

Principio, Optimización y Aplicaciones del Análisis de Rastreo de Nanopartículas (NTA)

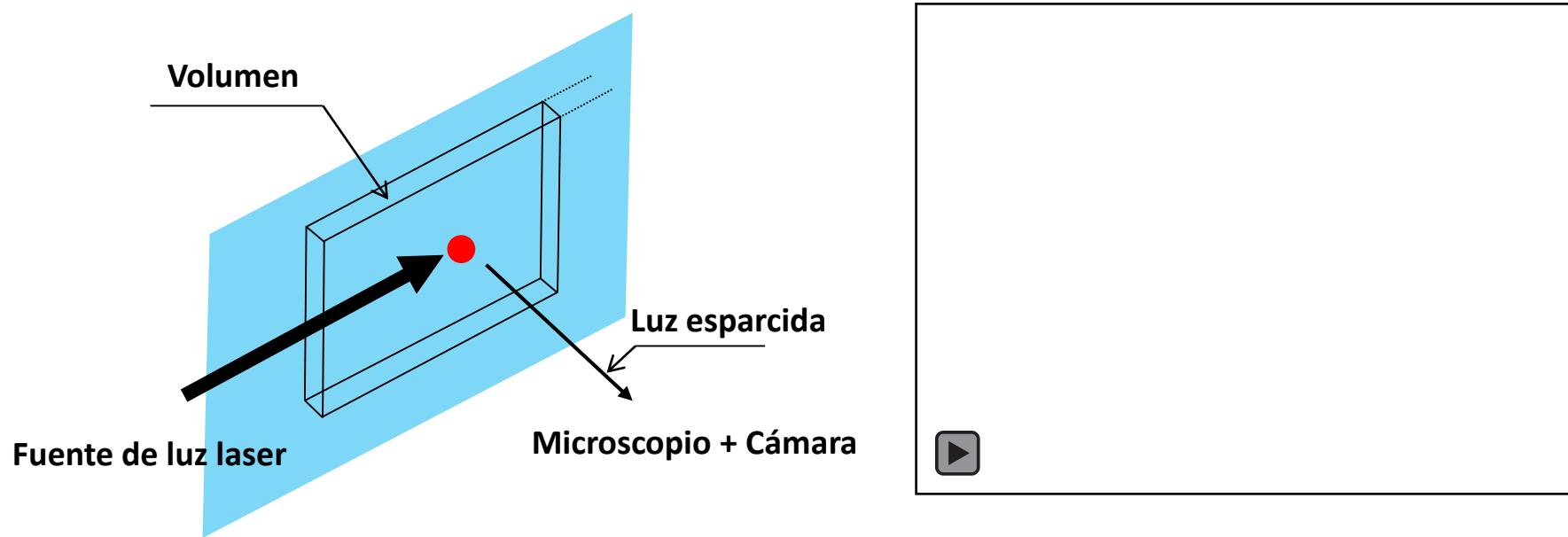
Cindy Fuentes Rosal, Científica de Aplicaciones

24-07-2019

1. Principio de la Técnica de Rastreo de Nanopartículas (NTA)
2. Información que nos proporciona la técnica NTA
3. Limitaciones de la técnica NTA
4. Optimización
5. Aplicaciones más recientes

Análisis de Rastreo de Partículas (NTA)

Este análisis monitorea el movimiento Browniano de las partículas



Información que nos proporciona la técnica NTA

- Medición precisa y reproducible de:
 - Concentración del número de partículas (partículas /ml)
 - Determinación de la distribución de tamaño de partículas

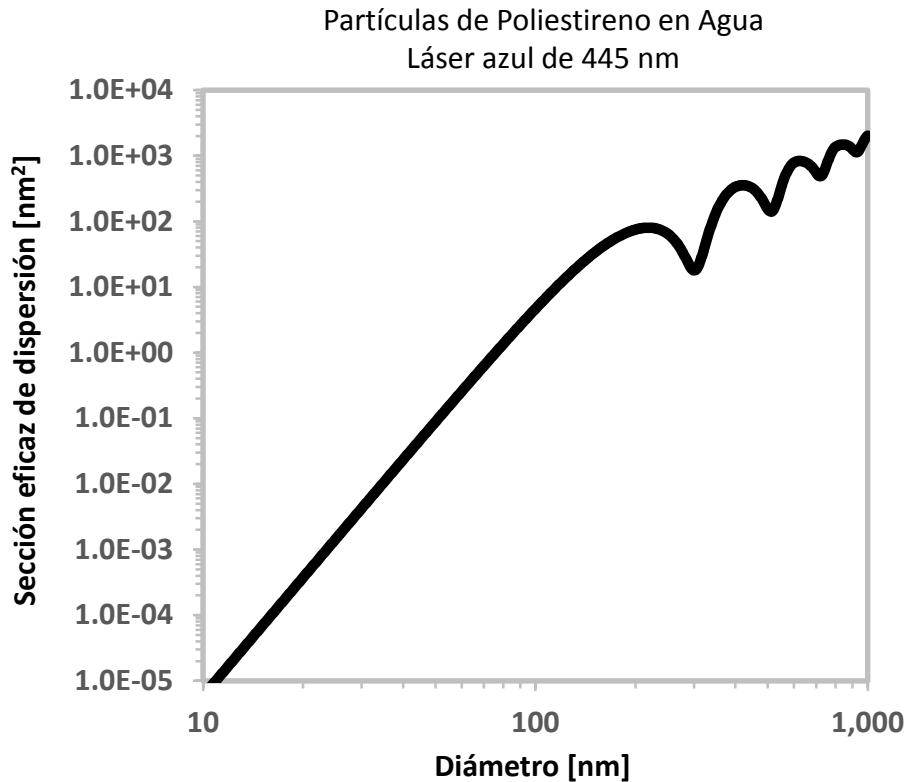
Problema

La Organización Internacional de Normalización ISO 19430

"La poli-dispersidad de la muestra afecta la capacidad de rastrear y, por lo tanto, de analizar fracciones de diferentes tamaños en la distribución del número y tamaño de las partículas. [...]

"En una muestra poli-dispersa, las partículas grandes se dispersan mucho más que las partículas pequeñas, lo que dificulta la detección o el rastreo de partículas de tamaño pequeño".

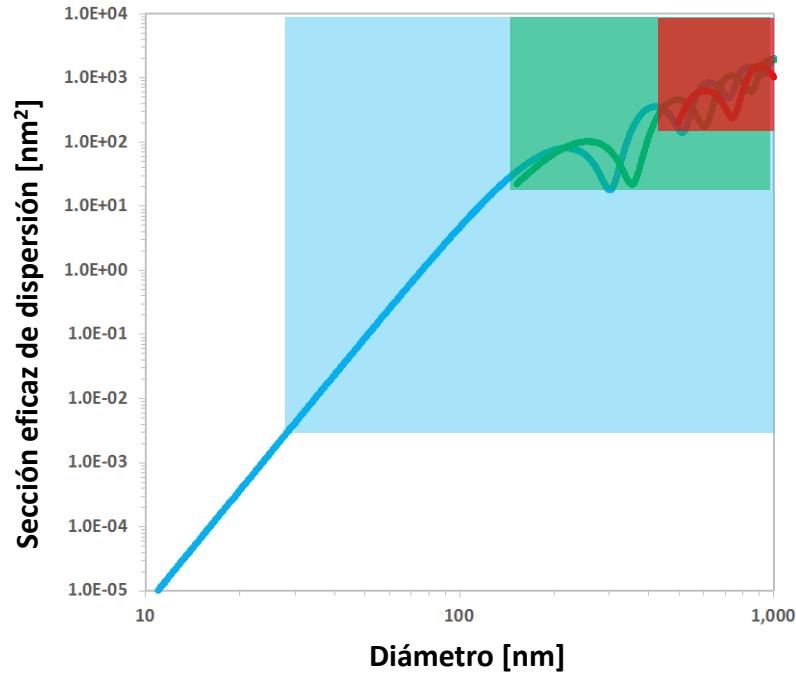
Problema

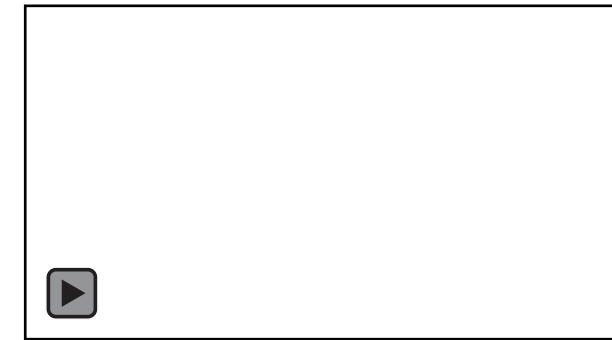


>6 órdenes de magnitud

MANTA Solución

Rastreo Multiespectral Avanzado de Nanopartículas
(Multispectral Advanced Nanoparticle Tracking Analysis)





ViewSizer® 3000



Cubeta con
inserto

Patentes 9,541,490 y 10,161,852

Sistema Óptico



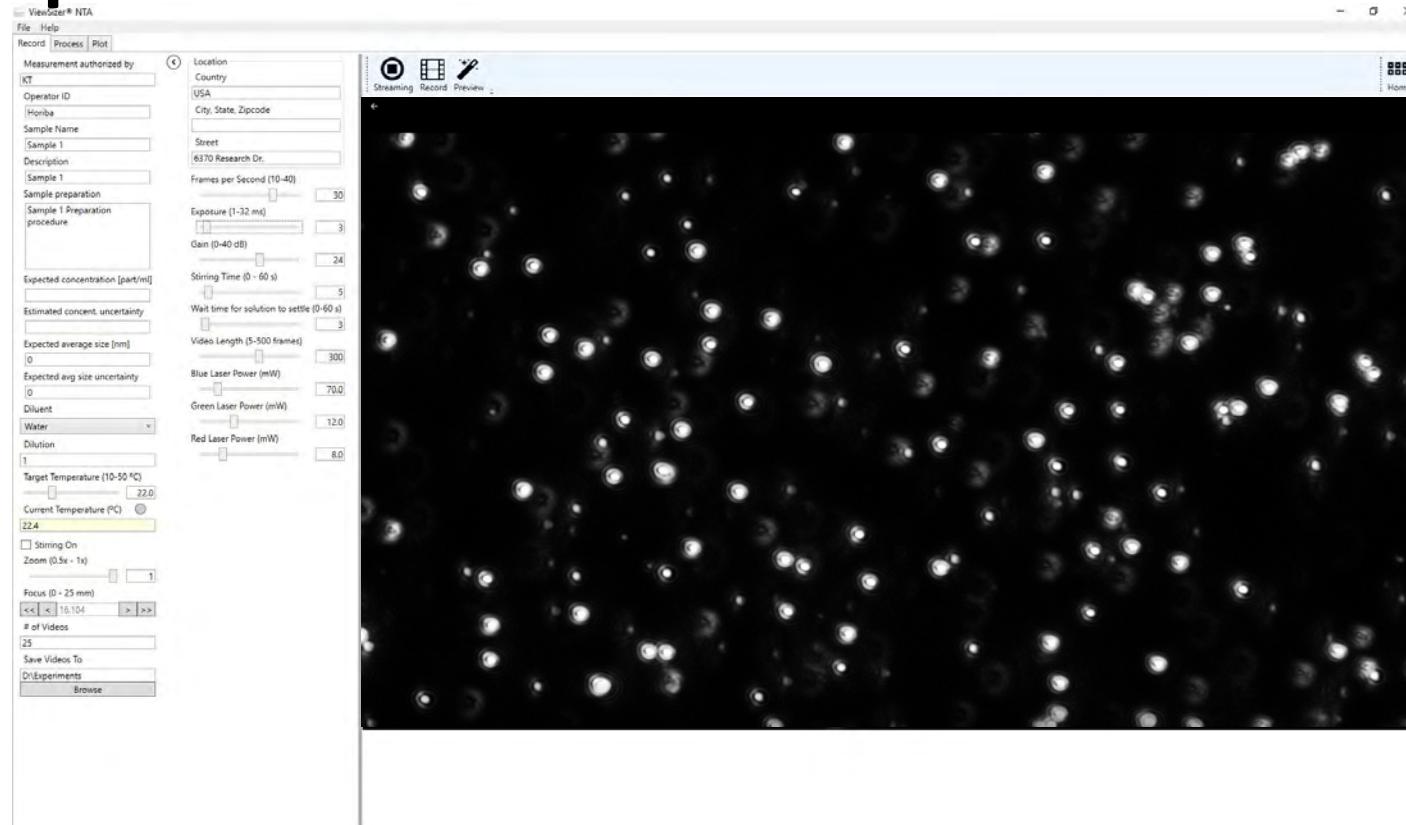
Especificaciones del ViewSizer 3000

Rango de tamaño de partículas *	de 10 nm a 50 µm
Mínimo volumen de muestra	0.4 mL
Concentración de la muestra**	de 10^5 a 10^{12} partículas/mL
Rango de temperatura de la muestra (controlada)	10 °C a 50 °C, ±0.1 °C
Dimensiones	66 largo cm x 55 cm ancho x 35 cm alto
Peso	27 kg
Temperatura	15 °C a 30 °C

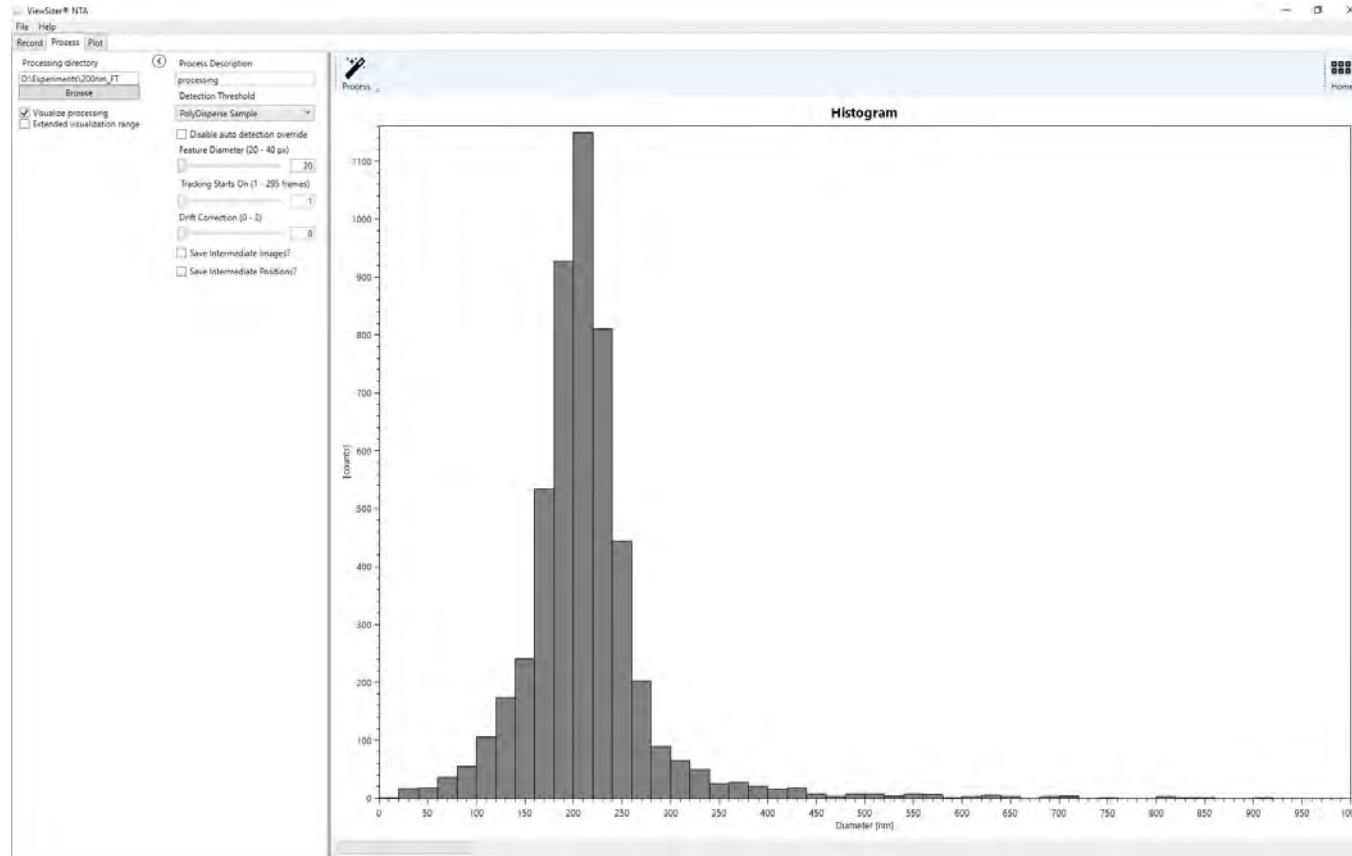
*dependiendo del material de la muestra

**dependiendo de la dilución de la muestra

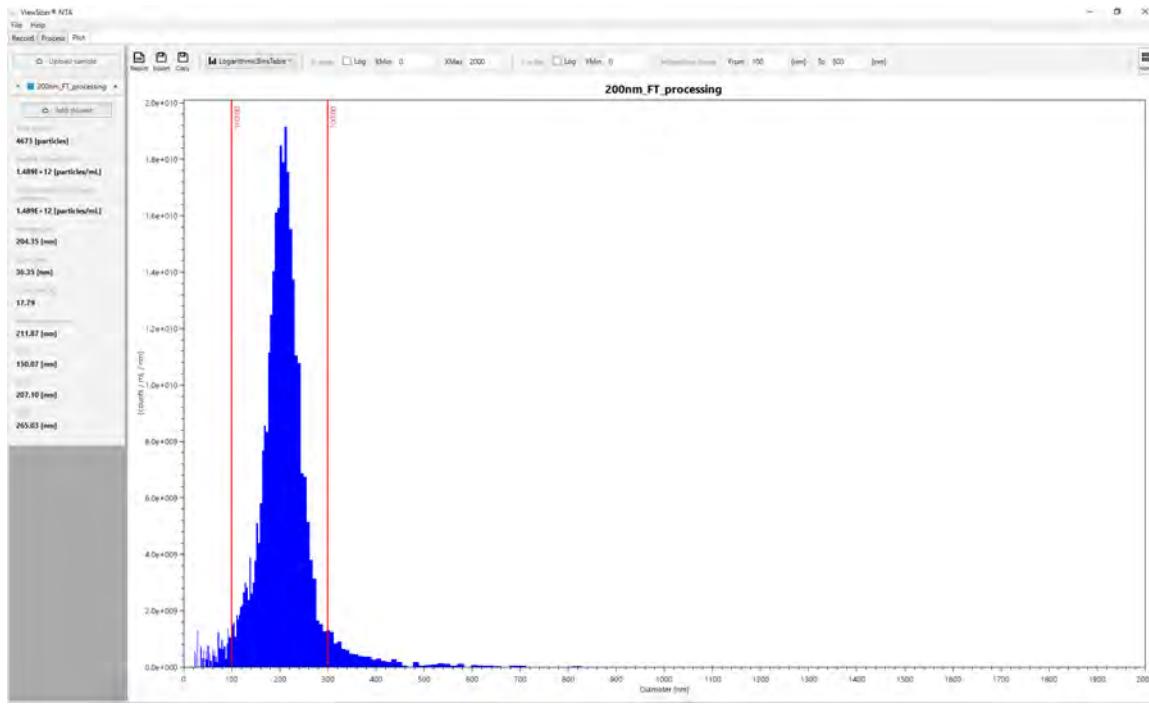
Adquisición de Datos



Procesamiento de Datos



Análisis y Visualización de Datos

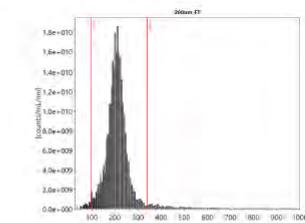


Report 200nm_FT
Measurement date: 6/27/2018
Measurement time: 10:22:35
Measurement type: NTA
Operator: CR

Instrument information
Serial number: 028
Software version: 1.8.0.818,
1.0.8 WeekBuild 3817
Camera type: AVT Manta 319C
Calibration constant: 195.37 [nm/pixel]

Sample information
Sample ID: 200nm_FT
Sample description: PSL
Diluent: Water
Diluent impurities concentration: 2E+06 [particles/mL]
Dilution: 20000 [times]

Recording information
Frame rate: 30 [fps]
Exposure: 15 [ms]
Gain: 24 [dB]
Stir time: 5 [seconds]
Wait time: 3 [seconds]
Laser power:
Blue: 70 [mW]
Green: 12 [mW]
Red: 8 [mW]
Frames per video: 300
Videos recorded: 25



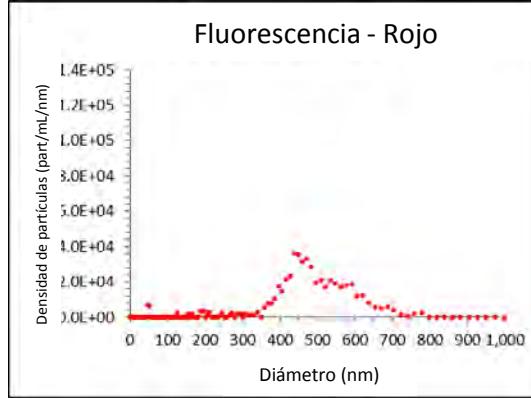
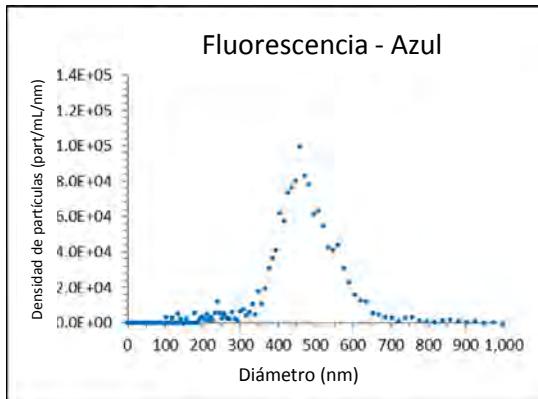
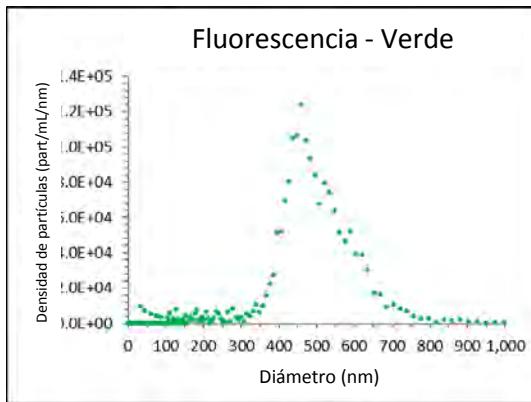
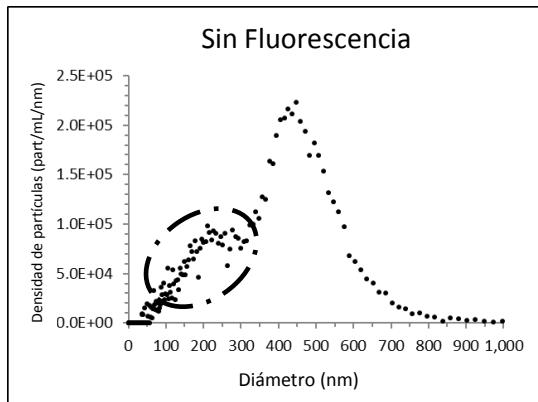
Processing information
Detection threshold type: Polydisperse
Detection threshold: 2
AutoThreshold: Enabled
Feature radius: 20 [pixels]
Tracking starts on: 1 [frame]
Drift correction: 0 [%]

Results
Integrated from 97.61 nm to 340.7 nm
Concentration (raw): 1.401E+12 [particles/mL]
Concentration w/o impurities: 1.361E+12 [particles/mL]
Total counts: 4378
Average size: 208 nm
SD of size: 39 nm
CV of size: 0.19
D10: 157 nm
D50: 207 nm
D90: 265 nm

Aplicaciones del Análisis de Rastreo de Nanopartículas (NTA)

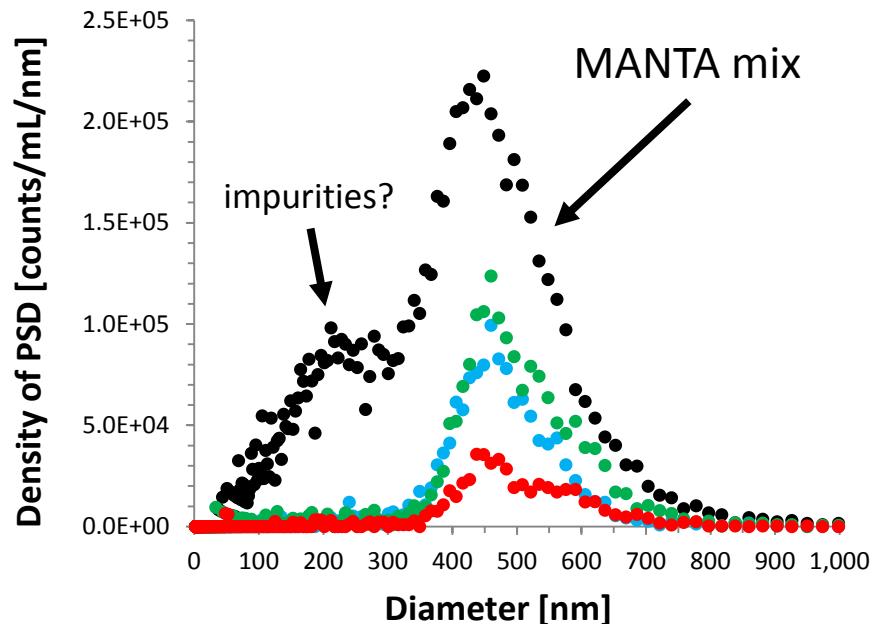


Uso y Aplicación de la Fluorescencia



Fluorescencia

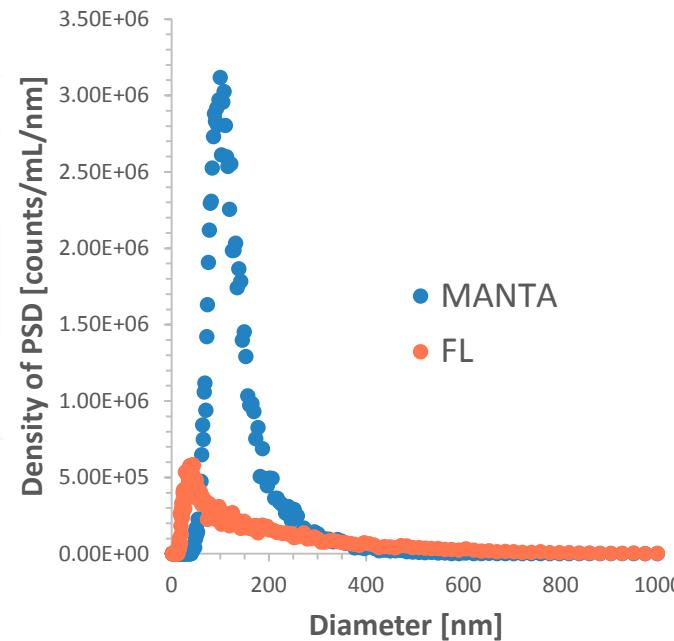
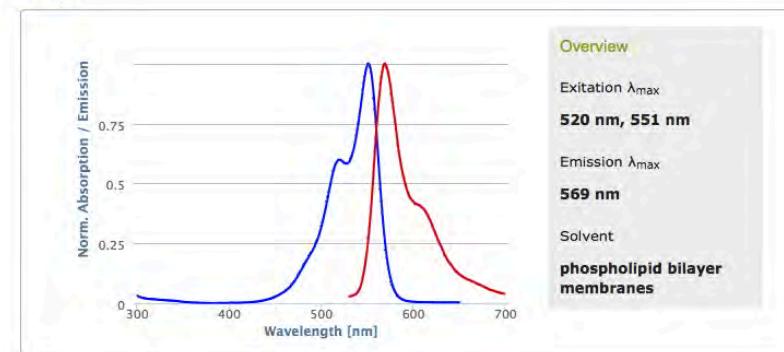
Mezcla de tres tipos de carboxilato con fluorescencia (todas con un diámetro nominal de 500 nm, teñidas con Fluoresbrite®)



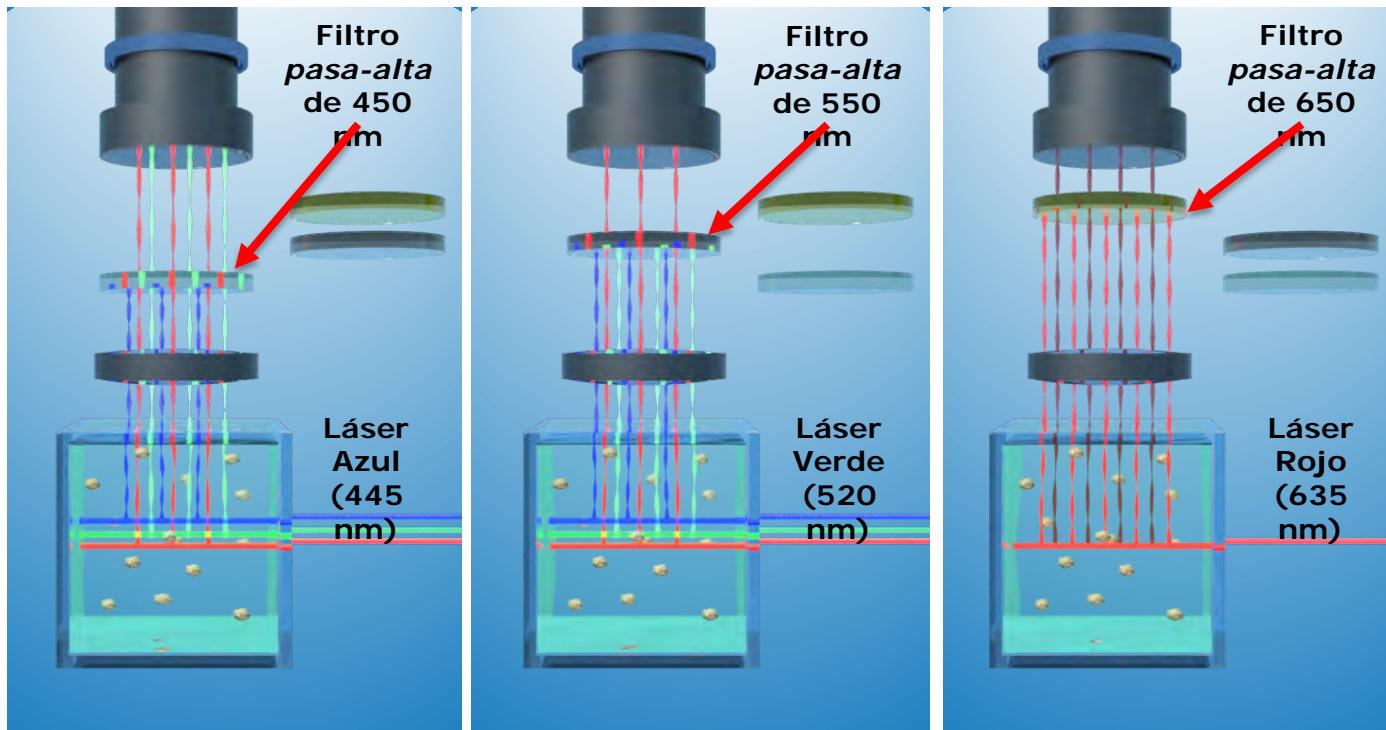
Vesículas Teñidas con Fluoróforo DilC

Fluorophore DilC₁₈(3) E_x=520-551 nm, E_m=569-620 nm
1,1'-Diocadecyl-3,3',3'-Tetramethylindocarbocyanine-5,5'-Disulfonic Acid

DilC18(3)



Uso de Filtros



Proteinas - Cálculo de Viscosidad



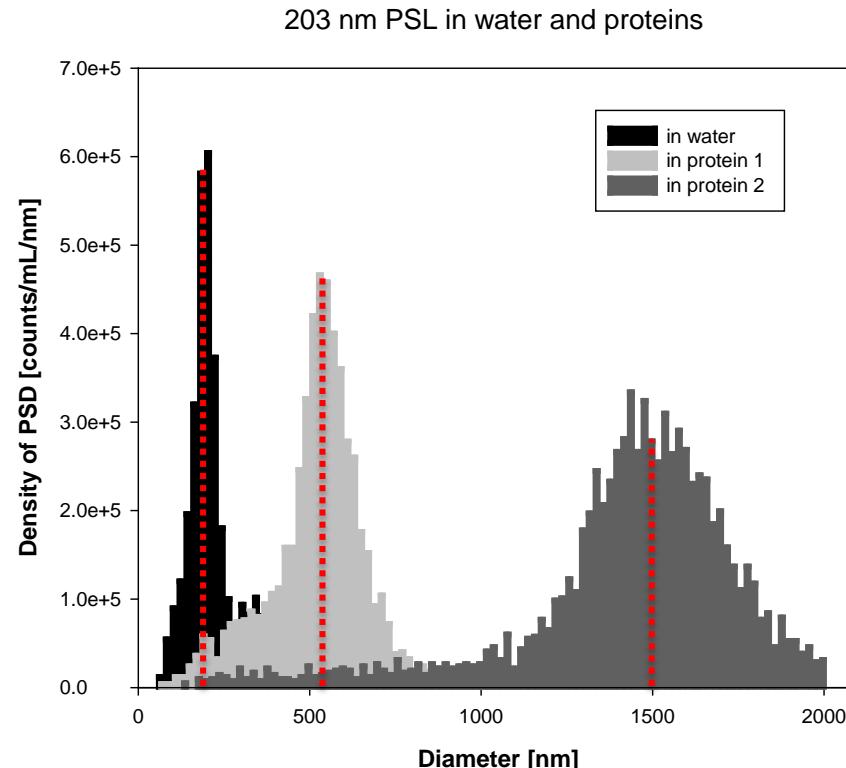
Muestra 1



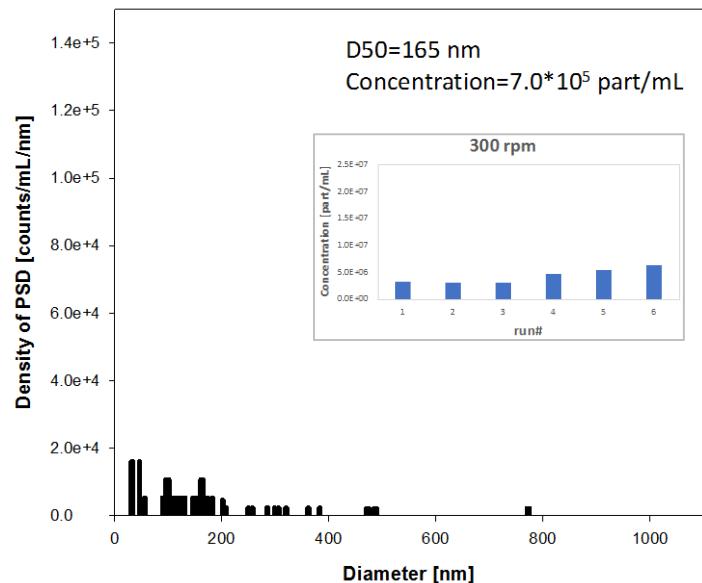
Muestra 2

Cálculo de Viscosidad de Proteínas

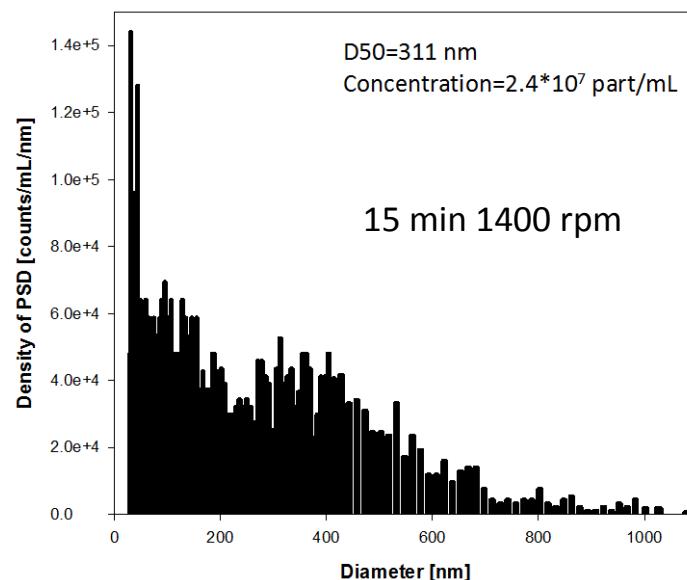
$$\eta_{protein} = \frac{d_{in\ protein}}{d_{in\ water}} * \eta_{water}$$



Proteina – Efecto Agitación



antes

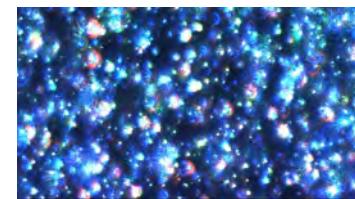
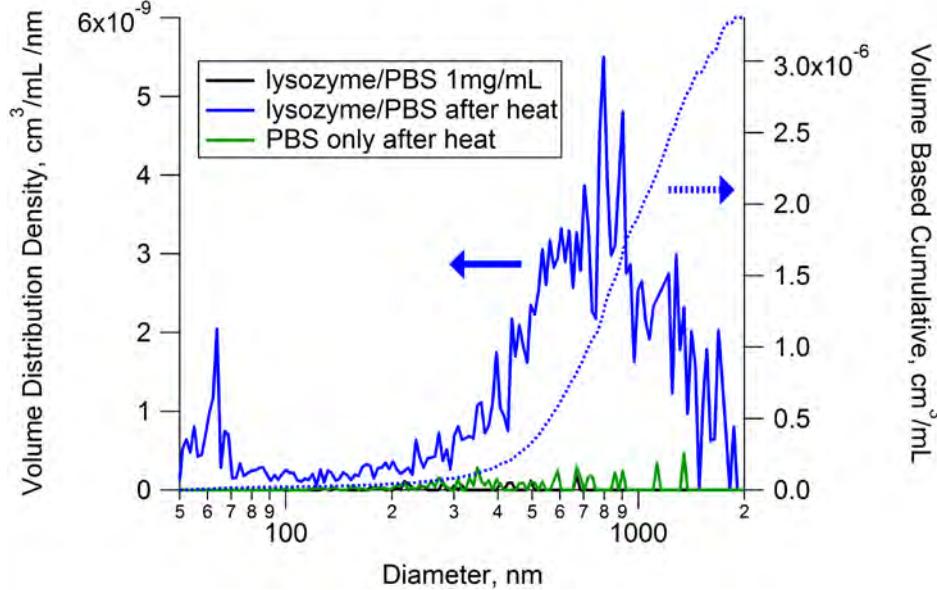


después

Lisosomas a 60 °C



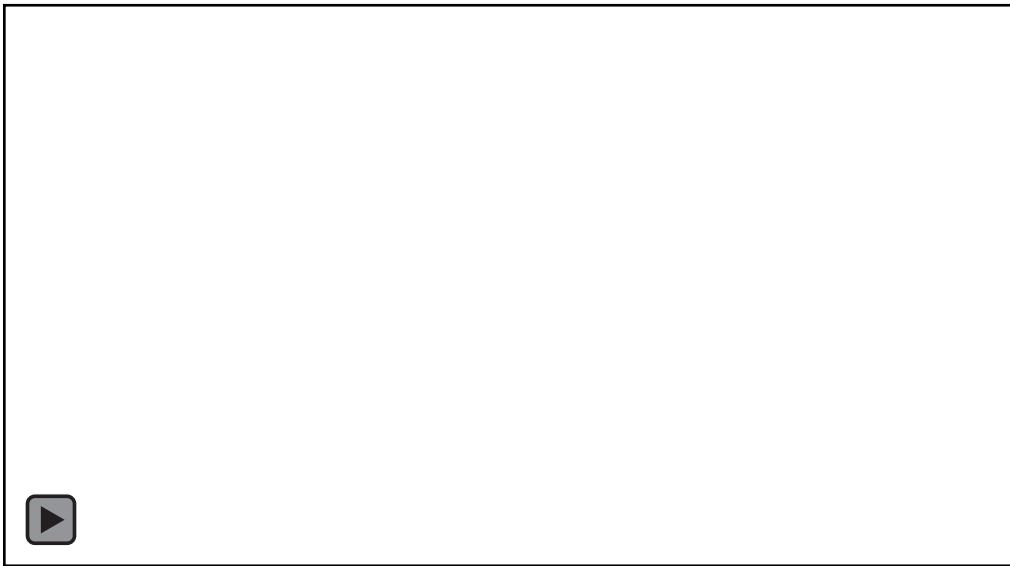
antes



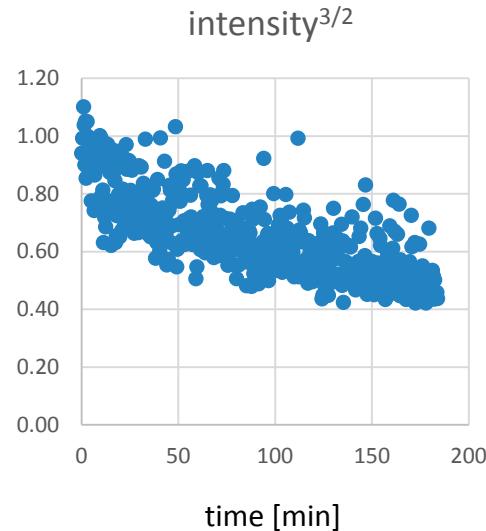
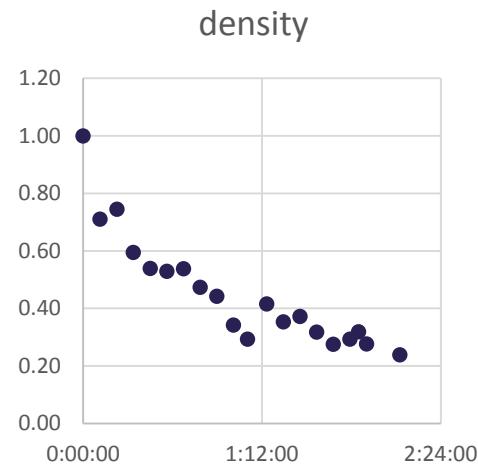
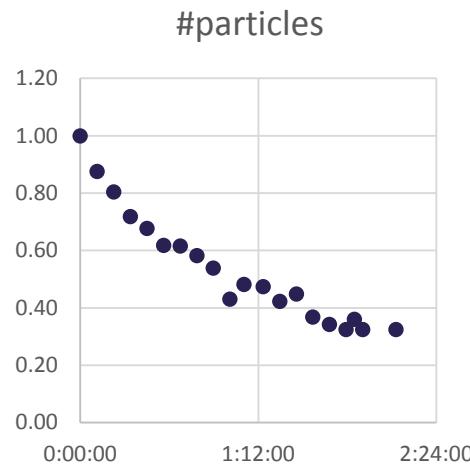
después

Disolución

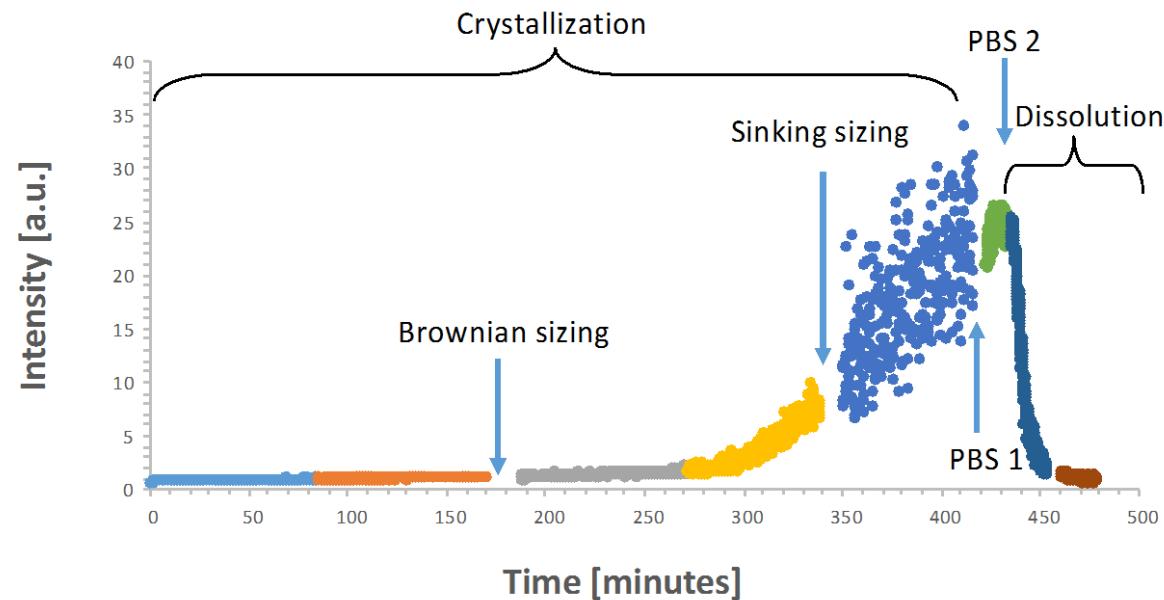
patente 10,012,580



Disolución de Nanopartículas

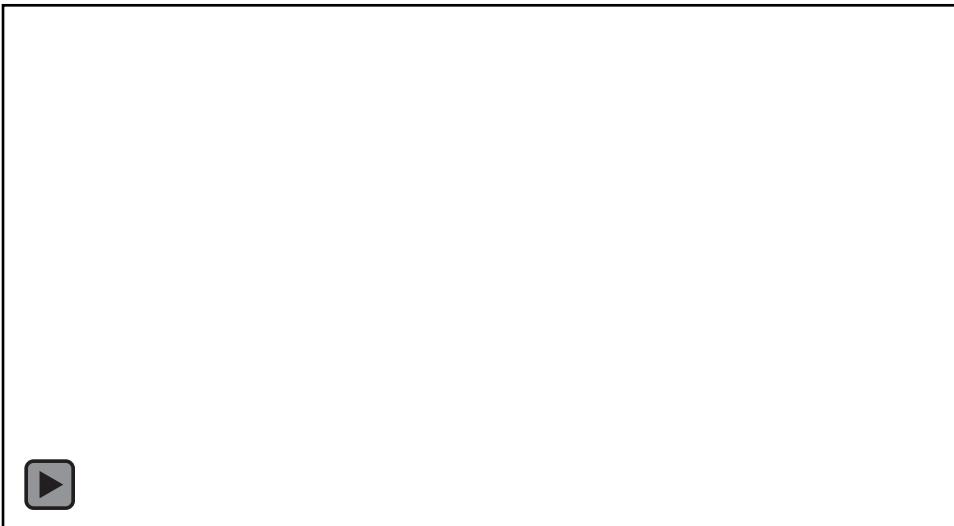


Cristalización de Proteínas

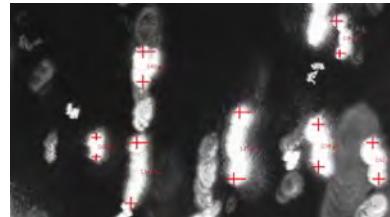


Wittbold & Tatarkiewicz, BioProcess International 15(3) (2017)

Sedimentación



$$d = \sqrt{\frac{18 * v * \eta}{g * (\rho - \rho_0)}}$$



Composite of 300 frames

Muestras tomadas con resultados esperados

PSL, sílice, acero inoxidable 316L, plata, oro, arcilla, CaO, ZnO, carbono negro, diamantes, agua de mar, agua dulce, agua de lluvia, agua del grifo, acetona, vino, orina, plasma sanguíneo, PBS, leche, amoníaco, combustible A-1 API de moléculas pequeñas, agregados de proteínas, aceite de silicio, cristales de proteínas, liposomas, exosomas, vesículas, micelas, α -lactoalbúmina, ADN enrollado, ARN, virus, bacteriófagos, emulsiones

Beneficios de MANTA (ViewSizer 3000)

- 1. Visualización y procesamiento de partículas
- 2. Método absoluto (no requiere calibración)
- 3. Concentración medida, no estimada

Otros Beneficios del ViewSizer 3000

- Tiempo real de agitación
- Tiempo real de adición de reactivo
- Pruebas múltiples sin cambio de muestra

Thank you

Omoshiro-okashiku
Joy and Fun



真峰



감사합니다

Cảm ơn

ありがとうございました

Dziękuję

ধন্যবাদ

Grazie

Merci

谢谢

நன்றா

ຂອບຄន្លែរប៉ា Obrigado

Σας ευχαριστούμε

شُكْرًا

Tack ska ni ha

Большое спасибо

Danke

Gracias