

总结

Retrogenix细胞微阵列技术是一种强大的解决方案,用于识别被抗体、蛋白质、小分子、病毒、嵌合抗原受体细胞和其他配体靶向的特异性人类质膜和分泌蛋白。



探索与安全性评估

[点击查看更多](#)

细胞微阵列技术案例研究： 抗体药物偶联物脱靶结合筛选

有助于使抗体药物偶联物 (ADC) 的开发既可行又安全

背景

抗体药物偶联物 (ADC) 是携带细胞毒性有效载荷的抗体, ADC只与它的预期靶点结合极其重要。

在针对CRL High Peak的全部人类质膜和分泌蛋白库筛选Byondis ADC后, 细胞微阵列数据显示, ADC和相应的裸单抗都能特异性地结合到其主要靶点。

也可以看到与Fc gamma受体的非特异性相互作用, 同型对照和二级检测抗体对照都可以确认这些命中结果具有非特异性。

证明ADC对其主要靶点的高特异性可提高对治疗药物安全性的信心, 并减少ADC在临床上失败的风险。

方法

我们在整个项目中筛选了完整的ADC, 并在确认筛选阶段对同型对照ADC和未偶联单抗进行了反筛。

此研究分为三个阶段:

1. 预筛选: 确定了测试ADC与未转染的HEK293细胞的背景结合水平, 以及与作为阳性对照的过表达已知主要靶点的细胞的结合水平。这些数据被用来评估是否适合继续筛选及其最佳浓度。
2. 库筛选: 对测试ADC进行了筛选, 看其与固定HEK293细胞过表达5484**个全长人类质膜蛋白和细胞表面连接的人类分泌蛋白之间的结合情况。这样确定了库中的命中结果。
3. 确认性筛选: 重新表达所有库中的命中结果, 并与测试ADC或对照处理进行探测, 以确定哪些命中结果(如果有的话)可重复并对测试ADC具有特异性。分别在固定细胞和活细胞上进行了该过程操作。

需要定制检测吗?

访问: criver.com/consult-pi-ds-retrogenix-cell-microarray-assays

EVERY STEP OF THE WAY

需要定制检测吗？

访问：criver.com/consult-pi-ds-retrogenix-cell-microarray-assays

结果和影响

- 预筛选：测试ADC在所有三种测试浓度下（2、5和20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）对未转染的HEK293细胞显示出低水平的背景结合。在所有三种浓度下，都能看到与过表达的已知主要靶点的结合。基于这些数据，Byondis选择在20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的浓度下对测试ADC进行全面分析。
- 库筛选：对20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的测试ADC进行筛选，看其与表达5484种人类质膜蛋白和分泌蛋白的固定HEK293细胞的结合情况，共确定了10个主要命中结果。
- 确认性筛选（固定细胞）：所有10个主要命中结果和两个对照受体都在HEK293细胞中过表达。正如预期，利妥昔单抗生物仿制药与过表达的CD20显示出中等强度的相互作用，这验证了培养条件和检测系统。阳性对照裸抗体，但不是阴性对照ADC，也显示了与已知主要靶点的特异性相互作用。
- 确认性筛选（活细胞）：在没有细胞固定的情况下对活细胞进行确认性筛选时，测试ADC和阳性对照抗体，而不是阴性对照ADC，显示了与已知主要靶点的单一特异性相互作用，如下方图1所示：

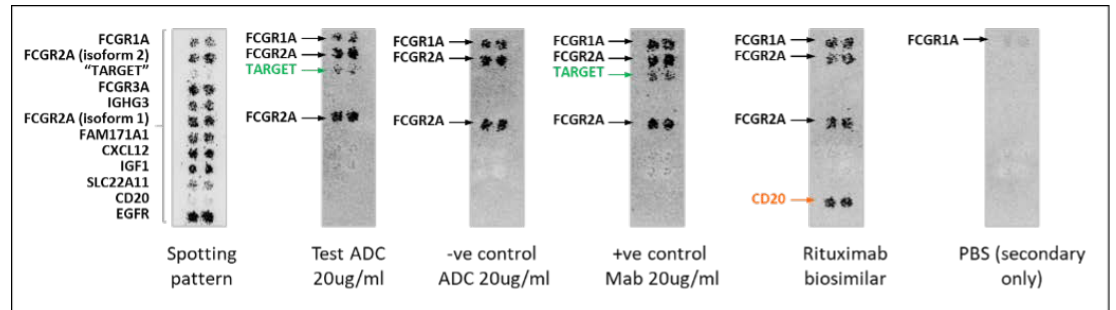


图 1. 测试ADC、阴性对照ADC、裸单抗对照、利妥昔单抗生物仿制药内部对照和二级检测抗体对照的活细胞确认性筛选图。

结论

在对表达5484种人类质膜蛋白和人类分泌蛋白的固定HEK293细胞进行结合筛选后，进行了一系列的确认性筛选，测试ADC和裸抗体都显示出特异性的相互作用——即先前已知的主要靶点。

没有发现脱靶相互作用，表明主要靶点的特异性较高。

参考资料：

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4540738/>