

## PR 系列 ( Prometheus™ Series ) 蛋白稳定性分析



Prometheus™ Instruments  
for nanoDSF™

## PR 系列 (Prometheus™ Series)

德国 NanoTemper 公司基于 nanoDSF 技术推出的 PR 系列 (Prometheus Series) 产品，提供了一种简捷、快速并精准地分析蛋白质稳定性和聚集的新方法。

nanoDSF 帮助您做出更明智的决策：

- ▶ 产品研发
- ▶ 制剂开发
- ▶ 质量控制



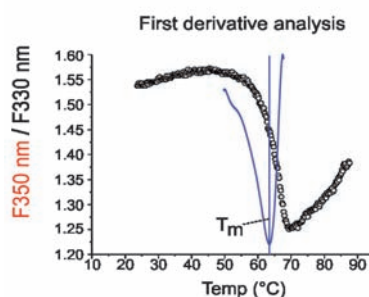
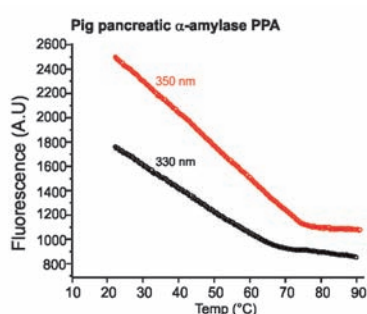
PR NT.Plex 集成机器人自动上样

## nanoDSF™

源于德国 NanoTemper 公司

nanoDSF 是一种高级的差示扫描荧光技术 (Differential Scanning Fluorimetry)。此技术可检测所有蛋白色氨酸和酪氨酸荧光的最微小变化。

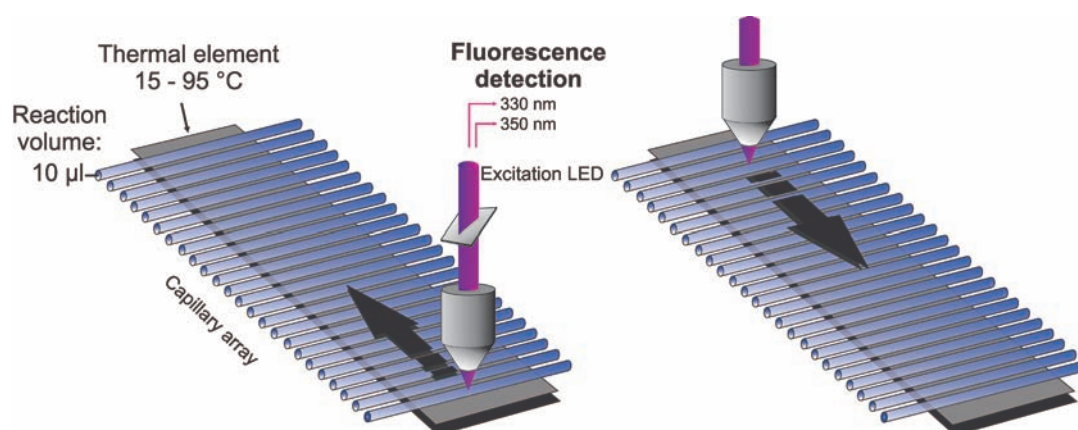
蛋白中色氨酸和酪氨酸的荧光与其所处的环境密切相关。因此，通过检测荧光变化，可真正实现在非标记环境下测定蛋白的化学稳定性和热稳定性。



### nanoDSF 技术的热稳定性数据

左图中记录了 330 nm 和 350 nm 双波长荧光值数据的对应温度。右图以双波长荧光值比值 350/330 nm 对温度作图：图中显示，即使单波长数据中没有明显的去折叠转变，350/330 nm 比值也可以非常清晰地显示出折叠状态转变。

由 NanoTemper 公司研发的通过实时荧光检测，可提供无以伦比的扫描速度和高密度的数据点。超高分辨率的去折叠曲线甚至可以检测到瞬间的去折叠现象。



此外，由于不像传统 DSF 技术需要外源荧光基团作为信号源，nanoDSF 的检测过程不受任何缓冲液限制，并且适用于非常广泛的浓度范围 (250 mg/ml - 5 µg/ml)，因此，此技术可用于去垢剂溶解的膜蛋白和高浓度抗体制剂的稳定性分析。

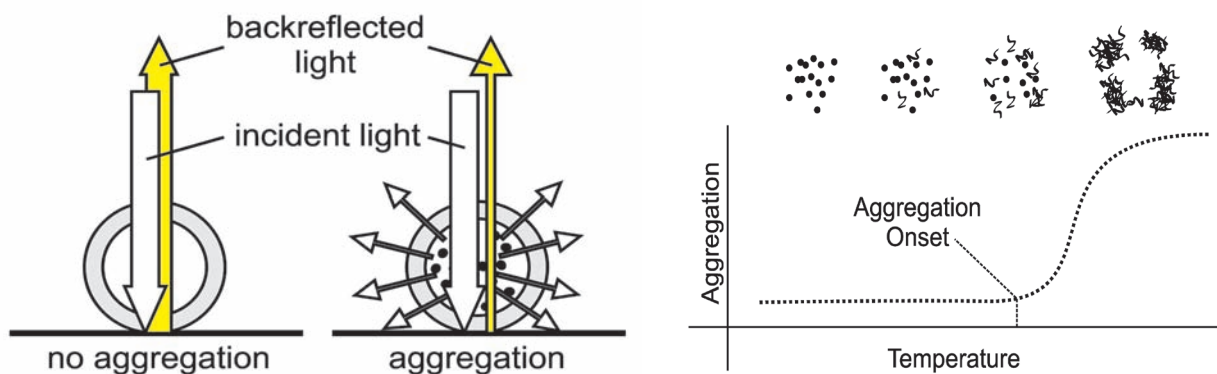
## 可选模块：背向反射光 (Backreflection Optics)

源于德国 NanoTemper 公司

NanoTemper 公司研发的背向反射光学模块主要用于检测蛋白的聚集现象，如抗体。

蛋白的聚集检测主要基于颗粒的光散射效应。归功于 PR 系列产品使用的高精度毛细管和自动化的内部参比，聚集检测的重复性和灵敏性均优于传统方式。同时，由双通道 UV (Dual - UV Technologies) 检测模块获得的高密度数据能够同步监测蛋白的去折叠过程。

热稳定性和聚集起始温度的同步检测，能给您提供非常快速、精确和信息丰富的生物分子分析方案，如：制剂筛选和蛋白工程项目。



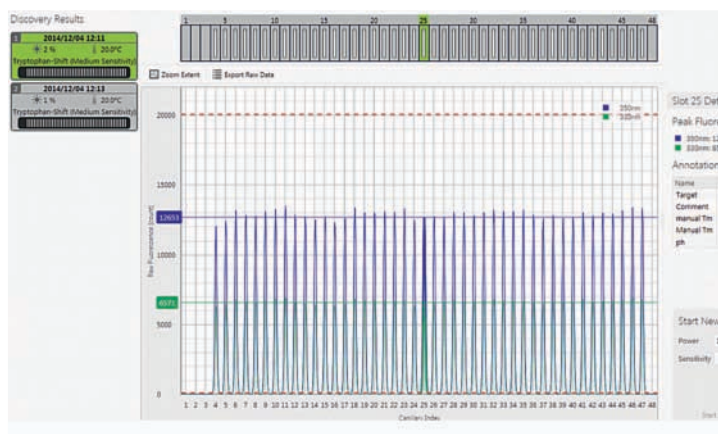
## 控制和分析软件

PR 系列软件可在实验设置、数据记录和数据分析等方面为您提供全面和细致的指导。热变性和化学变性实验数据由不同的软件直接进行分析。

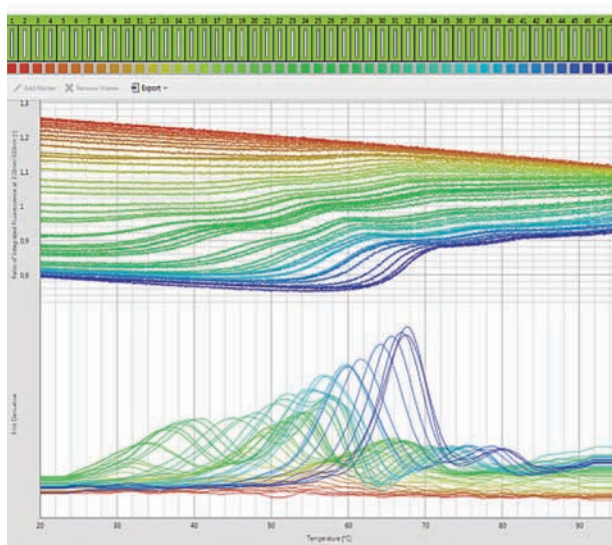
软件提供非常友好的用户界面，根据提示逐步点击即可。数据采用一阶和二阶导数的自动化分析模式，可确保最高的精确度和重复性。同时，软件直接提供用于文献发表的高分辨率图像，原始数据也可导入表格中进行报告展示。

用户可自己根据需求进行软件更新和升级，以获得最新的功能和特性。

### PR.ThermControl:



### PR.ChemControl:

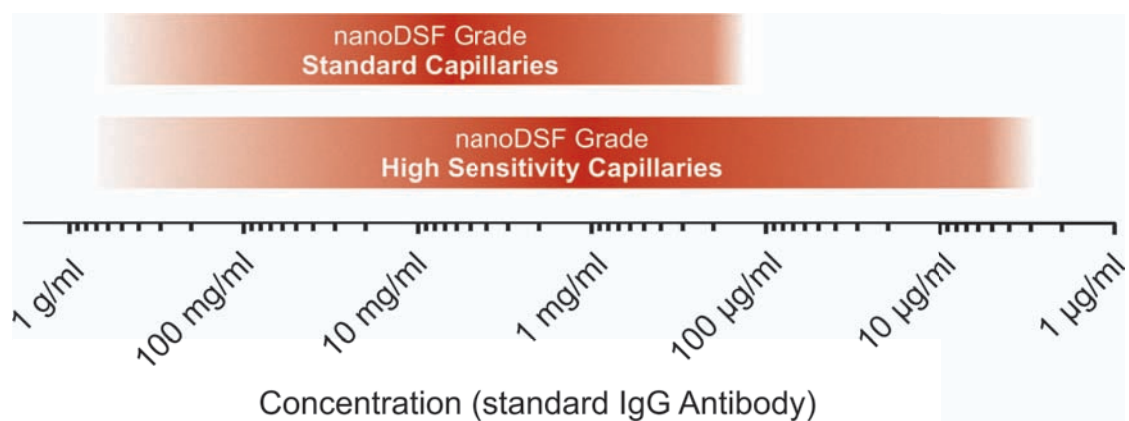


### PR.TimeControl:

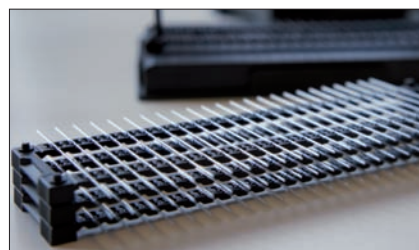
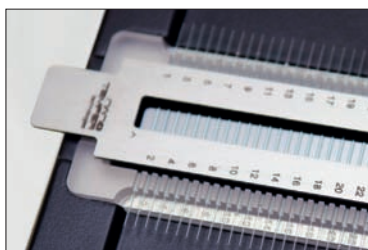


## 耗材

NanoTemper 公司提供高质量和高精度的耗材。针对 nanoDSF 实验进行设计和优化的毛细管能够获得非常精确的检测信号，适用于各种浓度的样品。非凡的重现性和玻璃纯度确保用户获得高质量数据。高灵敏度毛细管更能将样品浓度范围扩展到 200  $\mu\text{g/ml}$  以下。



PR NT.48 以单支毛细管形式上样，为实验提供极大的灵活性和操作简捷性。而 PR NT.Plex 则使用 24 支毛细管为一组的芯片，可通过机械臂平台实现全自动上样。

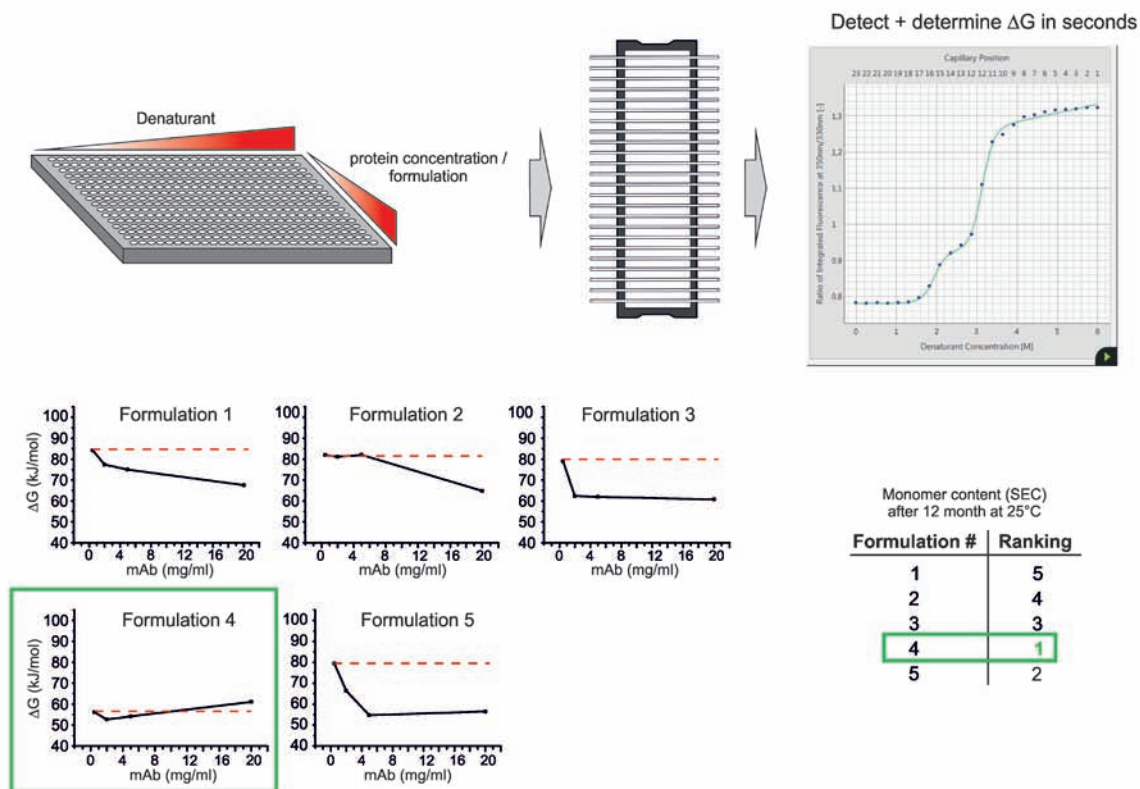




## 全面信息的获得 ——应用于抗体制剂研发

PR 软件包能够在数秒钟内检测化学变性，获得吉布斯自由能 ( $\Delta G$ )。  $\Delta G$  具有浓度依赖性，可用其评估蛋白聚集趋势。因此，nanoDSF 技术可用于预测生物药在不同制剂中的长期稳定性。

使用 PR NT.Plex 的全自动化 nanoDSF 方案，在无人值守的条件下，一天内可以完成几百个化学变性实验。



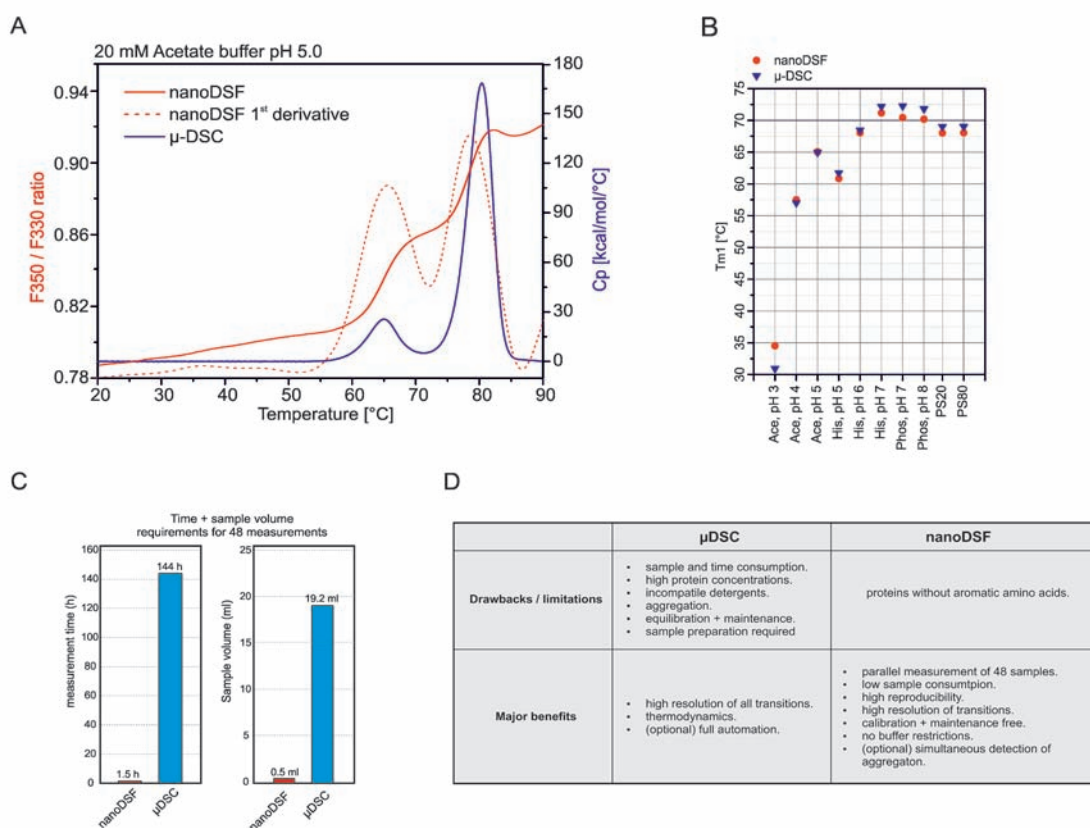
### 预测不同制剂条件下的聚集趋势

上图：化学变性实验操作流程。首先在 384 孔板中配制不同浓度变性剂的制剂，并装载到 PR 系列专用毛细管芯片中。仪器扫描后，数秒内即可自动获得化学变性曲线及实验结果。

下图：单抗的  $\Delta G$  在不同制剂中的浓度依赖性。  $\Delta G$  值的降低预示去折叠状态下的聚集倾向较大。4 号制剂显示一个恒定的  $\Delta G$  值，在 25 °C 储存 12 个月后，HPSEC 鉴定显示出其单体含量 (monomer content) 最高。

## 技术对比：nanoDSF and $\mu$ DSC

知名 CRO 企业的合作研究证实 nanoDSF 技术能够克服  $\mu$ DSC 技术的多个主要缺点：nanoDSF 更易于使用，测试速度是  $\mu$ DSC 的 100 倍，样品消耗量却仅有其 1/40。

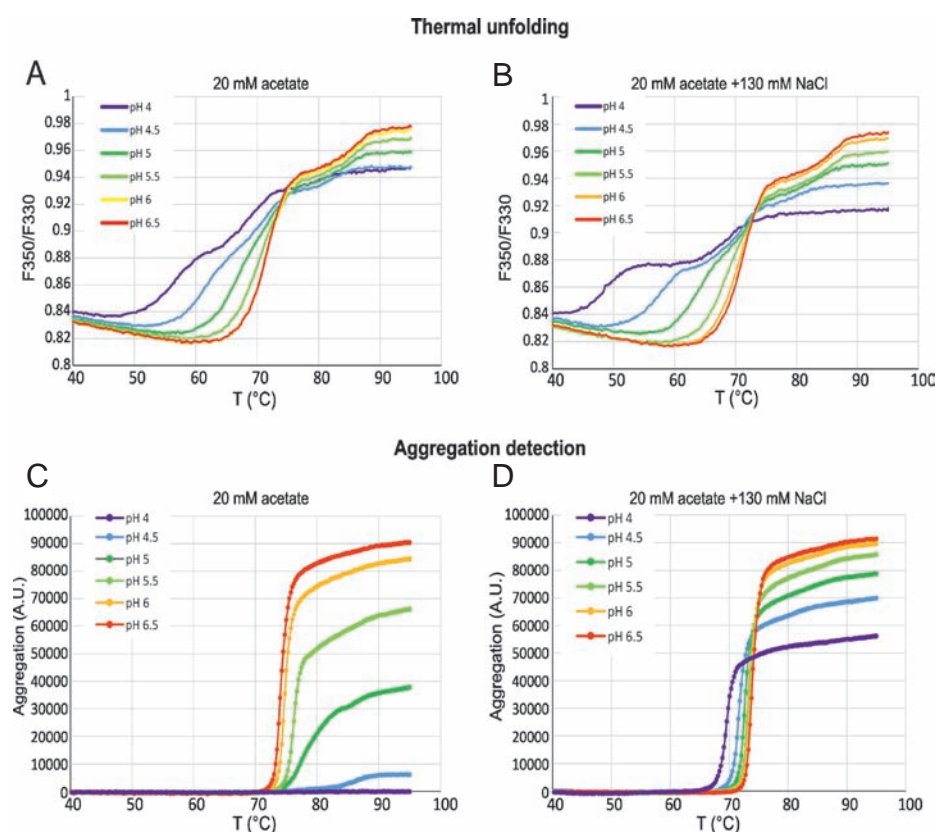


在商业化单克隆抗体小规模制剂筛选中， nanoDSF 和  $\mu$ DSC 都能够获得精确并高度一致的  $T_m$  值（A 和 B）。此筛选共测定了 10 种不同缓冲液或 pH 值的制剂条件，以及是否添加聚山梨醇脂 20 和 80。聚山梨醇脂 20 和 80 是单抗制剂中常用的去垢剂，此类样品无法使用传统的 DSF 方法进行测试。

PR NT.48 集成化的 nanoDSF 分析方法和创新性的毛细管上样方式，能够很好地克服  $\mu$ DSC 的主要功能缺陷（C 和 D）。除了测定速度快、数据精确性高和通量高以外，nanoDSF 不需要繁琐的仪器维护和耗时耗力的样品制备（例如透析和过滤）。因此，PR NT.48 是生物药物研发中进行快速、精准热稳定性筛选的理想仪器。



## 抗体的热稳定和胶体稳定性分析



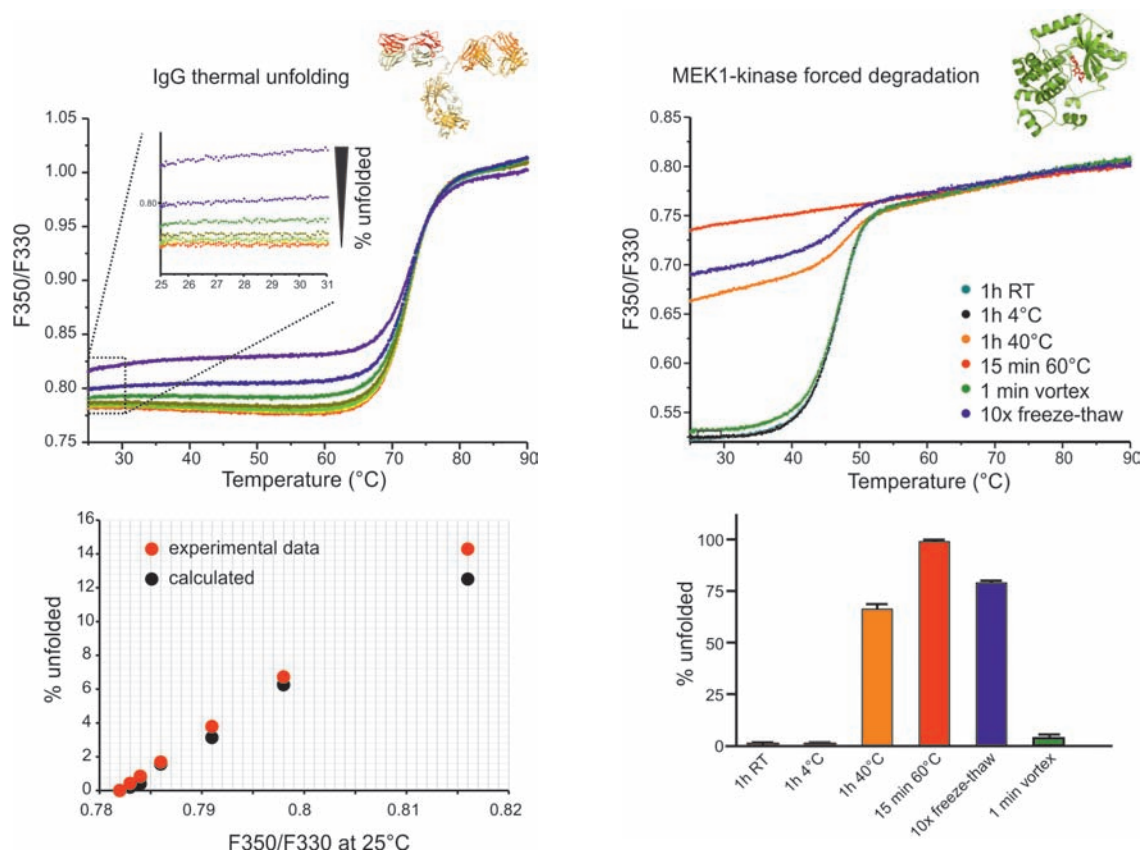
### 单克隆抗体在不同缓冲液中的构象稳定性与聚集

(A 和 B) 在不同 pH 值和 NaCl 浓度条件下, 通过检测荧光比值 (F350/F330) 的变化测定单抗的热稳定性。  
(C 和 D) 通过检测背向反射光变化测定聚集。

PR NT.48 能够为抗体缓冲液筛选项目提供高质量的热稳定性数据, 并能够检测单个抗体结构域的去折叠信号 (A 和 B)。PR NT.48 宽泛的检测范围允许用户测定 250 mg/ml - 5  $\mu$ g/ml 浓度范围内抗体的热稳定性。此外, 应用背向反射光学模块能够同时获得抗体的胶体稳定性数据和聚集起始温度 (C 和 D)。

使用 PR NT.48 平行测定热稳定性和聚集的结果显示: 对抗体而言, 在可以减少聚集的条件下, 轻微的热不稳定是可以接受的, 甚至对长期稳定性是有利的 (D)。因此, 未来可以设计筛选方法去寻找既能在低 pH 值条件下增加抗体热稳定性, 同时又能将去折叠状态维持在低聚集的添加剂环境中。

## 质量控制



### 建立蛋白去折叠标准曲线

不同浓度的去折叠状态 IgG 与折叠状态 IgG 进行混合并进行热变性。溶液中去折叠 IgG 的百分比基于在 25 °C 时测定的 F350/F330 比值予以定量。

### MEK1 的胁迫降解压力测试

使用 MEK1 蛋白进行指定的压力测试，通过测定 25 °C 时 F350/F330 比值来计算去折叠蛋白的占比。误差条显示三次实验数据的标准差。

nanoDSF 可快速检测并定量去折叠蛋白，进而用于质量控制。该方法具有非比寻常的速度，同时其操作过程还非常简单。

直接将储存液装载到毛细管中就可进行上图所示的质量控制实验，无需费时费力的样品制备过程。然后仅需要点击一次按钮，软件便会记录多至 48 个样品的 F350/F330 值，并在数秒内显示稳定性数据。

## 客户评价



**Dr. Michaela Blech**, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG,  
Biberach, Germany  
德国勃林格殷格翰制药公司

“The Prometheus instrument allows for label-free analysis of 48 samples simultaneously independent of their protein concentrations (high dynamic range) and selected solution conditions and/or -compositions. Unlike other techniques the Prometheus NT.48 measurements remained unaffected by any excipient, sugar, detergent or additive. All together, the Prometheus instrument enables for very flexible experimental design and provides maintenance-free instrumentation. In addition, our obtained data demonstrate very high reproducibility, consistency, the robustness and precision of this particular technology. The outstanding construction design allows for on-the-fly detection of fluorescence intensity resulting in impressive data point density that there is virtually no need for data fitting.”



**Dr. Alexey Rak**, Sanofi, France  
法国赛诺菲集团

“Native, intrinsic fluorescence based nanoDSF technology has been quickly integrated in our standard operations and is applied nowadays in every project we are currently working on, including small molecules and biologics modalities. We are using Prometheus for initial screening as well as for lead optimization profiling of small molecules and fragments and for stability characterization of therapeutic proteins. Furthermore, nanoDSF is an invaluable tool for quality control since the fraction of unfolded protein can be quantified just within a few seconds.

The Prometheus NT.48 instrument is maintenance-free and provides an easy to use handling platform. The capillary format allows us to even measure highly viscous formulation conditions.

We experienced that nanoDSF technology is superior to standard DSF regarding its application range as well as in terms of precision, reproducibility, wider applicability and greater potential for new applications development.”



**Dr. Mariliz Johnson**, DuPont Industrial Biosciences, Palo Alto CA, USA  
美国杜邦公司

“We went through an extensive head to head comparison among other similar technologies and the nanoDSF stood out like a champion. We quickly fell in love and made it the new workhorse in our lab. The instrument provides great data quality of denaturation events with impressive signal to noise ratio, high density of data points, and extraordinary reproducibility making day to day analysis consistent and trustworthy. In addition, the instrument is straight forward to use and data very simple to analyze. We literally, got it, plugged it and started playing in no time.

Overall, we are very pleased and impressed with the many great qualities of the Prometheus. It will certainly allow us to bridge the gap between molecule screening, selection and product development. We are grateful to NanoTemper for creating this unique biophysical tool as well as for their outstanding and one of a kind customer service.”

### Europe / International

NanoTemper Technologies GmbH  
Floessergasse 4  
81369 Munich  
Germany

Phone +49 (0) 89 4522895 0  
Fax +49 (0) 89 4522895 60

[info@nanotemper-technologies.com](mailto:info@nanotemper-technologies.com)

### Great China Area

NanoTemper Technologies Ltd.  
Room0305, Air China Plaza,  
No.36 Xiaoyun Road, Chaoyang District  
Beijing, 100027

Phone +86 (10) - 84462100  
+86 (10) - 84462300

[info@nanotemper-technologies.com](mailto:info@nanotemper-technologies.com)

### USA / Canada

NanoTemper Technologies, Inc.  
400 Oyster Point Blvd. Suite 336  
South San Francisco  
CA 94080, USA

Phone + 1 650 763 1658  
Fax + 1 650 350 4390

[info@nanotemper-technologies.com](mailto:info@nanotemper-technologies.com)

### Latin America

NanoTemper Technologies GmbH  
Center Alameda Santos  
Alameda Santos, 200  
São Paulo -SP 01418-000, Brazil

Phone: +56 (2) 2581-4664  
or +55 (11) 3587-1408

[info@nanotemper-technologies.com](mailto:info@nanotemper-technologies.com)

MicroScale Thermophoresis™ is a trademark.  
NanoTemper® and Monolith® are registered trademarks.  
NanoTemper® and Monolith® are registered in the U.S. Patent and Trademark Office.