

高通量药物筛选

HIGH THROUGHPUT SCREENING



INHIBITORS &
AGONISTS



COMPOUND
LIBRARIES



RECOMBINANT
PROTEINS



NATURAL
PRODUCTS



TECHNICAL
SERVICE

TargetMol[®]

YOUR TARGET MOLECULES

INHIBITORS & AGONISTS | COMPOUND LIBRARIES | TECHNICAL SERVICE
RECOMBINANT PROTEINS | NATURAL PRODUCTS

www.targetmol.cn



CONTENT 目录

高通量药物筛选概述 01

...

筛选方案及案例 02

...

药物发现一站式平台 11

高通量筛选化合物库 12

高通量筛选技术服务 14

- 抗肿瘤筛选.....14
- 亲和力测试.....19
- 激酶谱筛选.....24
- 细胞 3D 打印模型药物筛选.....17
- 靶点垂钓.....23
- 药代动力学检测.....29

...

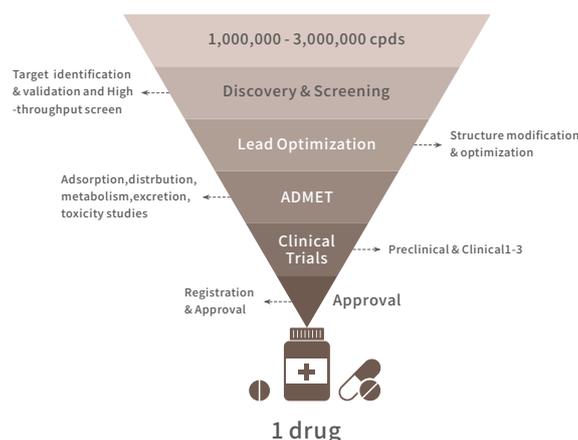
TargetMol 技术服务文献引用 31



高通量药物筛选

High throughput screening

高通量筛选技术 (High throughput screening, HTS) 诞生于 20 世纪 90 年代, 是将化学、生物学、生物信息学以及自动化仪器等先进技术有机结合, 发展而成的高自动化、高程序化的药物发现新模式。高通量筛选通常以分子水平和细胞水平的实验方法为基础, 以微板形式作为实验工具载体, 以自动化操作系统执行实验过程, 以灵敏快速的检测仪器采集实验结果, 以计算机分析处理实验数据, 在同一时间检测数以千万的样品, 得到丰富的实验数据。它具有微量、快速、灵敏和准确等特点, 可通过一次实验获得大量信息, 对成千上万种化合物活性情况进行快速甄别。



在过去的 20 多年里, 高通量筛选成为化学药物开发中小分子苗头化合物发现的主力军。很多 FDA 批准的化学类抗肿瘤药物都可追溯至早期的小分子化合物的筛选, 表明高通量筛选已成为一种高效的鉴定先导化合物的方式, 在现代化学药物开发过程中的重要性不言而喻。

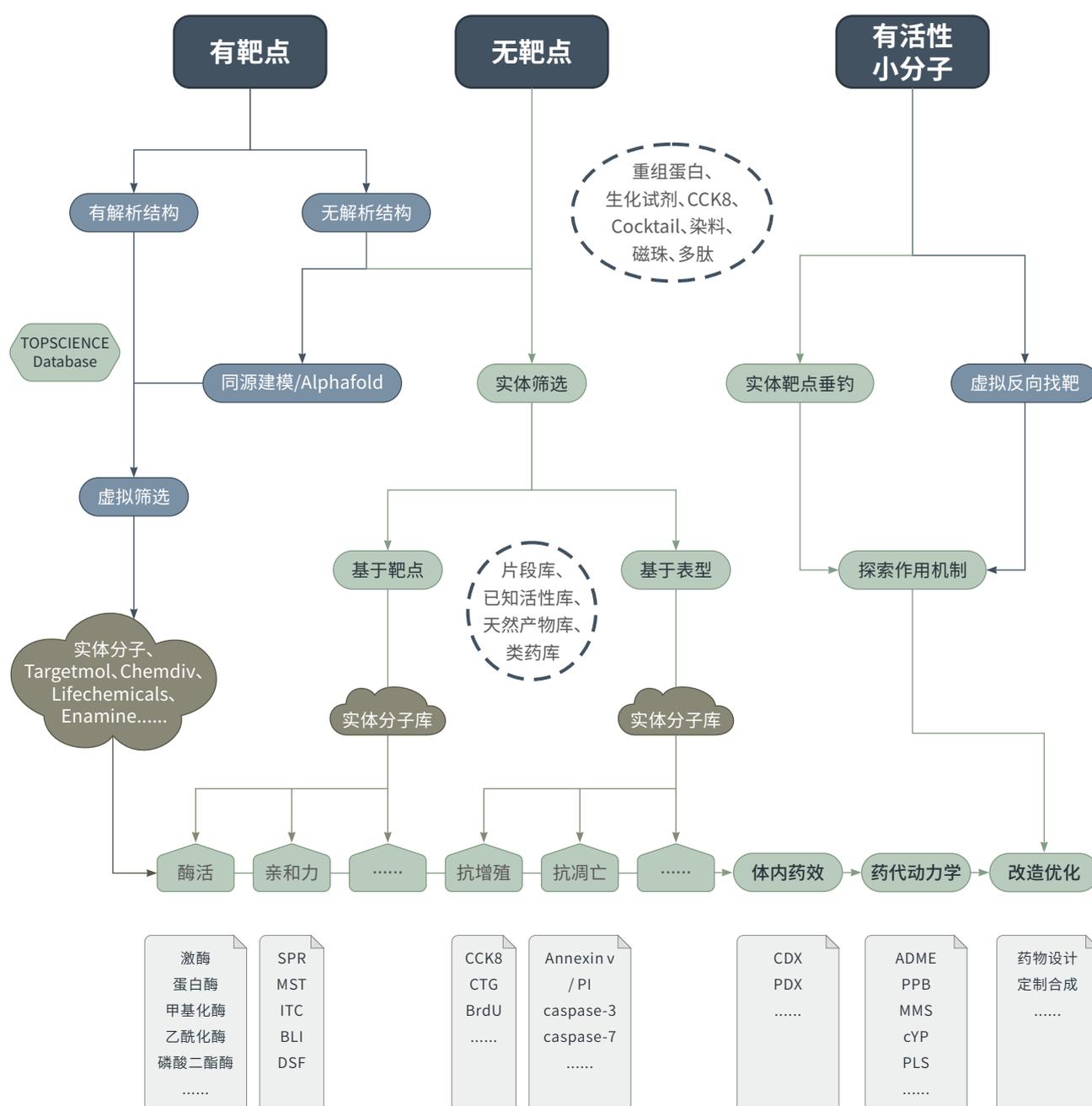
Drug	Date Approved	US Brand Name	Approved Use in Cancer	Target of Small-Molecule Screen	Assay Type	Reference(s)
Alectinib	12/11/2015	Alecensa	Non-small cell lung cancer	Anaplastic lymphoma kinase (ALK)	Not available	Sakamoto et al. (2011)
ixazomib Citrate Sonidegib	11/20/2015 7/24/2015	Ninlaro Odomzo	Multiple myeloma Basal cell carcinoma	20S proteasome Hedgehog (Hh) signaling	Not available Cell-based: Hh-responsive Gli-luciferase reporter assay in the TM3 mouse cell line	Kupperman et al. (2010) Pan et al. (2010)
Olaparib	12/19/2014	Lynparza	Ovarian cancer	Poly(ADP-ribose) polymerase-1	Biochemical: FlashPlate scintillation proximity assay	Dillon et al. (2003), Loh et al. (2005), Menear et al. (2008)
Ceritinib	4/29/2014	Zykadia	Non-small cell lung cancer	Anaplastic lymphoma kinase	Cell-based: selective cytotoxicity of Ba/F3 NPM-ALK vs. nontransformed parental Ba/F3 cells	Galkin et al. (2007)
Ibrutinib	11/13/2013	Imbruvica	Chronic lymphocytic leukemia, mantle cell lymphoma, Waldenstrom macroglobulinemia	Bruton's tyrosine kinase	Biochemical: Forster resonance energy transfer enzyme assay	Pan et al. (2007), Honigberg et al. (2010)
Trametinib	5/29/2013	Mekinist	Melanoma	Cyclin-dependent kinase 4 inhibitor B (p15 ^{INK4b})	Cell-based: branched-DNA assay with p15 ^{INK4b} -specific probes in HT-29 cells	Yamaguchi et al. (2007), Abe et al. (2011)
Enzalutamide	8/31/2012	XTANDI	Prostate cancer	Androgen receptor	Cell-based: human prostate cancer cells	Tran et al. (2009)
Vismodegib	1/30/2012	Erivedge	Basal cell carcinoma	Hh signaling	Cell-based: Hh-responsive Gli8x-luciferase reporter assay in C3H/10T1/2 cells	Williams et al. (2003), Romer et al. (2004), Zhang et al. (2009)
Lapatinib	3/13/2007	Tykerb	Breast cancer	Epidermal growth factor receptor	Not available	Fry et al. (1994), Macarron et al. (2011)
Dasatinib	6/28/2006	Sprycel	Acute lymphoblastic leukemia, chronic myelogenous leukemia	Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase	Biochemical: filter-binding assay	Padmanabha et al. (1998), Das et al. (2006)
Sorafenib	12/20/2005	Nexavar	Hepatocellular carcinoma, renal cell carcinoma, thyroid cancer	Raf1 (C-Raf) kinase	Biochemical: scintillation proximity assay	Wilhelm et al. (2006)
Erlotinib	11/18/2004	Tarceva	Non-small cell lung cancer, pancreatic cancer	Epidermal growth factor receptor	Not available	Fry et al. (1994), Macarron et al. (2011)
Gefitinib	5/5/2003	Iressa	Non-small cell lung cancer	Epidermal growth factor receptor	Not available	Fry et al. (1994), Macarron et al. (2011)
Zoledronic acid	8/20/2001	Zometa	Multiple myeloma, hypercalcemia	Not available	Not available	Green et al. (1994)

Pharmacol Rev. 2017 Oct;69(4):479-496.

SCHEME 筛选方案及案例

Scheme and Cases

高通量药物筛选往往在靶点/疾病模型确立后开展, 根据靶点类型和筛选目的选择基于表型/基于靶点的筛选体系, 经过细胞水平、分子水平、动物水平层层过滤, 最终获得特异性靶向靶点的有效苗头化合物。针对有明确靶点且结构解析清楚有合适“对接口袋”的情况, 可优先考虑性价比更高的虚拟筛选, TargetMol 虚筛数据库中 90% 以上的小分子都可以实体供应, 解决后顾之忧。



1、基于靶点结构的药物筛选方案

若有明确的靶点蛋白,且结构已被解析或可通过 Alphafold 预测获得,找到合适的对接位点,即可开展虚拟筛选。常规虚筛数据量在百万级别,对海量化合物和靶点的亲和程度进行打分排序,由此选出 TOP100-200 个化合物进入实体验证环节。

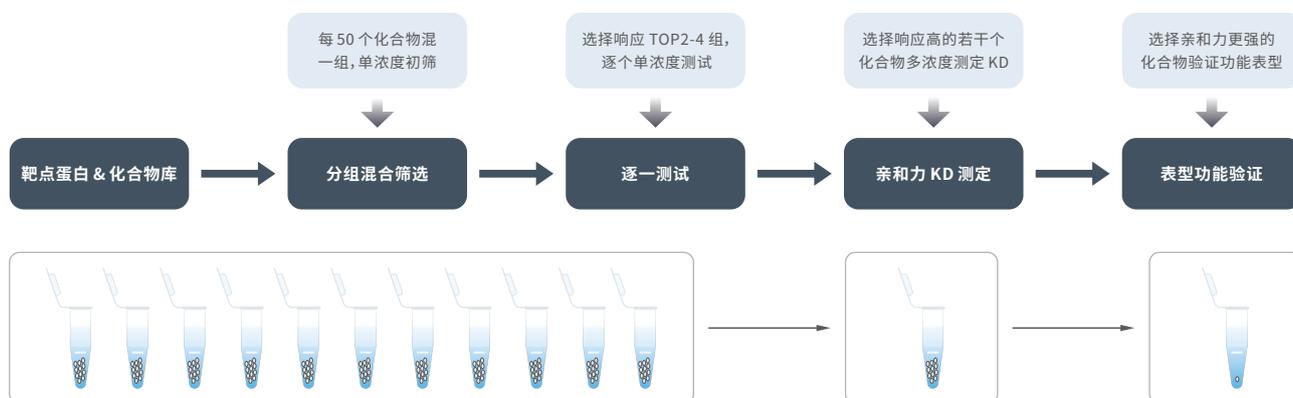
实体验证环节一般包含两个方面,即亲和力检测和功能检测。生物物理方法检测亲和力有多种技术可选, SPR / MST / BLI / ITC / DSF 等均可达到目的。功能检测主要依据研究方向和治疗目的来确定,可依次选择分子水平、细胞水平、动物水平的检测层层筛选,最终获得在体内外均具有良好效果的苗头化合物。



TargetMol 提供 800+ 化合物库,助力科研人员在药物研发的各个阶段进行高通量筛选、活性化合物发现、结构优化及生物活性研究。

靶点通用方案设计 (金标准 SPR 技术筛选化合物库新策略)

“有结合才会有功能,有功能一定有结合”。Binding(结合)和 Function(功能)是体外药效初步评价中的重要两环,对于候选药物来说,结合是其药物发挥功能的必要条件。表面等离子体共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 是一种光学物理现象,实验时先将一种生物分子固定在传感器芯片表面,将与之相互作用的分子溶于溶液流过芯片表面,检测器能跟踪检测溶液中的分子与芯片表面分子的结合、解离整个过程的变化。TargetMol 利用 SPR 技术筛选开发新型筛选策略,使筛选化合物库的成本大幅下降,非常适合筛选蛋白、核酸、脂质等靶点高亲和力活性分子!



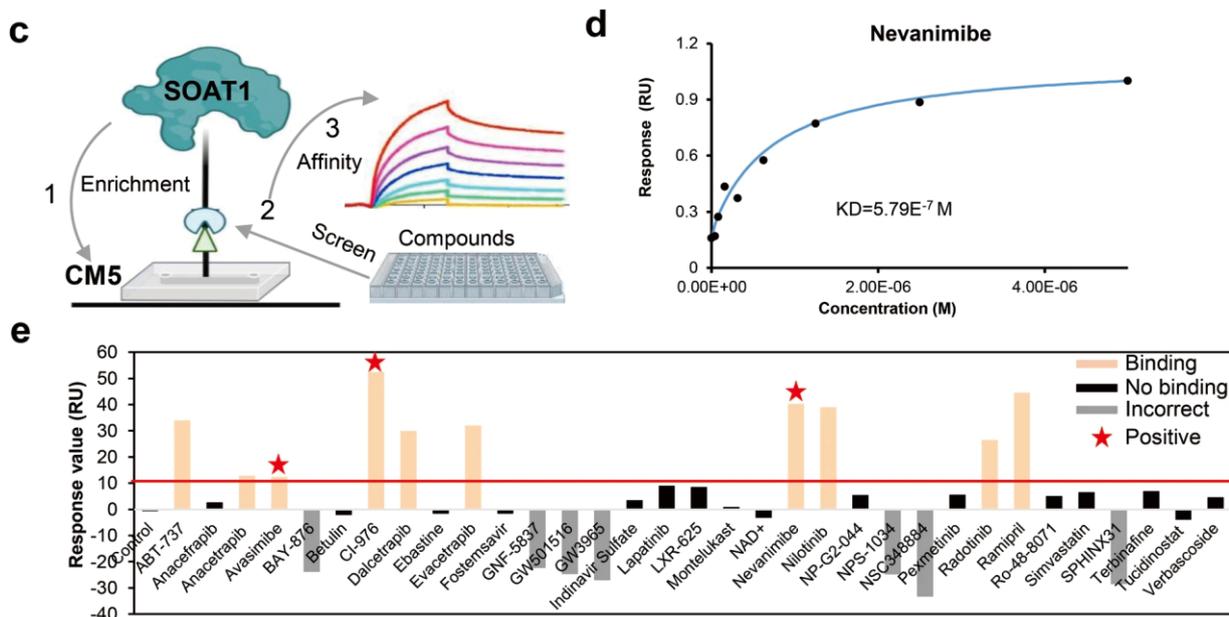
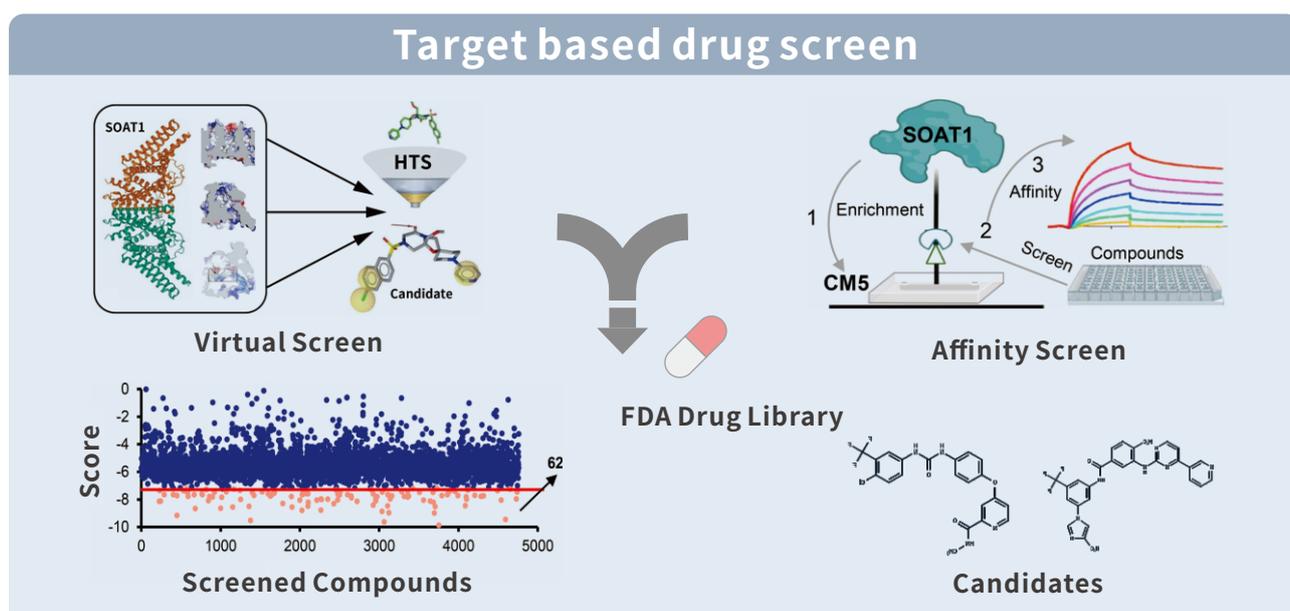
★ 类比于新冠病毒核酸检测,混管-单管

靶点通用筛选参考案例

IF=11.8

High-affinity SOAT1 ligands remodeled cholesterol metabolism program to inhibit tumor growth

- 基于 SOAT1 蛋白结构 **虚拟筛选** 从 31726 个化合物中得到 62 个潜在的化合物；
- 亲和力验证获得 3 个 μM 级亲和小分子：**SPR 单浓度+多浓度**；
- 表型验证目标化合物的体内和体外活性：**WB+CCK8+Transwell+ 克隆形成+细胞周期+ CDX +免疫组化**；
- 检测药物治疗后胆固醇代谢途径蛋白的变化,胆固醇合成前体和代谢衍生物的变化 **质谱分析蛋白质组学**；
- 肝癌患者药物蛋白质组学与临床资料的相关性分析。



Novel and potent inhibitors targeting DHODH are broad-spectrum antivirals against RNA viruses including newly-emerged coronavirus SARS-CoV-2

01

研究目的



开发更有效靶点明确的嘧啶合成抑制剂, 以证明 HTA 药物的临床应用价值, 或者在抗病毒治疗方面是否比 DAA 药物有优势
研究目的: 鉴定新的、有效的和低毒性的 DHODHi

02

高通量筛选



高通量虚拟筛选: 280,000 database
针对 DHODH26 辅酶 Q 结合位点的化合物库

03

分子水平验证



酶活测试: DHODH enzyme inhibition assay, SPR+ITC 验证化合物结合 DHODH

04

细胞水平验证



CTG 检测病毒感染后细胞增殖

05

动物水平验证



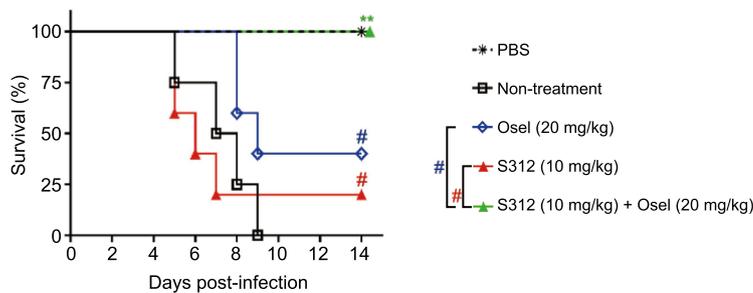
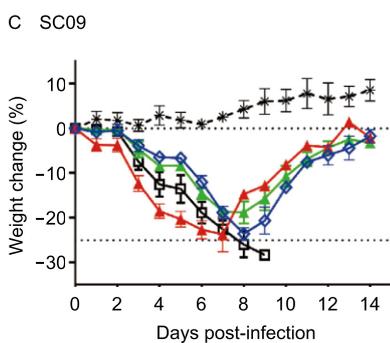
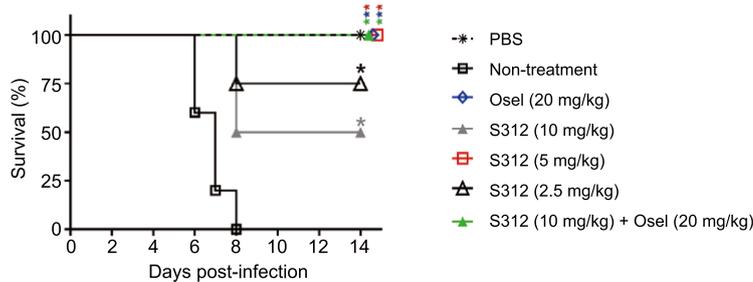
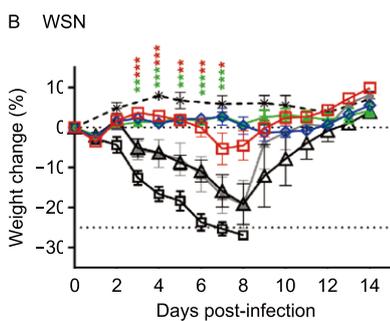
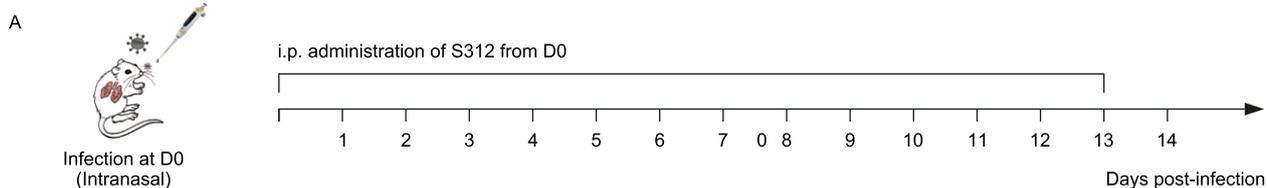
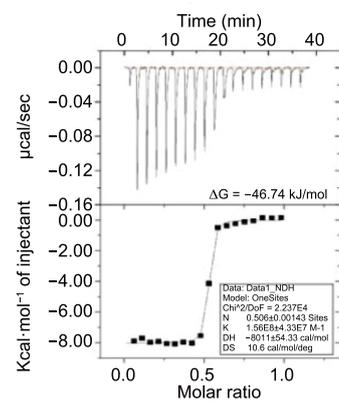
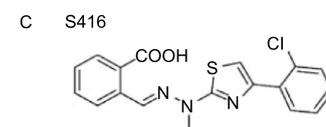
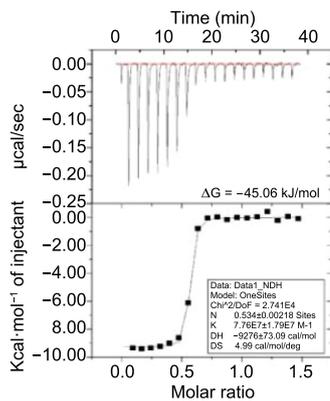
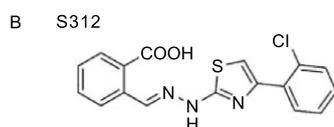
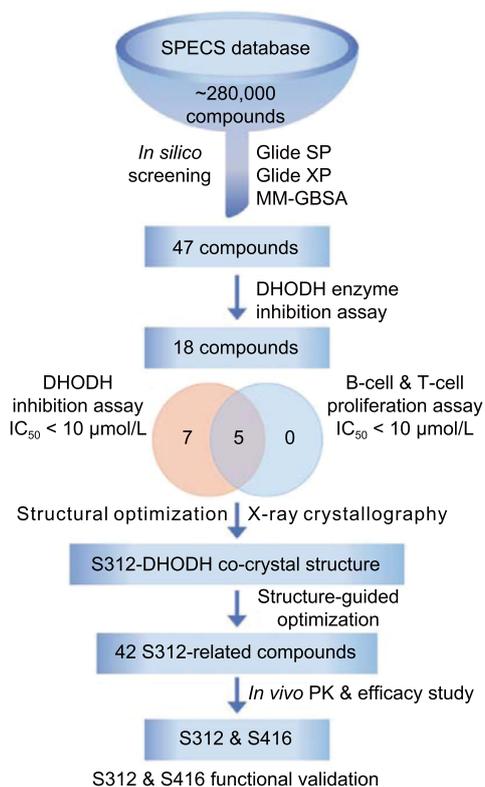
结晶和结构测定, 结构优化改造, 体内 PK 和 PD 研究

06

研究结论



最终获得了两种高效的 DHODH 抑制剂 S312 和 S416, 对寨卡病毒、埃博拉病毒和 SARS-CoV-2 病毒具有广谱抗病毒活性



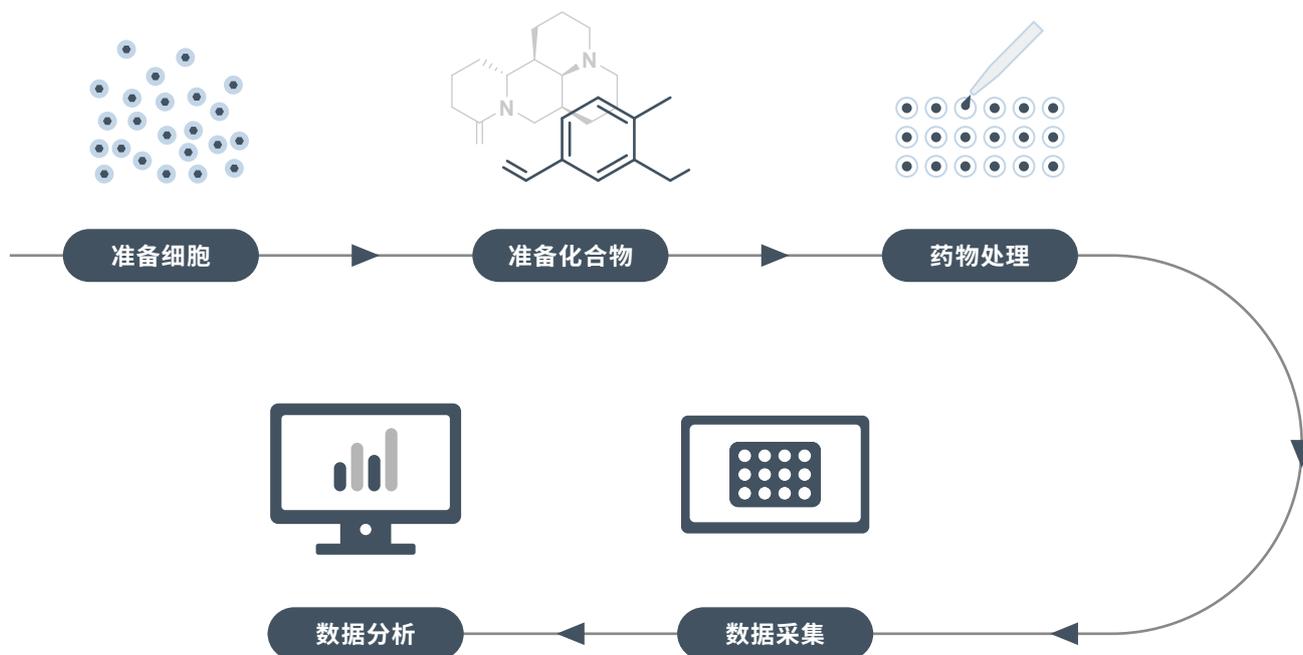
2、基于表型的药物筛选方案

若未明确药物靶点,可以选择从表型入手筛选有效化合物。基于表型的药物筛选是以拟设计药物作用的靶细胞作为研究对象,这是更接近生理条件的药物筛选模型。应用细胞培养技术获取所需细胞,将这些细胞与候选化合物相互作用,通过显微镜或酶标仪收集产生的信号评估化合物的作用效果,从而对化合物进行筛选。



TargetMol 提供 100+ 肿瘤细胞,助力科研人员在药物研发的各个阶段进行高通量筛选、活性化合物发现、结构优化及生物活性研究。

➤ 表型筛选方案设计



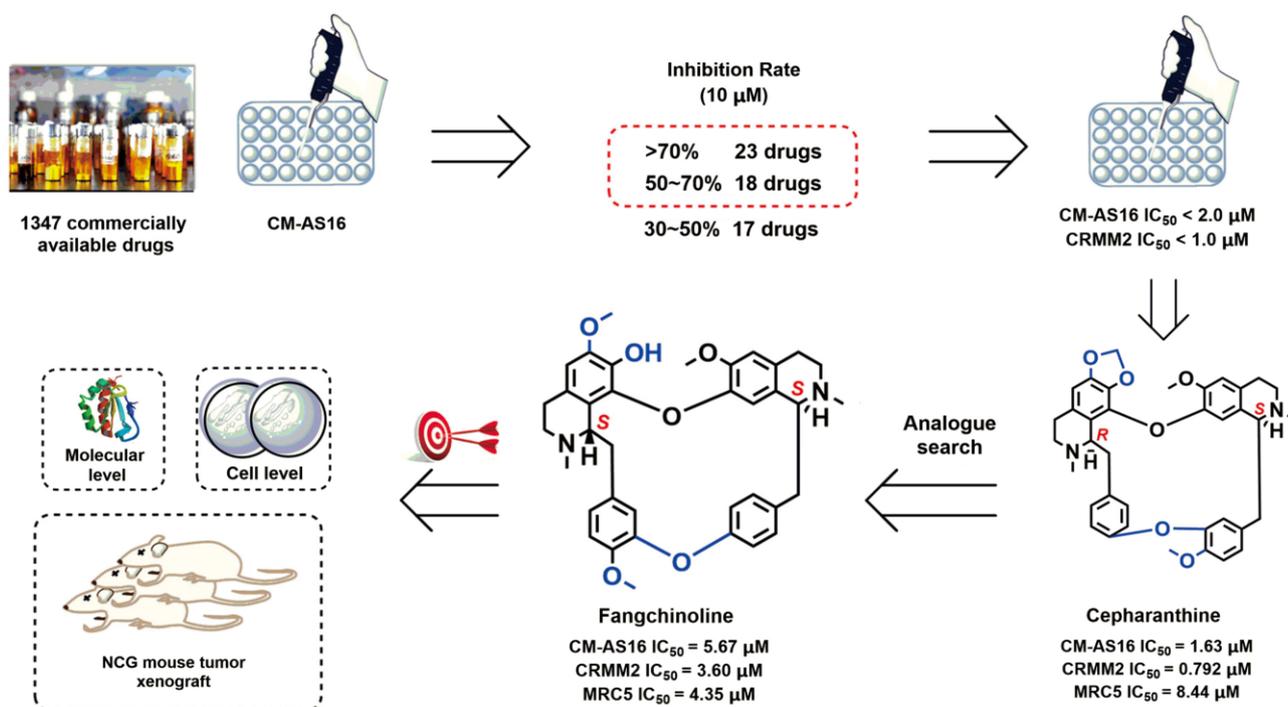
表型筛选参考案例

IF=8.46

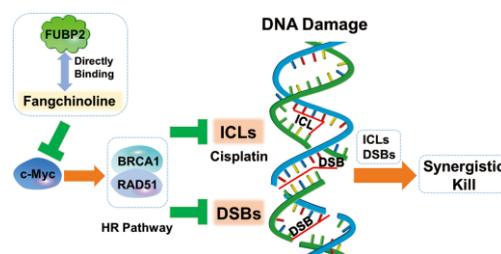
Fangchinoline suppresses conjunctival melanoma by directly binding FUBP2 and inhibiting the homologous recombination pathway

结膜黑色素瘤 (CM) 是一种罕见和致命的眼部肿瘤, 约占所有眼部恶性肿瘤的 2%, 和所有非皮肤黑色素瘤的 1.6%。迄今为止, 丝裂原活化蛋白激酶 (MEK) 抑制剂 MEK162 是唯一一种 FDA 批准的靶向药物, 用于治疗 NRAS 突变的晚期皮肤黑色素瘤。尽管一些特定的抑制剂在临床试验中显示出积极的效果, 但在 CM 患者中还没有 BRAF 或 NRAS 突变靶向药物被批准。

研究目的: 老药新用——针对 1347 种抗 CM 药物进行表型筛选获得潜在候选药物, 筛选对象为一名具有典型 NRAS 突变的汉族患者的 CM-as16 细胞。



- 细胞活力 (CCK8) 方法筛选 1347 种药物;
- 通过转录组分析和 qRT-PCR 检测 Fangchinoline 对 CM-AS16 细胞 HR 通路的影响;
- 靶标验证 (ABPP), Fangchinoline 在 CM-AS16 细胞中靶向 FUBP2;
- Fangchinoline 抑制 HR 通路, 增加对 DNA 损伤诱导药物的敏感性;
- 基因沉默验证 Fangchinoline 对 HR 通路的作用解析作用机制。



Blockade of NMT1 enzymatic activity inhibits N-myristoylation of VILIP3 protein and suppresses liver cancer progression

01

研究目的



肝细胞癌 (HCC) 是最常见的肝癌类型, 预后较差, 是全球癌症相关死亡的第四大原因

研究目的: 寻找具有抗肿瘤疗效和低毒性的潜在 HCC 治疗药物再利用

02

高通量筛选



高通量筛选: FDA 上市药物库 Cell viability assay CCK8

抗过敏药物地氯雷他定可以抑制 HCC 细胞系、细胞源异种移植 (CDX)、患者源类器官 (PDO)、患者源异种移植 (PDX) 模型

03

靶点鉴定



靶点鉴定: DARTS + SPR

确定 N-肉豆油酰基转移酶 1 (NMT1) 为地氯雷他定的靶蛋白

04

调节机制



NMT1 表达上调可增强肿瘤的体外和体内生长, 而 NMT1 敲低可抑制肿瘤的生长

05

结合位点确认



结合位点确认: 分子对接 + SPR

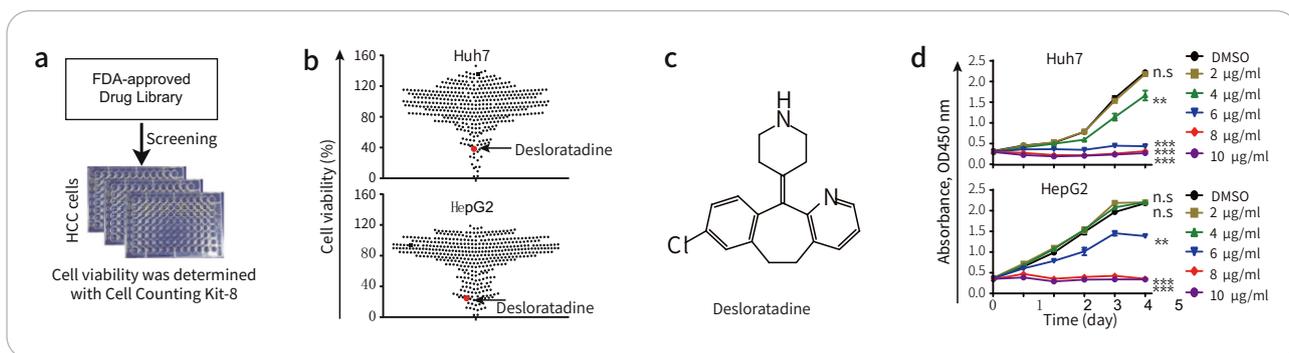
地氯雷他定与 NMT1 中的 Asn-246 结合并抑制其酶活性, 破坏 NMT1 介导的 VILIP3 蛋白肉豆醇化和随后的 NFκB / Bcl-2 信号传导

06

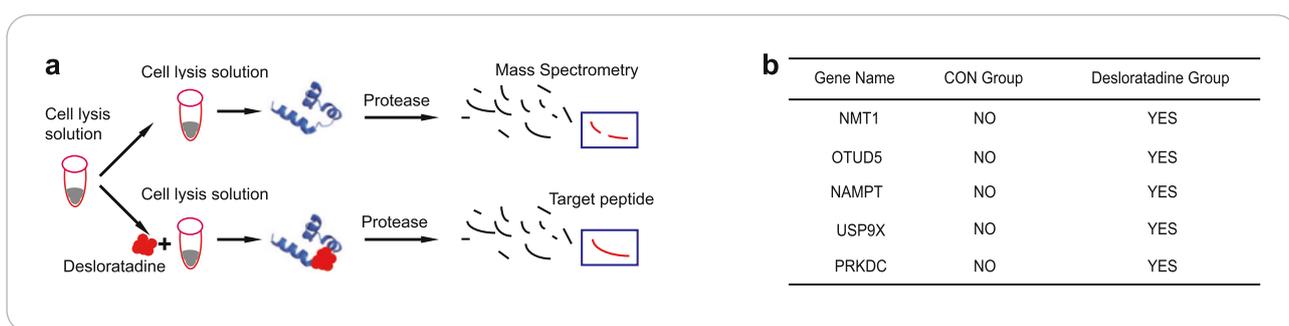
研究结论



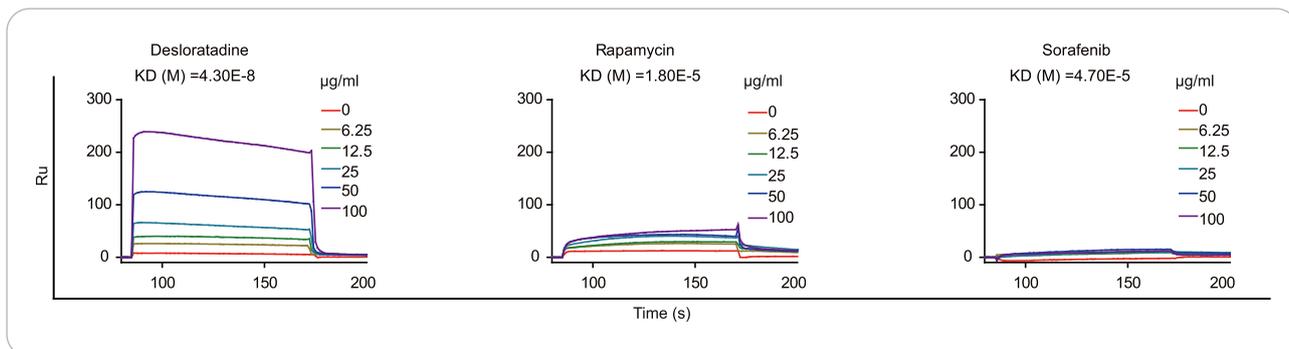
本研究表明地氯雷他定可能是一种新的抗癌药物, NMT1 介导的肉豆肉酰化有助于 HCC 的进展, 是 HCC 的潜在生物标志物和治疗靶点。



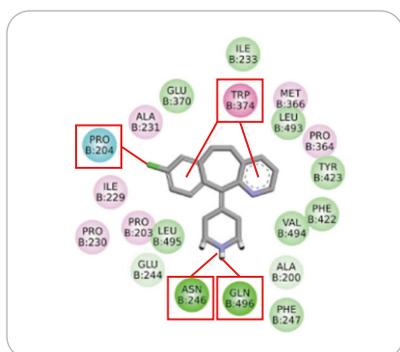
【CCK-8 实验】



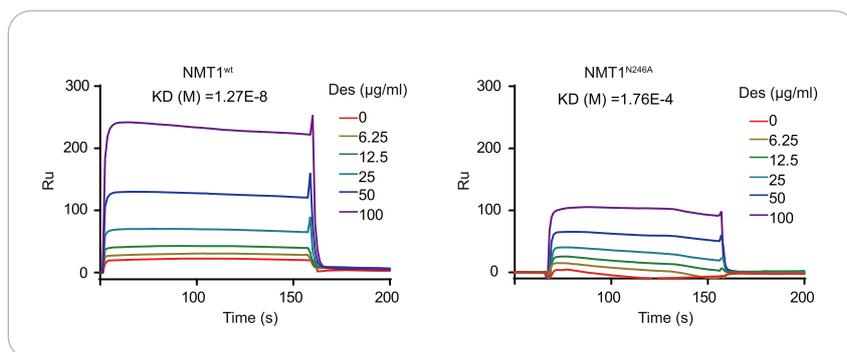
【DARTS 实验】



【SPR 实验】



【分子对接】



【SPR 实验验证结合位点(点突变)】

ONE STOP PLATFORM

药物发现一站式平台

One-stop Platform for Drug Discovery

根据确定的靶点或表型以及经费情况选择合适的筛选策略。TargetMol 为广大药物研发客户提供种类丰富的筛选化合物库、重组蛋白、试剂盒、以及专业的技术服务, 轻松获得实现药物发现一站式解决方案。

TargetMol 拥有先进的自动化液体工作站, 高性能的读板机, 熟练专业的技术人员, 能对分子水平、细胞水平的各种实验进行条件优化, 为您建立稳定, 操作简便, 数据可靠的实验体系。

目前提供的化合物活性筛选服务已覆盖大部分重要靶点, 包括酶学靶点、G 蛋白偶联受体 (GPCRs)、离子通道以及核受体等多项靶点筛选服务和抗肿瘤药物体外筛选服务。TargetMol 专业的筛选平台能够帮助您判断化合物是否进入下一阶段的开发流程, 为您的药物研发节约宝贵的时间和经费。



药物发现一站式平台



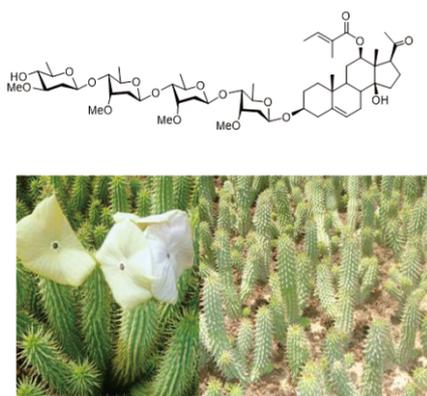
1、高通量筛选化合物库

TargetMol 化合物库是开展高通量筛选的重要物质基础,是宝贵的筛选资源,通过高通量药物筛选发现苗头化合物,取决于化合物库中化合物的种类、数量及其质量。TargetMol 拥有可以提供大量用于高通量筛选的类药性化合物,充分满足您的科研需求。针对于高通量筛选的客户,我们精选了以下四类分子库供您选择。

天然产物库

天然产物一直是新药研发的宝藏,是研究者新结构和新思路的源泉。从 20 世纪 40 年代至今,新发现的小分子抗癌药物中有近 75% 与天然产物相关,很多天然产物及其衍生物都是研究和调节蛋白功能的特效工具,更是制药行业获得先导化合物的重要来源。

天然产物库是 TargetMol 的优势产品,有适合高通量筛选的生物活性天然产物单体和结构多样性天然产物单体化合物库,以及特色瑶药单体库,蒙药单体库,药食同源库,中国药典收录天然产物单体库等。数量从 2000 种到 2 万种可以据具体需求进行搭配,是抗肿瘤、抗病毒等研究领域的有力工具,是平台建设多样性的重要部分。



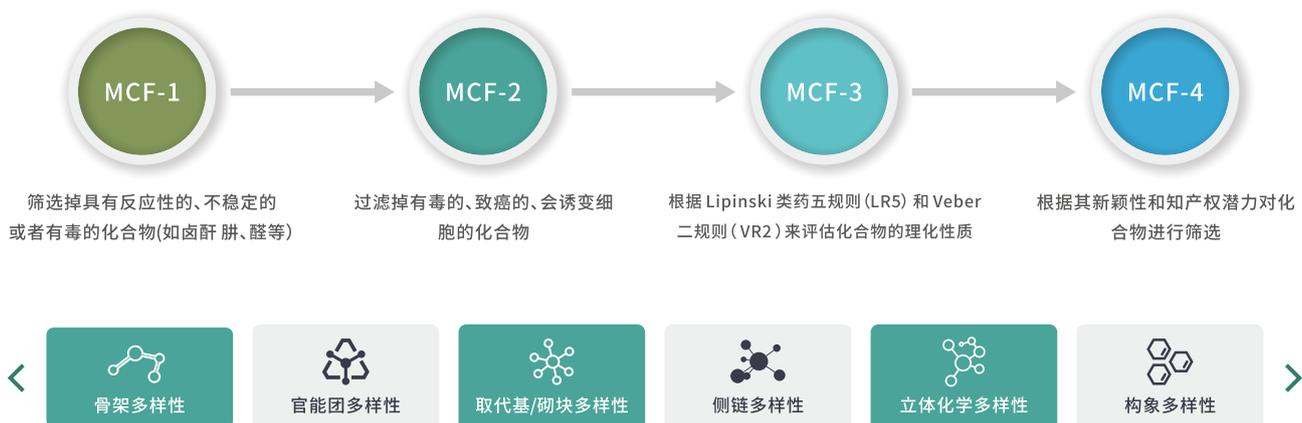
活性化合物库

生物活性化合物库含有 4 万种生物活性已知的小分子,包括已上市或临床期的药物。一套近两千种的上市药物库就包含了市场上可以收集的各类疾病对应的化学药物,其生物活性多样性和化学结构多样性都非常高,是性价比非常好的入门库。同时,该类库中还有很多广受好评的经典化合物库,如 FDA 上市药物库,临床药物库,抗肿瘤库,生物活性经典库和生物活性新颖库等。这些小分子可用于药物功能重定位、细胞诱导、药理研究、靶点确认等,属于每个药物筛选平台建立之初的基本配套产品。

化合物库	化合物数量
上市药物库	2863 个
FDA 上市药物库	1729 个
临床期小分子药物库	3480 个
临床前化合物库	709 个
抗癌化合物库	6854 个
表观遗传库	960 个
抗衰老化合物库	3324 个
抗病毒库	1040 个
神经退行性疾病化合物库	1622 个
铁死亡化合物库	800 个

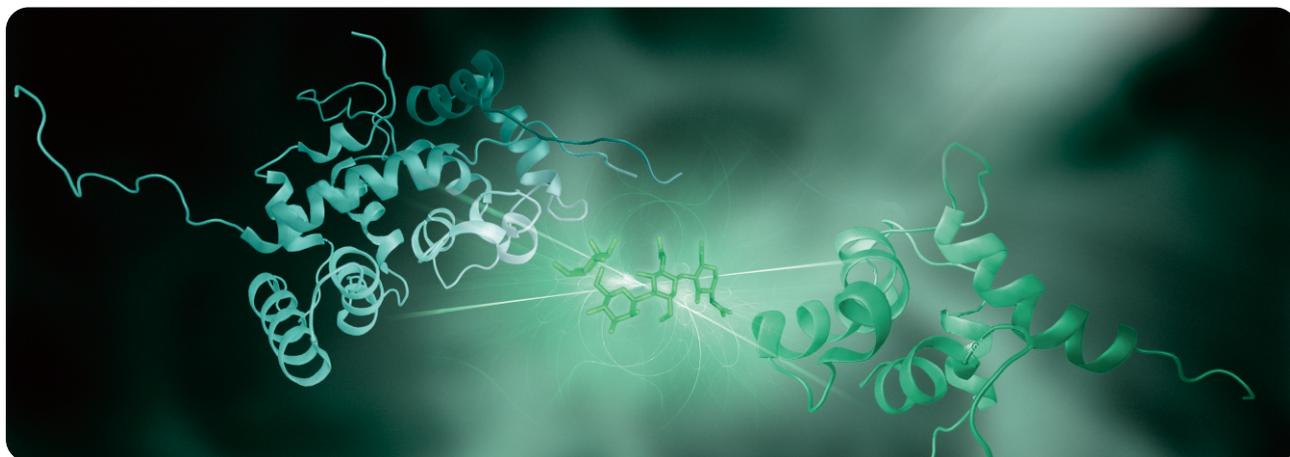
特色多样性化合物库

利用高通量药物筛选平台获得高潜力苗头化合物，产品的结构多样性是非常重要的指标。TargetMol 可提供基于 6,000 多种骨架的 160 万个小分子，并根据您的需求设计 5 万到 20 万不等的小分子库平台。还有适合核磁，质谱检测的 Fragment 片段库，适合解决耐药性问题的共价分子库，以及在抗生素方向药物筛选常用的大环库等。海量的化合物数据信息、十年药筛领域的丰富经验、定制化的服务项目，TargetMol 始终致力于满足客户的多样性需求。



Fragment 片段库

基于片段的药物设计 (FBDD) 是一种从头药物设计方法，其理论基础在于挑选有利的片段组合或延伸以获得新的药物分子，并获取高活性的候选药物。与筛选已知化合物的类似物不同，FBDD 方法的本质是培育和 design 药物。在 FBDD 中，建立高质量的片段库是前提条件。片段分子通常需要符合“三规则”，如分子量小于 300、氢键供体和受体不超过 3（这一规则未得到广泛认可）、可旋转键数目不超过 3、cLogP 小于 3。此外，良好的化学空间多样性也是考察的重要内容。TargetMol 提供多种高质量的片段库，旨在全面满足不同客户的需求。我们致力于为客户提供优质的片段化合物资源，支持他们在药物设计和发现过程中取得成功。



2、高通量筛选技术服务

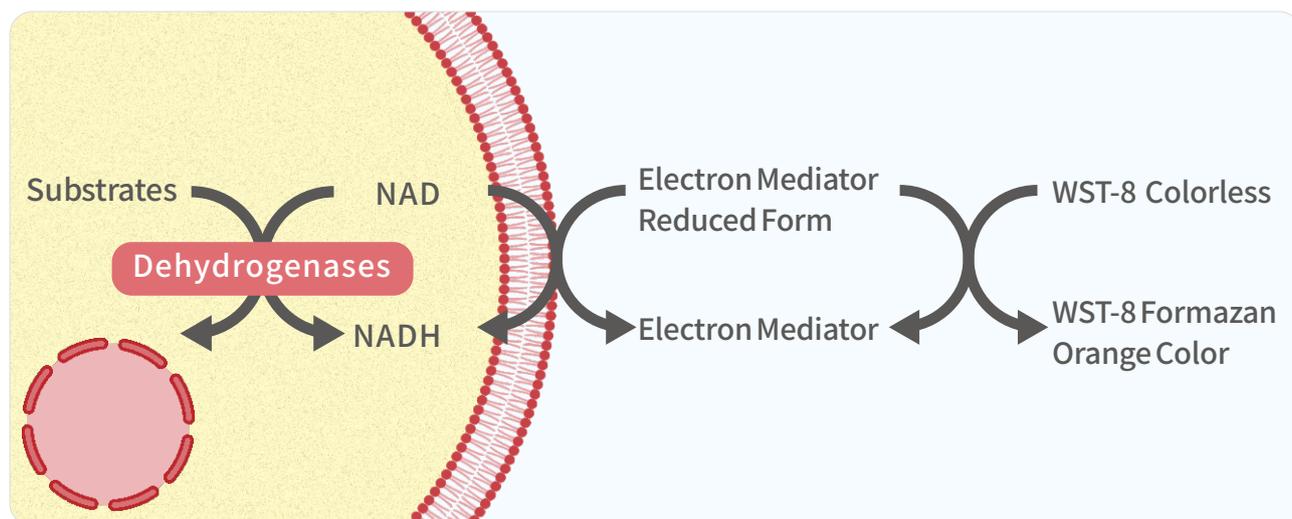
化合物活性筛选是现代药物开发流程中检验和获取具有特定生理活性化合物的一个步骤，系指通过规范化的实验手段从大量化合物中选择对某一特定作用靶点或表型具有较高活性化合物的过程，是将多种技术方法有机结合而形成的新的技术体系。化合物活性筛选通常以分子水平和细胞水平的实验方法为基础，以微板形式作为实验工具载体，以自动化操作系统执行实验过程，以灵敏快速的检测仪器采集实验数据，利用计算机对实验获得的数据进行分析处理，最终获得化合物活性信息。当前，基于靶点和表型的化合物活性筛选被广泛应用于各类药物的发现，是临床新药开发的必经过程。

► 抗肿瘤筛选

细胞作为药物筛选中最常见的生物材料之一，对化合物的活性评价发挥重要作用。因体内筛选需要的技术条件高，大规模筛选或粗选时多采用体外筛选实验，抗肿瘤药物的体外筛选实验（细胞实验）是一种重要的药物筛选手段。利用细胞活性检测可以在药物研发初期筛选出对特定肿瘤细胞生长有抑制甚至杀伤作用的化合物，排除对正常细胞具有严重毒性的化合物，为药物安全性评价建立第一道过滤屏障。细胞水平的药物筛选模型具有快速、灵敏、所需样本节省、重复性好、可通量化等优点，将待测物与肿瘤细胞直接孵育而检测其抑制作用，所得结果与临床的治疗效果会有较好的符合性。随着新型抗肿瘤药的研发，诞生了许多抗肿瘤药物体外筛选实验方法。一些常规方法有显微镜观察、细胞染色计数法等，但应用较多也更适合大规模筛选的是比色法、化学发光法等，例如 CCK-8、CTG。

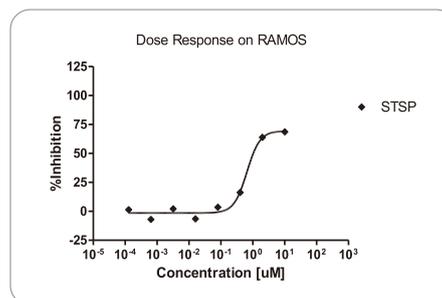
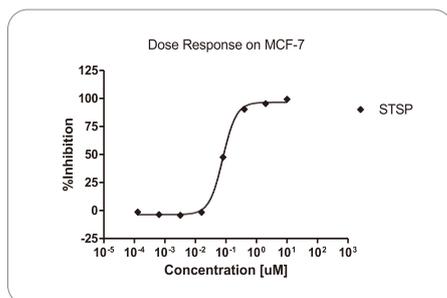
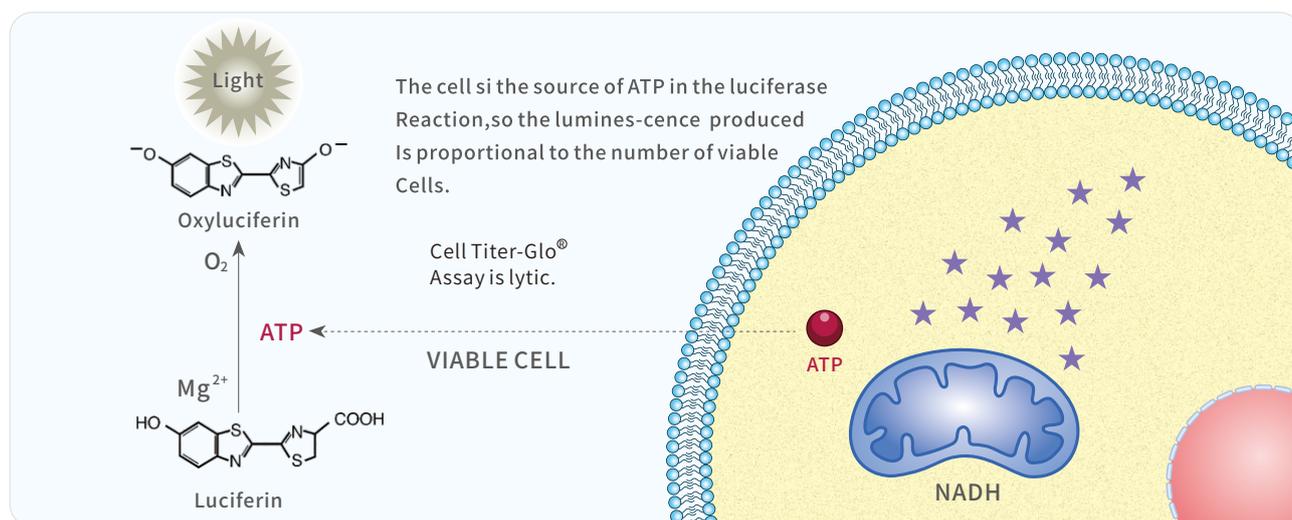
• CCK-8 实验原理

Cell Counting Kit-8（简称 CCK-8）是一种基于 WST-8 的广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的检测试剂。WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物，它在电子载体 1-甲氧基-5-甲基吩嗪鎓硫酸二甲酯（1-Methoxy PMS）存在的条件下，被线粒体中的脱氢酶还原为具有高度水溶性的橙黄色甲瓚产物（formazan）。细胞增殖越多越快，颜色越深；细胞毒性越大，则颜色越浅，对于同样的细胞，颜色的深浅与活细胞的数量成正比，因此可利用这一特性直接进行细胞增殖和毒性分析，简单方便，性价比高，适合高通量化合物筛选研究。



• CTG 实验原理

ATP（腺嘌呤核苷三磷酸，Adenosine Triphosphate）参与生物体内多种酶促反应，是活细胞新陈代谢的一个指标，其含量直接反应了细胞的数量及细胞状态。CellTiter-Glo 检测试剂盒以荧光素酶在 ATP 参与的化学发光反应产生的荧光信号为检测指标，判断 ATP 的含量，间接反应细胞的活力和数量。CellTiter-Glo 试剂稳定，检测灵敏，是进行自动化高通量筛选（HTS）、细胞增殖和毒性分析的理想选择。



TargetMol 提供高通量药物体外抗肿瘤活性筛选，研究化合物对特定细胞的活力、增殖、毒性影响，也可以作为药物联用、耐药增敏、药物抗肿瘤谱等研究方向的检测指标。TargetMol 为您提供：

- 具有高性价比的 CCK8 检测，和高灵敏度的 CTG 检测；
- 96 和 384 两种筛选规格，满足不同筛选通量的客户需求；
- 超过 100 种人源肿瘤的细胞库，免费使用；
- 严格把控质量的试剂，高品质的 Gibco 培养基、胰酶、澳洲 / 新西兰特级胎牛血清以及美国 TargetMol 高品质 CCK-8 实验试剂，细胞培养皿和微孔板均进口自 Corning 品牌的产品；
- 海量筛选资源可供选择，超过 800 种分类的化合物库，低至 5 元 / 5 μl；
- 整个实验流程由资深实验室主任严格把控，经验丰富的专业实验人员操作细胞培养-铺板-检测-数据整理。

人源肿瘤细胞系

肿瘤类型	细胞名称
膀胱癌	5637 T24 T24T UM-UC-3
骨肉瘤	143B
前列腺癌	22RV1 PC-3
肾透明细胞腺癌	786-O
黑色素瘤	A375
肺癌	A549 H1299 H1975 HCC827 NCI H358 NCI-H146 NCI-H292 NCI-H460
乳腺导管癌	BT474
胰腺腺癌	BXPC-3
肺腺癌	Calu 3
退行性癌	Calu 6
肝癌	HCCC-9810 Hep G2 Hep3B Huh-6 Huh-7 JHH-7 MHCC-97-H PLC QGY-7701 SNU-387 Hep1-6
结肠癌	HCT 116 HT-29 LoVo SW620 Ct26
宫颈癌	Hela
胃癌	HGC-27 KATO III NCI-N87 SNU-1
胃腺癌	AGS
白血病	HL-60 Jurkat KASUMI-1 MV-4-11 RS4;11 THP-1 RAW 264.7
纤维肉瘤	HT1080
胆管癌	HuCC1 RBE
食管鳞癌	KYSE 140 KYSE 150
胶质瘤	LN229 U-87 MG U-87
乳腺癌	MCF-7 MDA-MB-231 MDA-MB-453
胰腺癌	Mia-Paca-2 PANC-1 Sw1990
淋巴瘤	Namalwa Raji RPMI-8226 SU-DHL-4 U-937
肾癌	OS-RC-2
卵巢癌	OVCAR-3 OVCAR-8 SKOV-3
乳头瘤	RT4
正常组织	293T NRK-52E COS-7 HEI-OC1 TtT/GF OA(JZR) LX-2 L02 HEI-OC1

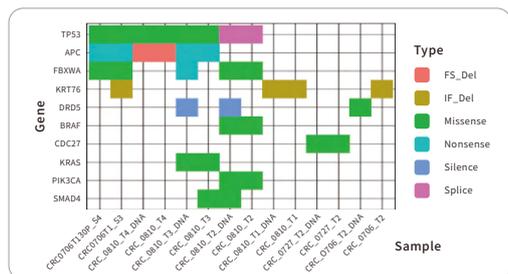
细胞 3D 打印模型药物筛选

生理环境中的细胞与细胞外基质不断相互作用调节复杂的生物学功能,如细胞增殖、迁移、凋亡。与传统的细胞培养不同,三维(3D)细胞培养重现了细胞的体内环境,更好地模拟生物体内细胞存活的自然环境,对内源性和外源性刺激(如温度、pH、营养吸收、转运和分化等方面的改变)应答更接近于它们在体内的反应。在3D组织模型上判断药物的敏感性,能够充分体现个体的差异性,直接前瞻性地为临床用药预测疗效,目前对于临床预测的准确度可达到84.4% - 96.6%(Yin S, et al. 2020; Yao Y, et al. 2020)。

生物3D打印技术是一项前沿生物制造技术,能够用于制造例如类器官、器官芯片等具有不同尺寸规格、复杂程度的体外3D细胞组织模型。通过生物3D打印建立的肿瘤微组织(Patient-Derived Tissue 简称PDT)与患者肿瘤组织中突变基因及突变类型保持高度一致。

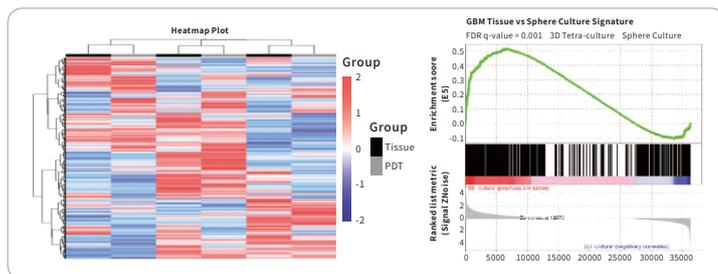
PDT 与临床样本的一致性验证

DNA 测序结果 (WES)



【驱动基因一致性高】例如TP53、APC、KRAS、PIK3CA、BRAF等突变及突变类型在PDT和肿瘤组织中是一致的。

RNA 测序结果 (RNAseq)

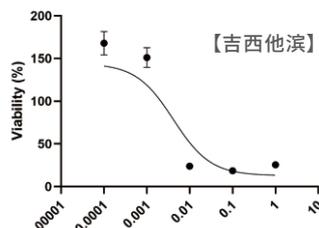
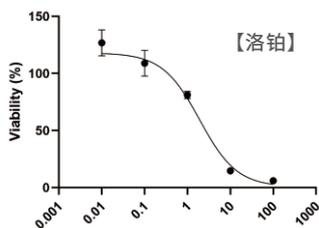
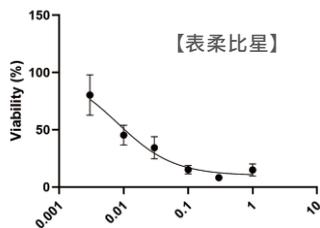


生物3D打印培养相比于传统球状培养的肿瘤细胞更接近患者以及原位接种的转录谱表达

应用案例

多种临床化疗药物对2D/3D膀胱癌细胞T24的敏感性比较:

	2D	3D	临床 Cmax
表柔比星	0.01 μ M	8.8 μ M	16.6 μ M
洛铂	3.0 μ M	1.17 μ M	768.4703 nM - 2.3063 μ M, 引流液 Cmax 为 243.22 μ M
吉西他滨	0.01 μ M	2.95 μ M	89.3 μ M



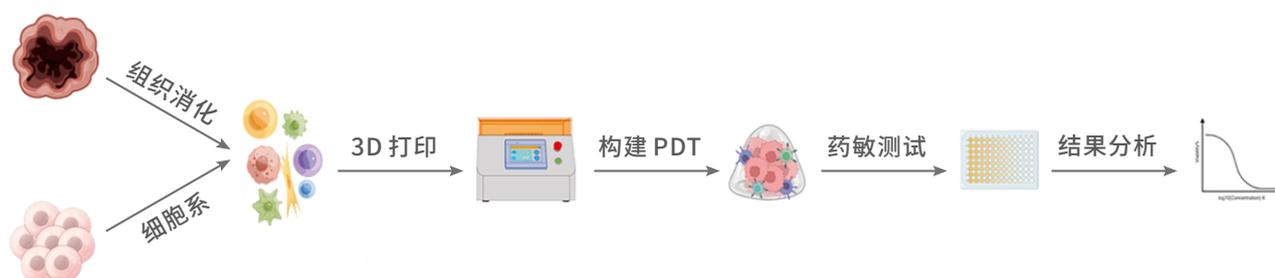
3D 打印-细胞系药敏检测

• 技术应用

利用细胞系或原代细胞通过高通量光固化生物 3D 打印机构建更接近生理状态的 3D 药物筛选模型,开展基于表型的多种小分子药物筛选,以获得更准确、更真实的药敏测试结果。

检测项目	检测规格	检测方法
3D 打印-细胞系增殖抑制检测	96 孔板	CellTiter-Glo® 3D
3D 打印-原代细胞增殖抑制检测	96 孔板	CellTiter-Glo® 3D

• 细胞 3D 打印模型药物筛选流程



• 技术优势

通过高通量光固化生物 3D 打印机采用多种天然及光固化性天然高分子水凝胶,以及聚酯、聚醚、聚丙烯酰胺等有机合成类高分子材料为细胞提供无伤害的支撑作用,可以使细胞恢复更多生理形状。

相比于 2D 肿瘤细胞培养和类器官 PDO 以及动物模型 PDX,3D 打印组织模型具有更高的遗传信息保真度、模型重现性、更短的制备周期和更高的建模成功率。

	3D 打印微组织 (PDT)	类器官 (PDO)	动物模型 (PDX)	肿瘤细胞 2D 培养
制备周期	1-2 周内	2-4 周	3-6 个月	1周内
建模成功率	高	中等	低	高
生理性、临床相关性	半生理性的	半生理性的	生理性的	有限
遗传信息保真度	高	高	高	有限
模型重现性、可控性	高	中等	低	高
人源细胞间相互作用	有	有,但非肿瘤细胞有限	有,但有鼠源细胞影响	有限
可控的基质材料性质	极高	有限	有限	无
成本	数万元	数万元	数十万元	低
通量	中等-高	中等	低	高

➤ 亲和力测试

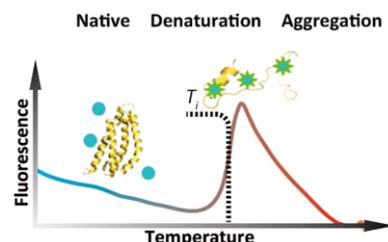
在生命科学领域中, 研究生物分子间的相互作用对于阐明细胞生物学事件、揭示疾病发生机制以及药物发现都具有重要意义。“有结合才会有功能, 有功能一定有结合”, 结合是候选药物发挥功能的必要条件。小分子一直是分子互作研究的热门对象, 例如化药、中药、植物激素、金属离子等。TargetMol 提供多种体外评价小分子药物与靶标蛋白结合的技术服务, 包括 SPR (表面等离子体共振技术)、MST (微量热泳动技术)、BLI (生物膜干涉技术)、ITC (等温滴定量热法)、DSF (差示扫描荧光法) 等。

• 检测方法对比

	DSF	MST	SPR	BLI	ITC
原理	蛋白自发荧光, 构象改变	荧光分析温度梯度场中的分子分布比	芯片, 共振角变化	干涉光谱的位移变化	测量结合过程中的热传递
蛋白缓冲液	不含 Tris 和咪唑	不含 Tris 和咪唑	不含 Tris 和咪唑	不含 Tris 和咪唑	不含 Tris 和咪唑
蛋白用量	每个化合物 1.5 μg	每个化合物 20 μg	50-100 μg	50-100 μg	2 mg
化合物用量	1-2 mg	1-2 mg	1-2 mg	1-2 mg	2-3 mg
特点	快速, 性价比高	灵敏, 无需芯片可测裂解液	经典方法灵敏准确	与 SPR 效果相当灵敏度稍弱	蛋白样品消耗量大, 需摸索
所得数据	T _m 值, 判断是否结合	亲和力	亲和力动力学	亲和力动力学	亲和力热力学
检测仪器					

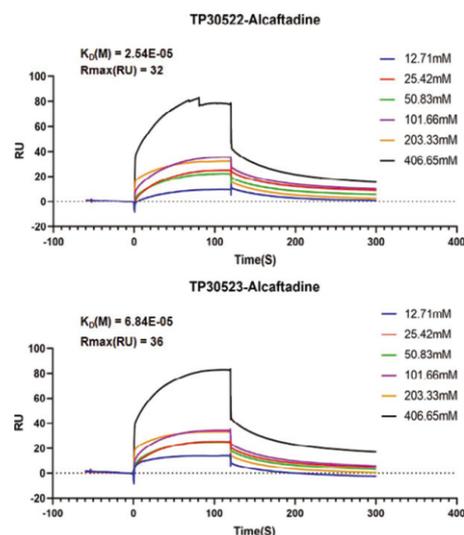
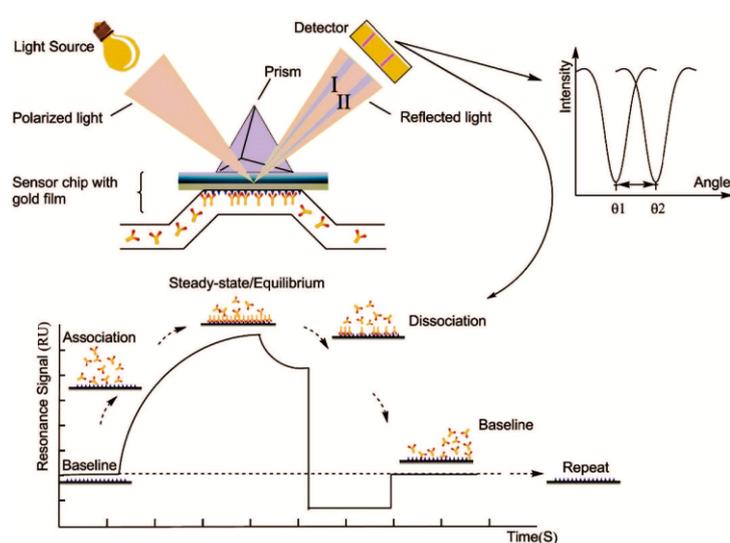
• 差示荧光扫描法 (DSF)

蛋白中的色氨酸和酪氨酸的荧光与其所处的环境密切相关。免标记的 nanoDSF 技术可以准确检测蛋白热变性和化学变性过程中内源荧光的变化。通过检测蛋白内源荧光的变化来跟踪其折叠状态, 荧光信号的比值会随温度的增加或化学变性剂浓度的增加而变化, 从而测定蛋白稳定性参数 T_m 值, 实现在非标记环境下检测蛋白的热稳定性或化学稳定性。



• 表面等离子体共振技术 (SPR)

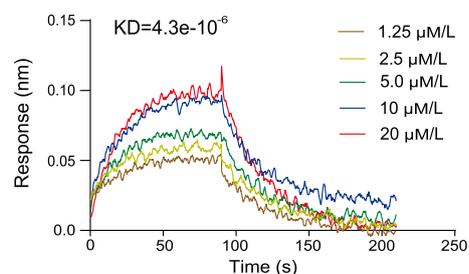
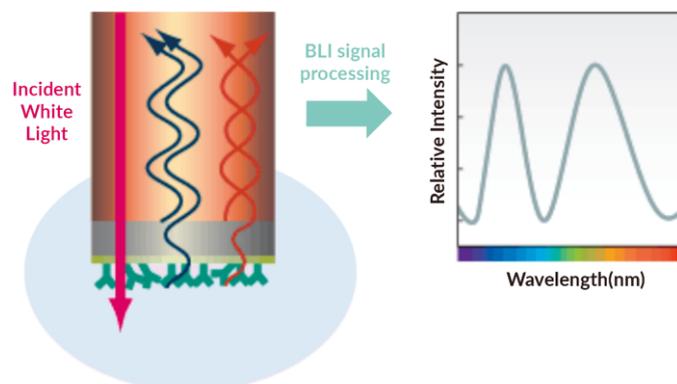
SPR (Surface Plasmon Resonance) 是一种发生在两种介质表面的光学现象, 可以由光子或电子诱导。当光从光密介质射入光疏介质时, 发生全反射现象, 会形成消逝波进入光疏介质。引起表面等离子体共振的入射角称为 SPR 角。SPR 现象与金属表面的折射率相关。当有分析物结合到芯片表面时, 会导致芯片表面的折射率发生改变, 从而引起 SPR 角度变化。SPR 生物传感器利用 SPR 角的变化来实时监测分子间相互作用。



Adv Sci (Weinh). 2024 Jun;11(23):e2306772.

• 生物膜干涉技术 (BLI)

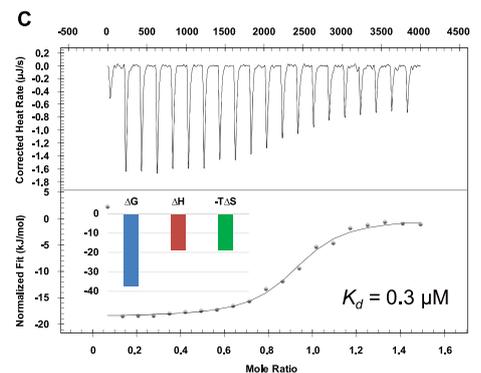
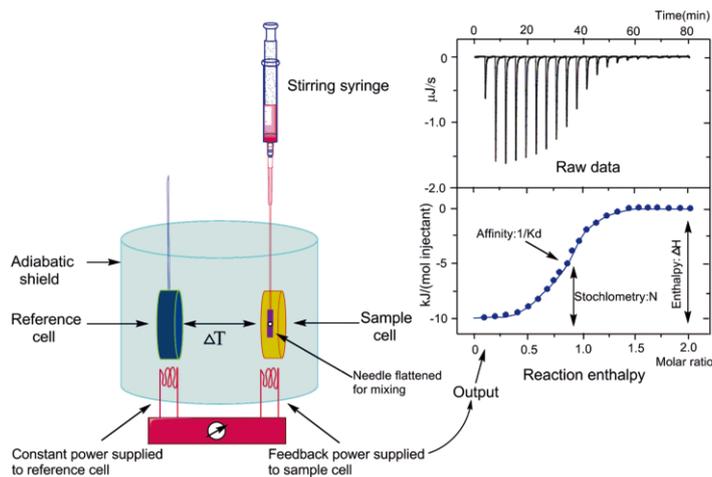
BLI (Bio-Layer Interferometry) 是一种通过检测干涉光谱的位移变化来检测传感器表面反应的技术。当一束可见光从光谱仪射出后, 在传感器末端的光学膜层的两个界面会形成反射光谱, 并形成一束干涉光谱。任何由于分子结合或解离而形成的膜层厚度和密度变化, 会引起干涉光谱的位移。位移值能够实时检测, 并以反应监测图谱的形式展示。在 BLI 实验中, 一个分子被固定在浸读式传感器表面, 检测另一个可结合的分子。当这两个分子发生结合, 会导致传感器产生干涉位移, 通过实时监测位移变化, 从而得到结合曲线。



Nat Commun. 2023 May 5;14(1):2602.

• 等温滴定量热法 (ITC)

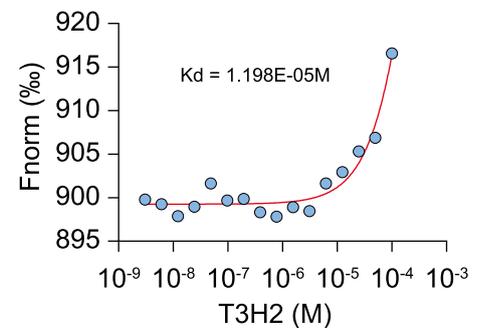
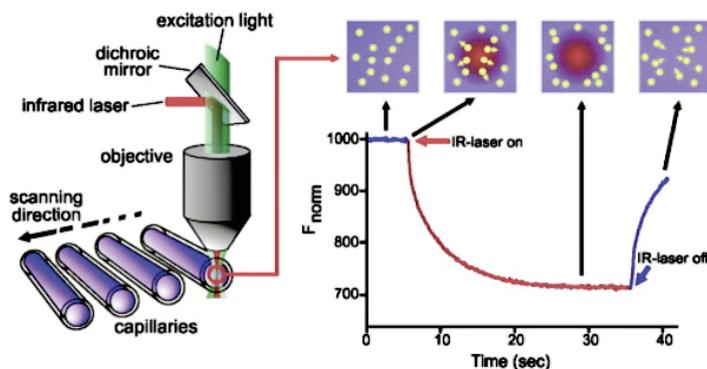
等温滴定量热法 (Isothermal Titration Calorimetry, ITC) 是用于量化研究各种生物分子相互作用的一种技术, 它可直接测量生物分子结合过程中释放或吸收的热量。通过测量结合过程中的热传递, 就能够准确地确定结合常数 (KD)、反应化学量 (n)、焓 (ΔH) 和熵 (ΔS)。仪器包含一个参照池和一个样品池。在实验过程中, 配体被可控地滴入样品池中(同时伴随充分混合), 每次滴定会产生一个热量脉冲, 通过对每一次滴定时热量的积分并对浓度进行归一化处理生成摩尔放热量 (kcal/mol), 对摩尔比率 (配体/样品) 作图, 再选择拟合合适的结合模型 (Binding Models), 获取结合相关的亲和力 (KD)、化学结合计量比 (n)、焓变 (ΔH) 和熵变 (ΔS)。



J Med Chem. 2019 Sep 26;62(18):8443-8460.

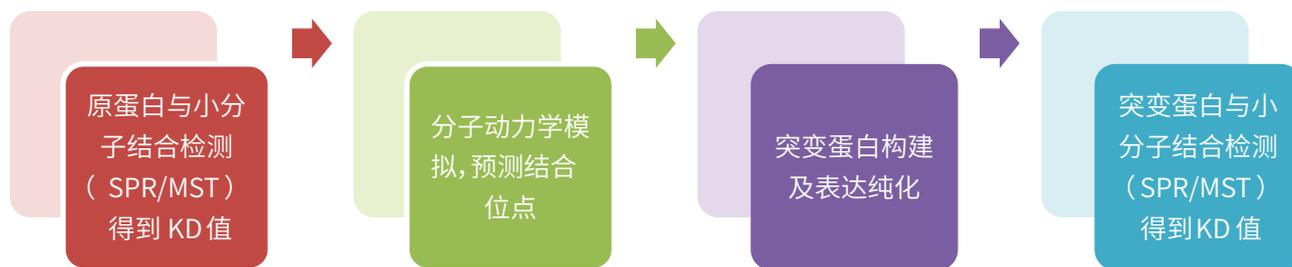
• 微量热泳动 (MST)

MST (MicroScale Thermophoresis) 是一种分析生物分子相互作用的技术。该技术基于生物分子的热泳动现象, 使用 Nanotemper 微量热泳动仪通过红外激光进行局部加热, 从而引起分子的定向移动。通过荧光分析温度梯度场中分子的分布比, MST 技术能够检测由结合引起的生物分子的大小、电荷和水化层的变化。该技术记录了激光器在打开前、打开期间和打开后对样品内部红外激光照射区域的荧光变化情况, 从而实现了较短时间的测定。

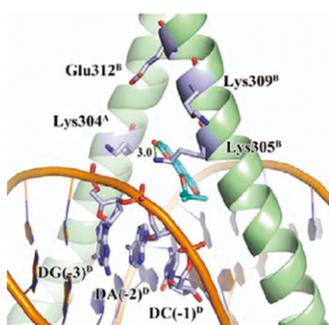


J Hepatol. 2024 May;80(5):778-791.

• 特色实验——结合位点验证

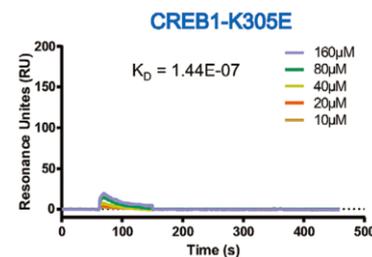
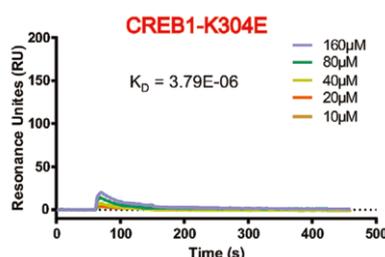
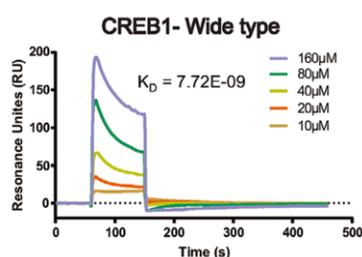


结果分析:先确认蛋白与小分子有结合,然后比较突变前后结合力变化,若突变后亲和力明显下降,说明此位点是二者互作的关键位点



Mutation design

CREB1-WT	RRKKKEYVKC	LENRVAVLEN	QNKTLLIEELK	ALKDLYCHKS	D
CREB1-K304E	RRK K KEYVKC	LENRVAVLEN	QNKTLLIEELK	ALKDLYCHKS	D
CREB1-K305E	RRKK K KEYVKC	LENRVAVLEN	QNKTLLIEELK	ALKDLYCHKS	D
CREB1-K309E	RRKKKEYV K C	LENRVAVLEN	QNKTLLIEELK	ALKDLYCHKS	D



pocasa). Molecular docking and dynamics simulation showed that imperatorin may interact with CREB1 protein mostly likely through hydrophobic interaction with Lys-304 and Lys-309 as well as hydrogen bonding with Lys-305, according to the desolvation energies (Figure 5F). To confirm the computational prediction, we purified CREB1 protein, as well as the CREB1^{K304E} and CREB1^{K305E} proteins, in which Lys-304 and Lys-305 was mutated, but failed to purify the CREB1^{K309E} protein (Figure 5G). The results from surface plasmon resonance (SPR) assay showed that imperatorin can bind to CREB1 with a K_d of 7.72×10^{-9} , which was disrupted when Lys-304 or Lys-305 of CREB1 was mutated ($K_d^{K304E} = 3.79 \times 10^{-6}$, $K_d^{K305E} = 1.44 \times 10^{-7}$) (Figure 5H). These findings provided direct evidence that imperatorin preferentially binds to the wide-type CREB1 protein rather than the mutants, suggesting the crucial role of Lys-304 and Lys-305 in this process.

与野生型相比, CREB1 蛋白 K304、K305 位点突变后亲和力下降 2-3 个数量级,说明表明 Lys-304 和 Lys-305 在 imperatorin 和靶蛋白 CREB1 的互作中发挥了关键作用。

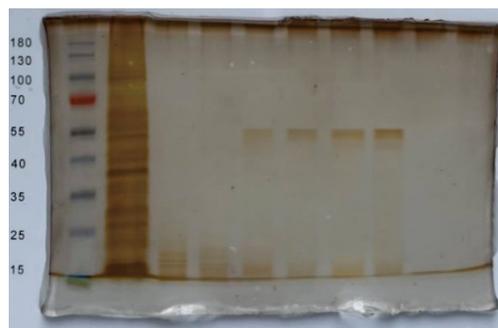
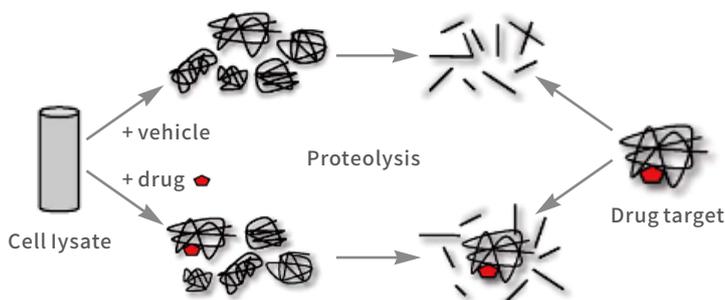
Adv Sci (Weinh). 2020 Jul 1;7(16):2000925.

靶点垂钓

• DARTS 技术

DARTS (Drug Affinity Responsive Target Stability) 是根据小分子药物与其靶标蛋白结合后导致靶蛋白对蛋白酶降解的敏感性下降而发展起来的一项新技术, 由于无需药物保护性修饰且无药物活性依赖性, 可广泛应用于药物筛选与靶标鉴定。

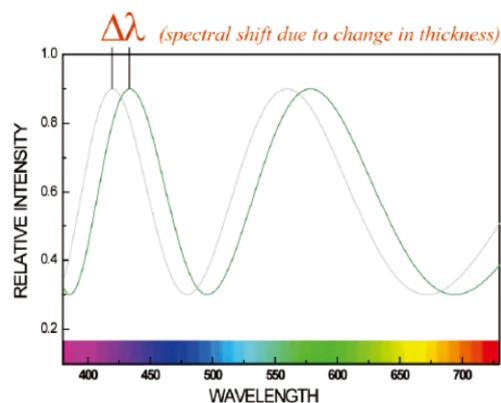
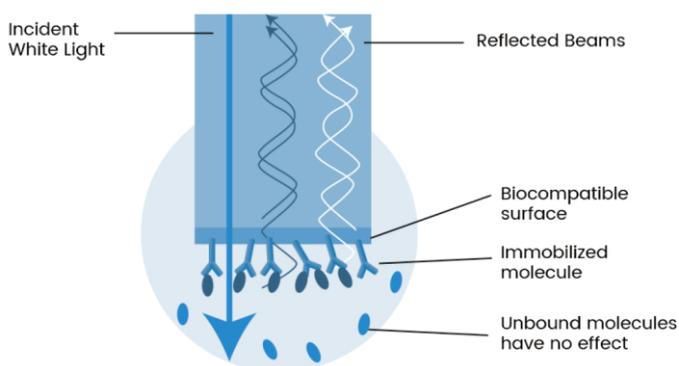
DARTS 实验需要用特定的方法对酶解效果进行检测, 常用的方法有 SDS-PAGE、胶染色技术 (如考马斯亮蓝染色) 等, 此外也可以运用蛋白二维电泳 (2D-PAGE)、凝胶或非凝胶质谱 (LC-MS/MS) 等方法进行检测。通过对比, 识别药物组与对照组酶解的明显差异, 进而找到药物的候选靶点进行后续实验确证。



Curr Protoc Chem Biol. 2011 Dec 1;3(4):163-180.

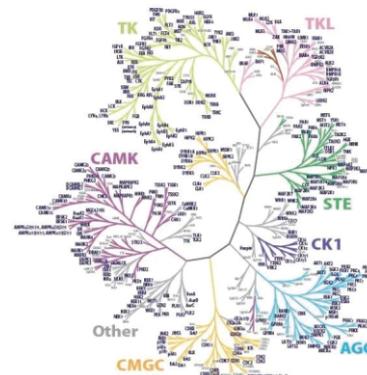
• BLI 垂钓

生物膜层干涉技术 (BLI), 将生物分子 A 结合到光纤材质的生物传感器末端会形成一层生物膜, 当传感器末端的分子 A 与待检测分子 B 结合时会引起传感器末端分子量的改变, 从而导致生物膜厚度的改变。光通过传感器的生物膜层后发生透射和反射形成干涉光波, 生物膜厚度的变化导致干涉光波发生相对位移。生物分子结合前后的干涉光波被光谱仪检测到, 形成干涉光谱, 以干涉图谱的实时位移 (nm) 显示出来。最后根据分子结合前后图谱的变化对待检测分子进行分析。通过 BLI 技术垂钓到与 Compound X 有结合的目标蛋白, 洗脱下来进行质谱检测, 分析数据获得靶蛋白。

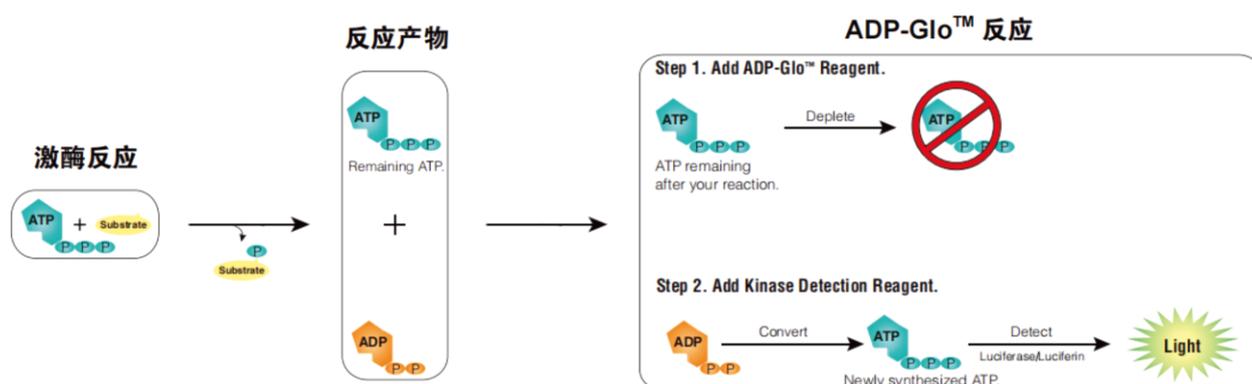


激酶谱筛选

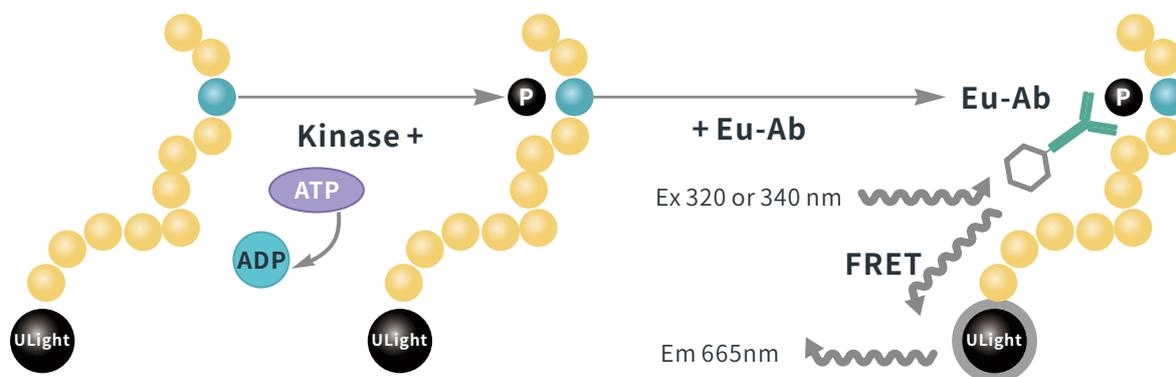
蛋白激酶是药物研发领域重要的药靶之一，激酶功能的失调与许多疾病的发生发展密切相关，涉及人类的各种细胞信号传导途径，通过磷酸化其各自的下游特定底物蛋白来发挥其作用。激酶介导的信号传导途径的异常调节是造成主要人类病理状况的原因，例如癌症、自身免疫性疾病、心血管疾病、神经退行性疾病和代谢紊乱等。目前已鉴定的激酶超过500种，分为十个家族：TK, STE, TKL, AGC, CMGC, CAMK, RGC, CK1, Atypical, other。截止到2021年5月，全球范围内有98药物被批准上市，包括87个小分子药物和11个抗体药物。



ADP-glo 实验原理



HTRF 实验原理



我们的优势

1. 提供超过 400 种激酶靶点的化合物筛选模型及激酶谱筛选；
2. 充足的筛选资源，提供多种筛选化合物库和抑制剂；
3. 高通量筛选，可以筛选数以万计的化合物规模；
4. 实验灵活，可以开展 96 和 384 等多种板型的筛选实验；
5. 严格保证客户信息安全，TargetMol 将严格按照与客户签订的保密合同执行服务。

激酶谱靶点列表

激酶名称	化验格式	激酶名称	化验格式	激酶名称	化验格式
AAK1	ADP-Glo	BRAF V600E	ADP-Glo	CDK6/CycD1	ADP-Glo
ABL1	ADP-Glo	BRK	HTRF	CDK6/CycD3	ADP-Glo
ABL1 H396P	ADP-Glo	BRSK1	ADP-Glo	CDK9/CycK	ADP-Glo
ABL2	HTRF	BRSK2	ADP-Glo	CDK9/CycT1	ADP-Glo
ACK	ADP-Glo	BTK	HTRF	CDK9/CycT2	ADP-Glo
AKT1	HTRF	BTK C481S	HTRF	CHK1	HTRF
AKT2	HTRF	BTK T316A	ADP-Glo	CHK2	HTRF
AKT3	HTRF	BTK T474I	HTRF	Ck1 α	ADP-Glo
ALK	HTRF	BTK T474S	HTRF	Ck1 γ 1	ADP-Glo
ALK2	ADP-Glo	BUB1/BUB3	ADP-Glo	Ck1 γ 2	ADP-Glo
ALK4	ADP-Glo	CaMK1 α	HTRF	Ck1 γ 3	ADP-Glo
AMPK α 1/ β 1/ γ 1	HTRF	CaMK1 β	HTRF	Ck1 δ	ADP-Glo
AMPK α 1/ β 1/ γ 2	HTRF	CaMK1 δ	HTRF	Ck1 ϵ	ADP-Glo
AMPK α 1/ β 1/ γ 3	HTRF	CaMK2 α	HTRF	CK2 α 1/ β	ADP-Glo
AMPK α 1/ β 2/ γ 1	HTRF	CaMK2 β	HTRF	CK2 α 2/ β	ADP-Glo
AMPK α 1/ β 2/ γ 2	HTRF	CaMK2 γ	HTRF	CLK1	ADP-Glo
AMPK α 1/ β 2/ γ 3	HTRF	CaMK2 δ	HTRF	CLK2	ADP-Glo
AMPK α 2/ β 1/ γ 1	HTRF	CAMKK2	ADP-Glo	CLK3	ADP-Glo
AMPK α 2/ β 1/ γ 2	HTRF	CDC7/ASK	ADP-Glo	CLK4	ADP-Glo
AMPK α 2/ β 1/ γ 3	HTRF	CDK1/CycA2	ADP-Glo	COT	ADP-Glo
AMPK α 2/ β 2/ γ 1	HTRF	CDK1/CycB1	ADP-Glo	cRAF	ADP-Glo
AMPK α 2/ β 2/ γ 2	HTRF	CDK1/CycE1	ADP-Glo	CRIK	ADP-Glo
AMPK α 2/ β 2/ γ 3	HTRF	CDK12/CycK	ADP-Glo	CSF1R	HTRF
AurA	HTRF	CDK13/CycK	ADP-Glo	CSK	HTRF
AurB	HTRF	CDK16/CycY	ADP-Glo	DAPK1	HTRF
AurC	HTRF	CDK18/CycY	ADP-Glo	DCAMKL1	HTRF
AXL	ADP-Glo	CDK2/CycA2	ADP-Glo	DCAMKL2	HTRF
BARK1	ADP-Glo	CDK2/CycE1	ADP-Glo	DDR1	HTRF
BARK2	ADP-Glo	CDK3/CycE1	ADP-Glo	DDR2	HTRF
BLK	HTRF	CDK4/CycD1	ADP-Glo	DMPK1	ADP-Glo
BMPR2	ADP-Glo	CDK4/CycD3	ADP-Glo	DMPK2	ADP-Glo
BMX	HTRF	CDK5/P25NCK	ADP-Glo	DYRK1A	ADP-Glo
BRAF	ADP-Glo	CDK5/p35NCK	ADP-Glo	DYRK1B	ADP-Glo

激酶名称	化验格式	激酶名称	化验格式	激酶名称	化验格式
DYRK2	ADP-Glo	FGFR2 K641R	HTRF	HCK	HTRF
DYRK3	ADP-Glo	FGFR2 K659N	HTRF	HER2	HTRF
DYRK4	ADP-Glo	FGFR2 N549H	HTRF	Her4	HTRF
EGFR	HTRF	FGFR2 R612T	HTRF	HGK	ADP-Glo
EGFRL858R	HTRF	FGFR2 V564F	HTRF	HIPK1	ADP-Glo
EGFRL861Q	HTRF	FGFR2 V564I	HTRF	HIPK2	ADP-Glo
EGFR T790M	HTRF	FGFR3	HTRF	HIPK3	ADP-Glo
EPHA1	HTRF	FGFR3 G697C	HTRF	HIPK4	ADP-Glo
EPHA2	HTRF	FGFR3 K650E	HTRF	HPK1	ADP-Glo
EPHA3	HTRF	FGFR3 K650M	HTRF	IGF1R	HTRF
EPHA4	HTRF	FGFR3 K650Q	HTRF	IKK α	HTRF
EPHA5	HTRF	FGFR3 V555L	HTRF	IKK β	HTRF
EPHA6	HTRF	FGFR3 V555M	HTRF	IKK ϵ	HTRF
EPHA7	HTRF	FGFR4	HTRF	INSR	ADP-Glo
EPHA8	HTRF	FGFR4 N535K	HTRF	IRAK1	ADP-Glo
EPHB1	HTRF	FGFR4 V550L	ADP-Glo	IRAK4	ADP-Glo
EPHB2	HTRF	FGFR4 V550M	HTRF	IRR	HTRF
EPHB3	HTRF	FGR	HTRF	ITK	HTRF
EPHB4	HTRF	FLT1	ADP-Glo	JAK1	ADP-Glo
Erk1	ADP-Glo	FLT3	HTRF	JAK2	ADP-Glo
Erk2	ADP-Glo	FLT3 D835Y	HTRF	JAK3	ADP-Glo
ERK5	ADP-Glo	FLT3 ITD	HTRF	JNK1	ADP-Glo
Erk7	ADP-Glo	FLT4	HTRF	JNK2	ADP-Glo
ERN1	ADP-Glo	FRK	HTRF	JNK3	ADP-Glo
FAK	HTRF	FYN [isoform a]	ADP-Glo	KDR	ADP-Glo
FER	HTRF	FYN [isoform b]	HTRF	KHS1	ADP-Glo
FES	HTRF	GAK	ADP-Glo	KIT	HTRF
FGFR1	HTRF	GLK	ADP-Glo	KIT D816V	HTRF
FGFR10P-FGFR	ADP-Glo	GPRK4	ADP-Glo	KIT T670I	HTRF
FGFR2	HTRF	GPRK6	ADP-Glo	KIT V559D	HTRF
FGFR2 C491F	HTRF	GPRK7	ADP-Glo	LATS1	ADP-Glo
FGFR2 C491S	HTRF	GSG2	ADP-Glo	LATS2	ADP-Glo
FGFR2 E565G	HTRF	GSK3 α	ADP-Glo	LCK	HTRF
FGFR2 K526E	HTRF	GSK3 β	ADP-Glo	LIMK1	ADP-Glo

激酶名称	化验格式	激酶名称	化验格式	激酶名称	化验格式
LOK	ADP-Glo	MLK3	ADP-Glo	PAK2	HTRF
LRRK2 G2019S	ADP-Glo	MNK1	ADP-Glo	PAK3	HTRF
LYNa	HTRF	MNK2	ADP-Glo	PAK4	HTRF
LYNb	HTRF	MRCK α	ADP-Glo	PAK5	HTRF
MAP2K1	ADP-Glo	MRCK β	ADP-Glo	PAK6	HTRF
MAP2K2	ADP-Glo	MSK1	ADP-Glo	PASK	HTRF
MAP2K3	ADP-Glo	MSK2	ADP-Glo	PBK	ADP-Glo
MAP2K5	ADP-Glo	MST1	ADP-Glo	PDGFR α	HTRF
MAP2K7	ADP-Glo	MST2	ADP-Glo	PDGFR α T674I	ADP-Glo
MAP3K1	ADP-Glo	MST3	ADP-Glo	PDGFR α V561D	ADP-Glo
MAP3K19	ADP-Glo	MST4	ADP-Glo	PDGFR β	HTRF
MAP3K2	ADP-Glo	MUSK	HTRF	PEK	ADP-Glo
MAP3K3	ADP-Glo	MYO3 β	ADP-Glo	PGK	ADP-Glo
MAP3K4	ADP-Glo	NDR1	ADP-Glo	PHKG1	HTRF
MAP3K5	ADP-Glo	NDR2	ADP-Glo	PHKG2	HTRF
MAP4K2	ADP-Glo	NEK1	HTRF	PIK3CA	ADP-Glo
MAPKAPK2	HTRF	NEK2	HTRF	PIK3CB	ADP-Glo
MAPKAPK3	ADP-Glo	NEK3	HTRF	PIK3CD	ADP-Glo
MAPKAPK5	ADP-Glo	NEK4	HTRF	PIM1	ADP-Glo
MARK1	ADP-Glo	NEK9	ADP-Glo	PIM2	HTRF
MARK2	ADP-Glo	NIK	ADP-Glo	PIM3	HTRF
MARK3	ADP-Glo	NIM1K	ADP-Glo	PKAC α	HTRF
MARK4	ADP-Glo	NLK	ADP-Glo	PKAC β	HTRF
MELK	ADP-Glo	NPM1-ALK	HTRF	PKAC γ	HTRF
MER	HTRF	NuaK1	ADP-Glo	PKC α	ADP-Glo
MET	HTRF	Nuak2	ADP-Glo	PKC β 1	HTRF
MET D1228H	HTRF	OSR1	ADP-Glo	PKC β 2	HTRF
MET D1228N	HTRF	p38 α	ADP-Glo	PKD1	HTRF
METY1230A	HTRF	p38 β	ADP-Glo	PKD2	HTRF
METY1230C	HTRF	p38 γ	ADP-Glo	PKD3	HTRF
METY1230D	HTRF	p38 δ	ADP-Glo	PKN1	ADP-Glo
MINK	ADP-Glo	P70s6k	HTRF	PKN2	ADP-Glo
MLK1	ADP-Glo	P70S6K β	ADP-Glo	PKN3	ADP-Glo
MLK2	ADP-Glo	PAK1	HTRF	PKR	ADP-Glo

激酶名称	化验格式	激酶名称	化验格式	激酶名称	化验格式
PLK1	ADP-Glo	RON	HTRF	TRKA G595R	HTRF
PLK2	ADP-Glo	ROS	HTRF	TRKA G595R A608D	HTRF
PLK3	ADP-Glo	RSK1	HTRF	TRKA G595R G667A	HTRF
PLK4	ADP-Glo	RSK2	HTRF	TRKA G667A	HTRF
PRKCD	ADP-Glo	RSK3	HTRF	TRKA G667S	HTRF
PRKCE	HTRF	RSK4	HTRF	TRKB	HTRF
PRKCH	HTRF	SGK	HTRF	TRKC	HTRF
PRKCI	HTRF	SGK2	HTRF	TRKC G696A	HTRF
PRKCQ	HTRF	SGK3	HTRF	TRKC G623E	ADP-Glo
PRKCZ	HTRF	SIK	ADP-Glo	TRKC L686M	ADP-Glo
PRKX	HTRF	SIK3	ADP-Glo	TSSK1	HTRF
PTC1	HTRF	SLK	ADP-Glo	TSSK3	HTRF
PTC2	HTRF	SRC	HTRF	TTBK1	ADP-Glo
PTC3	HTRF	SRM	ADP-Glo	TTBK2	ADP-Glo
PYK2	HTRF	STK33	ADP-Glo	TTK	ADP-Glo
QIK	ADP-Glo	SYK	HTRF	TXK	HTRF
RET	HTRF	TAOK1	ADP-Glo	TYK2	ADP-Glo
RET E762Q	HTRF	TAOK2	ADP-Glo	TYRO3	HTRF
RET G691S	HTRF	TAOK3	ADP-Glo	ULK1	ADP-Glo
RET G810R	ADP-Glo	TBK1	ADP-Glo	ULK2	ADP-Glo
RET L730I	HTRF	TEC	HTRF	ULK3	ADP-Glo
RET L730M	HTRF	TFG-TRKA	HTRF	WEE1	ADP-Glo
RET L790F	HTRF	TGFβR1	ADP-Glo	WNK1	ADP-Glo
RET M918T	HTRF	TGFβR1 T204D	ADP-Glo	WNK2	ADP-Glo
RET R921P	HTRF	TGFβR2	ADP-Glo	WNK3	ADP-Glo
RET S904A	HTRF	TIE2	HTRF	YES	HTRF
RET S904F	HTRF	TLK1	ADP-Glo	YSK1	ADP-Glo
RET V804E	HTRF	TLK2	ADP-Glo	ZAK	ADP-Glo
RET V804L	HTRF	TNIK	ADP-Glo	ZAP70	ADP-Glo
RET V804M	HTRF	TNK1	ADP-Glo	EGFR C797S	HTRF
RET Y806H	HTRF	TPR-TRKA	HTRF	EGFR C797S L858R	HTRF
RIPK2	ADP-Glo	TRKA	HTRF	EGFR d746-750	HTRF
ROCK1	ADP-Glo	TRKA G667C	HTRF	EGFR d746-750 C797S	HTRF
ROCK2	HTRF	TRKA A608D	HTRF	EGFR d746-750 C797G	HTRF

药代动力学检测

临床前药代动力学 (Pharmacokinetics, PK) 研究是通过整体动物或体外试验以及虚拟仿真等研究方法, 揭示药物在体内的动态变化规律, 获得药物的基本药代动力学参数, 阐明药物的吸收、分布、代谢和排泄 (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, 简称 ADME) 的过程和特征。药代动力学研究在新药研究开发的评价过程中起着重要作用, 对于预测药物的生物利用度和生物活性具有重要的参考价值。



吸收 (Absorption, A)

是指药物从给药部位进入血液循环的过程。除血管内给药外, 其余给药途径均存在吸收过程。而药物吸收的速度和程度与药物的给药途径、理化性质、吸收环境等均有关系, 是决定药物生物利用度的重要体内过程。

分布 (Distribution, D)

是指药物从血液转运到各组织器官的过程。药物在体内的分布具有选择性, 多数呈不均匀分布。给药后经过一段时间, 血液和组织器官中的药物浓度达到相对平衡, 此时血浆中的药物浓度水平可以间接反映靶器官和非靶器官的药物浓度水平, 因而可以间接预测血浆药物浓度与药物的药效和毒性的内在关系。

代谢 (Metabolism, M)

药物在体内吸收、分布的同时, 在药物代谢酶的作用下进行着化学结构的改变, 某些水溶性药物在体内不发生转化, 以原型经肾排出; 而大多数脂溶性药物在体内会转化成为解离型或水溶性高的代谢物, 经肾排出。

排泄 (Excretion, E)

是指药物以原型或代谢物的形式通过排泄器官或分泌器官排出体外的过程。其中, 肾是主要的排泄器官, 除此之外, 经胆排泄也是主要的排泄途径。

TargetMol 能够为广大科研工作者提供全面的药代动力学研究服务。研究药物在小鼠/大鼠/比格犬体内的药代动力学特征, 通过特定动物模型进一步研究其具体的吸收、分布以及消除机制, 以及该化合物透过血脑屏障进入脑组织的速度和程度, 获得其在小鼠/大鼠等动物体内的主要的药动力学参数, 实现化合物的构动-构效关联研究。

服务项目

【动物种属】小鼠/大鼠/比格犬/猴

【给药途径】静脉/口服/皮下/腹腔/肌肉给药

【生物基质采集】全血/血浆/各种组织

【检测手段】LC-MS/MS

【检测内容】PK, 血浆蛋白结合率 (PPB), 肝微粒体稳定性 (MMS), 组织分布, 血浆稳定性 (PLS), CYP 酶抑制



药代动力学检测步骤一般包含：饲养动物、动物给药、观察动物状态、采集血浆、上机检测等步骤。动物种属常用小鼠、大鼠、家兔、比格犬等；给药方式有口服、灌胃、腹腔注射、静脉注射等；最后血浆样品通过 LC-MS/MS 方法来检测其中的药物浓度。

给药动物	给药方式	给药剂量	给药频次	采样时间点
大鼠	口服	5 mpk	单次给药	8 个
小鼠	灌胃	10 mpk		5 个
比格犬	腹腔注射	20 mpk	多次给药
猴	静脉注射		

常见的药代动力学参数有：

药时曲线下面积 (AUC)：血药浓度曲线对时间轴所包围的面积。该参数是评价药物吸收程度的重要指标，反映药物在体内的暴露特性。

表观清除率 (CLF)：单位时间内从体内清除含药血浆体积。

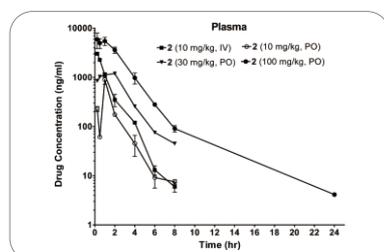
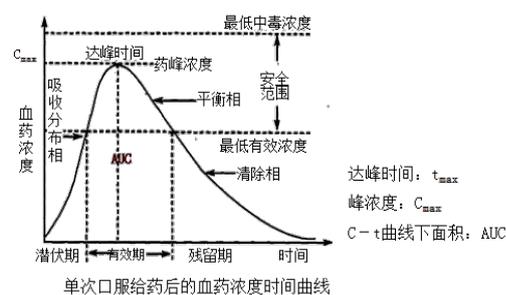
达峰时间 (Tmax)：药物达到峰浓度时对应的时间。

峰浓度 (Cmax)：单剂量下当药物的吸收速率等于消除速率时，药物达到峰浓度。

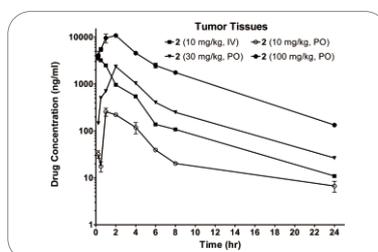
消除半衰期 (T1/2)：药物在体内的浓度降低至一半所需要的时间

表观分布容积 (Vd)：血浆中的药物浓度与整个身体的药物总量的比值。

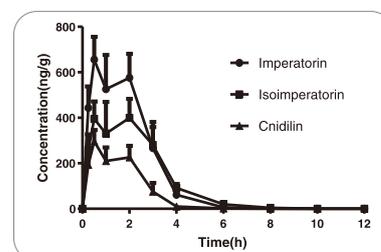
生物利用度 (F)：药物进入体循环的药量与静脉注射相同药量的比例。



Curr Protoc Chem Biol. 2011 Dec 1;3(4):163-180.



J Med Chem. 2011 Apr 28;54(8):2714-26.



Fitoterapia. 2013 Mar;85:144-53.

TargetMol 技术服务文献引用

Citations

- ① 1.Xiao, Meng-Chao et al. “TRIB3-TRIM8 complex drives NAFLD progression by regulating HNF4α stability.” *Journal of hepatology* vol. 80,5 (2024): 778-791. doi:10.1016/j.jhep.2023.12.029
- ② 2.Yong, Liang et al. “Calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV promotes imiquimod-induced psoriatic inflammation via macrophages and keratinocytes in mice.” *Nature communications* vol. 13,1 4255. 22 Jul. 2022, doi:10.1038/s41467-022-31935-8
- ③ 3.Yu, Yafen et al. “Cutaneous Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II-γ-Positive Sympathetic Nerves Secreting Norepinephrine Dictate Psoriasis.” *Advanced science* (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany) vol. 11,23 (2024): e2306772. doi:10.1002/advs.202306772
- ④ 4.Deng, Ping et al. “SIRT5-Mediated Desuccinylation of RAB7A Protects Against Cadmium-Induced Alzheimer's Disease-Like Pathology by Restoring Autophagic Flux.” *Advanced science* (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany), e2402030. 5 Jun. 2024, doi:10.1002/advs.202402030
- ⑤ 5.Bai, Yu-Bin et al. “Virtual Screening and In Vitro Experimental Verification of LuxS Inhibitors for *Escherichia coli* O157:H7.” *Microbiology spectrum*, vol. 11,2 e0350222. 21 Feb. 2023, doi:10.1128/spectrum.03502-22
- ⑥ 6.Liu, Juan et al. “Computational Drug Repurposing Approach to Identify Novel Inhibitors of ILK Protein for Treatment of Esophageal Squamous Cell Carcinoma.” *Journal of oncology* vol. 2022 3658334. 29 Dec. 2022, doi:10.1155/2022/3658334
- ⑦ 7.Li J, Zheng C, Mai Q, Huang X, Pan W, Lu J, Chen Z, Zhang S, Zhang C, Huang H, Chen Y, Guo H, Wu Z, Deng C, Jiang Y, Li B, Liu J, Yao S, Pan C. Tyrosine catabolism enhances genotoxic chemotherapy by suppressing translesion DNA synthesis in epithelial ovarian cancer. *Cell Metab.* 2023 Nov 7;35(11):2044-2059.e8.
- ⑧ 8. Shi W, Zhang G, Ma Z, Li L, Liu M, Qin L, Yu Z, Zhao L, Liu Y, Zhang X, Qin J, Ye H, Jiang X, Zhou H, Sun H, Jiao Z. Hyperactivation of HER2-SHCBP1-PLK1 axis promotes tumor cell mitosis and impairs trastuzumab sensitivity to gastric cancer. *Nat Commun.* 2021 May 14;12(1):2812.
- ⑨ 9.Yang Y, Sun N, Lv J, Chen H, Wang H, Xu J, Hu J, Tao L, Fang M, Huang Y. Environmentally realistic dose of tire-derived metabolite 6PPD-Q exposure causes intestinal jejunum and ileum damage in mice via cannabinoid receptor-activated inflammation. *Sci Total Environ.* 2024 Mar 25;918:170679.

- 10. Hong X, Wei Z, He L, Bu Q, Wu G, Chen G, He W, Deng Q, Huang S, Huang Y, Yu C, Luo X, Lin Y. High-throughput virtual screening to identify potential small molecule inhibitors of the Z α domain of the adenosine deaminases acting on RNA 1(ADAR1). *Eur J Pharm Sci.* 2024 Feb 1;193:106672.

- 11. Du J, Liu N, Ma L, Liu R, Zuo D, Lan X, Yang J, Wei W, Peng X, Yu J. Antidepressant effect of the novel histone deacetylase-5 inhibitor T2943 in a chronic restraint stress mouse model. *Biomed Pharmacother.* 2024 Feb;171:116176.

- 12. Chen Y, Li L, Lan J, Cui Y, Rao X, Zhao J, Xing T, Ju G, Song G, Lou J, Liang J. CRISPR screens uncover protective effect of PSTK as a regulator of chemotherapy-induced ferroptosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer.* 2022 Jan 4;21(1):11.

- 13. Xie Y, Zhang L, Wang L, Chen B, Guo X, Yang Y, Shi W, Chen A, Yi J, Tang J, Xiang J. EphB1 promotes the differentiation and maturation of dendritic cells in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett.* 2024 Feb 1;582:216567

- 14. Yu Z, Peng Y, Gao J, Zhou M, Shi L, Zhao F, Wang C, Tian X, Feng L, Huo X, Zhang B, Liu M, Fang D, Ma X. The p23 co-chaperone is a succinate-activated COX-2 transcription factor in lung adenocarcinoma tumorigenesis. *Sci Adv.* 2023 Jun 30;9(26):eade0387. doi: 10.1126/sciadv.ade0387. Epub 2023 Jun 30.

- 15. Bai YB, Yang XR, Li B, Zhou XZ, Wang WW, Cheng FS, Zhang JY. Virtual Screening and In Vitro Experimental Verification of LuxS Inhibitors for Escherichia coli O157:H7. *Microbiol Spectr.* 2023 Feb 21;11(2):e0350222.

- 16. Wang J, Ran T, Chen Y, Lu T. Bayesian machine learning to discover Bruton's tyrosine kinase inhibitors. *Chem Biol Drug Des.* 2020 Oct;96(4):1114-1122.

- 17. Wang W, Liu C, Li H, Tian S, Liu Y, Wang N, Yan D, Li H, Hu Q. Discovery of novel and potent P2Y₁₄R antagonists via structure-based virtual screening for the treatment of acute gouty arthritis. *J Adv Res.* 2020 Feb 13;23:133-142.

TargetMol Chemicals Inc.

抑制剂&激动剂 | 化合物库 | 天然产物 | 重组蛋白 | 技术服务

www.targetmol.cn Tel: 400 - 820 - 0310 Email: sales@targetmol.cn

TargetMol® 所有产品和服务仅用于科学研究, 不能被用于人体, 我们不向个人提供产品和服务。



官方微信公众号



积分商城小程序