

NOVÝ ZETASIZER MALVERN POSKYTUJE RYCHLOU A VYSOCE CITLIVOU CHARAKTERIZACI PROTEINŮ

Nový Zetasizer Nano ZSP firmy Malvern navazuje na široce rozšířený a oblíbený Zetasizer ZS. Pracuje opět na principu dynamického rozptylu světla a jeho schopnosti směrem k charakterizaci proteinových molekul jsou zároveň významně posíleny.

Je to především schopnost rychlého a spolehlivého měření elektroforetické mobility proteinů a následné kalkulace tak zásadního parametru, jakým je hodnota náboje na daném proteinu. Měření proteinové mobility (resp. zeta potenciálu) pomocí dynamického rozptylu světla je rychlejší a spolehlivější než konvenční metody, jako jsou kapilární elektroforéza a iso-elektrické fokusování. Navíc Zetasizer ZPS vyžaduje pouze 20 mikrolitrů vzorku a je schopen snímat koncentrace až do 1 mg/ml.

Obr. – Zetasizer Nano ZSP



Klíčem k těmto schopnostem je docílení vysoké citlivosti systému a schopnosti zabránit nežádoucím agregacím a samozřejmě výkonný software, který je schopen okamžitě prezentovat data v použitelném formátu. Zetasizer Nano ZSP má takovou citlivost snímání signálu, že může měřit i slabě rozptylující se vzorky, jako jsou proteiny. Proces snímání mobility proteinů tak, aby maximalizoval kvalitu naměřených dat, je postaven na třech specifických konstrukčních momentech. Především kombinací měření velikosti a zeta potenciálu se zabrání agregaci, která se vytváří během měření. Tato, v případě že nastane, je indikována. Dále, měření mobility je prováděno v podskupinách tak, aby byla umožněna delší časová perioda chlazení a nedošlo k zahřívání, které je příčinou aglomerace. A za třetí, automatická optimalizace nastavení parametrů měření minimalizuje denaturaci a agregace během snímání mobility.

Do softwaru nového Zetasizeru Nano ZSP byla doplněna sada proteinových kalkulátorů. Je to především DLS Debye Plot, který umožňuje výpočet DLS interakčního parametru užitečného zejména při proteinové formulaci biologických terapeutických preparátů. Dále je zde možnost spočítat náboj proteinu z pro-

teinové mobility tzv. $F(ka)$ z Henryho rovnice, mezičásticovou vzdálenost a thermodynamický diametr (virální radius). Navíc ke všem těmto schopnostem a funkcím nová verze software, která je standardní výbavou nového Zetasizeru Nano ZSP, umožňuje úplně novou měřicí funkci, a to tzv. Mikroreologii. Tato optická technika postavená na dynamickém rozptylu světla DLS umožňuje reologickou charakterizaci slabě strukturovaných a při tom vysoce citlivých materiálů na namáhání, a to použitím mikrolitrových objemů vzorku. Je tak možné měřit viskozitu polymerních a proteinových roztoků a zaznamenat začátek aglomerace.

Rozšířená řada skupiny Zetasizerů je tak rozšířena o systém, který je schopen charakterizovat velikost, Mw a zetapotenciál, a navazuje tak na již vyráběné modely, jako je Zetasizer APS pro automatické měření velikosti proteinů ve vícejamkových destičkách a na Zetasizer μV , který je určen pro měření velikosti a Mw proteinů, jak v kyvetě tak i v chromatografickém módu (např. v kombinaci s s GPC/SEC systémem).

Ing. Jiří HRDLIČKA, ANAMET s.r.o.,
hrdlicka@anamet.cz

NANOPARTICLE TRACKING ANALYZÁTORY MALVERN

Pro analýzu nanočástic v rozmezí velikosti 20–2000 nm nabízí firma Malvern unikátní zařízení NS 300, které pracuje na bázi Nanoparticle Tracking Analysis (NTA). Český můžeme tento název popsat jako „Analýza Trajektorie Nanočástic“.

Nanočástice v laserovém paprsku rozptylují světlo a jsou viditelné jako body v mikroskopu. Pohyb a intenzita rozptýleného světla je snímána citlivou kamerou a tyto parametry jsou vyhodnocovány pomocí originálního software, který analyzuje trajektorie jednotlivých nanočástic v roztoku a na základě jejich Brownova pohybu vypočítá difusní koeficient a hydrodynamický poloměr.

Měření jednotlivých individuálních nanočástic umožňuje analýzu velmi komplexních vzorků s vysokou polydispersitou (např. některé typy liposomálních preparátů, směsi nanočástic z různých materiálů, nanočástice s tendencí agregovat atd.). Takové vzorky jsou obtížně analyzovatelné jinými metodami jako například technikou DLS (dynamický rozptyl světla).

Další předností metody je možnost rychle změřit absolutní počet nanočástic v roztoku

(např. viry a virům podobné částice VLP, liposomy, Q-dot) Tento zásadní údaj pro toxikologické, imunologické, virologické a farmakologické studie lze získat jen obtížně jinými metodami.

Přístroj NS 300 nabízí ještě další unikátní možnost selektivní analýzy a to využití fluorescence. Obtížně analyzovatelné vzorky jako například viry a virům podobné částice zpravidla obsahují kontaminanty v podobě buněčného debritu, který není možné ve všech případech snadno odstranit. Viry a VLP lze snadno označit například fluorescenčně značenými protilátkami a analyzovat pouze částice, které vykazují fluorescenční signál.

Aplikace NTA analýzy na přístroji NS 300 zahrnují zejména tyto oblasti:

- Viry, virům podobné částice, vakcíny, olejová adjuvans (zejména SOP pro kontrolu kvality ve farmaceutickém průmyslu).
- Exosomy a extracelulární vesikuly (výzkumné laboratoře zaměřené na medicínský výzkum).
- Biokompatibilní nanočástice pro cílení léčiv (liposomy, biopolymerní nanočástice, syntetické polymerní nanočástice) – (akademický

výzkum, farmaceutický a biotechnologický průmysl – výzkum a SOP pro kontrolu kvality).

- Stanovení agregace proteinů a stability nanočásticových systémů (akademický výzkum, farmaceutický a chemický průmysl).
- Nanotoxikologie a ekonantoxikologie (charakterizace nanočástic – polutanty, nanopesticity, nanofungicidy adt., – jejich stabilita a distribuce v organismech a ekosystémech) – akademický a univerzitní výzkum.
- Charakterizace nanomateriálů dle norem a regulací EU (specializované akreditované laboratoře).
- Genová Terapie a Nanomedicína – charakterizace genových vektorů (akademický biomedicínský výzkum, farmaceutický výzkum a průmysl).

NS 300 v kombinaci s přístrojem ZetaNanosizer tvoří ideální komplementární dvojici kombinující technologie NTA a DLS pro analýzu velmi komplexních vzorků v rozsahu velikosti částic 0,3–6 000 nm.

ANAMET s.r.o.,
www.anamet.cz