

微流控纳米颗粒合成系统

简介

纳米颗粒合成是高速发展的纳米技术领域的前沿技术，其独特的尺寸特性，使纳米颗粒材料在许多领域表现出了极大的优势，处于不可替代的位置。此项技术已广泛应用于诸多行业，如药物输送、能源和电子等领域。纳米颗粒合成技术是实现纳米颗粒应用的关键步骤之一。

与传统的批量处理合成方法相比，PreciGenome 搭建的纳米颗粒合成系统表现出了极大的优势，其通过微流控技术，在纳米颗粒尺寸均一性和形状控制方面都表现出其独特的优势。



系统特色

- 结构紧凑，便携式设计
- 压力/流量控制精确
- 响应时间迅速
- 流量实时监控与恒流控制（可选）
- 标准鲁尔接头连接，连接简单方便
- 提供 OEM 服务，便于系统集成

微流控芯片

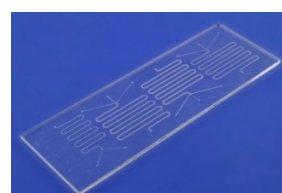
为满足用户纳米颗粒合成应用需求，PreciGenome 提供多种不同材料的微流控芯片。

常用于纳米颗粒合成的芯片有微混合芯片和液滴制备芯片。其中，液滴制备芯片使用频率最高。微流控芯片的材质主要分为聚合物、玻璃和硅三种，研究人员应根据应用要求来选择芯片材料，这些应用要求包

括芯片结构设计，用于实验的溶剂或试剂类型，预算和时间周期等。



聚合物芯片



玻璃芯片

系统配置

- PG-MFC 高精密度压力控制器，1 台
- 15ml 储液池套件，2 套
- 液体流量传感器（可选）
- 微混合芯片，2 片
- 纳米颗粒合成连接套件，1 套
- 高速成像系统（可选）

有效载体 Payloads

- DNA/mRNA/siRNA
- 小分子药物 Small molecule drugs
- 蛋白质和多肽 Proteins and peptides
- 其它有效载体 Other payloads

应用领域

- 药物输送
- 核酸脂质纳米颗粒合成
- 聚合物纳米颗粒合成，如 PLGA，PLGA-PEG
- 脂质/脂质体合成
- 凝胶颗粒合成

产品编号：PG-SYN-8-HSV（高速成像系统）

PG-SYN-8 （触屏 8 通道高精密度压力控制器）

PG-SYN-4 （触屏 4 通道高精密度压力控制器）

PG-SYN-LT2 （简版双通道高精密度压力控制器）

更多信息，请参阅官网

www.precigenome.com/nanoparticle-synthesis

纳米颗粒合成系统应用文章

——PLGA, 脂质/脂质体合成

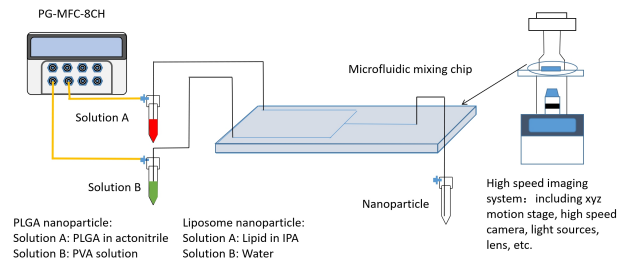
简介:

纳米颗粒合成技术是高速发展的纳米技术领域的前沿技术,其独特的尺寸特性,使这些纳米颗粒材料在许多领域表现出了极大的优势,处于不可替代的位置。此项技术已广泛应用于诸多行业,如药物输送、能源和电子等领域。纳米颗粒合成技术是实现纳米颗粒应用的关键步骤之一。由于在多数应用中,都需要应用到纳米颗粒的尺寸特性,因此纳米颗粒合成各批次间的尺寸分布、产量以及尺寸的可重复性,是纳米颗粒合成评估中非常重要的参数。当采用传统的批量处理合成方法(在本体溶液中混合)进行纳米颗粒大规模生产时,其颗粒合成质量较差,同时还存在一些不可控因素,如聚集和异构混合,导致纳米粒子的尺寸均一性和可重复性比较差。

基于微流控技术的微型反应器,可实现试剂快速混合、温度控制以及反应中的精确时空操控。采用微流控技术进行纳米颗粒合成,混合受控且均匀,可产生尺寸大小均一的纳米颗粒,同时,纳米颗粒的物理化学性质的可重复性也能得到精确控制。此外,通过调控纳米颗粒合成微环境,可进一步提高纳米颗粒的尺寸均一性和可重复性,进而提高纳米颗粒的制备工艺产率。

系统配置

Precigenome 研发的 PG-MFC 高精密度压力控制器,非常适用于纳米颗粒合成,下图为纳米颗粒合成微流控系统示意图。此系统主要部件有: PG-MFC 高精密度压力控制器(可选触屏版 4 通道,触屏版 8 通道或简版双通道),用于观察记录试剂混合和纳米颗粒合成过程的高速成像系统(PG-HSV-M),以及如下图中所示的微流控芯片。由于在此类实验中的流量足够大(ml/min),因此可通过称量一定时间内所收集的纳米颗粒溶液的方式来估算流量值。当然, PreciGenome 也提供流量传感器(PG-LFS-2000),可实现流量监控和恒流控制,直接插在 PG-MFC 高精密度压力控制器上便可使用,连接简单,方便快捷。



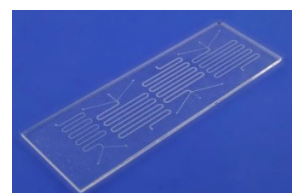
纳米颗粒合成示意图

微流控芯片

此 demo 系统中所用的微流控芯片为 ChipShop 的微混合芯片,型号为 187 (被动混合,人字混合)。实验时,将溶液 A 和溶液 B 分别装入 50ml 的储液池套件中(PG-MRK-50ML)。若合成颗粒为 PLGA,溶液 A 为溶有 PLGA 的乙腈溶液,溶液 B 为含有聚乙烯醇(PVA)的水溶液;若合成颗粒为脂质体,则将脂质混合物溶解在溶解相中,如 IPA,并以此为油相,以去离子水为水相。

系统工作原理:实验时,PG-MFC 高精密度压力控制器输出压力直接作用于储液池,储液池中的液体受压力驱动,通过毛细管被泵入微混合芯片,并在芯片中完成混合,最终,在芯片出样口对混合溶液(纳米颗粒溶液)进行收集。

此系统灵活度高,用户可根据实际需求改变高精密度压力控制器压力输出参数,以此优化试剂混合比、流量比和合成效果。



系统配置		
产品编号	描述	数量
PG-MFC-8CH (可选 2/4/8 通道)	微流体高精度压力控制器	1 台
PG-HSV-M	高速成像系统	1 台
PG-MRK-5-ML (可选 15mL 款)	微流体储液池套件	1 套
PG-LFS-2000	液体流量传感器 最大测量范围为 0-5mL/min	2 个
PG-LUR-kit	微流体鲁尔连接套件 10"长, 外径 1/8", 1/16" 含两个鲁尔连接头	2 套
PG-Mixing-HerrPC	微混合芯片 被动混合, 人字混合	1 片
PG-UNF-FIT	法兰接头 1/4-28 连接至外径 1/16" 螺母+PTFE套环, 10 个/包	1 包
PG-UNF-FLuer	鲁尔母头连接头, 螺纹 1/4-28" 10 个/包	1 包
TUB1-16-50I	PTFE毛细管, 外径 1/16" 内径 1/32", 50 英寸一卷	1 卷

材料/试剂清单

供应商	描述	数量
Millipore Sigma	PLGA 生物可降解聚合物	
Sigma-Aldrich	聚乙烯醇	
Millipore Sigma	脂质溶液	
Sigma-Aldrich	IPA (>99.7%)	
Avanti Polar lipids	DODMA	
Avanti Polar lipids	18:0 PC (DSPC)	
Avanti Polar lipids	DMG-PEG2000	
Avanti Polar lipids	Cholesterol	

实验结果

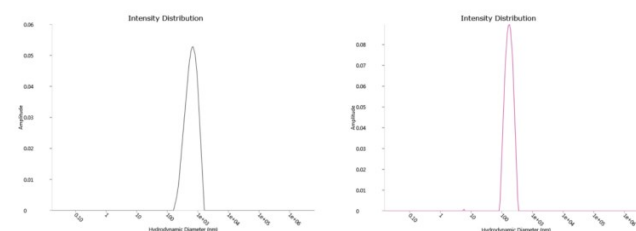
PreciGenome 已使用此系统完成 PLGA 和脂质体纳米颗粒合成应用, 此应用已作为药物输送工具, 广泛应用于各个制药公司^[2]。

PLGA 纳米颗粒合成

在此 PLGA 纳米颗粒合成实验中, 我们使用了来自 ChipShop 的微混合芯片, 型号为 187 (被动混合, 人字混合), 溶液则使用乙腈来作为 PLGA 溶剂, 水 (含 1-2%PVA) 作为水相来引发纳米颗粒沉淀。与传统批

量处理方法相比, 使用此微流控系统合成的 PLGA 纳米颗粒, 其粒径分布得到显著改善。

使用动态光散射 (Dynamic Light Scattering, DLS) 来表征生成的 PLGA 纳米颗粒, 得到下图所示的数据比较: 使用微流控技术生成的 PLGA 纳米颗粒的平均粒径和 PDI (粒径异质性指数), 明显小于传统方法生成微粒的平均粒径和 PDI。



方法: 批处理生成
平均粒径: 571.84nm
PDI: 0.939

方法: 微流控
平均粒径: 162.97
PDI: 0.304

图. 传统方法和微流控方法生成 PLGA 微粒的参数比较

同时, 我们通过调节 PLGA 和水 (PVA) 相的压力比和流量比, 可精确控制生成的 PLGA 纳米颗粒尺寸, 如下图所示。此外, 通过增加水相的压力/流量, 会生成粒径更大的 PLGA 微粒。通过调节油水比, 可以优化得到改体系下的最低 PDI。

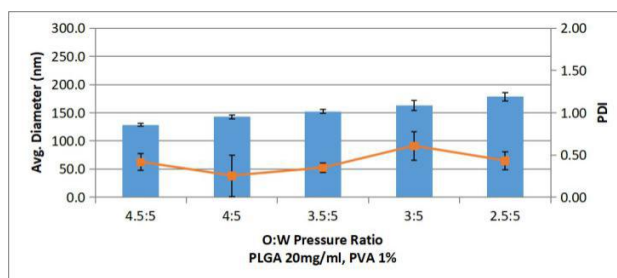


图. 不同压力比 (油: 水) 对生成 PLGA 微粒的尺寸影响

在此微流控系统中, 所采用的微混合芯片为人字形混合结构, 因此, 流量越大, 混合效果越好。我们在不同的总流量下测试了 PLGA 微粒合成, 下图展示了当压力/流量比为 1:1 时, 不同流量下的 PLGA 颗粒尺寸和 PDI 分布。当压力/流量越大, 生成的微粒粒径越小。对于混合速度对 PDI 值的影响, 现在尚不能确定, 仍需要进一步研究, 方能确定快速混合是否有助于改善 PDI。

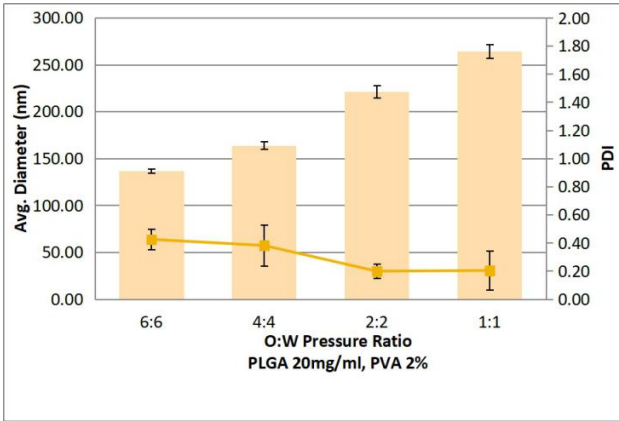


图. 总流量比对 PLGA 尺寸和 PDI 的影响

脂质体纳米颗粒合成

我们使用和 PLGA 纳米颗粒合成的同款混合芯片来测试脂质体纳米颗粒合成效果。通常在此实验中，脂质混合物被溶解在水混有机相中，如 IPA 或乙醇，并以此作为油相，以去离子水作为水相，试验后，采用 DLS 测量粒径分布和 PDI。

测试结果如下图所示，当油水流量比固定时，并以不同的总流量完成脂质体纳米颗粒合成，我们发现，总流量越大，得到的颗粒尺寸越小，粒径范围在 80nm 至 400nm 之间。

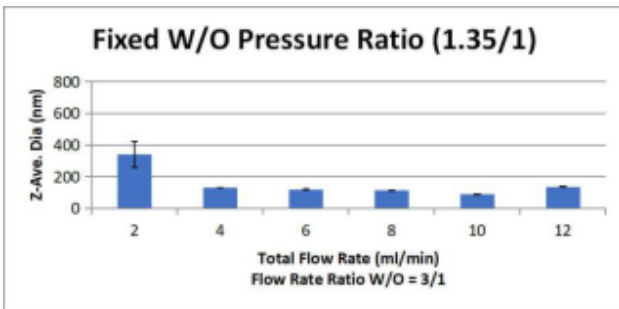


图. 总流量比对脂质体粒径的影响（脂质浓度：4mg/mL）

我们还研究了脂质体纳米颗粒尺寸与油/水相的压力/流量比的关系，当油/水相的压力/流量比增加时，脂质体的粒径如下图所示。

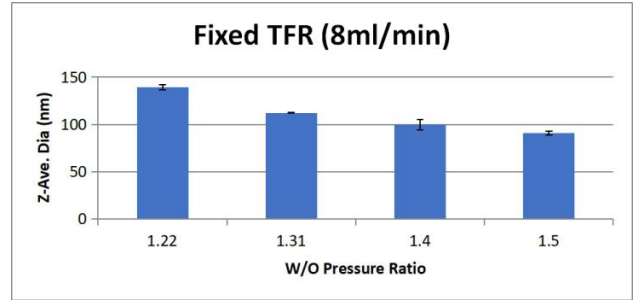


图. 油/水压力/流量比对脂质体粒径的影响（脂质浓度：4mg/mL）

与 PLGA 纳米颗粒合成类似，脂质体纳米颗粒合成的 PDI 与流量比之间的关系不是结论性的，脂质体纳米颗粒的 PDI 范围在 0.25-0.8 之间，为得到更加准确的结论，仍需要进一步的研究。例如，我们可以在不同的混合方式（如扩散混合和人字形混合作对比）下对脂质体纳米颗粒合成的 PDI 进行比较。

在此项研究中，我们进一步研究了脂质体纳米颗粒对 DNA 的包裹率以及 DNA 包裹对脂质体粒径的影响（DNA 溶解于水相中）。我们观察到，在相同的压力条件下，脂质体纳米颗粒的大小随 DNA 包裹的增加而增加，如下图所示。通过调整乙醇中的脂质混合物的配比，我们获得了 95% 以上的 DNA 包裹率，下表总结了包裹效率。

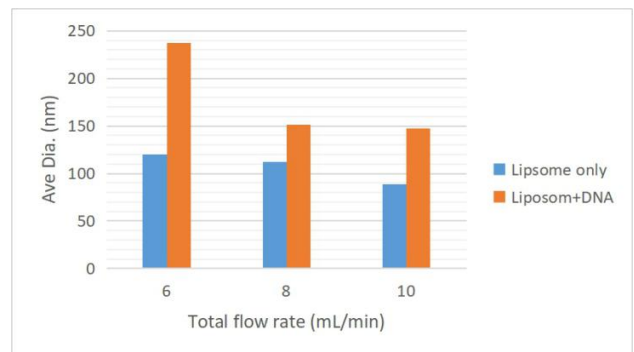


图. 包裹有 DNA 和未包裹 DNA 的脂质体粒径对比

	Dia. (nm)	PDI	DNA in liposome (ng/ul)	DNA encapsulation efficiency
Lipid formulation 1	322.3	1.04	9.72	36.0%
Lipid formulation 2	608.6	0.65	16.06	60.6%
Lipid formulation 3	219.2	0.23	10.40	98.5%

表. 不同脂质混合物配方下的 DNA 包裹率

结论:

- 将 PLGA 溶于乙腈溶液中, 与带有 1-2% PVA 混合, 可完成 PLGA 纳米颗粒合成
- 总压力/流量越高, 合成 PLGA 纳米颗粒越小
- 通过调节此微流控系统油/水流量比, 可获得小于 0.3 的 PDI
- 将脂质体溶解于乙醇或 IPA 中, 在此微流控系统中也能实现脂质体纳米颗粒合成
- 总压力/流量越高, 合成的脂质体纳米颗粒越小
- 在固定总压力/流量下, 水油比越高, 所合成的纳米颗粒尺寸越小
- DNA 包裹: DNA 可溶于水相, 通过混合, 可合成包裹有 DNA 的脂质体纳米颗粒
- 包裹有 DNA 的脂质体纳米颗粒, 其尺寸大小和 PDI 值由脂质体配比、总流量和油水比所决定

参考文献

1. Hung, L-H and Lee, AP, Microfluidic Devices for the Synthesis of Nanoparticles and Biomaterials, *Journal of Medical and Biological Engineering*, 27(1):1-6
2. Chiesa, E, et.al., The Microfluidic Technique and the Manufacturing of Polysaccharide Nanoparticles, *Pharmaceutics*, 2018, 10:267-289