

Partikeltechnologie

Grössenmessung und Zetapotentialanalyse von mit Antikörpern beschichteten Gold-Nanopartikeln

Gold-Nanopartikel:

Gold-Nanopartikel (GNP) zeichnen sich für verschiedene medizinische Anwendungen durch ihre extrem gute Biokompatibilität sowie ihr sehr inertes (träge) Reaktionsverhalten aus. Damit sind GNP's ideal verwendbar für Drug-Delivery Systeme, Imaging-Systeme oder aber auch zum Gentransport.

Kolloidales Gold (GNP) weist Partikelgrößen zwischen 2- 120 nm und eine typische Rotfärbung auf (Abb.1).

Die Partikelgröße lässt sich über die Reaktionsbedingungen (wie Temperatur, pH-Wert u.s.w.) bei der Reduktion von Goldsalzen sehr gut kontrollieren.

Die Beschichtung von Goldpartikeln mit Antikörpern wird für diverse Bildanalyseverfahren (z.B. Tomographie) und photothermische Verfahren eingesetzt, da über die Antikörper als Zielmolekül eine exakte Positionierung erfolgen kann, bei gleichzeitigem Transport diverser gebundener Wirkstoffe.



Abb. 1

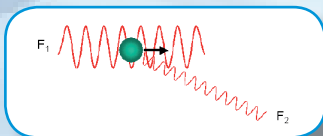
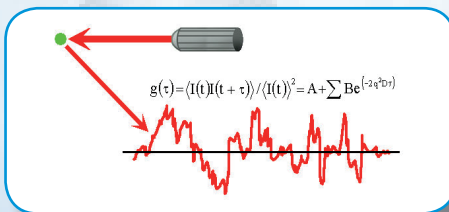
Analyse:

Zur Messung der Partikelgröße und des Zetapotentials von GNP's wird hier das Delsa™Nano C (Beckman Coulter Inc., California USA) verwendet. Das Delsa™Nano C bestimmt die Partikelgröße über die dynamische Lichtstreuung (DLS), wobei ein Detektionswinkel von 165° auch die Messung von

hochkonzentrierten Proben ermöglicht. Die Ermittlung des Zetapotentials bzw. des isoelektrischen Punktes erfolgt mit dem gleichen Gerät über die elektrophoretische Lichtstreuung (ELS) durch zusätzliches Anlegen eines elektrischen Feldes:

Unter Ausnutzung des Doppler-Effektes wird die Beweglichkeit der Partikel in einem elektrischen Feld bestimmt.

Aus dieser elektrophoretischen Beweglichkeit wird dann das Zetapotential errechnet.



Messbedingungen:

Die Ausgangsprobe wird über einem 0,5 µm Al₂O₃-Membran-Filter filtriert und danach ca. 1 ml Suspension zur Größen- und Zetapotentialmessung unverdünnt in die Messzelle gegeben.

Die Größenmessung wird unter einem Messwinkel von 165° in einer 3 ml Quarzglas-Küvette durchgeführt.

Die Probe kann nach der Messung weiterverwendet werden. Die Zetapotentialanalyse erfolgt in einer Durchflussmesszelle unter einem Detektionswinkel von 15°, wobei jede Einzelmessung 140 s dauert und bei einer Temperatur von 20°C durchgeführt wird.

Da es sich um eine wässrige Suspension handelt, werden Brechungsindex und Viskosität von Wasser verwendet.



Ergebnisse:

In dieser Fallstudie wird die Beschichtung von Gold-Nanopartikeln mit diversen Antikörpern untersucht.

Dabei wird die Exaktheit und Stabilität der Konjugate über das Ladungsverhalten beurteilt.

Größenbestimmung von Gold-Nanopartikeln (Auswertung nach Kumulantenmethode)

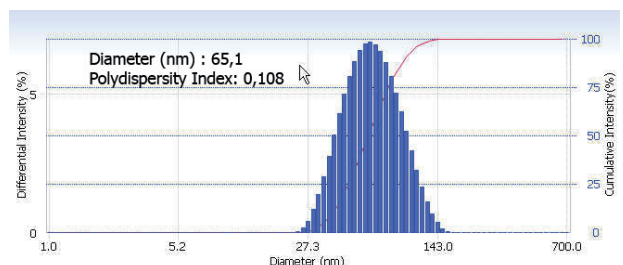


Abb. 2

Partikeltechnologie

Die Ausgangsgröße der GNP's konnte vergleichend zu den vorhandenen Datenblättern mit 61 nm ermittelt werden. (Abb.3)

Größenvergleich von Goldpartikeln vor und nach der Beschichtung

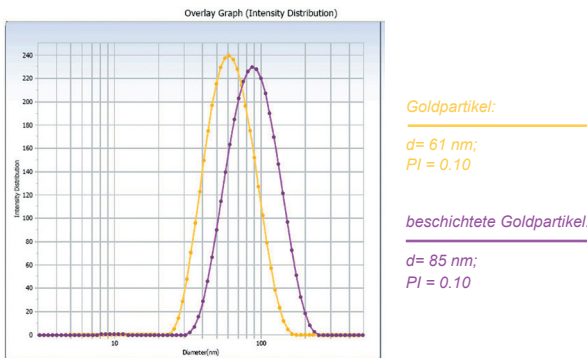


Abb. 3

Wie die Überlagerung in Abb. 3 sehr gut zeigt, führt die Beschichtung der GNPs mit Antikörpern zu einer deutlichen Vergrößerung des Partikeldurchmessers.

Die Sensitivität des Systemes ist so gut, dass Veränderungen schon ab wenigen Nanometern zuverlässig detektiert werden können.

Vergleich des Ladungsverhaltens von beschichteten und unbeschichteten Goldpartikeln

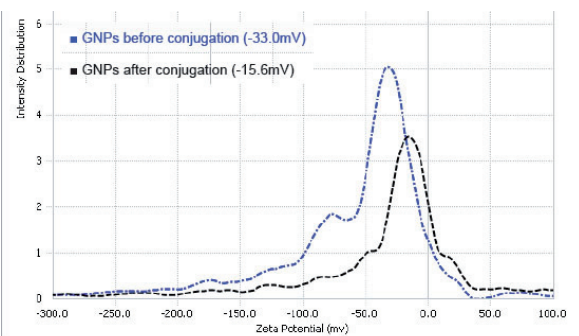


Abb. 4

In diesem Fall ist eine deutliche Verschiebung des Partikeldurchmessers von 61 nm auf 85 nm zu erkennen.

Parallel zeigt der Polydispersitätsindex keine signifikante Veränderung, was die Nichtexistenz von Aggregaten bei der Beschichtung bestätigt.

Auch der Vergleich des Ladungsverhaltens der beiden Proben lässt diesen Schluss zu (Abb. 4). Die beschichtete Probe weist nämlich ein wesentlich geringeres Zetapotential auf (-33 mV zu -15 mV), was auf die größere Instabilität aufgrund der Ladungsneutralisierung der beschichteten GNP's zurückzuführen ist.

Für eine routinemäßige Kontrolle derartiger Beschichtungen lässt sich ideal die Messung des Zetapotentials heranziehen, da eine deutlich dickere Beschichtung automatisch zu einem geringeren Zetapotential führt.



Zusammenfassung:

Mit den durchgeführten Messungen lassen sich eindeutig sowohl der Größeneffekt als auch der Ladungseffekt der Antikörperbeschichtung auf den Gold-Nanopartikeln untersuchen.

Das Delsa™Nano C bietet sich aufgrund der schnellen und exakten Messungen von Partikelgröße und Zetapotential ideal zur Charakterisierung solcher Stoffsysteme in den Bereichen Forschung und Qualitätskontrolle an. Das System unterstützt dabei die Vorgaben der 21 CFR Part 11.