

Protokol ke cvičení ze dne 30. 11. 2021

Cíl cvičení: Příprava liposomů metodou hydratace fosfolipidního filmu, homogenizace přes extruzní filtry, analýza metodou dynamického rozptylu světla (dynamic laser scattering – DLS)

Chemikálie:

Egg phosphatidyl choline (EPC)

PBS

Chloroform

MiliQ Voda a EtOH na proplachování extrudéru

Přístroje:

Analytické váhy – Mettler Toledo

Vakuová rotační odparka Heidolph

Ruční Extrudér Genizer

Zetasizer Nano – Malvern + kyveta zen2112

Postup:

- Na analytických vahách navážíme 25 mg EPC (temperovaného minimálně 15 minut za pokojové teploty)
- EPC rozpustíme v přiměřeném množství chloroformu (cca 10 mg/ml)
- Roztok lipidu v chloroformu přemístíme do baňky
- Chloroform odpaříme na vakuové rotační odparce
- Vzniklý lipidní film hydratujeme PBS na výslednou koncentraci 5mg lipidu/1 ml PBS
- Liposomy homogenizujeme přes extruzní filtry o velikosti 400, 200 a 100 nm
- Výsledné produkty analyzujeme metodou dynamického rozptylu světla na přístroji Zetasizer Nano

Výsledky

Vzorky

Ranní skupina

1. Neextrudované liposomy
2. Liposomy extrudované přes 400 nm

3. Liposomy extrudované přes 200 nm
4. Liposomy extrudované přes 100 nm
5. Směs dvou populací liposomů – 400 a 100 nm

Odpolední skupina

1. Neextrudované liposomy
2. Liposomy extrudované přes 400 nm
3. Liposomy extrudované přes 200 nm
4. Liposomy extrudované přes 100 nm

Z-Av a PDI

Vzorek		Z-Av (nm)	PDI
Ráno	1	248	0,48
	2	169	0,25
	3	107	0,15
	4	87	0,03
	5	132	0,23
Odpoledne	1	341	0,081
	2	143	0,12
	3	133	0,14
	4	111	0,08

Při extruzi s filtry s menšími póry vidíme snižování Z-Average (průměrná velikost částic) a PDI (polydispersity index, úroveň homogenity vzorku, čím menší, tím je vzorek homogennější).

Grafy viz. Příložené reporty