

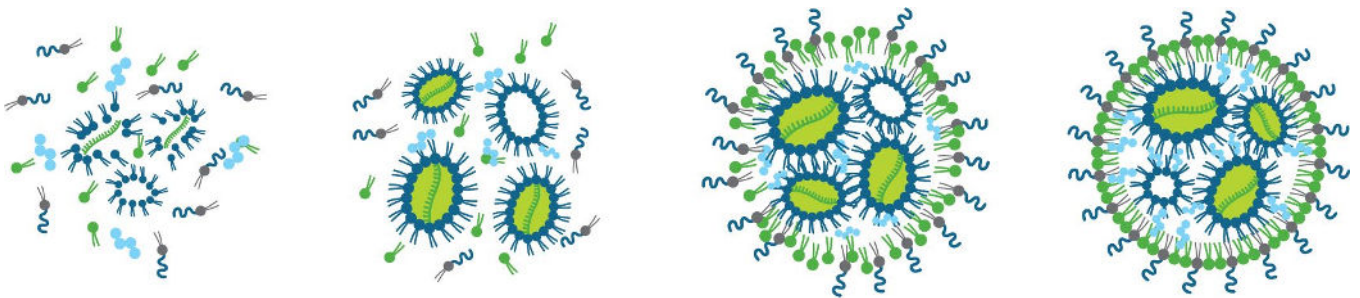
混合をマスターする:Sunnyの選択ガイド

皆様を1つのSunnyデバイスに縛り付けるのは、私たちの望みではありません。穏やかな層流をご希望ですか?もちろん!カオス流?それはあなた次第です。マイクロミックスからクロスミックス、フローフォーカス、その他に至るまで、Unchained LabsのSunnyラインアップが皆様のお役に立ちます。Sunnyは、非常に滑らかで、高品質・高性能、再利用可能なマイクロ流路混合チップです。お持ちの処方に適した混合のタイプが分からない?心配無用です!混合の世界への究極のガイドをご用意しています。さあ、Sunnyと一緒に、私たちについて来てください!

混合の技術

LNPは、有機溶媒中の脂質と水性バッファー中の核酸を混合することにより形成されます。では、どのように混合するのが良いのでしょうか?それは非常にシンプルです。迅速に混合すれば小さな粒子になり、均一に混合すれば分布が狭くなります。

周囲の環境が変化すると、粒子は自己集合します(図1)。まず、正に荷電したイオン化脂質と負に荷電した核酸との間で静電相互作用が生じます。次に、水との混合で脂質の環境が極性になるにつれて残っている脂質が、疎水性相互作用により、これらの核の周りに集合します。



Solvent polarity

図1: 混合プロセス中のLNPの自己集合の様子。

このプロセスにかかる時間が長くなるほど、これらの粒子は長時間成長しなければならないことになります。これは、LNPやリポソームを含むほとんどの製剤で確認できます(図2)。総流量が増加すると、物質が混合される時間が短くなるため、粒子サイズが減少します(図3)。

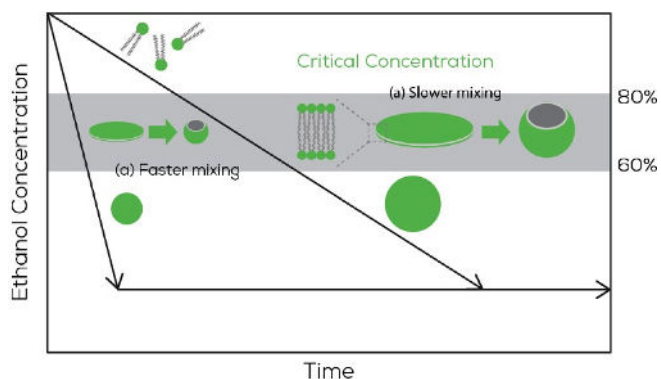


図2: 粒子生成に対する混合速度の影響。

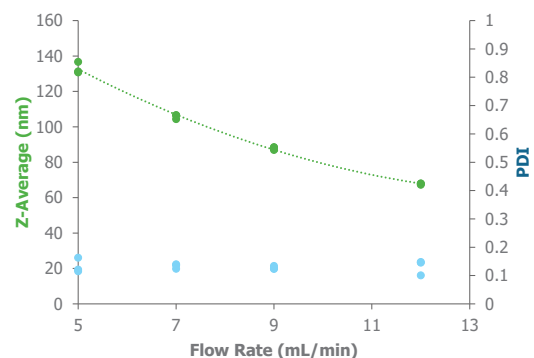


図3: LNPサイズに対する総流量(TFR)の影響。

このプロセスが均一でないと、混合速度が場所によって異なるため、広い粒度分布になってしまいます。その結果、粒子サイズにばらつきが生じます。ここで、マイクロ流路が役立ちます。流れと混合チャンネルを厳密に制御することで、毎回、完璧で精密な混合が保証されます。次に、混合のタイプにはどのようなものがあるのか、どのような用途に最も適しているのかをご説明します。

層流混合とカオス流混合

層流混合では、スムーズで予測可能な方式で物質が流れます。物質の各層は容易には混ざらず、互いの横を流れます。2つの流れの混合は、隣の流れへの物質の拡散によって生じるため、拡散定数と物質間の接触面積に比例します。Unchained Labsでは、2つの流れを中央に圧縮する方法として、層流混合の一種である流体力学的絞り込み(hydrodynamic flow focusing : HFF)を使用しています(図4)。この流れを圧縮により、拡散に必要な距離が短くなり、混合が促進されます。粒子サイズは圧縮された流れの幅と相関し、これはチャンネルサイズと流量の影響を受けます。



図4: 安定な層流混合(左)とカオス流混合(右)の比較。

この方法は、流れが層流であるため、低圧かつ高度に制御可能であり、粒子特性を厳密に制御し、優れたPDIを得ることが可能です。

乱流は、高流量でチャンネル幅が広い場合に生じるため、マイクロ流路で真の乱流に達することはまれであり、側方からの混合形態は、混合と形状(流れの分割やチャンネルの拡大など)によって作られます。これを「誘導カオス流」と呼びます。

誘導カオス流は、流体がチャンネル内を流れていく際に生じる渦によって支配され、著しい側方混合を生じさせます。チャンネル全体に渡って渦による側方混合を生み出され、混合の時間は非常に短くなるため、制御の精度は犠牲になり、結果小さな粒子が形成されます。

Sunnyシリーズ

Sunny 490 Trident T

Sunny 490 Trident T(図6)は、比較的低い流速と背圧のために幅の広いチャンネルが組み込まれた、究極のHFFチップです。Trident Tは、使いやすさを考慮して内蔵の希釈チャンネルを備えており、長時間のハイスループットスクリーニングに最適な選択肢です。高度に制御された層流混合により、Sunnyの流量範囲全体を通して粒子サイズを高度に制御でき、最高流量で最小のサイズを得ることができます(図5)。

テストした流量全体を通じて粒子サイズが着実に減少していることは、層流が持続していることを示す優れた指標となります。

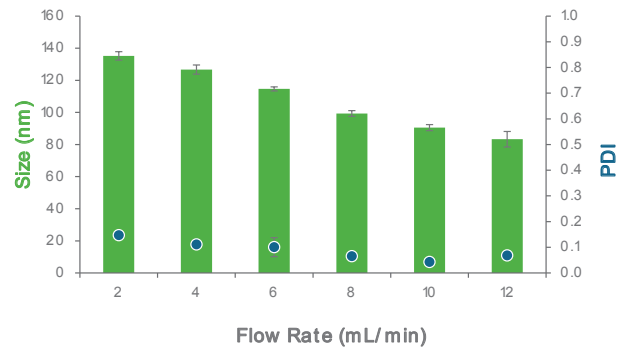


図5: Sunny 490 Trident Tの流量スクリーニング。

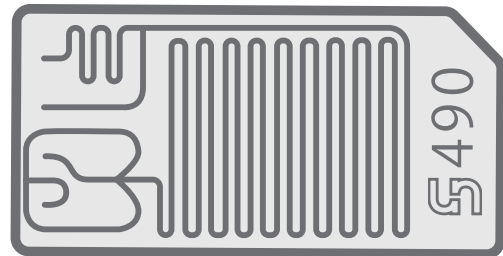


図6: Sunny 490 Trident T。

Sunny 150 3D

Sunny 150 3D(図8)は、フルサイズのチャンネルではなく中央の入口から細孔を通して流れの、3次元絞り込みを実現した、高度なマイクロ流路混合デザインです。これにより、全方向から流れが圧縮され、サイズだけでなく混合の優れた制御をもたらします(図7)。

このSunnyでも、外側の希釈シーズ流を同時に使用することができ、元の両方の流れをさらに圧縮して、より素早く混合するという選択肢も可能です。

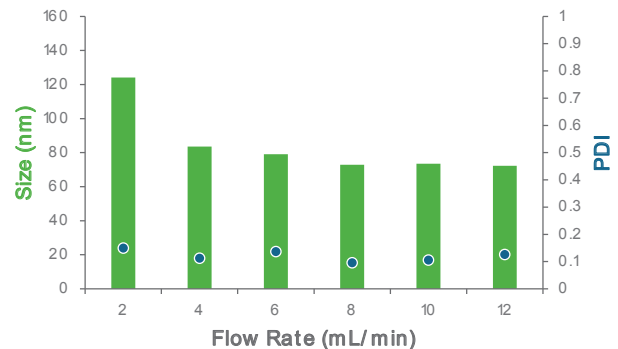


図7: Sunny 150 3Dの流量スクリーニング。



図8: Sunny 150 3D。

Sunny 275X, 190X and 100X

Sunny Xは、水相の流れをチップ上で分割し、狭い合流部で有機相の流れと合流させることで、流れを圧縮します。その後、チャンネルの幅が広がることで、カオス流が生じ、混合プロセスが加速されます。この結果として粒子サイズが小さくなり、流れの形態が低流量の層流からカオス流に変化する際に、粒子サイズは一気に減少します。このSunnyには、100 μm、190 μm、275 μmの3段階の合流部サイズをご用意しています。

これらのSunnyでは小さな粒子が得られ、総流量が6～10mL/分のときにサイズが最小となります。Sunny 100 X(図10)は、合流部のサイズが小さいため、低流量でこのサイズに達します。一方、Sunny 190 Xは、完全なカオス流の状態に達するためにはより高い流量が必要となることから、流量とサイズのカーブは緩やかになります。275 Xでは最大の粒子が得られますが、最高流量に達することが可能です(図9)。

これらのSunnyは、スクリーニングと長時間の作業の両方に理想的であり、異なるチャンネルサイズが利用できることから、スケールアップに応じてプロセスを容易に最適化できます。

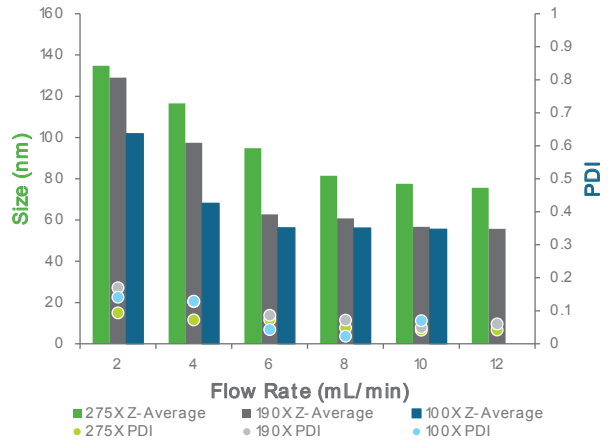


図9: Sunny 275X, Sunny 190X, Sunny 100Xの流量スクリーニング。



図10: Sunny 100X。

Sunny 275T, 190T and 100T

Sunny Tは、希釈液をアプライするためのチャンネルとして使用することも、それ自体を混合チップとして使用することも可能です。Sunny Tは、おそらくすべてのチップの中で最も単純なデザインであり、2つの流れが90°の角度(または望む場合は正面)で交わります。このチップでも合流部で圧縮が生じているため、良好かつ十分な混合を実現しています(図11)。

Sunny Tの測定範囲全体での粒子サイズの傾向はSunny Xと同様です。合流部サイズも100 μm、190 μm、275 μmの3段階あります(図12)。

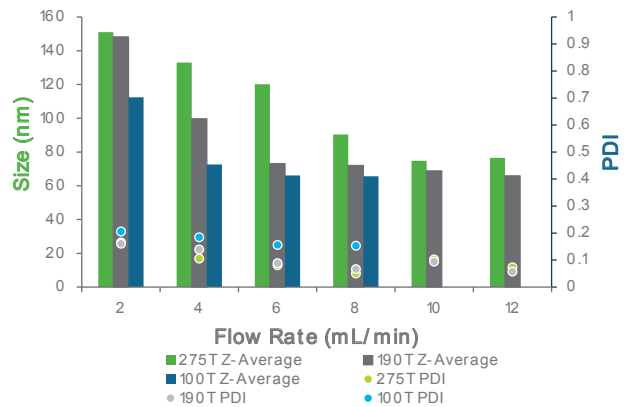


図11: Sunny 275T, Sunny 190T, Sunny 100Tの流量スクリーニング。



図12: Sunny 100T。

Sunny 50 Micromixer

Sunny 50 Micromixer (図14)は、あらゆる流量(高速でも低速でも)で高度にカオス的な流れを生成できるようにデザインされています。合流部にはフローフォーカシングジャンクションを採用しており、その後、流れは複数のチャンネルに分割されます。混合チャンネルの長さに沿って、合流と分割が繰り返されます。

これにより、低流量であっても粒子サイズが小さくなることから、Trident TやXT Sunnyとは異なり、この混合形状では、流速にかかわらず、カオス流が生じていると考えられます。形状が複雑なため、背圧が高くなり、流量範囲も限定的です(図13)。

このチップは、製剤のスクリーニング、または複雑な粒子製剤で可能な限り小さいサイズを狙いたい場合に推奨されます。

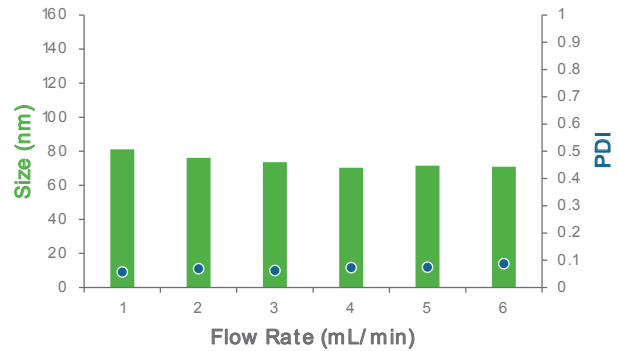


図13: Sunny 50 Micromixerの流量スクリーニング。

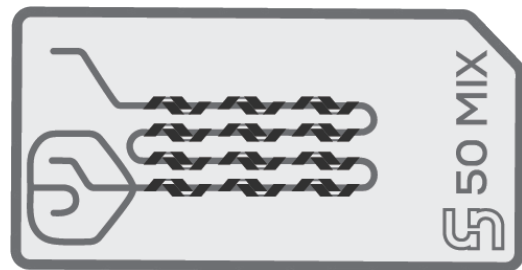


図14: Sunny 50 Micromixer。

まとめ

独自の処方をお持ちの場合、完璧な組み合わせを見つけられるかどうかは、試薬の濃度、核酸コンストラクト、脂質組成、 T_m などの要因と、お使いのワークフローのわずかな差(数例を挙げると、粒子サイズ、流量比、総流量など)によって左右されます。今こそ、混合を自在に調節できるSunnyをお試しください(図15)。

*すべてのデータはCayman ChemicalsのSM-102 Lipid Exploration Kitに基づいています。脂質は、総濃度10 mMでエタノールに溶解し、SM-102/DSPC/コレステロール/DMG-PEG2000のモル比は50/10/38.5/1.5としました。NP比は6:1、カーゴはpolyA(200nt超)を使用しました。すべての例で流量比は3:1(水対有機)です。

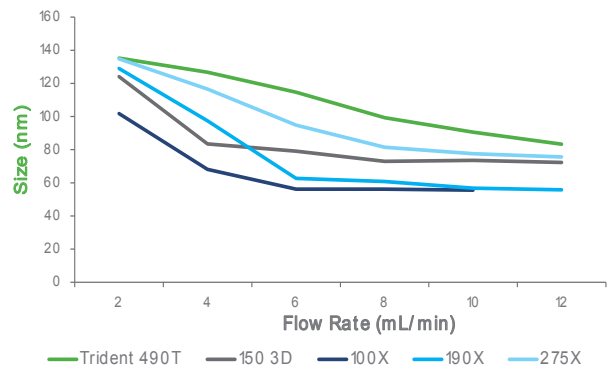


図15: 各種Sunnyの流量スクリーニング。



Unchained Labs
 東京都千代田区神田須田町 2-9-2 PMO 神田岩本町 3F
 Phone: 03-3526-2811
 Email: unchained.labsjp@unchainedlabs.com

© 2024 Unchained Labs. 禁無断複写・転載。Unchained Labsのロゴ、Sunscreen、Sunshine、Sunbather、SunnyおよびSunniesはUnchained Labsの商標および/または登録商標です。掲載されているその他すべてのブランドや製品名は、各社が所有する商標です。