

Manipularea nanoparticulelor metalice in camp electric pentru captarea celulelor biologice

Oana Tatiana Nedelcu¹, George Boldeiu¹, Ramona Corman¹, Otilia Ludmila Cinteza², Dana Stan³

¹Institutul National de Cercetare-Dezvoltare pentru Microtehnologie IMT Bucuresti;

²Facultatea de Chimie, Universitatea Bucuresti; ³SC DDS Diagnostic SRL

Abstract: Lucrarea prezinta rezultate privind efectele nanoparticulelor metalice intr-un sistem electro-fluidic pentru separarea si electroporarea celulelor biologice. Microsistemul contine un canal fluidic si un sistem de electrozi si este destinat separarii celulelor prin dielectroforeza si electroporarea acestora prin permeabilizarea membranei pentru eliberarea continutului celular. Nanoparticulele metalice sunt utilizate in scopul optimizarii campului electric din punct de vedere al controlului prin efecte electrocinetice, precum si pentru captarea celulelor in vederea detectiei electrice. A fost analizat modul in care variaza campul electric in prezenta nanoparticulelor si manipularea acestora prin efecte electrocinetice (electroforeza, electroosmoza).

Introducere: Utilizarea nanoparticulelor metalice, in domeniul biomedical a demonstrat imensul potential pe care il au acestea pentru diverse aplicatii, de la obtinerea de noi medicamente, la imagistica medicala, noi terapii precum si noi metode de diagnostic, in functie de compozitia lor chimica, precum si de proprietatile lor fizice si chimice. Nanoparticulele metalice magnetice (NMPs) „core/shell” sunt compuse dintr-un miez (core) magnetic de Fe3O4 si un invelis (shell) chimic, care poate fi Au, SiO2, Al2O3, polistiren, polimetacrilat divinil benzen etc. Realizarea bio-conjugatelor de tipul molecule organice mici, anticorpi sau celule cu nanoparticule a prezentat un deosebit interes in ultimii 15 ani datorita aplicatiilor biomedicale. Procedura pentru captarea si cuantificarea a celulelor in microsistemul de separare si electroporare urmareste realizarea unor bioconjugate nanoparticule-anticorp, specifice tipului de celula studiat. Astfel, pentru limfocitele T si pentru celulele endocervicale se ataseaza anticorpi specifici unor markeri proteici de suprafata (din peretele celular) pentru selectivitate si specificitate maxima. Bioconjugarea orientata se realizeaza prin atasarea covalenta a anticorpilor de suprafata nanoparticulelor. Analizele de simulare au fost realizate cu pachetele software Coventoware, Comsol Multiphysics, Ansys.

Aspecte teoretice si numerice

Electroforeza (EP):

$$\vec{v}_{ep} = \mu_{ep} \vec{E} \quad \mu_{EP} = \frac{2\zeta\epsilon_p}{3\eta} \quad [1]$$

ζ : potential zeta <-30 mV [2]

Dielectroforeza (DEP):

$$\vec{v}_{DEP} = \mu_{DEP} \nabla |\vec{E}|^2$$

$$\mu_{DEP} = \frac{2\pi r_p^3 \epsilon_m}{f} \quad [3]$$

$$\Delta V = 20V; \text{ NMPs: } C_{init}/Vol = 1 \mu\text{Mol} / l$$

$$\Phi = 100 \text{ nm} \rightarrow \mu_{EP} = -1.64 \times 10^6 \text{ um}^2 / (\text{s} \cdot V); \mu_{DEP} = 2.19 \times 10^2 \text{ um}^4 / (\text{s} \cdot V);$$

$$D = 3.97 \text{ um}^2 / \text{s}$$

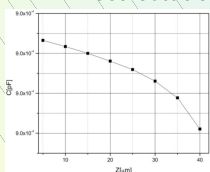
$$\Phi = 50 \text{ nm} \rightarrow \mu_{EP} = -1.64 \times 10^6 \text{ um}^2 / (\text{s} \cdot V); \mu_{DEP} = 5.47 \times 10^2 \text{ um}^4 / (\text{s} \cdot V);$$

$$D = 7.94 \text{ um}^2 / \text{s}$$

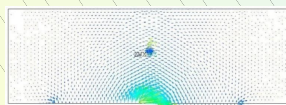
Conditii la limita si initiale:

Rezultate

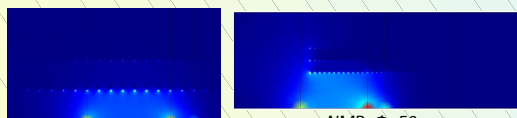
Electrostatic



Variatia capacitatii nanoparticulei in functie de pozitia in adancime



Distributia vectoriala a campului electric (ANSYS)



NMP: $\Phi = 100 \text{ nm}$

NMP: $\Phi = 50 \text{ nm}$

Distributia campului electric (COMSOL)

Valori camp maxim (V/ μm):
Fara NMP: 5.6 / 0.5
NMP 100 nm: 17.6/2.1/0.6
NMP 50 nm: 18.4/10/7

Concluzii

Prezenta nanoparticulelor conduce la o crestere a valorii campului electric in canal si la o forta de manipulare mai mare a celulelor. NPs se separa in zona electrozilor prin efect EP si DEP, viteza EP fiind mai mare; astfel concentratia va fi mai mare pe electrod datorita efectului EP fata de concentratia in zona de camp maxim (intre electrozi) care depinde de viteza DEP. Intensificarea campului electric in prezenta nanoparticulelor faciliteaza efectul de permeabilizare a membranei celulelor iar distributia pe electrod contribuie la optimizarea detectiei prin semnal electric.

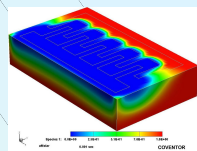
Referinte bibliografice

- R. Tantra, P. Schulze, P. Quincey, *Effect of nanoparticle concentration on zeta-potential measurement results and reproducibility*, Particology 8 (2010) 279–285
- Clogston JD, Patri AK, *Zeta potential measurement*, Methods Mol Biol. 2011;697:63-70. doi: 10.1007/978-1-60327-198-1_6.
- Kamalesh K. Sirkar, *Separation of Molecules, Macromolecules and Particles: Principles, Phenomena and Processes*, Cambridge University Press 2014

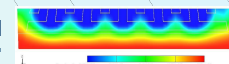
Lucrarea a beneficiat de suportul financiar al proiectului PN-II-PT-PCCA Contract 30/2014

Contact: Dr. Oana Tatiana Nedelcu (oana.nedelcu@imt.ro)

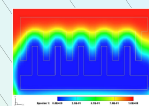
Electroforeza



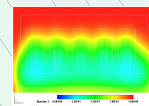
Concentratia de volum ($\mu\text{Mol}/l$)
Distributia speciilor dupa 1 ms
COVENTORWARE



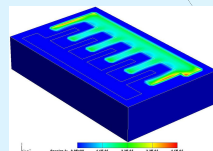
Concentratia de volum ($\mu\text{Mol}/l$),
Sectiune longitudinala dupa axa Y



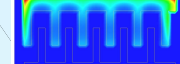
Concentratia de volum ($\mu\text{Mol}/l$),
Sectiune mediana dupa axa Z
50 μm fata de electrozi



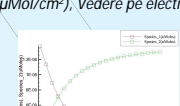
Concentratia de volum ($\mu\text{Mol}/l$),
Sectiune dupa axa Z
75 μm fata de electrozi



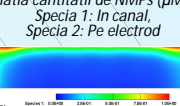
Concentratia de suprafata
($\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$)



Concentratia de suprafata
($\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$), Vedere pe electrozi



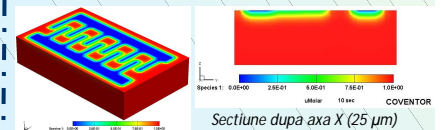
Variatia cantitatii de NMPs (μMol):
Specia 1: In canal,
Specia 2: Pe electrod



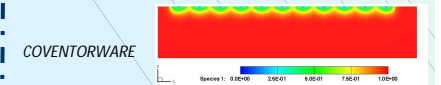
Concentratia de volum
dupa 10 ms, Sectiune
longitudinala dupa axa Y

Dielectroforeza

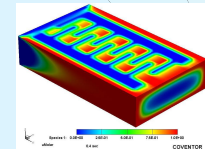
Distributia concentratiei de volum ($\mu\text{Mol}/l$)



Distributia dupa 10 s, fara curgere



Sectiune mediana dupa axa Y (150 μm)



Distributia in canal dupa 0.4 s in cazul curgerii

Concentratia NMPs in volum scade ca urmare a migrarii nanoparticulelor a) in regiunea de camp maxim (prin DEP); b) prin flux la iesirea datorat curgerii. Pentru maximizarea efectului DEP se impune separarea in regim fara curgere.