

TRPS

可控电阻式脉冲传感技术

TRPS 是目前可用于纳米粒子表征的功能最强大的技术，也是纳米粒子研究、发展和质控中重要的工具，该技术的应用在纳米医学和细胞外囊泡研究的领域中尤为突出。本文中纳米粒子包括一系列尺寸在纳米-亚微范围内人工合成的和生物来源的粒子。

最近的研究表明，TRPS 技术快捷、方便，配合一系列额外的配套工具，能让 TRPS 的用户的工作更加轻松。

TRPS 技术可以准确、高重现的测定颗粒特征。所有得到的测定结果都经过一系列校准，如考虑用户间和仪器间的系统偏差都控制在一定范围内。可测定的颗粒特征如下：

- 颗粒浓度，特定尺寸范围内的颗粒数/mL
- 颗粒尺寸和不同尺寸的颗粒浓度，反映真实的颗粒-颗粒状态
- 颗粒电荷和不同电荷的颗粒浓度，同样反映真实的颗粒-颗粒状态

原理

TRPS 技术基于阻抗原理，与激光无关。当充满电解液的纳米孔上下两边施加一定的电压时，纳米孔内会产生离子电流。当颗粒通过纳米孔会取代一定的电解液增加电阻，继而产生电阻脉冲信号，该脉冲信号大小与颗粒的体积成正比。

人们早在 60 年前就提出了电阻式脉冲传感技术(RPS)的基本原理，并将其应用于细胞计数和测定。近年来，该项技术已被用于高通量的 DNA 测序。

Izon Science 公司紧跟技术潮流并提出了可控电阻式脉



准确可靠的测定这些颗粒特征可以辅助其他测定技术，进一步得到颗粒的详细信息，如生物学或生物化学分析。

鉴于 TRPS 技术的实用性且可以轻松获得高质量的数据，打开了颗粒测定的新局面，颗粒测定领域需要进一步重新定义以适应技术的发展

这些新定义正被许多颗粒协会接受并得到了逐步应用。

冲传感技术 (TRPS)，首先发明了一种尺寸可控的纳米孔，继而发展了一系列的工具和检测理念，利用压力和电压等可控的驱动力。鉴于分子尺寸已能得到测定且亚微尺寸受到人们较高的关注度，TRPS 目前主要关注范围是亚微米的样品，检测对象是尺寸范围为 40 nm - 10 μ m 的颗粒。

颗粒大小和浓度的检测通过使用已知尺寸和浓度的校正颗粒来实现。当颗粒流经纳米孔，会产生一个电阻脉冲信号，通过该信号和校正颗粒的对比，来实现颗粒特征的逐个测定。

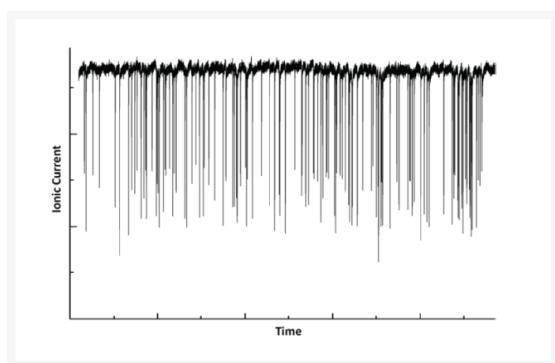
颗粒流速与颗粒浓度成正比，所以可以准确测定不同尺寸的颗粒浓度。于此同时，可以逐个测得每个颗粒的尺寸。TRPS 的核心理念在于可以同时提供准确的颗粒浓度和颗粒尺寸分布。

TRPS 可向客户提供局部大小范围内的个数浓度，如(70 nm - 120 nm)。现代纳米颗粒的测定工作需要提供不同尺寸的颗粒浓度，而较早的技术仅提供理论上每个尺寸范围内大致的颗粒比率，分辨率低。不适用于当今的纳米医药和细胞外囊泡等领域的研究需求。

颗粒会以一定的速度穿过纳米孔，该速度可以得到控

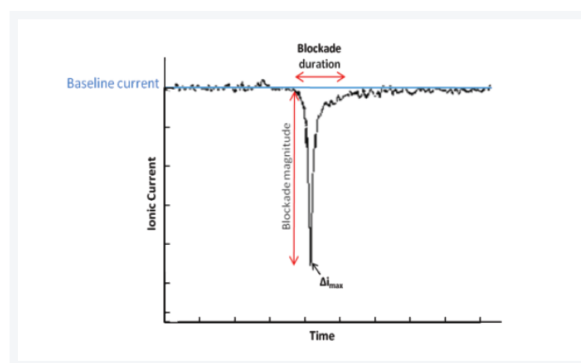
制和测定。电阻式脉冲的高度（强度）与颗粒体积成正比，脉冲的持续时间（脉冲宽度）则是由颗粒长度和速度以及其他因素决定的。

通过改变预设的压力和电压并分析颗粒的速度，可以导出每个颗粒通过纳米孔时的电泳淌度。这是一种功能十分强大的纳米测量工具，且在许多方面具有广泛的应用前景。如今，该技术开放使用，可以在纳米颗粒研究、发展和质量监控等领域广泛使用。同时许多期刊和生物医疗应用都要求强制使用该项技术进行数据验证。



TRPS 中的离子电流电阻式脉冲

单颗粒通过纳米孔时的，可视离子电流“脉冲”



单电流脉冲特写展示特征脉冲形状

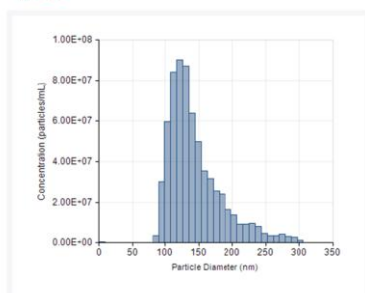
基于 TRPS 的仪器

Izon Science 出产的 qNano 仪器搭载 TRPS 技术，现升级为 qNano Gold，含一系列配套设备包括：仪器、纳米孔、孔包覆试剂、分析软件、用户培训方案和新推出的 qEV 样品处理工具。

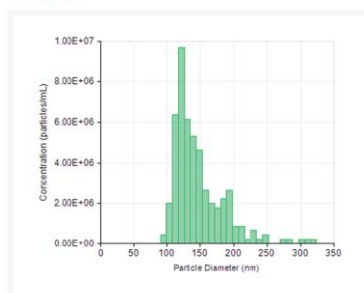
尺寸测定

TRPS 现可用于测定纳米颗粒和不同来源的 EVs 的真实尺寸分布。请注意下图中的纵轴代表不同尺寸范围内颗粒的个数浓度，而不是比率。TRPS 技术是目前唯一可以实现可靠颗粒测定的方法。任何高可信度的颗粒研究项目或者跟颗粒相关的规定都需要数据具有高可靠性和易得性。TRPS 能够提供高质量的测量数据（如尺寸分布及颗粒浓度）并有望推动纳米颗粒研究的快速发展。

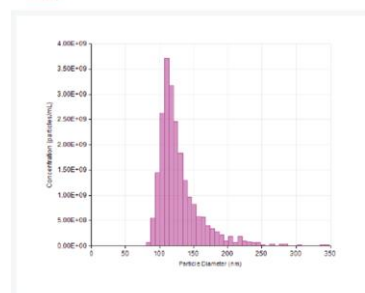
尿液



脑脊液



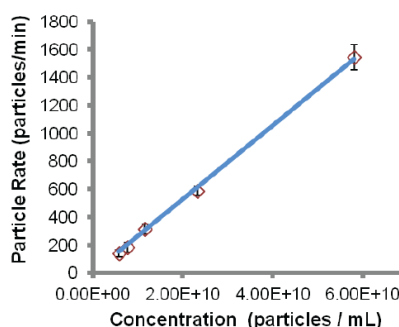
血浆



浓度测定

TRPS 技术能获得非常准确的浓度信息：颗粒速度与浓度成正比关系，与颗粒组成无关，因此，一定尺寸范围内的颗粒浓度（ $C_{\min}$ - $C_{\max}$ ）可通过已知浓度的标准曲线计算得到。对于一张完整的数据图，需要同时提供颗粒浓度和尺寸分布，然而许多应用中，提供更简单的数据也同样合适。

TRPS 利用简单且可验证的方法提供准确、可靠的浓度。



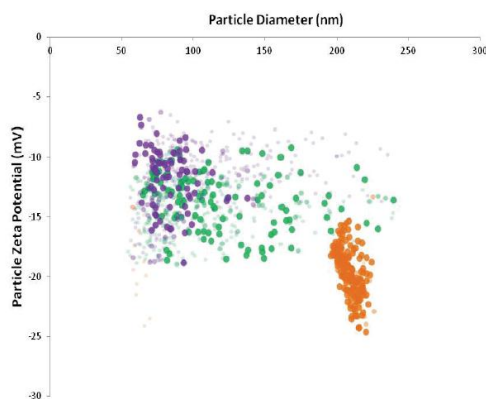
尺寸电荷测定，包括 Zeta 电势

TRPS 技术通过分析单个颗粒在不同驱动力下电阻式脉冲的持续时间，跟已知尺寸、表面电荷和个数浓度的标准样品比较，来逐个测定颗粒的表面电荷。每个脉冲的宽度与颗粒穿过锥形孔有关，通过分析脉冲宽度，可以获得每个颗粒的速度。通过测定颗粒速度，可以获得每个颗粒的电泳淌度，意味着可以同时获得颗粒的尺寸和电荷信息。跟大多数电荷测定技术一样，电泳淌度可以简单的转换为 Zeta 电势。

TRPS 仪器能提供颗粒的 Zeta 电势，然而仪器首先得到的是电泳淌度的特性。无论如何，逐个颗粒的带电分布情况和电荷 vs 尺寸数据有助于我们进一步了解颗粒性质。考虑到上述数据的方便性和实用性，因此可以和之前过时技术产生的低质量数据说再见了。

研究逐个颗粒的电荷有助于我们探究纳米颗粒的表面功能。该技术可用于适配体的研究，因为适配体带负电，可据此考察适配体与目标颗粒之间的结合情况。

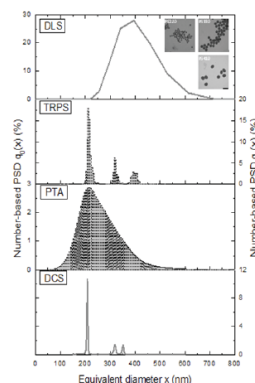
下图展示了来源于不同脑脊液样品 EVs 的尺寸和带电情况，表明 TRPS 技术提供的 EVs 详细的电荷分析是一个十分实用的研究工具。



来源于健康人样品（绿点）的颗粒平均 Zeta 电势为-17 mV，而来自于疾病样品（紫点）则为-15 mV（颗粒均溶于 PBS 溶液）。（校正颗粒以橙色显示）

准确性和分辨率

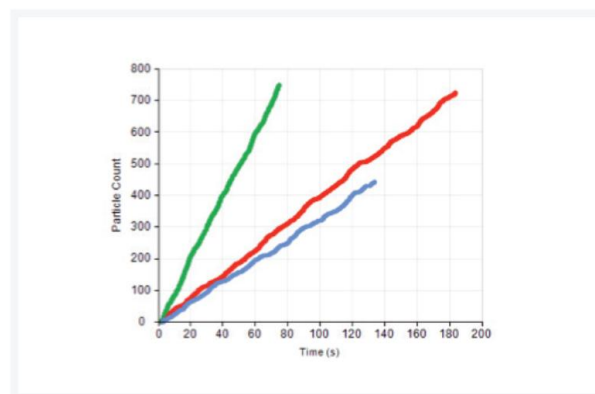
溶液中真实颗粒的分布通常为多分散和非均匀的。人们需要利用测定数据来推断颗粒组成，因此如果系统不能提供上述信息，那么系统的功能将大打折扣。如果一种技术只能测到单分散的颗粒，那么该技术将毫无意义，除非该样品已知为单分散。下图为人工混合的三个不同大小的标准颗粒后用不同仪器测定的大小分布。四种测定技术中（DLS, TRPS, NTA, DCS），仅有 TRPS 技术能提供颗粒的真实粒径分布。此外，TRPS 技术也能测定不同峰值的颗粒浓度（e.g. $C_{\min}$ - $C_{\max}$ ），这一技术也仅有 TRPS 能够实现。



样品准备

均相的囊泡如脂质体在 TRPS 装置中能得到准确测定并具备极好的稳定性。非均相的样品如细胞外囊泡 (EVs) 或病毒的测定则受制于样品准备过程, 良好的制样有助于快速和精密的测定。Izon Science 推出了 qEV 的产品以实现上述目的。辅助的颗粒制备产品和一些创新性产品如孔包覆试剂, 共同促进 TRPS 成为一项实用的技术, 并显著改善测定结果。

以 EV 领域为例, 从血浆样品处理、检测和分析都可以使用 IZON 的 qEV 和 TRPS。该方法是目前最快速, 同时也是最可靠和最准确的选择。



该图展示经 qEV 柱纯化的 EVs

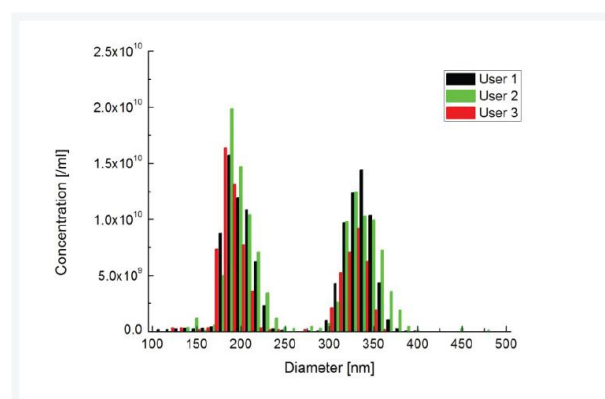
经 qEV 纯化后, 三种洗脱组分用于 EV 的分析, 表现一致的颗粒速率, 反映出测定结果的稳定性。

重现性

其他纳米粒子表征技术存在一类重要的问题: 用户的不同设置和用户不同的样品组成会影响结果的一致性。这意味着不同用户和不同仪器得到的结果可能会存在偏差, 因此两者无法对比。若无法解决该问题, 那么 EV 领域的研究将无法深入到诊疗领域。值得庆幸的是 TRPS 技术能很好的解决这些问题, 将带动 EV 领域的不断发展并逐步被医学界所接受。

由于 TRPS 的各项测定都经过标准样品的校正, 因此其准确性能够得到保证并可用于进一步的对比。

同样的双峰样品由来自不同研究组且事先无相互沟通的用户进行测定, 测定结果具备高重现性。尺寸分布高度重叠, 表明数据的可靠性。



关于 IZON Science

Izon 向顾客提供一整套解决方案, 主要用于纳米颗粒尺寸、电荷和浓度的准确测定, 包括精密仪器、消耗品和试剂。Izon Science 致力于与用户以合作伙伴关系开展研究和发展, 以确保仪器能提供准确、重现和可靠的数据来支持用户的研究。Izon 的产品被认为是许多组织机构, 包括科研院所, 大学和科学团体的重要仪器。



WWW.IZON.COM

欧洲

The Oxford Science Park
Magdalen Centre, 1 Robert Robinson Ave,
Oxford OX4 4GA,
United Kingdom

Tel: +44-1865-784-630
Fax: +44-1865-784-631
Email: uk-info@izon.com

北美

85 Bolton Street
Cambridge,
MA 02140
United States

Tel: +1-617-945-5936
Fax: +1-857-259-6623
Email: usa-info@izon.com

亚太

8C Homersham Place,
PO Box 39168, Burnside,
Christchurch 8053,
New Zealand

Tel: +64 3 357 4270
Fax: +64 3 357 4273
Email: info@izon.com