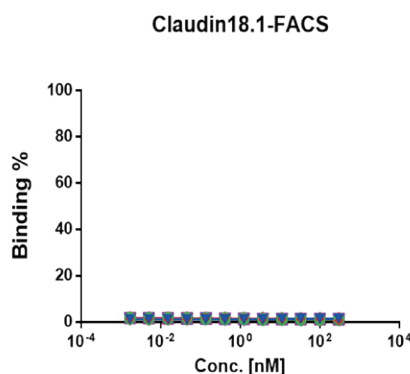
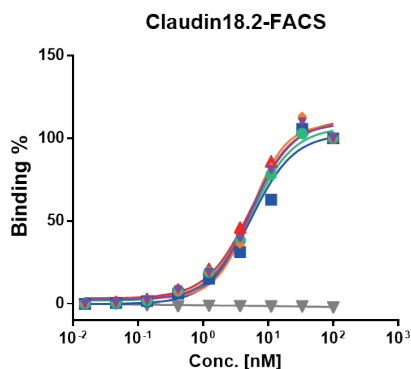
- A** 未加辅助因子时，与对照细胞（红色）表达量相比，NKG2D 阳性细胞池（蓝色）表达量并未提高
- B** 增加辅助因子后，与对照细胞（红色）表达量相比，NKG2D 阳性细胞池（蓝色）表达量提升 300 倍
- C** 增加辅助因子后，与对照细胞（红色）表达量相比，NKG2D 阳性单克隆细胞（蓝色）表达量提升 2000 倍



图注：增加辅助因子前后，NKG2D 表达量变化

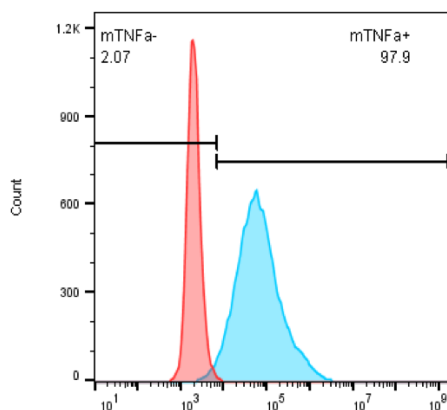
案例分享 2- 助力异构体抗体筛选

异构体的抗体开发因抗体脱靶效应而极具挑战性。金斯瑞蓬勃生物通过分别构建不同蛋白异构体的稳定细胞系，基于 FACS 结合测定，可有效筛选针对蛋白异构体的抗体。使用过表达 claudin18.2 稳定细胞系筛选 anti-claudin18.2 抗体，再利用过表达 claudin18.1 的稳定细胞系反向筛选及验证 anti-claudin18.2 抗体的特异性。



案例分享 3- 分泌蛋白过表达在细胞膜上

将分泌的蛋白质锚定在细胞膜表面，加速抗体药物筛选。所示案例中，建立了一种主要由巨噬细胞分泌并引起炎症的肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 稳定细胞系。



图注：通过优化表达载体，将分泌性 TNF α 蛋白锚定在细胞膜表面



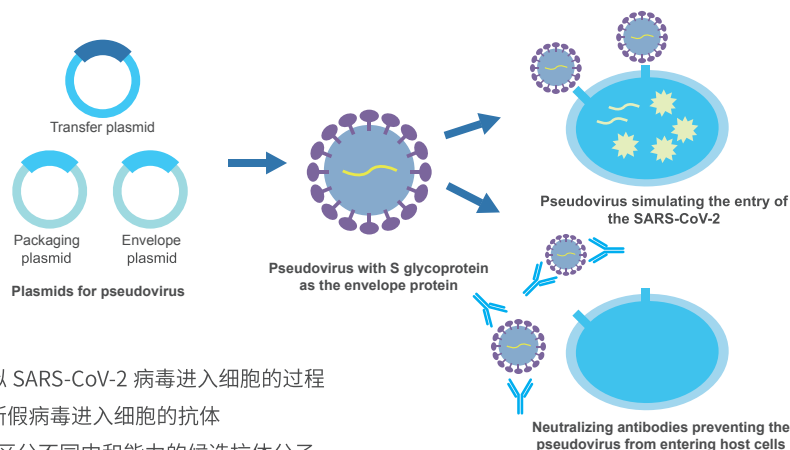


新冠假病毒中和实验检测平台

假病毒中和实验检测原理

SARS-CoV-2 进入宿主细胞是由病毒表面的刺突糖蛋白（S 蛋白）介导的。S 蛋白与人 ACE2（hACE2）结合后，通过 ACE2 内化导致病毒颗粒的内吞作用，诱导病毒和宿主细胞融合。病毒进入细胞后将其单股 RNA 形式的病毒基因组释放、复制并被宿主细胞机制翻译成功能性病毒蛋白，组装成新的病毒颗粒。因而 SARS-CoV-2 病毒表面的刺突蛋白成为许多疫苗和抗体药物研究的关键靶点。中和抗体能够阻断 S 蛋白与 ACE2 的相互作用，保护宿主免受 SARS-CoV-2 感染，其效价可以通过噬菌斑减少中和测试 (PRNT) 或假病毒中和实验检测法 (PVNA) 进行定量。

金斯瑞蓬勃生物提供了一种基于复制缺陷型慢病毒开发的 PVNA，能快速评估中和剂的效价。相较于 PRNT，PVNA 无需在生物安全 3 级实验室处理 SARS-CoV-2 活病毒，具有更好的安全性。其次以萤火虫荧光素酶作为报告基因，具有灵敏性高的特点，可用于高通量筛选和鉴定。



服务特点

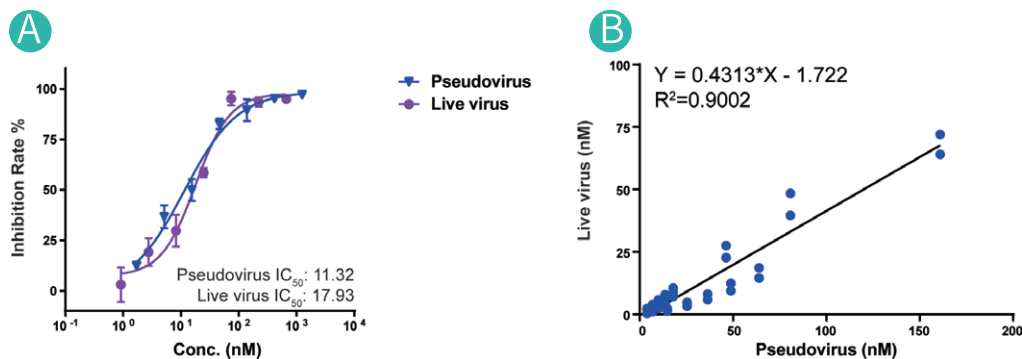
病毒感染检测模型：完全模拟 SARS-CoV-2 病毒进入细胞的过程

高特异性：特异性筛选能阻断假病毒进入细胞的抗体

高灵敏性：S/B ≥ 100 , 易于区分不同中和能力的候选抗体分子

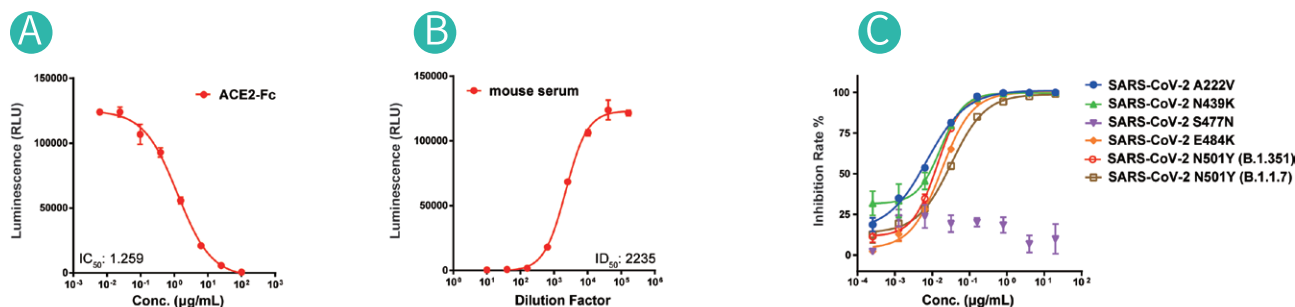
高灵活性：可适配新的 SARS-CoV-2 刺突蛋白突变体或其他病毒膜蛋白

案例一：



假病毒中和测定法 (PVNA) 是噬菌斑减少中和测试 (PRNT) 的优秀替代实验。 (A) PVNA 与 PRNT 实验的抑制曲线。 (B) PVNT 和 PRNT 在线性回归模型中展现出良好的拟合性。

案例二：



中和剂中和能力分析。 (A) ACE2-Fc 蛋白嵌合体与假病毒共孵育 1 小时后，加入 ACE2 过表达细胞。未被中和的假病毒将感染靶细胞并在胞内表达荧光酶，细胞培养 48 小时后检测荧光强度。数据经 GraphPad Prism® 处理以四参数曲线形式呈现。 (B) S 蛋白免疫的小鼠血清用 PVNA 测定其中和抗体滴度。 (C) PVNA 检测中和抗体对 SARS-CoV-2 S 蛋白突变体的中和能力。

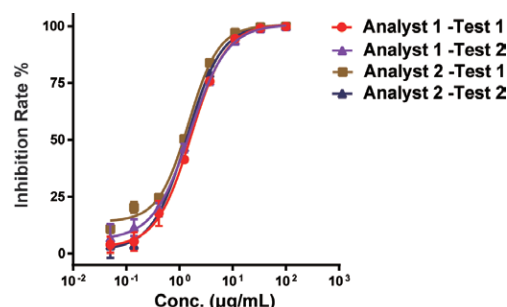
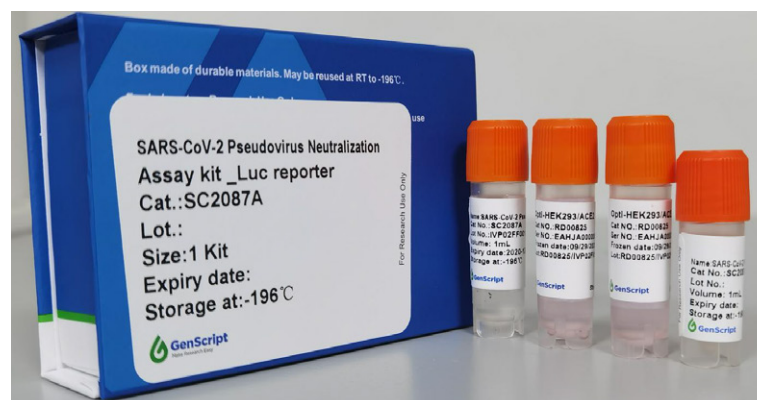


假病毒中和实验检测服务

服务名称	服务号	子服务名称	所需材料 *	交付	周期
PVNA	SC2077-1	单点测试	$\geq 200 \mu\text{g}$ 抗体 $\geq 100 \mu\text{L}$ 小鼠血清或兔血清 $\geq 500 \mu\text{L}$ 抗体浓度超 $1 \mu\text{g/mL}$ 的上清液	实验报告	1-3 周
	SC2077-2	8 浓度多点测试			

根据客户需求，单点测试和 8 浓度多点测试所需的材料量可能有所变化。客户亦可使用人血清作为 PVNA 实验材料，对于该需求建议客户使用金斯瑞蓬勃生物 PVNA 试剂盒进行内部自测。

假病毒中和实验 (PVNA) 检测试剂盒



PVNA 试剂盒测定抗体中和能力的抑制率曲线。数据经 GraphPad Prism[®] 处理以 4PL 曲线形式呈现

产品名称	产品号	子产品名称	交付物	周期
荧光素酶试剂盒	SC2087A	SARS-CoV-2 Pseudovirus Neutralization Assay kit_Luc reporter	假病毒: 1 管 (Luc) 或 2 管 (GFP) 10^7 - 8×10^6 IFU/ml 靶细胞: 2 管 2×10^6 cells/vial (不可扩增)	荧光素酶: 2 周
绿色荧光蛋白试剂盒	SC2087F	SARS-CoV-2 Pseudovirus Neutralization Assay kit_GFP reporter	对照用 nAb: 1 dose curve * 客户亦可根据自身需要单独购买假病毒试剂盒组分	绿色荧光蛋白: 咨询

金斯瑞提供多种假病毒变体试剂盒，更多信息请联系 cdmo.cn@genscript.com

金斯瑞蓬勃生物提供多种假病毒变体供客户选择

SARS-CoV-2 Spike D614G & A222V
SARS-CoV-2 Spike D614G & N439K
SARS-CoV-2 Spike D614G & S477N
SARS-CoV-2 Spike D614G & N501Y (B.1.1.7, UK)
SARS-CoV-2 Spike D614G & N501Y & E484K (B.1.1.7, UK)
SARS-CoV-2 Spike D614G & N501Y (B.1.351, South Africa)
SARS-CoV-2 Spike D614G & N501Y & E484K (P.1, Brazil)
SARS-CoV-2 Spike D614G & Q677H (20C-US)
SARS-CoV-2 Spike Y453F & Δ69-70
SARS-CoV-2 Spike L452R (B.1.429, CAL.20C)
SARS-CoV-2 Spike L452R (B.1.617.1, India)
SARS-CoV-2 Spike L452R (B.1.617.2, India)
SARS-CoV Spike WT (WH20)
MERS Spike
NL63 Spike

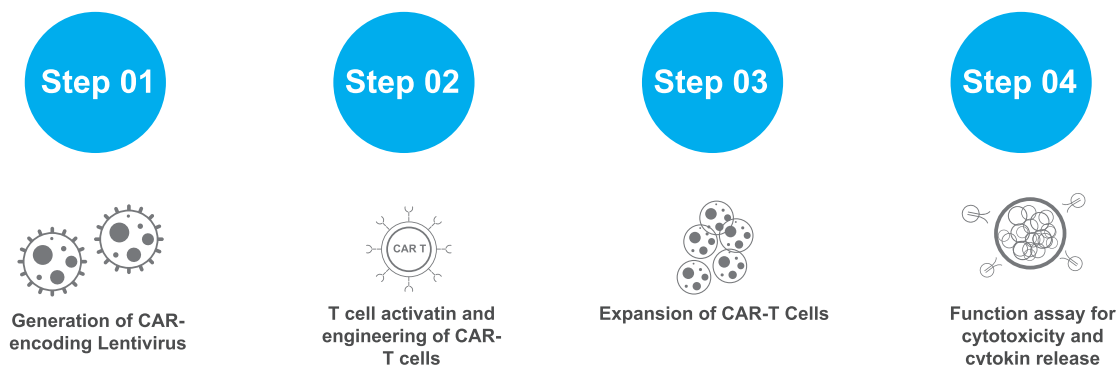
假病毒相关细胞系产品

细胞系名称	QC	周期
Hela/ACE2 单克隆	FACS ELISA binding Pseudovirus infection	1-2 周
HEK293/ACE2 单克隆	FACS Pseudovirus infection	1-2 周
CHO-K1/Spike 单克隆	FACS	1-2 周
HEK293T/Spike 单克隆	FACS	1-2 周

CAR-T 细胞体外功能评价服务

嵌合抗原受体 T 细胞 (也称为 CAR T 细胞) 是一种通过基因工程转导 CAR (通常是 scFv 或 sdAb) 改造而来的 T 细胞, 是癌症细胞疗法的核心。CAR-T 细胞通过 CAR 来识别癌细胞, 能快速有效地摧毁癌细胞。

CAR-T 细胞体外功能评价是 CAR-T 临床转化前至关重要的质检环节, 是确保其临床有效性和安全性的关键。金斯瑞蓬勃生物拥有丰富的研发经验, 建立了一整套 CAR-T 体外药效学实验平台, 可提供 CAR 序列筛选、慢病毒制备、CAR-T 细胞体外功能验证和定制化细胞系构建等服务, 助力客户 CAR-T 细胞疗法的开发。



服务特点

丰富经验, 保驾护航: 基于业界领先的技术平台, 拥有多个 CAR 分子开发经验

一站式服务: 提供从 CAR 分子发现到功能体外验证一套完整流程

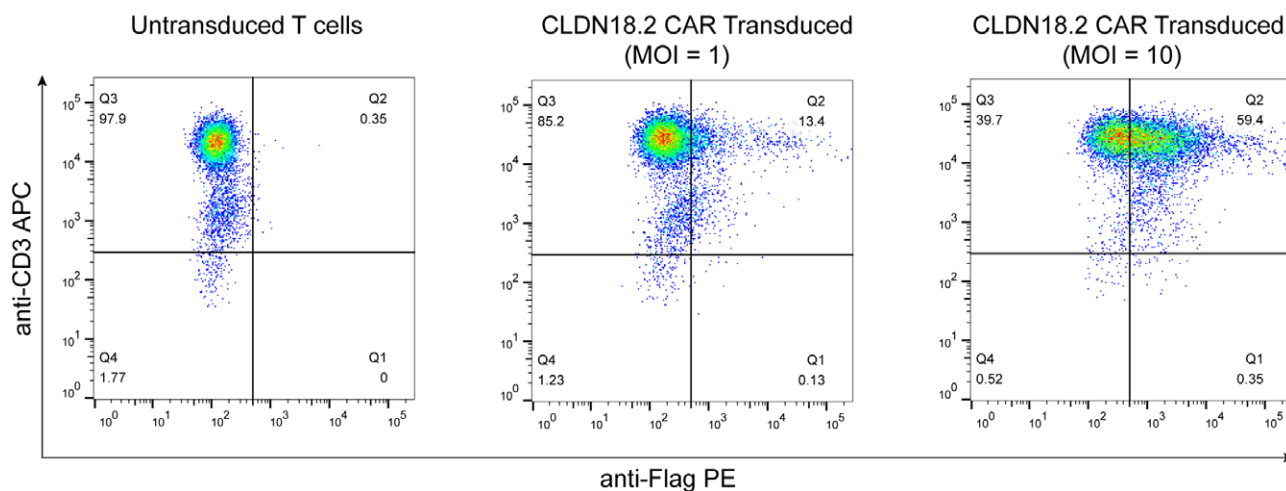
完善的合规性: 细胞来源清晰可追溯, 可提供整套实验记录和报告

简便高效: 高通量 CAR ScFv 筛选服务平台, 可快速获得功能最优的 CAR 分子

案例分享

CAR 体外功能检测案例

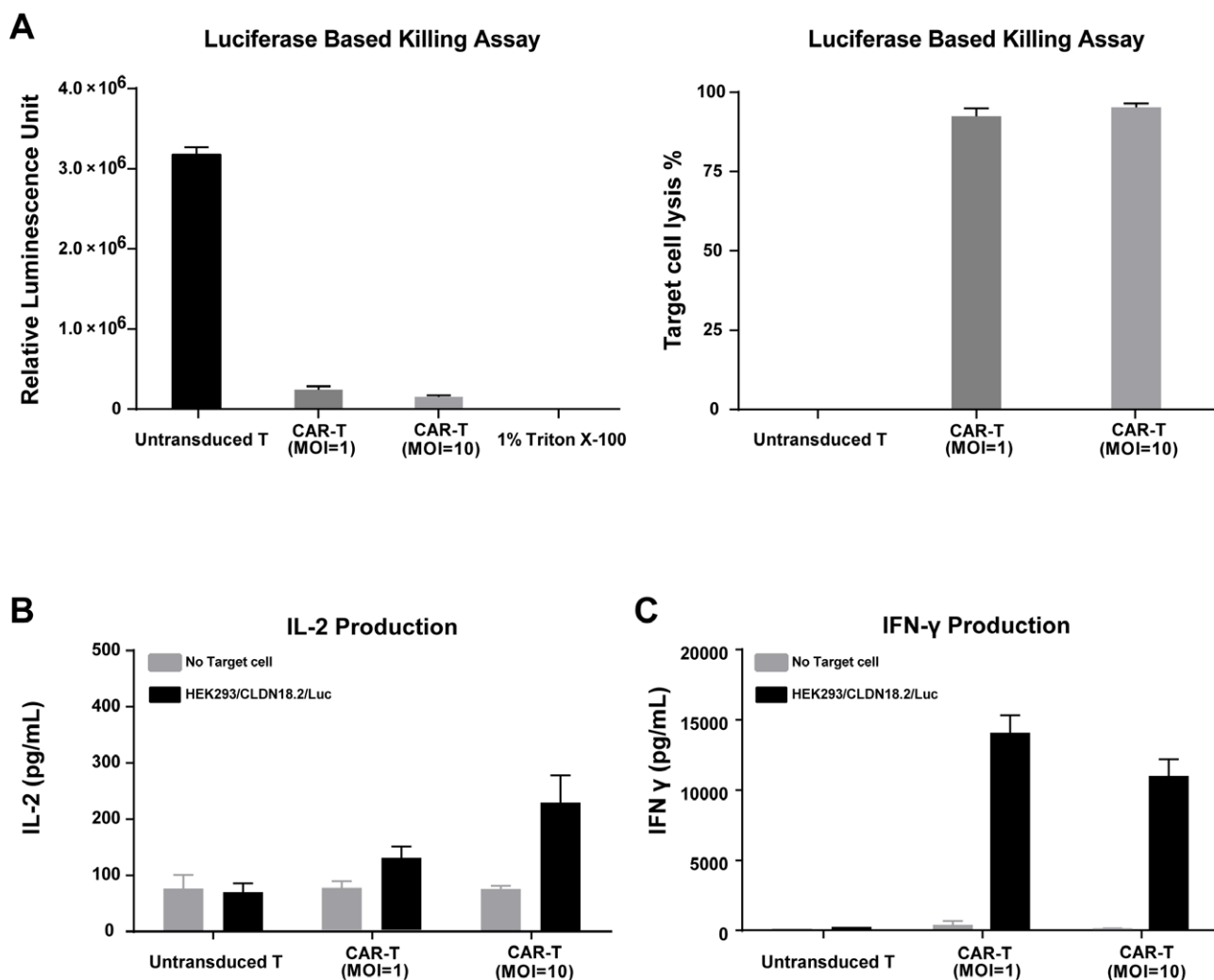
流式细胞术检测 T 细胞转导 CAR 病毒的阳性率



金斯瑞蓬勃生物拥有丰富的原代 T 细胞感染和 CAR 检测经验。案例所示为 FACS 检测 CAR-T 细胞阳性率。横坐标代表 CAR 转染效率 (CAR 序列连接 Flag 标签蛋白), 纵坐标代表 T 细胞百分率, 双阳性细胞群代表 CAR-T 细胞阳性率。

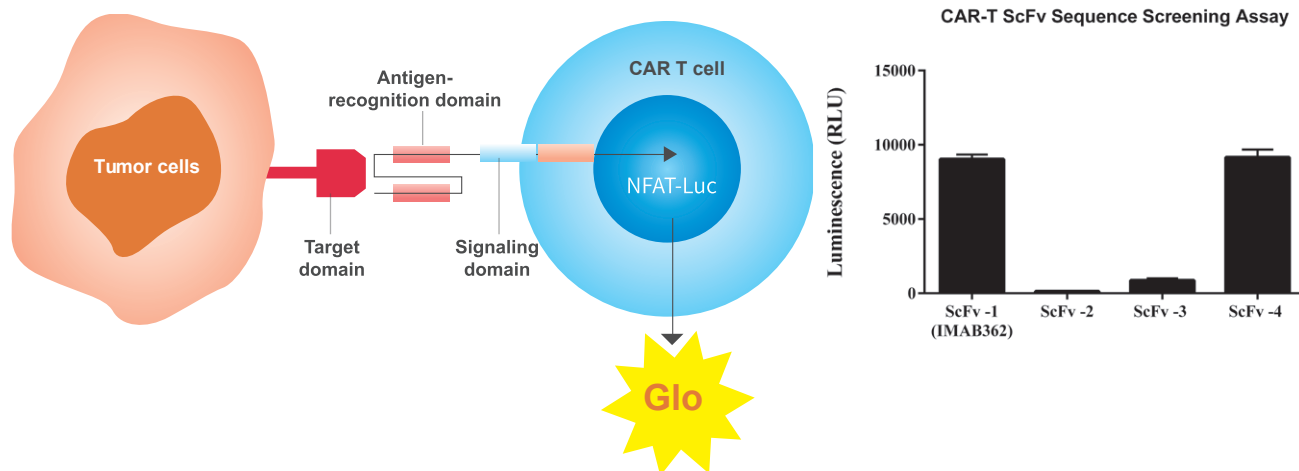


体外靶细胞杀伤和细胞因子分泌数据



金斯瑞蓬勃生物具有一系列 CAR-T 细胞功能评价经验，案例所示为细胞杀伤和细胞因子分泌实验。（A-B）基于报告基因方法检测 CAR-T 细胞杀伤实验，此方法可以简便，准确的评价 CAR 细胞对靶细胞的杀伤。（B-C）CAR-T 细胞与靶细胞共孵育后检测细胞因子，不同 MOI 的 CAR-T 细胞均显著增加 IL-2 和 IFN-γ 分泌。

CAR ScFv 序列筛选案例



基于报告基因的 CAR ScFv 筛选实验 . (A) 工作原理图 (B) Claudin 18.2 CAR ScFv 序列的筛选结果



金斯瑞生物



蓬勃生物

联系我们

网址：www.genscriptprobio.cn

邮箱：Procell@genscript.com

电话：400-025-8686-3172

地址：江苏省南京市江宁科学园雍熙路 28 号