

# 发现靶点 发现药物

使用冷冻电镜获得结构及更多药物发现的信息

发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

Tundra 冷冻透射电镜更加简单易用，性能出色。它提供了揭示结合位点、构象和苗头化合物发现的相关分辨率，同时确保更多药学研究人员只需少量培训即可操作冷冻透射电镜。

X 射线晶体分析法 (XRD) 和核磁共振 (NMR) 波谱法都面临膜蛋白的大小、复杂性和构象不稳定方面的难题。冷冻电镜无需晶体即可确定具有挑战性的蛋白质的结构，为药物苗头化合物的发现和先导化合物的优化提供无可比拟的结构信息。由于其公认的复杂性、极高的学习难度且需要大量资本投资，冷冻电镜让许多药物发现研究人员感到遥不可及。Tundra 冷冻透射电镜在不牺牲性能的情况下提高冷冻电镜的可及性、性价比和空间利用率。



了解 Tundra 冷冻透射电镜如何以生物学相关分辨率实现结构测定。

有关更多信息，请访问 [thermofisher.com/pharmadrugdiscovery](https://thermofisher.com/pharmadrugdiscovery)

发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

# 生物制剂的发现和开发

## 使用 Tundra 冷冻透射电镜革新药物发现

生物药物包括治疗性蛋白质（如多肽和抗体）、激素、疫苗、基因疗法、细胞疗法、生长因子、细胞因子、胰岛素等。<sup>1</sup> 由于生物制剂高度的分子复杂性和特异性，了解药物靶点和发现候选药物之间的结构信息和结合模式至关重要。深入了解候选药物的作用机理、结合方向、表位 - 互补位识别改变和亲和力改变可以指导药物开发并提高成功率。

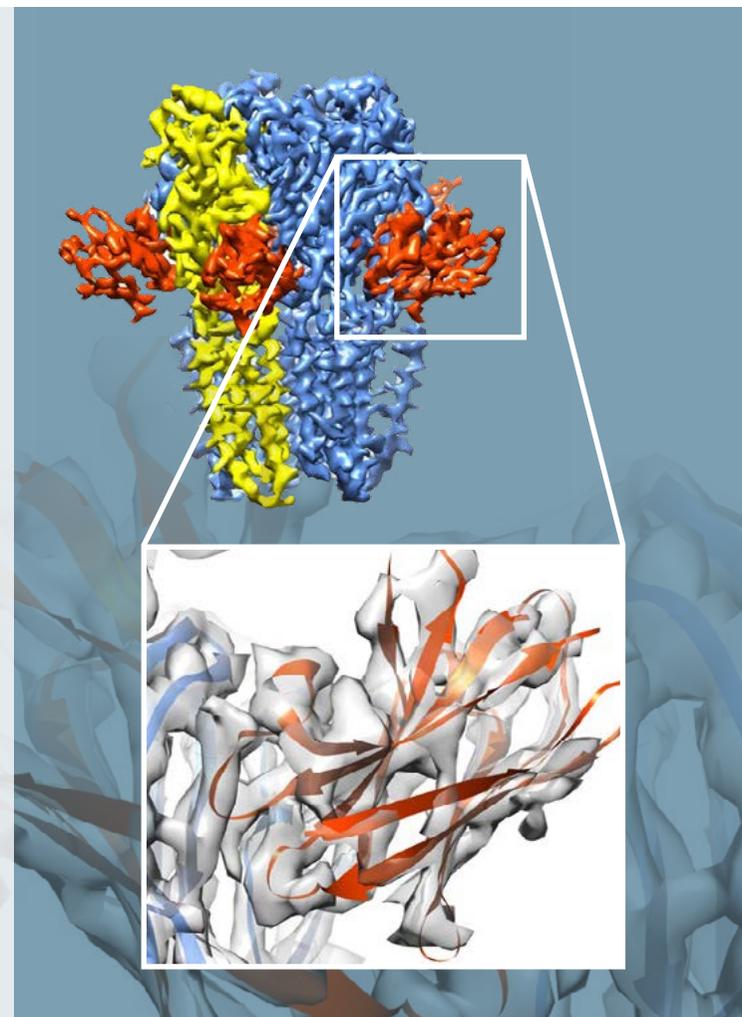
### 克服难题

然而，许多这些关键的生物靶点由于其大小、复杂性以及在某些情况下的构象灵活性而不适合采用传统的结构测定技术。传统技术不可预测的成功率给生物药物的发现带来了挑战，可能会导致成本高昂得惊人，时间过度拉长。此外，由于晶体接触<sup>2</sup> 以及溶剂和聚合物的存在，使用 X 射线晶体分析法等传统结构解析技术获得的结构不能保证完整的生物学相关性。



预见未来：冷冻电镜在药物发现中的应用

采访辉瑞公司 Xiyang Qiu 博士、Seungil Han 博士和 Philip Dormitzer 医学博士。



脂质纳米盘中的 GABAA 受体。其结构由 Tundra 冷冻透射电镜测定，分辨率为 3.4 Å。样品由英国剑桥医学研究委员会分子生物学实验室 Radu Aricescu 以及赛默飞世尔科技 Dimple Karia 和 Abhay Kotecha 提供。

发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

冷冻电镜单颗粒分析技术是药物发现中至关重要的结构解析工具，它可以获得本来棘手的各类生物靶点的结构信息，促进新疗法的开发。该技术可以将样品保持在近原生条件来避免样品的生理状态被破坏，且没有其他传统方法耗时长和不确定等缺点。

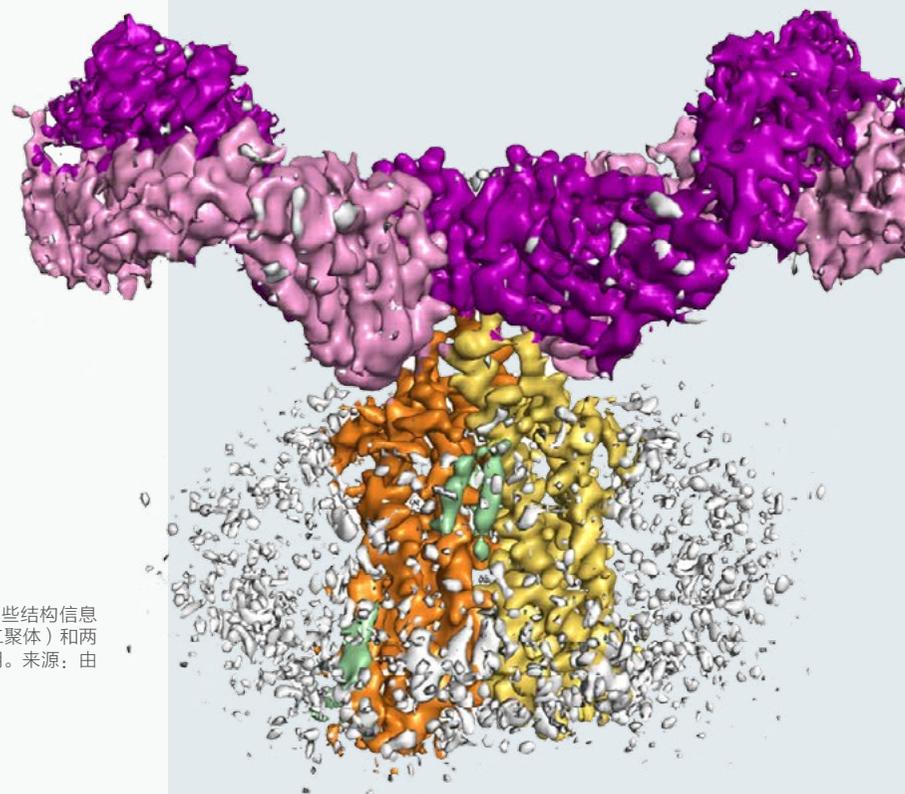
冷冻电镜单颗粒分析可以更轻松地解析传统结构方法难以解析的大复合体（如与抗体片段结合的整个靶点）。除了能对无法结晶的样品进行结构分析，冷冻电镜技术还能探索与多构象的生物样品有关的全新问题。

### 案例研究

众所周知，利妥昔单抗可用于治疗某些自身免疫性疾病和癌症，最近使用冷冻电镜对其靶点 CD20 进行了成像。<sup>9</sup> 得到的 CD20- 利妥昔单抗复合体结构模型（右图）前所未有地显示了治疗靶点 CD20 的结构，并一定程度地揭示了以前并不清楚的利妥昔单抗作用机理。这些结构信息解释了为什么利妥昔单抗对 CD20 有如此高的亲和力，却对其一个胞外环上的主要表位的亲和力很低。理解抗体与受体的结合模式对于发现和开发更高效的抗体药物有重要意义。

本例所示的表位作图和生物药物结构解析可以使用高度自动化的 Tundra 冷冻透射电镜轻松完成。即使非专家用户也可轻松使用冷冻电镜来了解与生物制剂相关的结构并彻底改变工作方式。

右图：使用冷冻电镜得到的 CD20- 利妥昔单抗复合体结构。这些结构信息揭示了糖萼辣皂苷元 (GDN) 胶束中 CD20（一种 B 细胞膜蛋白二聚体）和两个抗原结合片段 (Fabs，紫色的重链和粉色的轻链) 的相互作用。来源：由 Hans Raaijaker 改编自 Rougé 等人的模型。



发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

# 冷冻电镜助力小分子药物发现

Tundra 冷冻透射电镜能让您进行更多科学发现

基于结构的药物设计提供了关于小分子如何与其药物靶点相互作用的结构信息，揭示了结构与活性之间的关系。由于减少了需要合成的化合物，因而能够缩短药物发现的时间，降低成本和失败率，筛选出高效候选药物。

## 克服难题

准确预测传统结构生物学技术束手无策的靶点的分子性质是一项艰巨任务。设计药物时如果缺乏及时、详细的信息，会导致：

- 筛选小分子药物候选先导化合物时的漫长试错
- 因面临加快获得结果的巨大压力而错过更有效的方案

结构信息可帮助您的实验室缩短从早期药物发现到临床试验的上市时间。

冷冻电镜通常用来获得离子通道、转运体、受体和膜蛋白复合物等棘手靶点的结构。冷冻电镜的分辨率能够揭示小分子的结合口袋，更容易明确确定药物分子的结合模式，并开展更多基于结构信息的项目。

在现场配置简单易用的 Tundra 冷冻透射电镜，以便：

- 开展更多基于结构信息的项目
- 避免等待冷冻电镜成像服务或共享设施
- 生成高质量的冷冻电镜样品，然后使用更高分辨率的工具进行数据采集（参见样品优化）
- 以支持先导化合物发现项目的分辨率显示难以结晶的大分子

无论您的研究领域是结构生物学还是药物化学，简单的 Tundra 冷冻透射电镜使您能够完成更多结构发现工作。利用主要药物靶点类别的合理药物设计，降低药物发现成本，将更好的药物加快推向市场。



发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

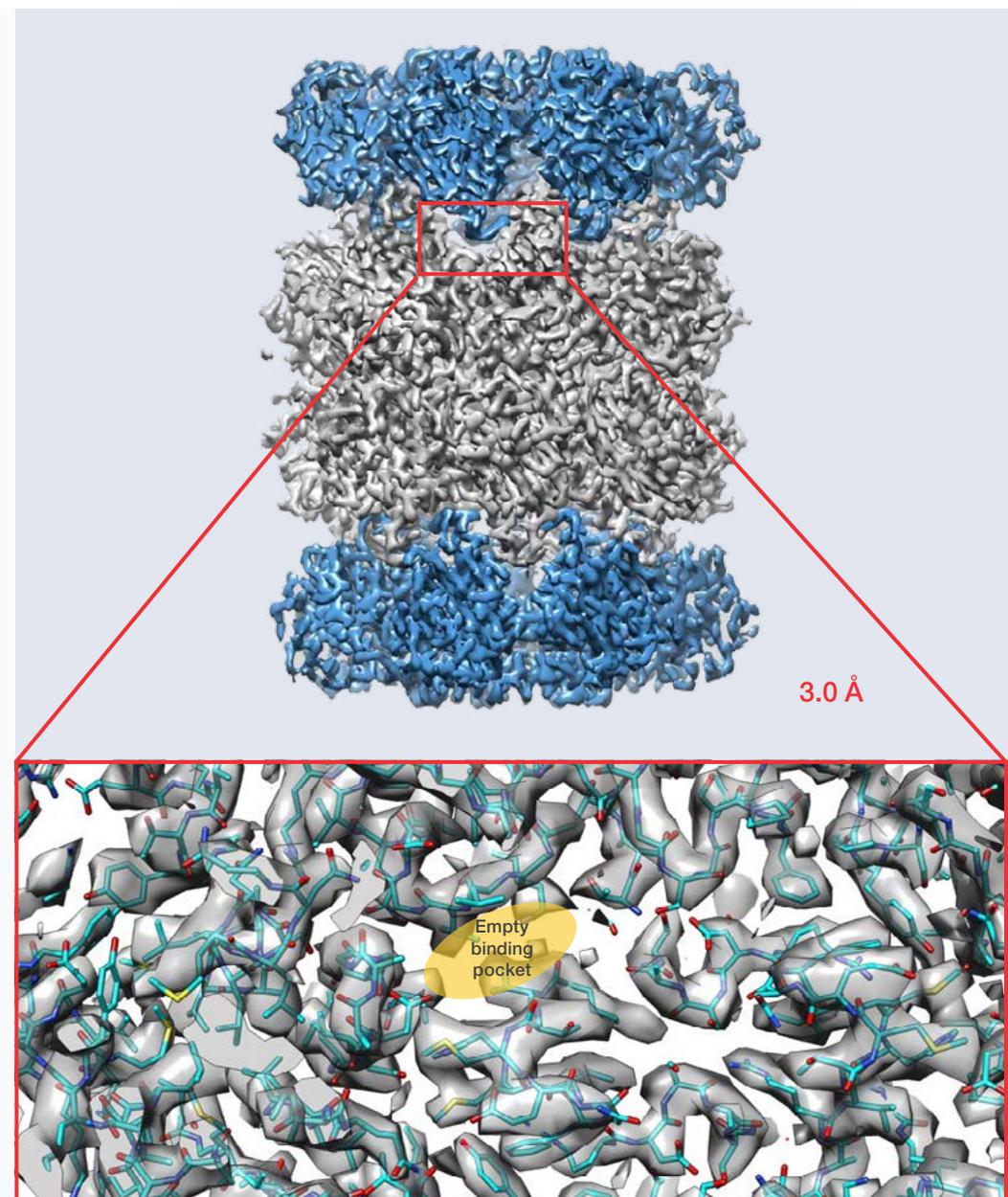
发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

### 案例研究

T20S 蛋白酶体的重构结果是使用 Tundra 冷冻透射电镜以 3.0 Å 的分辨率获得的。这些结构信息使研究人员能够确定配体如何与该蛋白质（细胞代谢的关键组成部分）结合。通过放大 T20S 蛋白酶体的一个典型结合袋，研究人员可以看到结合部位是空的（黄色填充），因为在这个区域看不到密度。图示为硼替佐米（一种治疗癌症的蛋白酶体抑制剂）的结合口袋，表明在该分辨率下，您可以确定配体是否与靶点结合。



右图：T20S 蛋白酶体的原子模型与用 Tundra 冷冻透射电镜确定的电子密度图。生成的结构图以黄色显示硼替佐米的结合袋。样品由德国马丁雷德马普生化研究所 Juergen Plitzko 提供。

发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

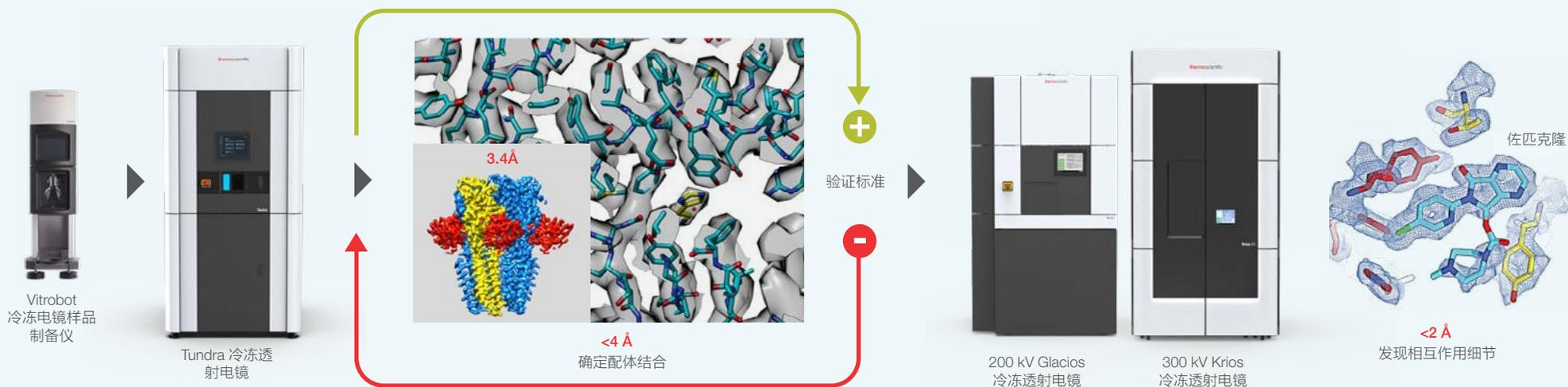
操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

### 案例研究

人 GABAA ( $\gamma$ -氨基丁酸 A 型) 受体是一种 200 kDa 膜蛋白和介导抑制性神经传递的配体门控氯离子通道。癫痫、失眠、焦虑和睡眠障碍等神经元疾病是 GABAA 受体神经递质不能在人类大脑中正常发挥化学信使作用的直接结果。

作为重要的治疗靶点，理解这些受体介导神经传递的分子机制至关重要。然而，经过几十年的努力，只有非生理形式的 GABAA 受体得到结晶和结构解析，而解释受体作用机理需要生理形式。Tundra 冷冻透射电镜用于优化样品，获得 GABAA 受体稳定构象的初始结构，其细节可以确定配体与结合的抗体。该图显示了一个原子模型拟合，其结合口袋中可见所有的主要侧链和一个组胺(黄色)配体。还能看到 megabody(红色/橙色密度)与其受体的蛋白质相互作用。



快速内部样品优化冷冻电镜工作流程显示了如何使用 Tundra 冷冻透射电镜确定合适的样品制备标准以获得高分辨率结构。使用 Tundra 冷冻透射电镜获得的 GABAA 受体结构显示了主要的侧链，其结合袋中有 megabody (红色/橙色) 和一个组胺(黄色)。样品由英国剑桥医学研究委员会分子生物学实验室 Radu Aricescu 提供。

发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

## Tundra 介绍

在基于结构的药物设计 (SBDD) 工作流程中使用冷冻电镜，可以解析传统方法无法解析的蛋白质近原生状态，从而获得许多优势。

Thermo Scientific™ Tundra™ 冷冻透射电镜是我们最新的结构测定专用解决方案，使每个基于结构的生物化学实验室都能进行冷冻电镜 (cryo-EM) 单颗粒分析 (SPA)。这款电镜的购置和维护成本较低，自动化水平高，即使非专家用户也可轻松使用冷冻电镜解决生物学问题。

本电子书介绍了 Tundra 冷冻透射电镜在生物实验室的灵活应用和功能。Tundra 冷冻透射电镜：

- 帮助发现和开发生物制剂
- 支持基于结构的小分子药物发现
- 筛选样品，提高在功能更强大的显微镜上的通量和成功率
- 易于使用

### 主要优势

用户界面友好，带有预设功能，可简化数据采集  
人工智能引导式自动化，其算法让电镜不断自主学习  
简单迭代的上样和成像，可优化常见的生物化学样品  
以生物学相关分辨率提供结构信息  
服务解决方案助您走向成功  
性价比高，节省空间



发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

# Tundra 冷冻透射电镜：注重易用性

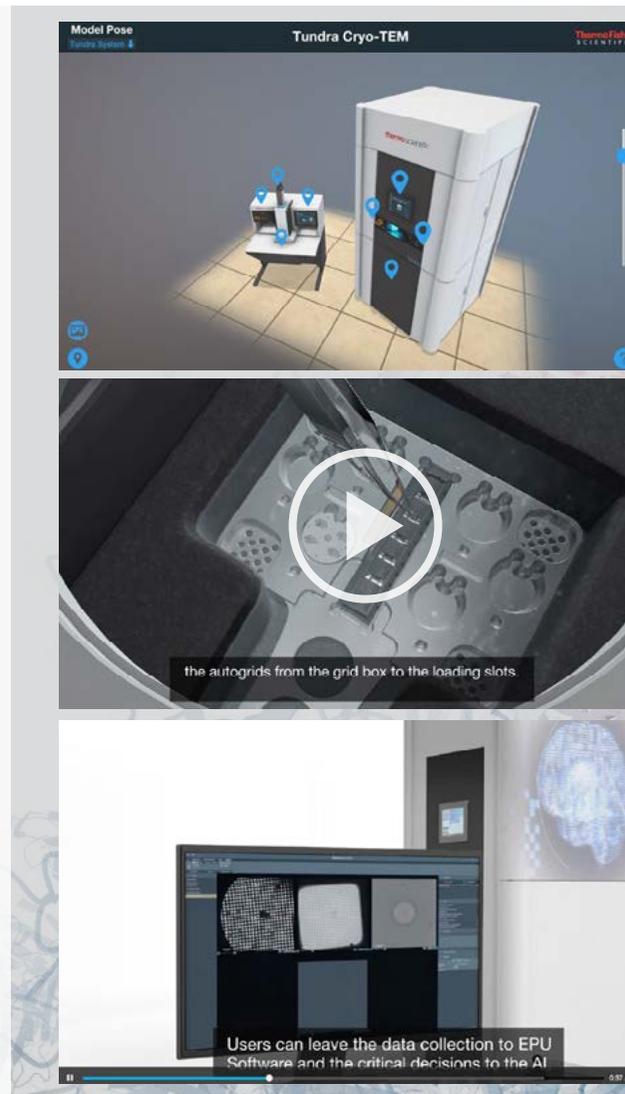
## 使用智能显微镜进行科研

Tundra 冷冻透射电镜实现了简单易用与出色性能的高度均衡，确保更多药学研究人员只需少量培训即可操作冷冻透射电镜。其特点如下：

- 半自动上样方式，与传统显微镜相比，各种经验水平的用户都能更轻松地上样。科研人员可在几分钟内更换样品。支持立即检查结果，研究人员能够迅速优化生物化学样品条件。
- 人工智能和引导式自动化，帮助非专家用户快速确定样品的质量并轻松驾驭原本复杂的工作流程。随着样品在冷冻电镜过程中移动，结果会以红绿灯形式显示，帮助操作员快速确定样品是否可用。

## 利用三维结构解决生物学问题

Tundra 冷冻透射电镜能够以生物学相关分辨率验证生物化学研究，在近原生条件下显示蛋白质、小分子和翻译后修饰在大型动态蛋白质系统中相互作用的结构细节。这些分子细节证实了复杂生物系统（如膜蛋白、蛋白质复合体以及病毒、核糖体和蛋白酶等大分子机器）对人类健康和疾病的作用机理。Tundra 冷冻透射电镜能够以高达 3.4 Å 的分辨率获得 GABAA 受体的结构，以 3.0 Å 的分辨率获得 T20S 蛋白酶体的结构。在这个分辨率水平上，可以看到许多重要的生物细节，如抗体或纳米抗体的结合（这对表位作图至关重要）、蛋白质复合体形成和相互作用的分子细节、小分子的结合或病毒与受体之间的相互作用。这种高分辨率图支持从头建模，帮助科研人员了解蛋白质的作用机理、如何修饰基因以及如何进行相应的药物设计。



交互式模型支持查看上样工作站、软件用户界面和 Tundra 冷冻透射电镜仪器。点击和拖动鼠标可旋转视图。点击固定图标可获得更多信息并查看视频。

发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

## 服务解决方案助您走向成功

除了先进的硬件，我们还提供全面的服务，助您成功使用 Tundra 冷冻透射电镜。贯穿保修期的 Accelerate 服务系列提供工作流程验证和应用支持，对用户进行全套工作流程培训。客户成功经理将与您一起确保取得预期结果。通过 Scientific Workflows 分步应用程序，随时获取资源。通过安全的 Connected Care 门户网站查看系统健康状态和性能指标。我们的技术团队将监测您的系统性能，并在需要维护时现场响应。Accelerate 适用于具有不同预算和购买周期的客户。我们的团队将为您提供培训、工具和资源，助您成功使用 Tundra 冷冻透射电镜，优化投资。



### 工作流程验证

数据收集流程得到分析和反馈调节，以达到最好的分辨率。



### Scientific Workflows 应用程序

通过冷冻电镜单颗粒分析工作流程提供分步指导，各种经验水平的用户都能优化结果。



### 客户成功经理

专门的技术专家将提供安装支持，为您提供支持和资源，并定期与您会面，讨论系统性能和工作效率。

## 性价比高且节省空间的冷冻电镜触手可及

Tundra 冷冻透射电镜的新硬件结构经过专门设计，在不牺牲性能的情况下缩小占用空间并简化访问路径。在许多情况下，这种设计能避免为容纳仪器改动现有实验室基础设施（甚至需要新建专用实验室）而增加投资和不必要的停机时间。Tundra 冷冻透射电镜价格较低，让更多制药公司能以生物学相关分辨率获得结构信息。



### 系统远程监控

技术专家将监测关键的系统参数，并在您需要支持的情况下主动通知现场服务工程师。



### Connected Care 门户网站

基于云计算的安全门户网站显示系统健康状态和性能指标。您可以跟踪正常运行时间和利用率，按模块查看系统健康状态，方便地阅读系统报告。



### 现场和远程应用支持

提供全套样品和工作流程培训和支持，包括上样、显微镜和相机操作、显微镜优化等。

发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

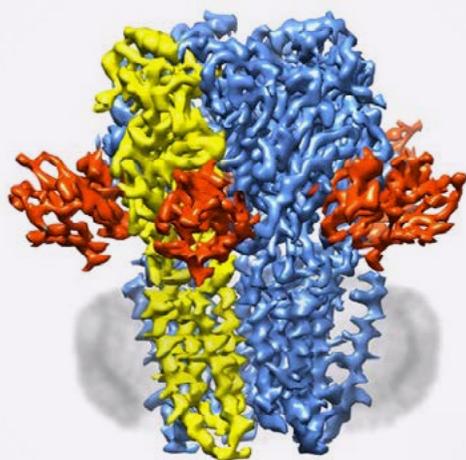
操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

# 针对各种 workflows 的技术

Tundra、Glacios 和 Krios 冷冻透射电镜：不同生物学问题的解决方案

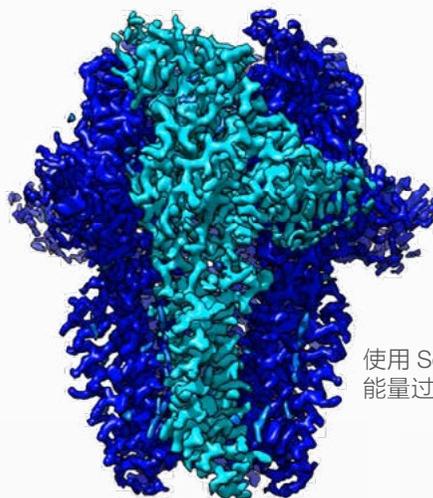
4.3 Å 分辨率



Tundra 冷冻透射电镜

**<5 Å**  
表位作图

2.4 Å 分辨率



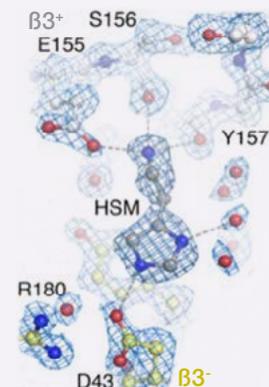
使用 Selectris X  
能量过滤器



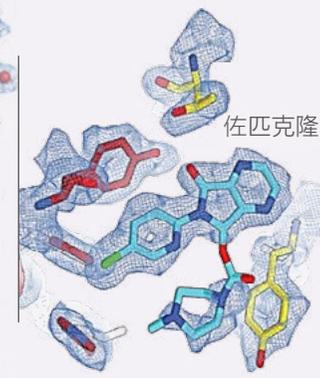
Glacios 冷冻透射电镜

**<2.5 Å**  
水分子 / 模型构建

1.7 Å 分辨率



1.9 Å 分辨率



使用 Selectris X  
能量过滤器



Krios 冷冻透射电镜

**<2 Å**  
氢原子 / 配体识别 / 相互作用

发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

## 我们的全套冷冻电镜产品可满足您的药物发现和开发需求

- 自动校准和软件
- 减少用户干预的需求
- 轻松组织、查看和共享数据
- 远程分析和可视化数据

### Tundra 冷冻透射电镜：易于使用，智能分析

- 简单迭代的上样和成像，可快速测定样品情况
- 人工智能引导式自动化，逐步显示结果
- 性价比高，节省空间

中分辨率单颗粒分析	100 kV, <math><3.5 \text{ \AA}^*</math>
中通量	6 小时的数据采集
样品类型	蛋白质
应用	单颗粒分析

### Thermo Scientific Glacios™ 冷冻透射电镜：功能强大，用途广泛

- 极致的易用性和出色的性能，提供完整的软件包支持冷冻透射电镜在研究中的应用
- 硬件占用空间小（将安装要求降至最低），价格实惠

高分辨率单颗粒分析	200 kV, <math><3 \text{ \AA}^*</math>
高通量	30 分钟的数据采集
样品类型	蛋白质、晶体
应用	单颗粒分析、微晶电子衍射

### Thermo Scientific Krios™ 冷冻透射电镜：性能强大，富有成效

- 集成的工作流程解决方案可达到最高工作效率和图像质量
- 从样品玻璃化到数据分析的最高自动化水平
- 紧凑设计适合标准实验室，无需昂贵的改造

超高分辨率单颗粒分析	300 kV, <math><2 \text{ \AA}^*</math>
最高通量	数分钟的数据采集
样品类型	蛋白质、晶体、细胞
应用	单颗粒分析、微晶电子衍射、断层扫描

\* 基于公布的最佳性能，实际结果取决于样品和用户体验等非显微镜因素。不保证生物分辨率性能。



发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

		Thermo Scientific Tundra 冷冻透射电镜 (100 kV)	Thermo Scientific Glacios 冷冻透射电镜 (200 kV)	Thermo Scientific Krios 冷冻透射电镜 (300 kV)
样品类型	蛋白质 (单颗粒分析)	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓
	晶体 (微晶电子衍射)	×	✓✓✓	✓✓✓
	细胞 (断层扫描)	×	✓	✓✓✓
样品制备	迭代样品优化	✓✓✓	✓	✓
	自动化样品优化	✓	✓✓	✓✓✓
性能	常规生物学分辨率 (3.5 Å)	✓	✓✓	✓✓✓
	近原子级分辨率 (2.5 Å)	×	✓✓	✓✓✓
	已公布的终极分辨率	2.6 Å*	1.75 Å**	1.22 Å
通量和工作效率	达到 3.5 Å 分辨率所需时间 (脱铁铁蛋白) ***	6 小时	30 分钟	几分钟
	达到 2.5 Å 分辨率所需时间 (脱铁铁蛋白) ***	×	2 小时	10 分钟
文章记录	出版物 (2014–2019)	0	>35**	>1570
	安装基数	0	>60**	>225
单一供应商支持	一站式商店	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓
易用性	适合新用户	✓✓✓	✓	✓✓
	适合实现近原子级分辨率	×	✓✓	✓✓✓
成本	平均售价	\$	\$\$	\$\$\$
	拥有成本	\$	\$\$	\$\$\$
	每个结构的成本	\$\$\$	\$\$	\$

\* 脱铁铁蛋白在 100 kV 上获得的数据，未公布

\*\* 在 Thermo Scientific™ Talos Arctica™ 冷冻透射电镜上获得的 200 kV 数据，和 / 或包括 Talos Arctica 冷冻透射电镜 (初始 200 kV 仪器)

\*\*\* 假设因与显微镜无关的因素而变化，这些因素包括但不限于用户体验、样品类型、质量和浓度

发现：  
生物制剂

发现：  
小分子药物

发现：  
样品优化

操作：  
易于使用

操作：  
内部采用

## 为什么应该考虑在内部配置冷冻电镜？

赛默飞世尔科技的冷冻电镜解决方案使用方便，并提供现场培训、全面的工作流程支持和适合各种预算水平的定制财务方案。

### 赋能科研

- 支持立即使用冷冻电镜获得结构信息
- 通过在内部快速配置冷冻电镜，改善 SBDD 结果

### 易于使用

- 提供实操培训，助您迅速掌握冷冻电镜技能和知识
- 轻松的现场准备，无缝改造实验室
- 完整的解决方案：Thermo Scientific Vitrobot™ 系统，VidroEase™ 样品制备辅助套装和整套样品制备工具

### 经济实惠

- 提高工作效率并利用低收费的外包服务
- 通过付款计划迅速产生收入，加速投资回报
- 通过可负担的灵活财务方案降低投资壁垒





## 了解冷冻电镜如何推动生物医学研究

只需要少量的蛋白质样品，研究人员即可使用冷冻电镜更全面地了解膜蛋白的作用机理及其对疾病的影响。了解科研人员如何通过使用冷冻电镜获得大分子复合体的结构来改进药物设计。



## 参考资料:

1. US Food and Drug Administration. "What are 'biologics' questions and answers." <https://www.fda.gov/about-fda/center-biologics-evaluation-and-research-cber/what-are-biologics-questions-and-answers> (2018) [Accessed May 27, 2021].
2. Luo J, et al., A structural dissection of large protein-protein crystal packing contacts. *Sci Rep* (2015). 474 2015. 5: p. 14214.
3. Rougé L, Chiang N, Steffek M, et al. Structure of CD20 in complex with the therapeutic monoclonal antibody rituximab. *Science* (2020).
4. Wasilko DJ, Johnson ZL, Ammirati M, et al. Structural basis for chemokine receptor CCR6 activation by the endogenous protein ligand CCL20. *Nature Communications* (2020).

有关更多信息，请访问 [thermofisher.com/pharmadrugdiscovery](https://thermofisher.com/pharmadrugdiscovery)



赛默飞  
官方微信



赛默飞材料与  
结构分析官方微信



赛默飞冷冻电镜  
CryoEM 官方微信

服务热线: 800 810 5118/400 650 5118  
中文网站: [www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)  
E-mail 地址: [sales.msds@thermofisher.com](mailto:sales.msds@thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC