

Begrenztes Probenvolumen: Rückgewinnung einer Probe nach NTA-Messung

Zusammenfassung

Die vollständige Rückgewinnung von Proben, die mit einem Nanopartikel Tracking Analyzer gemessen wurden, wird oft zur Herausforderung, vor allem, wenn die Proben zur weiteren Nutzung nach der Messung vorgesehen sind. Weiterhin, abhängig von den Isolierungsverfahren und Reinigungsmethoden, besonders von biologischen Nanopartikeln, ist die Probenausbeute hinsichtlich Volumen und Konzentration oft sehr gering. Wir beschreiben hier eine komfortable Möglichkeit zur vollständigen Rückgewinnung von Proben, um sie nach der Messung mit dem Particle Metrix ZetaView® mit einer NTA-Zellkassette für weitere Zwecke komplett wiederzuverwenden.

Einführung

Das ZetaView® von Particle Metrix wird häufig in der Life Science Forschung zur Messung von Größe, Konzentration, Fluoreszenz und Zetapotential von biologischen Nanopartikeln wie extrazellulären Vesikeln, Proteinen, Viren, Prionen und anderen aus Zellen gewonnene Nanopartikeln eingesetzt [1, 2, 3]. Trotz hochentwickelter Aufreinigungsverfahren und anspruchsvoller Isolationstechniken ist die Ausbeute von aufgereinigten Nanopartikeln oftmals sehr gering, insbesondere, wenn sie nur im Labormaßstab isoliert wurden.

Aus diesem Grund ist es wichtig, so wenig wie möglich eines kleinen Probenvolumens für Messungen zu opfern, oder noch besser, die Probe nach der Messung zurückzugewinnen.

Mit dem Particle Metrix ZetaView® in Kombination mit der NTA-Zellkassette (nicht möglich mit der Z-NTA-Zellkassette) können wertvolle Proben nach der Messung ganz einfach zurückgewonnen werden.

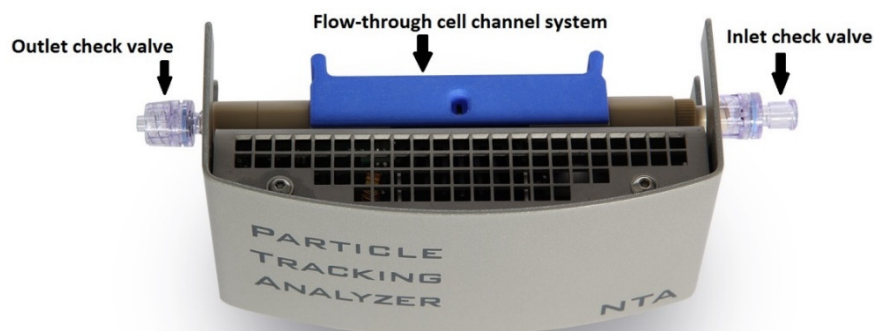


Abbildung 1: NTA-Zellkassette mit Blick auf die Ein- und Auslassöffnungen sowie den Durchfluss-Zellkanal. Die Probe wird in den rechten Einlass injiziert, passiert den Zellkanal und verlässt die Zellkassette durch den linken Auslass.

Da die NTA- und X-NTA Zellkassetten über ein Durchfluss-Zellkanalsystem mit Ein- und Auslassöffnungen auf gegenüberliegenden Seiten verfügen (siehe Abbildung 1), können Sie ihre Probe einfach auf der rechten Seite einspritzen und auf der linken Seite zurückgewinnen. Dafür ist ein Minimum von 600 µl Probenvolumen erforderlich.

Methodik

Rückgewinnung der Probe durch Sammeln in einem Reaktionsgefäß

Nachdem die Probe gemessen wurde, kann sie leicht am linken Auslass der Zellkassette in einem Eppendorf-Röhrchen oder einem ähnlichen Gefäß gesammelt werden. Abbildung 2 zeigt die vollständige Anordnung.

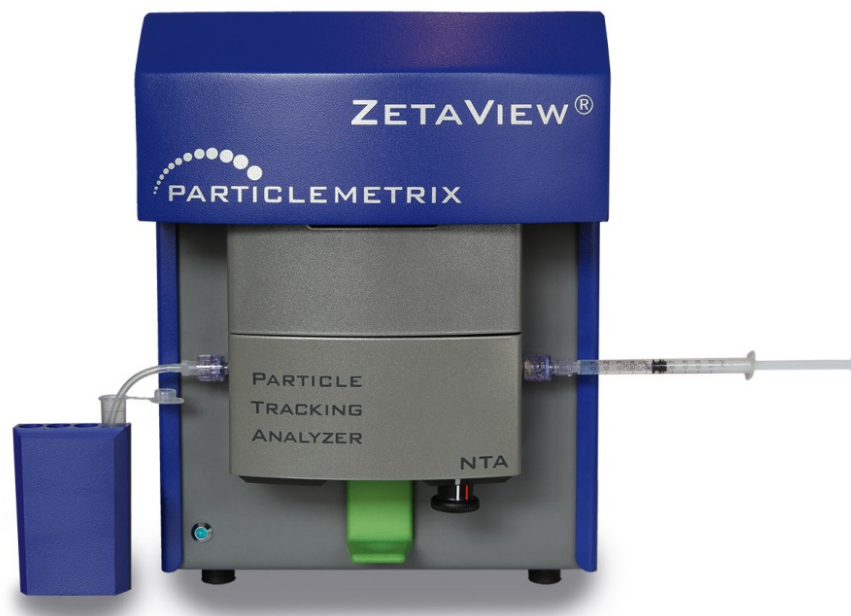


Abbildung 2: ZetaView Anordnung mit entsprechender NTA-Zellkassette. Die Probe wird rechts mit einer Spritze injiziert und auf der linken Seite in einem Eppendorf-Röhrchen gesammelt.

Die Probe ist nach der Messung nicht verloren und kann in einem geeigneten Reaktionsgefäß zurückgewonnen werden. Bei dieser Anordnung läuft der Probenfluss in einer Richtung von rechts nach links, da die Rückschlagventile keine Rückgewinnung der Probe durch Zurückziehen in die Spritze erlauben.

Rückgewinnung der Probe durch Zurückziehen in die Spritze oder Sammeln in einem Reaktionsgefäß

Um die Möglichkeit zu haben, nach erfolgter Messung die Probe wieder zurück in die Spritze zu ziehen, müssen die Rückschlagventile (siehe Abbildung 1) abgeschraubt werden, um den Probenfluss durch die Zelle in beide Richtungen zu ermöglichen. Diese Anordnung wird unten in Abbildung 3 gezeigt.

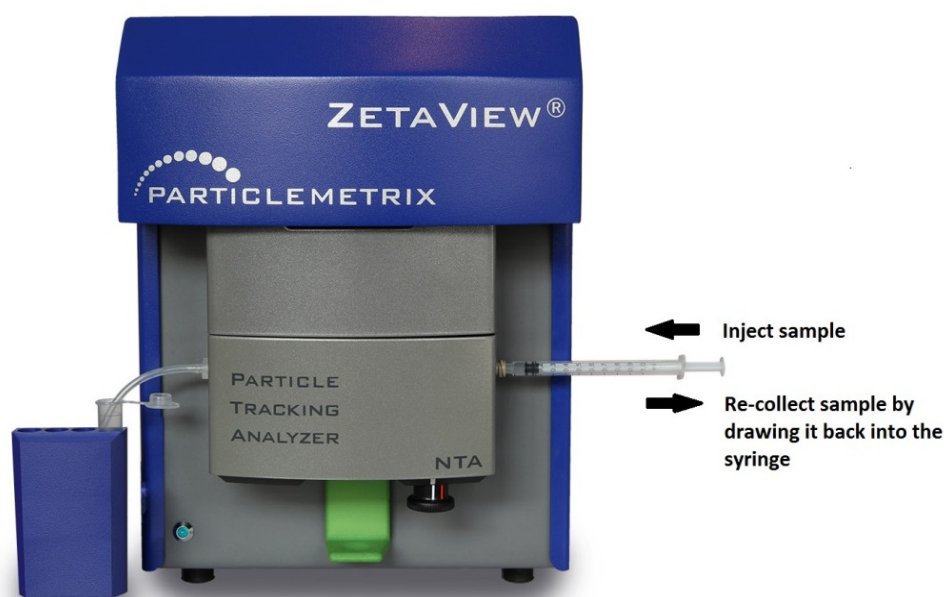


Abbildung 3: ZetaView Anordnung wie in Abbildung 2 gezeigt, jedoch mit entfernten Rückschlagventilen. Die Probe kann nach der Messung mit einer Spritze injiziert werden und in einem Reaktionsgefäß aufgesammelt oder durch Rückziehen aus der Messzelle in die Spritze zurückgewonnen werden.

Durch Abschrauben der Rückschlagventile an der Ein- und Auslassöffnung der Zellkassette kann die Probe entweder in einem entsprechenden Gefäß auf der linken Seite gesammelt oder zurück in die Originalspritze auf der rechten Seite gezogen werden, ohne den linken Auslass zu nutzen. Diese Art der Probenrückgewinnung ist möglich, wenn das in das Gerät injizierte Probenvolumen 1000 µl nicht überschreitet. Ein größeres Volumen würde die Kapazität der Zelle überschreiten, was bedeutet, dass die Probe aus dem linken Auslass fließt.

Schlussfolgerung

Die Rückgewinnung der gesamten Probe, entweder in einem entsprechenden Reaktionsgefäß oder durch Zurückziehen der Probe in die Spritze, stellt einen enormen Vorteil für Anwender dar, die mit Proben von sehr begrenztem Volumen oder sehr geringer Partikelkonzentration, die für weitere Experimente benötigt werden, zu kämpfen haben. Insbesondere wenn die Partikelkonzentration einer Probe so niedrig ist, dass sie unverdünnt gemessen werden muss, ermöglicht dieses Vorgehen, dass eine Probe nach der Messung für weitere Experimente zur Verfügung steht.

Literatur

1. **Shu Liu et al. (2017)**
Prions on the run: How extracellular vesicles serve as delivery vehicles for self-templating protein aggregates
Prion., Mar 4;11(2):98-112. doi: 10.1080/19336896.2017.1306162.
2. **Kordelas, L. et al. (2014)**
MSC-derived exosomes: a novel tool to treat therapy-refractory graft-versus-host disease. Leukemia, 28, 970- 973 doi:10.1038/leu.2014.41
3. **NOURI, M. et al. (2012)**
Effect of Partially Hydrolyzed Kappa-Casein on Physicochemical and Sensory Properties of Heated Milk
Journal of Dispersion Science and Technology, 33. Jg., Nr. 8, S. 1204-1209.