



## epMotion®: Freiheit gewinnen für das, was zählt

- > Pipettenspitzen – es geht auch nachhaltiger
- > ISO 8655-6:2022: Die hohe Kunst der Pipetten-Kalibrierung
- > Qualität der Bioprozessdaten verbessern, Aufwand verringern

### Application Notes

Einfache Migration von PCR-Protokollen mittels automatisierter Laufzeitanpassung ·  
Schnelle Auftrennung von Lipoprotein-Fractionen aus humanem Serum · etc.





# Willkommen

zu einer neuen Ausgabe der Eppendorf BioNews.

In unserem Leitartikel auf den Seiten 4–5 laden wir Sie ein, die epMotion® kennenzulernen, eines der präzisesten Systeme für automatisiertes Liquid Handling auf dem Markt. Mit einer epMotion können Sie sich Freiräume schaffen für das, was Sie am meisten beschäftigt: Ihre Forschung!

Für Eppendorf ist Nachhaltigkeit im Labor seit Jahren ein Herzsthema. Auf Seite 6 beschreiben wir, wie durch smarte Änderungen am Design von Racks oder Verpackungsformen Kunststoff eingespart werden konnte. Aber auch unsere Rohstoffe unterliegen der Weiterentwicklung: Nach der erfolgreichen Einführung der Eppendorf Tubes® BioBased haben wir nun auch das Material einiger Premium-Pipetten- und Filterspitzen auf ein biobasiertes Polypropylen umgestellt, bei dem Rohöl weitestgehend durch Speiseöl der 2. Generation ersetzt wird – ohne Kompromisse bei Produktleistung und -qualität.

„Ich hätte mir mehr Notizen machen sollen“, ein oft gehörter Stoßseufzer, wenn es bei der Dokumentation von probenrelevanten Begleitdaten mal wieder hakt. Dabei könnte diese so einfach sein – mit dem SafeCode-System von Eppendorf, verfügbar für eine Vielzahl von Verbrauchsmaterialien (S. 10).

Bioprozessingenieure aufgepasst! Der Einsatz unseres neuen Bioprocess Autosamplers kann die Effizienz Ihrer Bioprozessdaten verbessern und den Arbeitsaufwand verringern. Mehr dazu auf Seite 11 und in der Application Note 3–4.

Weitere Themen in dieser Ausgabe: u.a. Pipetten-Kalibrierung gemäß ISO 8655-6:2022, unser neues Service Portal, nachhaltige ULT-Freezer, PCR, Tipps für die Zellkultur und 8 Seiten Application Notes.

Und wie immer gibt es attraktive Gewinne für Ihr Labor in unserem Preisrätsel auf Seite 15!

Ihr Eppendorf BioNews-Team

## Impressum

### Herausgeber

Eppendorf SE, Barkhausenweg 1,  
22339 Hamburg, Deutschland  
Telefon: + 49 40 53 801-0  
Fax: + 49 40 53 801-556  
E-Mail: [bionews@eppendorf.de](mailto:bionews@eppendorf.de)  
[www.eppendorf.com/bionews](http://www.eppendorf.com/bionews)

### Redaktionsteam

Berit Hoff (Projektleitung),  
Dr. Jan-Hendrik Bebermeier,  
Dr. Tanja Musiol, Natascha Weiß

### Gestaltung

Holger Paulsen Grafik-Design, Hamburg

### Bildnachweis

Alle Bilder Eppendorf SE. Ausnahme  
S. 14: Lena Hammar (Schweden)

### Kontakt

Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH  
Peter-Henlein-Str. 2  
50389 Wesseling-Berzdorf  
Tel. 01803 - 255911  
(0,09 €/min aus dem Festnetz,  
Mobilfunk max. 0,42 €/min)  
E-Mail: [vertrieb@eppendorf.de](mailto:vertrieb@eppendorf.de)

### Vertrieb Schweiz

Vaudaux-Eppendorf AG  
Im Kirschgarten 30  
4124 Schönenbuch/Basel  
Tel. (061) 4821414  
E-Mail: [eppendorf@eppendorf.ch](mailto:eppendorf@eppendorf.ch)

### Vertrieb Österreich

Eppendorf Austria GmbH  
Donau-City-Str. 11–13, 1220 Wien  
Tel. (01) 8901364-0  
E-Mail: [office@eppendorf.at](mailto:office@eppendorf.at)

### Hinweise

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit und ohne jede Diskriminierungsabsicht wird im Text fast ausschließlich eine Form genutzt, die alle Geschlechter einbezieht.

Irrtum und technische Änderungen vorbehalten. Alle Rechte vorbehalten, einschließlich der Grafiken und Bilder. Markenhinweise auf Seite 14.

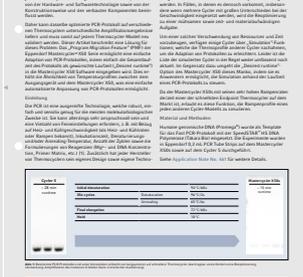
© Copyright Eppendorf SE, Juli 2023.



<b>IM BLICKPUNKT</b>	epMotion®: Freiheit gewinnen für das, was zählt	4–5
<b>LABORPRAXIS</b>	Impfungen – eine Erfolgsgeschichte	7
	PCR-Protokolle erfolgreich übertragen	8
	Zellen richtig aussäen: Tipps & Tricks	9
	„Ich hätte mir mehr Notizen machen sollen“	10
	ISO 8655-6:2022: Die hohe Kunst der Pipetten-Kalibrierung	13
<b>INNOVATION</b>	Pipettenspitzen – es geht auch nachhaltiger	6
	Qualität der Bioprozessdaten verbessern, Aufwand verringern	11
<b>NEWS/TIPPS</b>	Dokumentieren Sie Ihre Pipettieraktivitäten	5
	Happy 60th, Eppi®!	7
	Näher hingeschaut: Mastercycler® X50	8
	Persönliche –80°C in Reichweite?	12
	„Willkommen, es ist Zeit für den Pipetten-Service!“	12
	Dr. Maurice Michel erhält Eppendorf Award 2023	14
<b>SERVICE</b>	Markenhinweise	14
	Preisrätsel: Pipetten 3er-Set zu gewinnen	15

<b>IM BLICKPUNKT</b>	epMotion®: Freiheit gewinnen für das, was zählt	4–5
<b>LABORPRAXIS</b>	Impfungen – eine Erfolgsgeschichte	7
	PCR-Protokolle erfolgreich übertragen	8
	Zellen richtig aussäen: Tipps & Tricks	9
	„Ich hätte mir mehr Notizen machen sollen“	10
	ISO 8655-6:2022: Die hohe Kunst der Pipetten-Kalibrierung	13
<b>INNOVATION</b>	Pipettenspitzen – es geht auch nachhaltiger	6
	Qualität der Bioprozessdaten verbessern, Aufwand verringern	11
<b>NEWS/TIPPS</b>	Dokumentieren Sie Ihre Pipettieraktivitäten	5
	Happy 60th, Eppi®!	7
	Näher hingeschaut: Mastercycler® X50	8
	Persönliche –80°C in Reichweite?	12
	„Willkommen, es ist Zeit für den Pipetten-Service!“	12
	Dr. Maurice Michel erhält Eppendorf Award 2023	14
<b>SERVICE</b>	Markenhinweise	14
	Preisrätsel: Pipetten 3er-Set zu gewinnen	15

### Eppendorf BioNews Application Notes

	<p><b>ARORA PHANG, STEFFEN RIETHMÜLLER</b>  <b>Einfache Migration von PCR-Protokollen mittels automatisierter Laufzeitanpassung</b></p> <p style="text-align: right;">1–2</p>
	<p><b>SASKIA GÄBE, NINA SCHRAND, PATRICK WEGENER</b>  <b>Automatische Probenentnahme mit Hilfe des Bioprocess Autosamplers zur Analyse eines E. coli Fermentationsprozesses</b></p> <p style="text-align: right;">3–4</p>
	<p><b>W. BEN EL MOSTAPHA, V. DUFAY, S. TEJERINA, P. ROWART, F. DE LONGUEVILLE, J. KNOP</b>  <b>Schnelle Auftrennung von Lipoprotein-Fractionen aus humanem Serum durch Ultrazentrifugation</b></p> <p style="text-align: right;">5–6</p>
	<p><b>RAFAL GRZESKOWIAK, MURIEL ART, JEAN-FRANÇOIS HOET</b>  <b>Sanft zur Erde und zu den Zellen: Vergleich der Zytotoxizitätsparameter bei Eppendorf Tubes® BioBased und Standard Eppendorf Tubes</b></p> <p style="text-align: right;">7–8</p>

BERRIT HOFF, EPPENDORF SE

# epMotion®: Freiheit gewinnen für das, was zählt

In unserem Leitartikel laden wir Sie ein, die epMotion kennenzulernen, eines der präzisesten Systeme für automatisiertes Liquid Handling auf dem Markt. Wenn Sie nach maximaler Reproduzierbarkeit Ihrer Assays und größtmögliche Flexibilität bei der Anpassung an wechselnde experimentelle Anforderungen streben, lesen Sie unser Interview mit Dr. Tim Schommartz, Global Marketing Manager. Tim ist selbst Molekularbiologe (mit Schwerpunkt Virologie) und weiß aus eigener Erfahrung, welche Potenziale für die eigentliche Forschung durch Einsatz automatisierter Systeme freigesetzt werden können.



Mit unseren epMotion-Systemen gewinnen Sie zeitliche und gedankliche Freiräume für Ihre eigentliche Leidenschaft – die Forschung

*BioNews: Tim, im Februar 2023 war die Weltpremiere für die neue Generation der epMotion auf der SLAS\* Konferenz in San Diego, CA, USA. Dein Fazit?*

Tim Schommartz: Die SLAS ist grundsätzlich „the place to be“ für automatisierte Systeme und wir waren absolut happy, auf dieser wichtigen Veranstaltung vor Ort zu sein. Auch mit unserem Motto „Unleash Your Potential“ lagen wir goldrichtig.

Denn um nichts anderes geht es! Mit unseren epMotion-Systemen gewinnen

Forschende zeitliche und gedankliche Freiräume und können ihr Potenzial für ihre eigentliche Leidenschaft – die Forschung – entfalten.

*BN: Indem man lästige Routinen an einen „Roboter“ übergibt?*

TS: Genau, es geht um den Wechsel vom manuellen zum automatischen Workflow. Besonders Anwendern, die sich noch nicht mit Laborautomation auseinandergesetzt haben, möchten wir aufzeigen, wie einfach und intuitiv unsere epMotion-

Systeme in Routineaufgaben implementiert werden können. Selbst in kleineren Labors und mit geringen Durchsätzen und das in kurzer Zeit – ohne aufwändiges Training!

*BN: Wodurch zeichnet sich die neue epMotion-Generation aus?*

TS: Bei den neuen Geräten handelt sich um eine Weiterentwicklung der seit fast 20 Jahren etablierten epMotion 5073 und epMotion 5075 Systeme. Im Laufe der Zeit wurden diese stetig weiterentwickelt.



Schublade für mehr Lager- und Entsorgungskapazität

Hierbei fokussierten wir uns jedoch vor allem auf technologische Verbesserungen – quasi die „inneren Werte“. Das vertraute, blau dominierte Design wurde beibehalten.

Die neue Generation hingegen bietet neben durchdachten Detailverbesserungen jetzt auch ein neues Design: weiß, clean, klar – und dennoch robust und solide!

**BN:** Was genau wurde optimiert?

**TS:** Es ging uns besonders darum, die „User-Experience“ – also das Nutzungserlebnis – noch weiter zu verbessern. So wurde zum Beispiel das Abfallsystem überarbeitet. Es fasst jetzt mehr flüssigen und festen Abfall und ermöglicht somit längere Protokoll-Laufzeiten und (noch) weniger manuelle Eingriffe während eines Laufs.

Die ausgezeichnete Liquid Handling Performance, für welche die epMotion-Systeme bekannt sind, bleibt auch in der neuen Gerätegeneration erhalten.



Dr. Tim Schommartz, Global Marketing Manager Automation, mit der neuen epMotion auf der SLAS in San Diego

Auch bei epBlue, der Bedien-Software, wurden nur behutsame Änderungen vorgenommen, da diese bereits auf maximale Einstiegsfreundlichkeit ausgelegt ist. Als neues Komfortfeature ist z.B. die Gruppierung von Eingabebefehlen hinzugekommen.

**BN:** Welchen Support erhalten epMotion-Besitzer?

**TS:** Auch für die epMotion der neuen Generation stehen sämtliche Eppendorf Installationsdienstleistungen und Serviceprodukte zur Verfügung. Dazu gehört auch unser Premium Applikationssupport für die Methodenetablierung vor Ort. Wir bieten unseren Anwenderinnen und Anwendern eine enorme Anzahl qualifizierter Protokolle von führenden Herstellern molekularbiologischer Reagenzien. Quasi ein Rundum-Wohlfühlpaket!

**BN:** Lässt sich die neue epMotion-Generation mit vorhandenen Systemen kombinieren?

**TS:** Das ist kein Problem, denn grundsätzlich sind alle Dispensierertools, Verbrauchs- und Zubehörartikel der neuen Generation mit denen der Vorgängergeneration kompatibel. Der Erweiterung eines bestehenden Geräteparks mit den neuen Systemen steht also nichts entgegen. Auch Protokolle von älteren epMotion-Systemen können mithilfe unseres Applikationssupports auf die neue Generation übertragen werden.

Mehr Information unter:  
[www.eppendorf.com/automation](http://www.eppendorf.com/automation)

\*Society for Laboratory Automation and Screening

## News

# Dokumentieren Sie Ihre Pipettieraktivitäten



Das Steuerungssystem für vernetzte elektronische Pipetten *Eppendorf Pipette Manager* hat eine neue wichtige Funktion erhalten: *Pipetting Records*. Das neueste Software-Update bietet die Möglichkeit, Pipettieraktivitäten automatisch aufzuzeichnen mit der Option, diese Aufzeichnungen als PDF-Datei mittels USB zu exportieren.

Der Pipette Manager erleichtert nicht nur eine schnellere Bedienung; er bietet auch Anleitungen zum korrekten Umgang mit schwierigen Flüssigkeiten und ermöglicht die digitale Dokumentation eines jeden Pipettierschrittes mit vernetzten Pipetten.

Nach der Integration der Move It® Pipetten im Jahr 2022 ist der Pipette Manager nun mit sämtlichen Eppendorf Xplorer® (plus) Pipetten kompatibel. Das System schließt verschiedene weitere Features mit ein, die Sie dabei unterstützen, Ihre Pipettenflotte effektiv zu verwalten und so die Zusammenarbeit zu verbessern. Für Labore, die die Effizienz und die Reproduzierbarkeit von Workflows mit zahlreichen komplexen Pipettierschritten verbessern möchten, ist der Pipette Manager ein essenzielles, einfach zu bedienendes Tool.

Erfahren Sie mehr und entdecken Sie unser digitales Demo-Tool unter  
[www.eppendorf.com/pipette-manager](http://www.eppendorf.com/pipette-manager)

BRIGITTE KLOSE, EPPENDORF SE

# Pipettenspitzen – es geht auch nachhaltiger

Wir bei Eppendorf wissen um die Schlüsselrolle, die Verbrauchsmaterialien aus Kunststoff im Labor spielen. Gleichzeitig ist uns bewusst, dass die Balance zwischen den Anforderungen der modernen Wissenschaft und der Sorge um die Umwelt eine zentrale Herausforderung für das Management eines Life-Science-Labors darstellt. Daher folgen wir dem Prinzip „Reduce, Reuse, Recycle“, wann und wo immer es möglich ist, und setzen vermehrt auf den Einsatz biobasierter Rohstoffe.



Sterile Reloads und optimierte epT.I.P.S. Box 2.0

## Reduce, Reuse, Recycle

Bei den Verpackungsoptionen für unsere epT.I.P.S.® Pipettenspitzen haben wir bereits seit 2002 für nicht vorsterilisierte Reinheitsgrade ausschließlich auf unsere wiederverwendbaren epT.I.P.S. Boxen gesetzt. Diese können mit unseren vorgesteckten Reloads immer wieder befüllt und bei Bedarf sogar bis zu 100-mal autoklaviert werden.

Erst vor kurzem wurde das Design unserer epT.I.P.S. Einweg-Racks dermaßen verschlankt, dass bei diesen Racks, die den höchsten Ansprüchen unserer Kundinnen und Kunden genügen, je nach Größe bis zu 30 % Kunststoff eingespart werden konnte.

In diesem Jahr sind wir noch einen Schritt weiter gegangen: Speziell für vorsterilisierte Pipettenspitzen haben wir eine neue Verpackungsform entwickelt, die im Vergleich zu den oben beschriebenen Einweg-Racks noch einmal – je nach Größe – bis zu 54 % weniger Polypropylen benötigt. Diese „Sterile Reloads“ bilden zusammen mit der ebenfalls neu gestalteten epT.I.P.S. Box 2.0 ein nachhaltiges, kunststoffeinsparendes System.

## Biobasierter Rohstoff

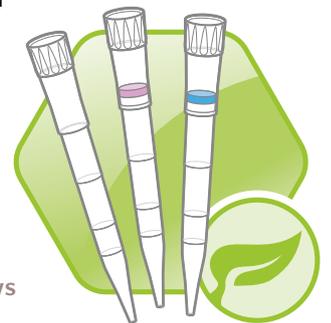
Gleichzeitig mit der Einführung der neuen Sterile Reloads optimieren wir auch die Nachhaltigkeit der in ihnen enthaltenen Pipettenspitzen. Nach der erfolgreichen Einführung der Eppendorf Tubes® BioBased aus biobasiertem Polypropylen (PP) werden auch die Pipettenspitzen-Varianten der neuen sterilen Reloads aus einem biobasierten PP hergestellt. Bei biobasiertem PP wird Rohöl weitestgehend durch Speiseöl der 2. Generation, d. h. hauptsächlich in der Lebensmittelindustrie entstandene Speiseölabfälle und -reste, ersetzt. Das auf erneuerbaren Rohstoffen basierende PP und alle Herstellungsschritte sind durch ISCC Plus zertifiziert – ein anerkanntes, weltweit führendes Zertifizierungssystem für die Produktion nachhaltiger Produkte.

## BioBased – keine Kompromisse

Die Pipettenspitzen weisen keine Qualitäts- und Leistungsunterschiede zu fossilbasierten epT.I.P.S. und ep Dualfilter T.I.P.S.® Pipettenspitzen auf. Alle Qualitätsgarantien, die wir mit unseren produkt- und chargenspezifischen Zertifikaten geben, gelten ebenso für epT.I.P.S. und ep Dualfilter T.I.P.S. BioBased. Der Wechsel zu diesen Pipettenspitzen aus biobasiertem Rohstoff stellt kein Risiko für Ihre Proben oder Versuchsergebnisse dar.

## Mehr Informationen:

[www.eppendorf.com/eptips-news](http://www.eppendorf.com/eptips-news)



CHRISTINE COWEN-ELSTNER, EPPENDORF SE

# Impfungen – eine Erfolgsgeschichte

**Der ewige Kampf zwischen Viren und Impfstoffen ist eine der ältesten Geschichten der Medizin. Bereits 1500 v. Chr. begann der Kampf gegen die Pocken in China, als Ärzte Stücke der Pockenkruste von Infizierten zu einem Pulver zermahlten und es durch die Nase verabreichten. In Asien und Europa übertrugen Menschen den Bläscheninhalt der Pocken auf gesunde Menschen, um diese zu immunisieren.**



In den letzten Jahrzehnten wurden zahlreiche Impfstofftechnologien entwickelt, die uns in unserem Kampf gegen Viren unterstützen. Traditionelle Totimpfstoffe punkten mit einer nachgewiesenen Erfolgsbilanz für viele Krankheiten. Während für diese Impfstoffe noch die Kultivierung des Erregers erforderlich ist, benötigen Impfstoffe der neueren Generation, wie rekombinante Protein- und Nukleinsäureimpfstoffe, nur die genetische Sequenz des Erregers. Diese bahnbrechenden Plattformen können die Entwicklungs- und Herstellungsprozesse erheblich beschleunigen und ein neues Potenzial für ein breites Spektrum von Indikationen in einem noch nie dagewesenen Tempo erschließen.

Inaktivierte Impfstoffe (z. B. gegen Hepatitis A, Tollwut, Polio) enthalten noch das gesamte Repertoire an immunogenen Komponenten des ursprünglichen Erregers.

Eine ordnungsgemäße Inaktivierung ist zwingend erforderlich, um eine Reaktivierung und Replikation des Virus im Wirt zu verhindern.

Protein-Untereinheiten-Impfstoffe (z. B. gegen Influenza, Hepatitis B und C) sind seit Jahrzehnten eine bewährte Strategie und stehen auch heute noch im Mittelpunkt des Pandemiemanagements.

## mRNA-Technologie

Nukleinsäure-Impfstoffe, die aus mRNA oder Plasmid-DNA bestehen, enthalten den Bauplan für virale antigene Komponenten und führen nach der Injektion zur Bildung spezifischer Proteine eines Erregers. Die bahnbrechende Technologie der mRNA-Impfstoffe erlebte ihren Durchbruch mit SARS-CoV-2 und zeigt Potenzial für viele neue klinische Bereiche wie HIV, Krebs, Gürtelrose, Grippe, kardiovaskuläre Anwendungen oder Zika.

Unser Kampf gegen Viren ist nie zu Ende, aber dank moderner Impfstofftechnologien haben wir mehr Werkzeuge zur Verfügung, um sie zu bekämpfen und die Gesundheit der Weltbevölkerung zu schützen.

## Mehr Informationen

[www.eppendorf.link/vaccine-research](http://www.eppendorf.link/vaccine-research)

## News

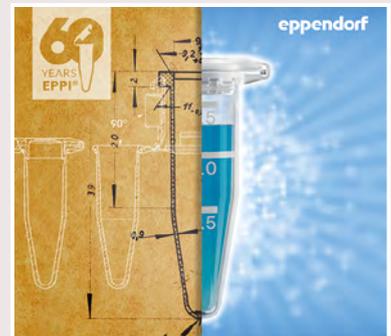
### Happy 60th, Eppi®!

Das Eppendorf Tube feiert in diesem Jahr Geburtstag: 60 Jahre ist es her, dass das erste Mikroreaktionsgefäß von Eppendorf das Licht der Welt erblickt hat. Seitdem hat sich das von unseren Kunden liebevoll „Eppi“ genannte Gefäß international einen Namen gemacht.

Nur wenige Innovationen schaffen Standards in der Laborwelt und revolutionieren Anwendungsprozesse. Das Eppendorf Tube kann dies allerdings mit gutem Gewissen von sich behaupten.

#### 1963 fing alles an

Das Eppendorf Tube 3810 kam auf den Markt und erfreute sich schnell wachsender Beliebtheit in deutschen Medizin- und Wissenschaftslaboren. Kleinere Probenmengen im Mikroliterbereich ließen sich nun praktisch abfüllen und aufbewahren. So wurde das Eppi ein wesentlicher Bestandteil des von Eppendorf entwickelten Mikrolitersystems, das zwei Jahre zuvor mit der ersten Kolbenhubpipette an den Start gegangen war. Rotoren, Thermomischer-Aufsätze, Gefäßhalter und vieles mehr wurden maßgeschneidert für das Eppendorf Tube, um reibungslose Laborabläufe zu ermöglichen. In den vergangenen 60 Jahren hat Eppendorf die Eppi-Erfolgsgeschichte mit einer Vielzahl von neuen Eppendorf Tubes® konsequent weitergeschrieben\*. Und sie ist noch lange nicht zu Ende!



[www.eppendorf.link/60YearsTubes](http://www.eppendorf.link/60YearsTubes)

\*So gibt es Eppendorf Tubes mittlerweile auch in Ambra: für effektiven Lichtschutz empfindlicher Proben. Mehr dazu in unserem Video „Maximum Light Protection with Eppendorf Amber Tubes: How it works“.

HANAË KÖNIG, EPPENDORF SE

# PCR-Protokolle erfolgreich übertragen

Ihr PCR-Cycler läuft seit Jahren verlässlich und alle Protokolle sind gespeichert und optimiert. Doch nun wird ein neues Modell angeschafft. Wenn sich die Heiz- und Kühlraten der Geräte unterscheiden, kann dies das PCR-Ergebnis beeinflussen. Fast jeder PCR-Cycler bietet die Möglichkeit, die Heiz- und Kühlraten anzupassen.

Die Ergebnisse eines PCR-Programms, das auf zwei verschiedenen Thermocyclern durchgeführt wurde, können voneinander abweichen. Eine Ursache können die unterschiedlichen Heiz- und Kühlraten sein. Hier betrachten wir einige Optionen zur Behebung des Problems.

## 1. Manuelle Eingabe der Heiz- und Kühlraten

Eine Methode besteht darin, die in den technischen Daten des Thermocyclers angegebenen Heiz- und Kühlraten einzustellen. Bei einigen Wettbewerbsgeräten kann man jedoch nur die Heiz-, nicht aber die Kühlraten eingeben.

Darüber hinaus ist eventuell nicht klar, ob die Heizrate linear oder nicht-linear ist. Dies ist eine recht unsichere Methode mit großem Risiko, das PCR-Protokoll neu optimieren zu müssen.

## 2. Auswahl des Gerätes aus einer im neuen Gerät gespeicherten Liste

Manche Hersteller bieten in ihren Geräten eine Liste von Fremdgeräten an, deren Heiz- und Kühlraten simuliert werden können. Eine praktische Funktion, sofern das bisherige Gerät in der Liste zu finden ist. Ist dies nicht der Fall, bleibt – wenn überhaupt möglich – nur die Programmierung der wie unter 1. beschriebenen Raten, mit den erwähnten Nachteilen.

## 3. Programmierung der Gesamtlaufzeit eines PCR-Protokolls

Eine einfache Methode ist die Eingabe der gesamten Laufzeit eines PCR-Protokolls direkt in der Software des Mastercycler® X50 von Eppendorf. Das Gerät ermittelt automatisch die Heiz- und Kühlraten und reproduziert das gleiche Protokoll. Das PCR-Ergebnis ist oft vergleichbar und eine weitere Optimierung ist nicht nötig.

Detaillierte Informationen zu dieser Funktion finden Sie in der Application Note 1–2 in diesem Heft.

## Tipp

### Näher hingeschaut: Mastercycler® X50

Der neue Mastercycler X50 verbindet elegant Geschwindigkeit, Flexibilität und Bedienfreundlichkeit. Mit seinem intuitiven Touchscreen, der eine präzise Steuerung per Fingertip erlaubt, ermöglicht der Mastercycler X50 PCR-Thermocycler eine unkomplizierte PCR-Optimierung in der modernen molekularbiologischen Forschung und verlässliche Standardisierung in Routine-PCR-Anwendungen. Zudem eignet er sich perfekt für NGS-Aufgaben.

Mehr Informationen, auch zum Download, finden Sie unter folgenden Links:

- > Website [The Next Stage](#): Alles über die Mastercycler X50-Familie
- > Website [Sustainability for PCR Cyclers](#)
- > Produktbroschüre Mastercycler X50: [The Next Stage](#) (PDF)
- > Produktbroschüre Eppendorf PCR-Geräte: [Eine Klasse für sich](#) (PDF)
- > Mastercycler X50 Poster: [Reduce noise in your lab! Save time! Reduce your CO<sub>2</sub> footprint!](#) (PDF)
- > Mastercycler X50 Stay Informed Infografik: [Reproducibility and Speed in PCR](#) (PDF)

Last but not least: Versäumen Sie nicht unser Kurzvideo auf YouTube™ – [Speed up and save time!](#)



# Einfache Migration von PCR-Protokollen mittels automatisierter Laufzeitanpassung

ARORA PHANG, STEFFEN RIETHMÜLLER  
EPPENDORF SE, HAMBURG

## Zusammenfassung

Die Optimierung der PCR ist bei der Erstellung eines neuen PCR-Protokolls oft notwendig, da jedes Experiment die richtige Kombination aus Proben, Reagenzien, Verbrauchsartikeln, Cycler-Einstellungen und Amplifikationsparametern erfordert. Nach der Optimierung sollte das PCR-Protokoll auf verschiedenen Thermocyclern reproduzierbar laufen. Allerdings hat jeder Thermocycler seine eigenen Charakteristika, die z.B. von der Hardware- und Softwaretechnologie sowie von der Konstruktionsweise und den verbauten Komponenten beeinflusst werden.

Daher kann dasselbe optimierte PCR-Protokoll auf verschiedenen Thermocyclern unterschiedliche Amplifikationsergebnisse liefern und muss somit auf jedem Thermocycler-Modell neu validiert werden. Dieser Artikel beschreibt eine Lösung für dieses Problem: Das „Program Migration Feature“ (PMF) der Eppendorf Mastercycler® X50 Serie ermöglicht eine einfache Adaption von PCR-Protokollen, indem einfach die Gesamtlaufzeit des Protokolls als gewünschte Laufzeit („Desired runtime“) in die Mastercycler X50 Software eingegeben wird. Dies erhöht die Ähnlichkeit von Temperaturprofilen zwischen dem Ausgangsgerät und dem Mastercycler X50, was eine einfache automatisierte Anpassung von PCR-Protokollen ermöglicht.

## Einleitung

Die PCR ist eine ausgereifte Technologie, welche robust, einfach und sensitiv genug für die meisten molekularbiologischen Zwecke ist. Sie kann allerdings sehr anspruchsvoll sein und eine Vielzahl von Feineinstellungen erfordern, z.B. mit Bezug auf Heiz- und Kühlgeschwindigkeit (als Heiz- und Kühlraten oder Rampen bekannt), Inkubationszeit, Denaturierungs- und/oder Annealing-Temperatur, Anzahl der Zyklen sowie die Formulierungen von Reagenzien (Mg<sup>2+</sup>- und DNA-Konzentration, Primer Matrix, etc.) [1]. Zusätzlich hat jeder Hersteller von Thermocyclern sein eigenes Design sowie eigene Techno-

logien und standardmäßige Geräteeinstellungen, welche sich auf die Effektivität der DNA-Amplifikation auswirken können. Dies kann dazu führen, dass dasselbe Protokoll, das auf einem Thermocycler optimiert wurde, keine vergleichbaren Ergebnisse liefert, sobald es auf einem Thermocycler eines anderen Herstellers durchgeführt wird.

Erfreulicherweise können die meisten Protokolle ohne Anpassungen zwischen verschiedenen Thermocyclern übertragen werden. In Fällen, in denen es dennoch vorkommt, insbesondere wenn mehrere Cycler mit großen Unterschieden bei der Geschwindigkeit eingesetzt werden, wird die Reoptimierung zu einer mühsamen sowie zeit- und materialaufwändigen Aufgabe.

Um einer solchen Verschwendung von Ressourcen und Zeit vorzubeugen, verfügen einige Cycler über „Simulation“-Funktionen; welche die Thermoprofile anderer Cycler nachahmen, um die Adaption von Protokollen zu erleichtern. Leider ist die Liste der simulierten Cycler in der Regel weder umfassend noch aktuell. Im Gegensatz dazu umgeht die „Desired runtime“-Option des Mastercycler X50 dieses Manko, indem sie es Anwendern ermöglicht, die Simulation anhand der Laufzeit eines PCR-Protokolls zu steuern.

Da der Mastercycler X50s mit seinen sehr hohen Rampenraten derzeit einer der schnellsten Endpoint Thermocycler auf dem Markt ist, erlaubt es diese Funktion, die Rampenprofile eines jeden anderen Cycler-Modells zu simulieren.

## Material und Methoden

Humane genomische DNA (Promega®) wurde als Template für das Fast PCR-Protokoll mit der SpeedSTAR™ HS DNA Polymerase (Takara Bio) eingesetzt. Die Experimente wurden in Eppendorf 0,2 mL PCR Tube Strips auf dem Mastercycler X50s sowie auf dem Cycler S durchgeführt.

Siehe [Application Note No. 461](#) für weitere Details.

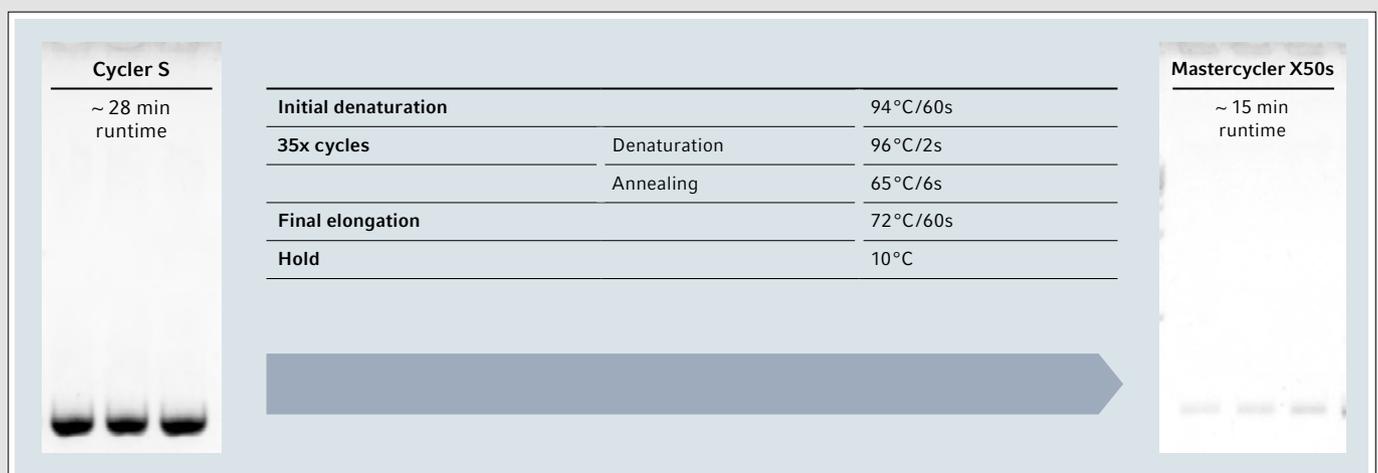


Abb. 1: Bestimmte PCR-Protokolle sind unter Umständen schlecht von langsameren auf schnellere Thermocycler übertragbar und erfordern eine Reoptimierung. (Anmerkung: Amplifikation des humanen  $\beta$ -Globin Gens in dreifacher Ausführung)

## Einfache Migration von PCR-Protokollen mittels automatisierter Laufzeitanpassung

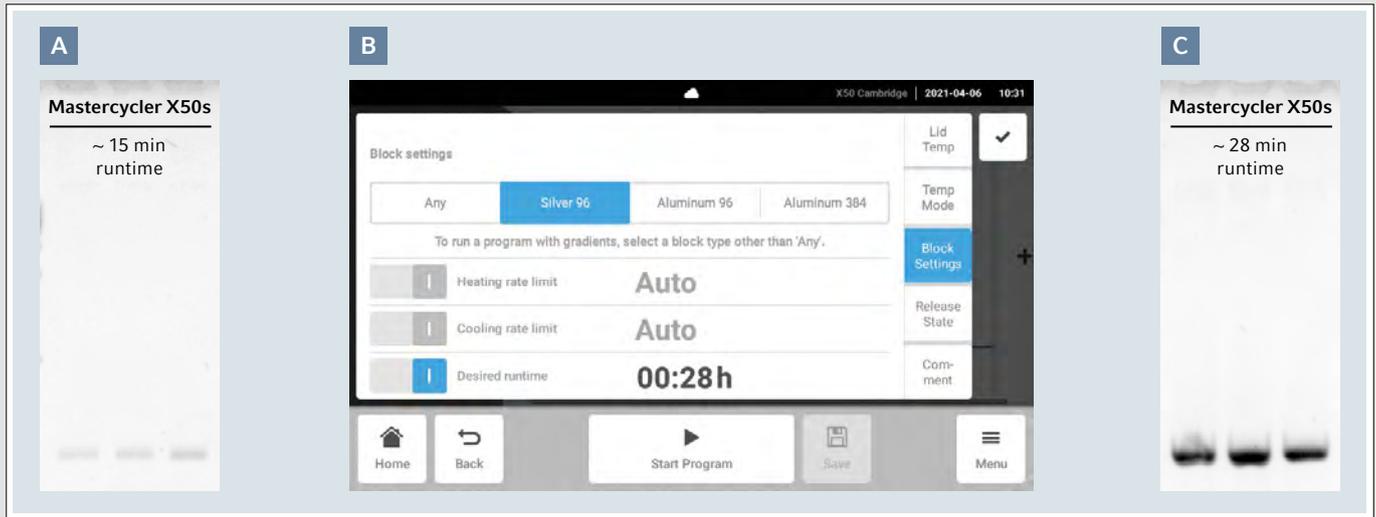


Abb. 2: PCR-Ergebnisse vor (A) und nach (C) der Aktivierung des „Program Migration Features“ (PMF) mit Hilfe der „Desired runtime“-Option (B)

### Ergebnisse und Diskussion

Das aktuelle PCR-Protokoll wurde zuvor auf einem langsameren Thermocycler (Cycler S) optimiert, um eine gute Amplifikationsausbeute zu erzielen. Die Zeit für den gesamten Durchlauf betrug etwa 28 min. Auf dem Mastercycler X50s hingegen wurde der Lauf in 15 min durchgeführt. Die Amplifikationsergebnisse, wie anhand der Banden dargestellt, sind jedoch schwach (Abb. 1).

In der Regel kann der Anwender bei einem derartigen Problem die Heiz- und Kühlraten auf dem Zielgerät (z.B. Mastercycler X50s) anhand des erwünschten Ergebnisses auf dem Ausgangsgerät (z.B. Cycler S) manuell programmieren. Aufgrund der Vielzahl an versteckten Parametern, auf welche der Anwender keinen direkten Zugang hat, sind mitunter mehrere Läufe erforderlich, um die entsprechenden richtigen Rampen zu ermitteln. Durch die Aktivierung von „Desired runtime“ in der Software des Mastercycler X50 ist es ein Leichtes, das Verhalten des gewünschten Cyclers nachzuahmen und somit Zeit und Reagenzien zu sparen.

„Desired runtime“ ermöglicht die Anpassung eines PCR-Programms von Thermocyclern mit niedrigeren Heiz- und Kühlraten auf den Mastercycler X50. Die Laufzeit des langsameren Cyclers wurde wie folgt gemessen: nach der Deckelwärmung (zu Beginn der Blockbeheizung auf 94 °C im ersten Denaturierungsschritt) bis zum Erreichen der endgültigen Blocktemperatur von 10 °C im Halteschritt.

Diese Methode der Laufzeitmessung umgeht den Einfluss der Zeit, welche zur Deckelbeheizung benötigt wird, und sie minimiert relevante Faktoren bei der Messung der Cycler-Geschwindigkeit. Cycler S benötigte somit 28 min, um den PCR-Lauf zu absolvieren.

In den Programmeinstellungen des Mastercycler X50 ist die Funktion „Desired runtime“ unter „Block Settings“ aufgeführt. Der Mastercycler X50 errechnet die entsprechenden Heiz- und Kühlraten anhand der erwünschten Laufzeit automatisch,

ohne weitere Eingaben durch den Anwender. Hierdurch übrigt sich auch die Durchführung mehrfacher Versuchsläufe zur Ermittlung der richtigen Rampen, wenn es darum geht, Protokolle auf andere Thermocycler zu übertragen. Abb. 2 zeigt die verbesserte Amplifikation des Mastercycler X50s nach der Adaption der Protokollgeschwindigkeit mit Hilfe der Funktion „Desired runtime“ für dieses eher schwierige PCR-Protokoll.

Alles in allem kann eine PCR-Optimierung anspruchsvoll und zeitaufwändig sein, wobei jede Änderung weitere Validierungen des Protokolls erfordert. Thermocycler mit zusätzlichen Features, die solche Prozesse vereinfachen, können die Bedienfreundlichkeit erheblich fördern und somit das Leben im Labor erleichtern.

### Zusammenfassung

Der Mastercycler X50 bietet die Vorteile von hohen Heiz- und Kühlgeschwindigkeiten sowie kürzeren PCR-Laufzeiten. Darüber hinaus bietet die „Desired runtime“-Option eine schnelle und einfache Lösung, falls Geschwindigkeitsanpassungen beim Transfer von Protokollen von langsameren Cyclern erforderlich sind.

Download der kompletten [Application Note No. 461](#)

### Literatur

[1] Eppendorf Mastercycler®: Meeting all your PCR needs with reliability and flexibility. Eppendorf SE, [White Paper No. 32](#).

Die Eppendorf SE behält sich das Recht vor, ihre Produkte und Dienstleistungen jederzeit zu ändern. Diese Application Note kann ohne Vorankündigung geändert werden. Wenngleich größte Sorgfalt darauf verwendet wurde, die Richtigkeit und Vollständigkeit dieser Informationen zu gewährleisten, übernimmt die Eppendorf SE keine Haftung für eventuelle Fehler oder Schäden, die sich aus der Anwendung oder dem Gebrauch dieser Informationen ergeben. Die Heranziehung von Application Notes allein kann das Lesen und Einhalten der jeweils aktuellen Version der Bedienungsanleitung nicht ersetzen.

# Automatische Probenentnahme mit Hilfe des Bioprocess Autosamplers zur Analyse eines *E. coli* Fermentationsprozesses

SASKIA GÄBE<sup>1</sup>, NINA SCHRAND<sup>2</sup>, PATRICK WEGENER<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>RICHTER-HELM BIOLOGICS GMBH & CO. KG, STANDORT HAMBURG

<sup>2</sup>EPPENDORF SE, BIOPROCESS CENTER, JÜLICH

<sup>3</sup>AKTUELLE ADRESSE: E-NEMA, GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGIE UND BIOLOGISCHEN PFLANZENSCHUTZ MBH, KIEL-SCHWENTIMENTAL, KONTAKT: BIOPROCESS-EXPERTS@EPPENDORF.COM

## Zusammenfassung

Bioingenieure analysieren mehrere Prozessparameter zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb eines Bioprozesslaufes, um optimale Wachstumsbedingungen zu gewährleisten sowie Erkenntnisse über den Prozess zu gewinnen. Während Parameter wie z.B. pH, Temperatur und DO (gelöster Sauerstoff) problemlos online verfolgt werden können, werden andere Parameter meist nach Probenentnahme aus dem Bioreaktor mit Hilfe von externen Analysegeräten überwacht: z.B. die Konzentrationen von Nährstoffen, Produkt und Nebenprodukten sowie Biomasse und Produktqualität.

Die Analyse zahlreicher Prozessbedingungen zu verschiedenen Zeitpunkten im Bioprozesslauf erfordert eine erhebliche Anzahl von Proben. Der Einsatz eines Autosamplers kann die Effizienz einer Bioprozessentwicklung erhöhen, indem er den Arbeitsaufwand für eine manuelle Probenentnahme reduziert. Gleichzeitig verbessert er die Datenqualität, da das gewünschte Probenentnahme-Intervall auch außerhalb der normalen Arbeitszeit beibehalten werden kann. In dieser Application Note dokumentieren wir, wie ein DASbox<sup>®</sup> Mini Bioreactor System mit dem Bioprocess Autosampler von Eppendorf ausgestattet wurde. Dieser wurde eingesetzt, um Proben aus acht parallelen Fermentationsläufen zu entnehmen und sodann gekühlt zu lagern.

## Material und Methoden

Für eine vollständige Beschreibung der eingesetzten Materialien und Methoden siehe [Application Note 441](#).

## Bioprozess-System

DASbox Mini Bioreactor System, ausgestattet mit dem Bioprocess Autosampler

## Prozesssteuerung

Der Bioprozess sowie der Bioprocess Autosampler wurden mit Hilfe der Software DASware<sup>®</sup> control gesteuert.

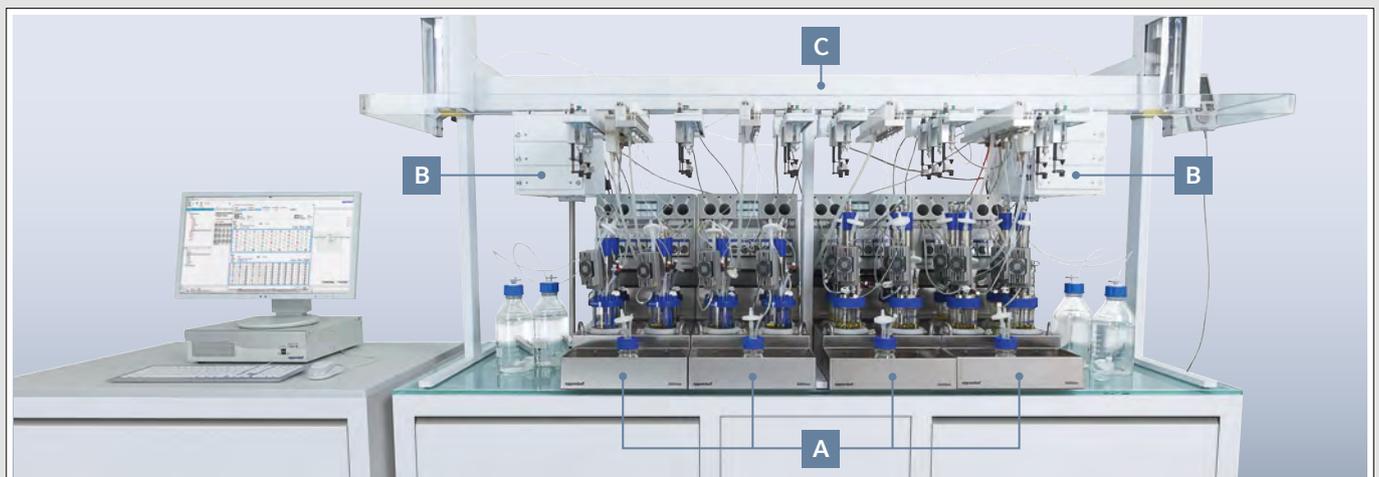
## Probenentnahme-Strategie

Der Bioprocess Autosampler wurde eingesetzt, um Proben aus acht parallelgeschalteten BioBLU<sup>®</sup> 0.3f Single-Use Bioreactors zu entnehmen. Im Laufe des Bioprozesses wurden acht Proben entnommen: Nach der Entnahme einer ersten Probe zu Beginn des Laufes wurden sieben Proben in konstanten Zeitintervallen während der Fermentationslaufzeit entnommen. Diese Intervalle wurden während der Nacht nicht unterbrochen. Die Proben wurden in sterile Glasröhrchen überführt, welche in Proben-Racks innerhalb des Moduls zur Probenlagerung vorgelegt worden waren.

Zunächst wurde ein Totvolumen von 0,8 mL entnommen und verworfen. Sodann wurde eine 4 mL Probe entnommen und gleichmäßig auf vier Glasröhrchen verteilt; diese Aliquots wurden für unterschiedliche Analysen eingesetzt, einschließlich Messungen der Zelldichte und Produktanalyse. Ein Ziel dieser Studie war es, die Produktlagerung bei 4°C und –20°C zu vergleichen. Die Proben für Lagerung bei –20°C wurden manuell in einen Gefrierschrank überführt.

## Bioprozess

Es wurde ein *E. coli* Fermentationsprozess zum Zwecke der Plasmidproduktion durchgeführt. Die Temperatur wurde auf 37°C eingestellt, der pH auf 7,0 und DO auf 35%. In einem zweiten Versuch wurde der Autosampler eingesetzt, um einen Proteinproduktions-Prozess in *E. coli* zu analysieren. Siehe Application Note 441 für weitere Informationen zu Prozessparametern, Kontrollstrategien, Methoden und Ergebnissen.



**Abb. 1:** DASbox Mini Bioreactor System, ausgestattet mit dem Bioprocess Autosampler. **A:** DASbox Mini Bioreactor System. **B:** Temperiertes Modul für die Probenlagerung: Das Modul hat drei Schubladen. Seine Temperatur kann von 4°C bis 40°C reguliert werden. **C:** Roboterarm, ausgestattet mit Liquid Tools

## Automatische Probenentnahme mit Hilfe des Bioprocess Autosamplers zur Analyse eines *E. coli* Fermentationsprozesses

### Ergebnisse

Die Proben wurden analysiert, um das Zellwachstum zu bestimmen sowie die Produktformation unter verschiedenen Bioprocessbedingungen zu vergleichen und die unterschiedlichen Lagerungstemperaturen zu beurteilen.

Abb. 2 stellt die Entwicklung der Prozessparameter in einem repräsentativen Fermentationslauf dar. Temperatur, DO und pH wurden online überwacht und während des Fermentationslaufes anhand des Sollwertes kontrolliert. Die Rührgeschwindigkeit (N) begann mit einem anfänglichen Sollwert von 300 rpm und stieg ca. 14 h nach der Animpfung auf 2.000 rpm an, was den steigenden Sauerstoffverbrauch der wachsenden Kultur widerspiegelte. Die OD<sub>600</sub> und das Produkt wurden offline analysiert. Nach 72 h erreichte die OD<sub>600</sub> ein Maximum von ca. 72 am Ende des Fermentationslaufes (EoF). Die Proben wurden entweder bei 4°C oder -20°C gelagert. Die Konzentration an Plasmid-DNA (pDNA) in Proben, welche bei -20°C gelagert wurden, war geringer als in bei 4°C gelagerten Proben. Im Gegensatz dazu war die Konzentration an kovalent geschlossenen zirkulären (covalently closed circular [ccc]) Plasmiden geringer in bei 4°C gelagerten Proben. Der geringere Anteil an ccc-Plasmiden weist darauf hin, dass ein größerer Anteil an Plasmiden als offen-zirkuläre und lineare Formen vorliegen. Diese offeneren Formen werden durch reversible Strangbrüche des Plasmids verursacht. Daher stellt die Lagerung bei -20°C wahrscheinlich einen Vorteil für die Homogenität der Plasmidprobe dar.

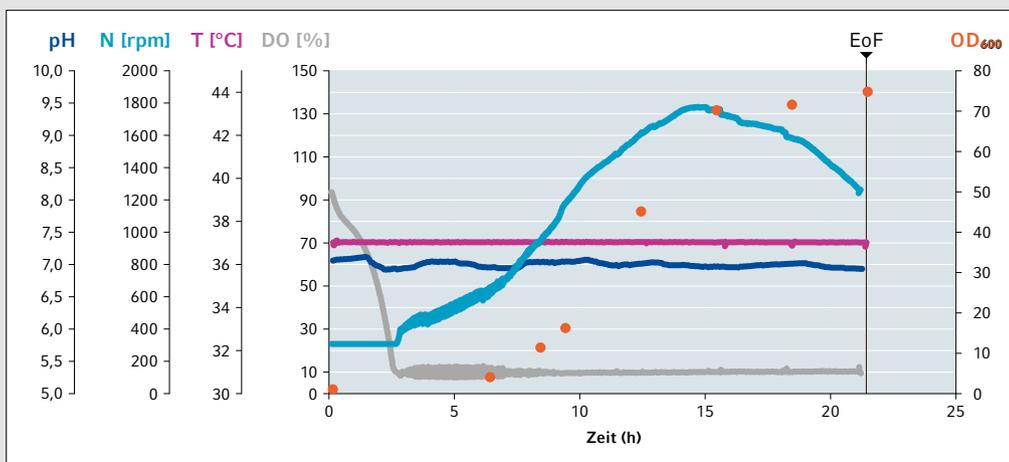
### Fazit

In der hier vorgestellten Studie wurde ein 8-faches paralleles DASbox Mini Bioreactor System mit dem Bioprocess Autosampler von Eppendorf ausgestattet. Dieser nahm nur geringen zusätzlichen Platz in Anspruch, da er auf der Laborbank oberhalb des Bioreactorsystems montiert wurde. Die Probenentnahme wurde unter aseptischen Bedingungen mit lokaler Sterilität durchgeführt, vergleichbar mit Bedingungen der manuellen Probenentnahme.

Es wurden acht Fermentationsläufe parallel durchgeführt und pro Bioreaktor während eines jeden Fermentationslaufes acht Proben entnommen. Insgesamt wurden also 64 Probenentnahmeschritte durch den Bioprocess Autosampler durchgeführt, was die manuelle Arbeitsbelastung drastisch reduzierte. Die Probenentnahme geschah unabhängig von normalen Arbeitszeiten, wodurch eine hohe Konsistenz gewährleistet wurde und Lücken bei der Probensammlung über Nacht und am Wochenende vermieden werden konnten. Für hohe Flexibilität können die Proben jederzeit aus dem Lagerungsmodul entnommen werden, um sie z. B., wie in dieser Studie beschrieben, bei niedrigeren Temperaturen zu lagern. Der Zeitbedarf für die automatische Probenentnahme aus acht Bioreaktoren in dem beschriebenen Aufbau betrug 2,5 h. Während ein Probenentnahme-Intervall von 2,5 h für viele Fermentationsanwendungen geeignet ist, könnten auch kürzere Intervalle wünschenswert sein, insbesondere, wenn es darum geht, einen neu etablierten Prozess zu charakterisieren. Um die Probenentnahme-Intervalle zu verkürzen, kann eine Aufteilung der Proben auf mehrere Röhrchen wie in der hier beschriebenen Studie vermieden werden. Zusätzlich steht eine Konfiguration des Bioprocess Autosamplers mit zwei Köpfen zur Verfügung, um die Effizienz der Probenentnahme auf mehr als eine Probe pro Stunde und Bioreaktor zu erhöhen.

Die hier vorgestellten Daten belegen den Komfort und die Vielseitigkeit der kombinierten Verwendung des DASbox Mini Bioreactor Systems und des Bioprocess Autosamplers sowie deren Leistung als integrierte Einheit. Die Steuerung des Bioprocess Autosamplers ist nahtlos in die DASware control 6 Software integriert und ermöglicht flexible und anpassbare Probenentnahme-Schemata, wie z. B. die Voreinstellung von Proben vor dem Start des Experiments, die Planung zusätzlicher Proben außerhalb des ursprünglichen Schemas im Falle besonderer Ereignisse und die Einbeziehung manueller Proben in das Lagerungsmuster.

Download der vollständigen [Application Note 441](#)



**Abb. 2:** Prozessparameter während eines Fermentationslaufes zur Produktion von pDNA. Temperatur, Rührgeschwindigkeit, DO und pH wurden online überwacht. Die OD<sub>600</sub> wurde in Proben, die mit dem Bioprocess Autosampler entnommen worden waren, analysiert, mit Ausnahme der Probe am Ende der Fermentation, welche manuell entnommen wurde

Die Eppendorf SE behält sich das Recht vor, ihre Produkte und Dienstleistungen jederzeit zu ändern. Diese Application Note kann ohne Vorankündigung geändert werden. Wenngleich größte Sorgfalt darauf verwendet wurde, die Richtigkeit und Vollständigkeit dieser Informationen zu gewährleisten, übernimmt die Eppendorf SE keine Haftung für eventuelle Fehler oder Schäden, die sich aus der Anwendung oder dem Gebrauch dieser Informationen ergeben. Die Heranziehung von Application Notes allein kann das Lesen und Einhalten der jeweils aktuellen Version der Bedienungsanleitung nicht ersetzen.

# Schnelle Auftrennung von Lipoprotein-Fractionen aus humanem Serum durch Ultrazentrifugation

WIÂME BEN EL MOSTAPHA, VINCENT DUFEY, SILVIA TEJERINA, PASCAL ROWART,  
FRANÇOISE DE LONGUEVILLE, EPPENDORF APPLICATION TECHNOLOGIES S.A., NAMUR, BELGIEN  
JAN KNOP, EPPENDORF SE, HAMBURG, DEUTSCHLAND  
KONTAKT: ROWART.P@EPPENDORF-EAT.BE

## Einleitung

Lipoproteine sind komplexe Partikel mit einem zentralen, hydrophoben Kern aus nichtpolaren Lipiden wie Cholesterin, Estern und Triglyceriden. Lipoproteine können aufgrund ihrer Größe, Lipidzusammensetzung und Apolipoprotein-Zusammensetzung in sieben Klassen unterteilt werden (Tabelle 1). Die primäre Funktion von Lipoprotein-Partikeln besteht in dem Transport hydrophober Moleküle innerhalb des extrazellulären Wassers und Plasmas des Körpers. Ihre Dichte stellt die zugrundeliegende Basis für die Nomenklatur von Lipiden dar, und Dichtegradienten-Ultrazentrifugation ist die Referenzmethode zur Messung der Dichte von Lipiden.

Hier zeigen wir den an jedem Laborplatz möglichen Einsatz der Centrifuge CS-150NX oder der Centrifuge CS150FNX von Eppendorf zur Isolierung von Lipoprotein-Fractionen aus humanem Serum. Dies erfolgt mit Hilfe einer optimierten Methode und vereinfachten Verbrauchsartikeln und Reagenzien, mit herkömmlichen Steckern und minimalem Platzbedarf auf der Laborbank.

## Material und Methoden

### Auftrennung von Serum-Lipoproteinen durch Ultrazentrifugation

Das humane Serum wurde nach der Zentrifugation von geronnenem Blut bei 2.000 x g für 10 min in der Centrifuge 5810 R (Eppendorf) gewonnen. Serum-Lipoproteine wurden durch sequenzielle Ultrazentrifugation mit Hilfe der Centrifuge CS150NX und dem Festwinkelrotor S140AT aufgetrennt.

### Fraktionierungen von Serum-Lipoproteinen

Insgesamt wurden drei verschiedene Dichte-Lösungen angesetzt, um die distinkten Fraktionen zu isolieren:

- > Dichte-Lösung A ( $\rho$ : 1,006 g/mL)
- > Dichte-Lösung B ( $\rho$ : 1,182 g/mL)
- > Dichte-Lösung C ( $\rho$ : 1,478 g/mL)

Ein Volumen von 600  $\mu$ L Serum wurde in ein 1 mL 1PC Tube überführt. Um die Sichtbarkeit der Lipoprotein-Fractionen nach der Zentrifugation zu verbessern, wurde das Serum zuvor mit Sudan Fat 7B angefärbt. Für 600  $\mu$ L Serum wurden 12  $\mu$ L der Färbelösung hinzugefügt und

durch Inversion vermischt. Die Dichte-Lösung A (300  $\mu$ L) wurde hinzugegeben und sodann durch leichtes Kippen vermischt. Nach der Vermischung wurden die GefäÙe in den 10 x 2 mL Festwinkelrotor S140AT in der Centrifuge CS150NX geladen und zentrifugiert (140.000 rpm, 16 °C, 50 min). Nach der Zentrifugation wurde die oberste Fraktion, welche die CLM- und die VLDL-Fraktion enthielt, abpipettiert (Abb. 1A).

Zur verbleibenden Fraktion mit IDL, LDL und HDL wurden 300  $\mu$ L der Dichte-Lösung B hinzugefügt. Die GefäÙe wurden zentrifugiert (140.000 rpm, 16 °C, 80 min). Nach der Zentrifugation wurde die oberste Schicht, welche die IDL- und die LDL-Fraktion enthielt, abpipettiert (Abb. 1B).

Für den letzten Auftrennungsschritt wurden 300  $\mu$ L der Dichte-Lösung C hinzugegeben. Die GefäÙe wurden zentrifugiert (140.000 rpm, 16 °C, 140 min). Die oberste Schicht, welche ausschließlich die HDL-Fraktion enthielt, wurde abpipettiert (Abb. 1C). Alle Fraktionen wurden bei -20 °C gelagert.

Tabelle 1: Klassifizierung von Lipoproteinen

Familien-Name	Dichte-Größenordnung (g/mL)	Partikel-Durchmesser (nm)	Apolipoproteine		Hauptfunktion
			Hauptgruppen	Andere	
Chylomikronen (CLM)	<0,93	>75	ApoB-48	ApoA-I, -IV ApoC-I, -II, -III ApoE	Transport von exogenen Triglyceriden
Chylomikron-Reste	0,93–1,006	30–80	ApoB-48	Apo E	Transport von Triglyceriden und Cholesterin
Very Low Density Lipoproteine (VLDL)	0,93–1,006	30–80	ApoB-100	ApoA-I, -II, -V ApoC-I, -II, -III ApoE	Transport von endogenen Triglyceriden
Intermediate Density Lipoproteine (IDL)	1,006–1,019	25–35	ApoB-100	ApoC-I, -II, -III ApoE	Vorgänger von LDL
Low Density Lipoproteine (LDL)	1,019–1,063	18–25	ApoB-100	—	Transport von Cholesterin und Phospholipiden zu peripheren Zellen
High Density Proteine (HDL)	1,063–1,121	5–12	ApoA-I	ApoA-II, -IV, -V ApoC-III ApoE	Transport von Cholesterin und anderen Lipiden aus dem Plasma in die Gewebe
Lipoprotein (a)	1,055–1,120	25	ApoB-100	Apo (a)	Transport von Cholesterin

## Schnelle Auftrennung von Lipoprotein-Fractionen aus humanem Serum durch Ultrazentrifugation

### Ergebnisse und Fazit

Das vorliegende Zentrifugationsverfahren ermöglicht die schnelle Auftrennung von Serum-Lipoprotein-Fractionen mit Hilfe von Dichtegradienten in einer Mikro-Ultrazentrifuge bei einer einzigen Geschwindigkeit. Einige der Fractionen enthalten zwei Klassen von Lipoproteinen.

Mit der Centrifuge CS150NX oder der Centrifuge CS150FNX können jedoch auch anspruchsvollere Dichtegradienten-Ultrazentrifugationsmethoden durchgeführt werden, um einzelne Klassen an Lipoproteinen zu isolieren. Durch den Einsatz serieller Zentrifugationsschritte bei einer Maximalgeschwindigkeit von 513.000 x g kann eine Auftrennung in die einzelnen Klassen der Lipoproteine erzielt werden sowie weitere Auflösungen von Subkomponenten.

Der in dieser Arbeit beschriebene einfach durchzuführende Separationsansatz konzentriert sich auf die Auftrennung von Lipoproteinen in drei Fractionen, was in der kurzen Zeit von unter 5 h erzielt werden kann. Centrifuge CS150NX und Centrifuge CS150FNX sind kompakte und vielseitige Mikro-Ultrazentrifugen. Sie erreichen in nur 90 s Geschwindigkeiten von bis zu 1.050.000 x g (140.000 rpm), welche für die effizienteste Isolierung von Lipoproteinen erforderlich sind. Alternative Protokolle zur Isolation von einzelnen Klassen von Lipoproteinen können bis zu 60 h Arbeitsaufwand in Anspruch nehmen.

Die Konzentration auf drei Zielfractionen und die Kombination aus der Centrifuge CS150NX oder Centrifuge CS150FNX und dem Rotor S140AT für maximale g-Zahl gewährleistet einen erheblichen Zeitvorteil.

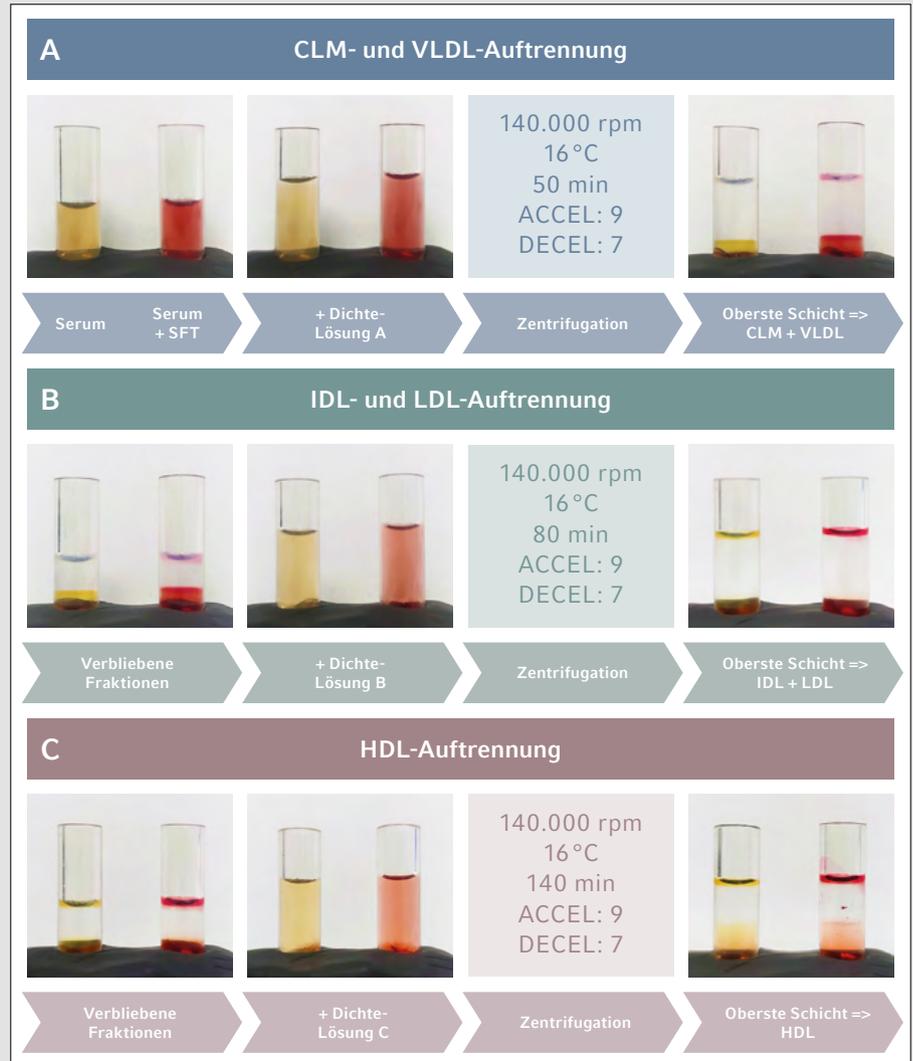


Abb. 1: Schematische Darstellung der Auftrennung von Lipoproteinen. A: CLM- und VLDL-Fractionen. B: IDL- und LDL-Fractionen. C: HDL-Fraction. SFT = Sudan Fat 7B

### Zusammenfassung

1. Lipoproteine sind ein wichtiges Thema innerhalb der Biomarkerforschung für koronare Erkrankungen.
2. Etablierte Methoden können bis zu 60 h in Anspruch nehmen, um einzelne Lipoprotein-Klassen zu isolieren.
3. Diese Application Note zeigt, wie Lipoprotein-Fractionen in weniger als 5 h mit Hilfe der Centrifuge CS150NX oder der Centrifuge CS150FNX und dem Rotor S140AT isoliert werden können.

Zusammengefasst erlaubt die Kombination der Centrifuge CS150NX, einer Tisch-Mikro-Ultrazentrifuge, oder dem Standmodell Centrifuge CS150FNX und dem Rotor S140AT eine schnellere Isolierung von Lipoprotein-Fractionen in optimierten und vereinfachten Schritten.

Download der kompletten [Application Note 468](#)

# Sanft zur Erde und zu den Zellen: Vergleich der Zytotoxizitätsparameter bei Eppendorf Tubes® BioBased und Standard Eppendorf Tubes

RAFAL GRZESKOWIAK, EPPENDORF SE, HAMBURG

MURIEL ART, JEAN-FRANÇOIS HOET, EPPENDORF CORE TEST LAB, NAMUR, BELGIEN

## Zusammenfassung

Mit zunehmendem Umweltbewusstsein und damit einhergehenden strengeren Auflagen für Life Science Labore stellen die in Laboren eingesetzten Kunststoffe eine wachsende Herausforderung in Bezug auf die Nachhaltigkeit dar. Einer der wichtigsten Ansätze zur Verbesserung der Nachhaltigkeit bei Laborkunststoff besteht in der Verwendung von recycelten und erneuerbaren Rohstoffen in der Produktion. In dieser Studie wurde eine potenzielle Materialzytotoxizität der Eppendorf Tubes 50 mL, hergestellt aus einem ISCC PLUS-zertifizierten biobasierten Polypropylen, im Vergleich zu fossilbasierten Standard Eppendorf Tubes 50 mL ermittelt. Die Zytotoxizitätseffekte beider Materialtypen wurden umfassend anhand von Zellmorphologie und Viabilitäts-Assays, unter Beachtung der ISO 10993-5:2009 und ISO 10993-12:2012 Standards, bewertet. Weder die fossilbasierten noch die biobasierten Materialien induzierten wesentliche morphologische Veränderungen oder verursachten eine Abschwächung der Zellviabilität. Dies deutet darauf hin, dass biobasiertes Material hervorragende Eigenschaften hinsichtlich der Zellkulturparameter aufweist, die identisch mit denen von fossilbasiertem Material sind.

## Einleitung

Konische Gefäße mit Schraubdeckel gehören zu den am häufigsten eingesetzten Laborgefäßformaten und werden universell in einer Vielzahl verschiedener Laborverfahren angewendet. Mit dem in jüngster Zeit auch in Life Science Laboren zunehmenden Umweltbewusstsein stellen Kunststoffe im Labor eine wachsende Belastung hinsichtlich Nachhaltigkeit dar. Einer der wichtigsten Ansätze zur Verbesserung der nachhaltigen Eigenschaften bei Laborkunststoffen besteht in der Verwendung von recycelten und erneuerbaren Rohstoffen in deren Produktion.

Zum ersten Mal ist Eppendorf in der Lage, eine Generation von Gefäßen in den Formaten 5,0 mL, 15 mL, 25 mL und 50 mL anzubieten, die aus einem ISCC PLUS\*-zertifizierten (\*International Sustainability & Carbon Certification) Polypropylen auf Basis erneuerbarer, wiederverwerteter Rohstoffe bestehen [1,2] und somit dem Massenbilanzansatz gerecht werden.

Das Ziel dieser Studie war es, eine potenzielle Materialzytotoxizität der aus einem biobasierten Polypropylen hergestellten Eppendorf Tubes 50 mL im Vergleich zu der fossilbasierten Standardvariante zu ermitteln. Der Zytotoxizitätseffekt wurde qualitativ (Bewertung der Zellmorphologie) sowie quantitativ (MTT-Assay) ermittelt. Die Extraktionsbedingungen für das Gefäßmaterial (37°C für 72 h und 50°C für 24 h) und alle Test-

verfahren wurden unter Beachtung der ISO 10993-5:2009 („Prüfungen auf In-Vitro-Zytotoxizität“) und der ISO 10993-12:2012 („Probenvorbereitung und Referenzmaterialien“) Standards durchgeführt.

## Material und Methoden

Eine vollständige Beschreibung der eingesetzten Materialien und Methoden finden Sie in der [Application Note 470](#). Die folgenden konischen 50 mL-Gefäße aus Polypropylen wurden untersucht:

- > Eppendorf Tubes BioBased 50 mL, Steril
- > Eppendorf Tubes 50 mL, Steril

### Vorbereitung des Flüssigextraktes

Das Material wurde in kleine Stücke zerschnitten und in Extraktionsgefäße mit komplettem Medium (MEM, Glutamin 4 mM, Penicillin 100 UI/mL, Streptomycin 100 µg/mL, FBS 10 %) überführt. Die Extraktionsbedingungen waren wie folgt: 37°C für 72 h und 50°C für 24 h. Die Extrakte wurden unmittelbar nach der Extraktionsinkubation in der Zellkultur eingesetzt. Jedes Experiment wurde in dreifacher Ausfertigung durchgeführt.

### Zellkultur

L929-Zellen wurden in komplettem Medium (ATCC®, 30-2003) (5 % CO<sub>2</sub>) kultiviert und anschließend mit Hilfe von Trypsin/EDTA 25 % verdaut, um Einzelzell-Suspensionen zu erhalten. Nach der Inaktivierung des Trypsin-EDTA wurden die Zellen zentrifugiert und in frischem Kulturmedium verdünnt, um eine Zelldichte von 1 x 10<sup>5</sup> Zellen/mL in der Suspension zu erzielen.

### Bewertung der Zellmorphologie

Nach Zellkultivierung über 48 h wurde die Zellmorphologie erstmals untersucht: Ablösung, Zellyse und Vakuolisierung. Der morphologische Status der Zellen wurde unter Beachtung des ISO 10993-5:2009 Standards bewertet. Eine Bewertung von größer als 2 wird als zytotoxischer Effekt eingestuft.

### Zellviabilität – MTT-Assay

Der MTT-Test mit spektrophotometrischer Beurteilung des Mediums wurde unter Einhaltung des ISO 10993-12:2012 Standards durchgeführt (vollständige Details sind in der Application Note 470 aufgeführt). Eine Viabilität von weniger als 70 % (im Vergleich zur Kontrollprobe) wird als zytotoxischer Effekt eingestuft.

72 h bei 37°C		
	Eppendorf fossilbasiert	Eppendorf biobasiert
Repl. 1	1	0
Repl. 2	0	0
Repl. 3	0	0

24 h bei 50°C		
	Eppendorf fossilbasiert	Eppendorf biobasiert
Repl. 1	0	0
Repl. 2	0	0
Repl. 3	0	0

Abb. 1: Bewertung der Zellmorphologie der L929-Zellkultur mit Bezug auf die eingesetzten Extraktionsbedingungen und die extrahierte Probe

## Sanft zur Erde und zu den Zellen: Vergleich der Zytotoxizitätsparameter bei Eppendorf Tubes® BioBased und Standard Eppendorf Tubes

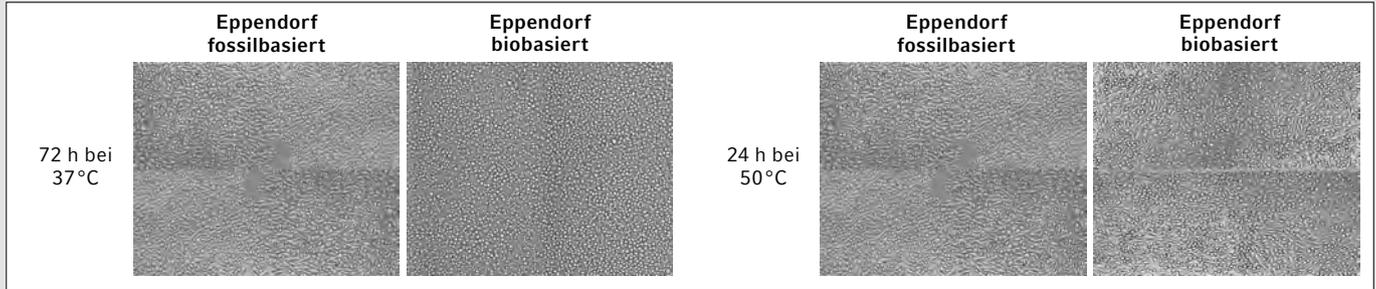


Abb.2: Darstellungen der L929-Zellkultur anhand der Extraktionsbedingungen und der extrahierten Probe

### Ergebnisse und Diskussion

#### Bewertung der Zellmorphologie

Nach Kultivierung über 48 h in Gegenwart der Extrakte der Gefäßmaterialien wurde die Morphologie der L929-Zellkultur unter dem Mikroskop untersucht und der morphologische Status der Zellen anhand der Klassifizierung in Tabelle 1 vorgenommen (s. Methoden). Wie in Abb. 1 und Abb. 2 gezeigt, blieb die Morphologie unter allen Bedingungen der Kultur mit den Materialextrakten unbeeinträchtigt. Weder das fossilbasierte noch das biobasierte Material induzierte unter den getesteten Extraktionsbedingungen, 72 h bei 37°C bzw. 24 h bei 50°C, wesentliche morphologische Veränderungen.

#### Zellviabilität – MTT-Assay

Nach der morphologischen Beurteilung wurde die Zellviabilität mit Hilfe eines MTT-Assays quantifiziert. Dieser stellt ein Maß für den Stoffwechsel lebender Zellen dar. Der Prozentsatz an lebenden Zellen wurde durch den Vergleich mit den Kontrollen bestimmt. Laut ISO 10993-5 Standard weist eine Zellviabilität von unter 70% auf einen zytotoxischen Effekt hin. Die quantitative Beurteilung bestätigte die Beobachtungen der Zellmorphologie eindeutig.

Wie in Abb. 3 dargestellt, lag die mittlere Zellviabilität zum Großteil bei über 70%, unabhängig davon, welche Extraktionsbedingung oder welches Gefäßmaterial eingesetzt worden war.

Die beobachtete leichte Abnahme der Zellviabilität unter Inkubation mit dem Langzeit-Extrakt (72 h bei 37°C) kann ebenfalls auf eine unspezifische Degradierung des Zellmediums zurückzuführen sein (FBS).

#### Fazit

In dieser Application Note wurde die Materialzytotoxizität der aus einem ISCC PLUS-zertifizierten biobasierten Polypropylen hergestellten Eppendorf Tubes 50 mL im Vergleich zu fossilbasierten Standard Eppendorf Tubes 50 mL untersucht. Zytotoxizitätseffekte wurden unter Beachtung der ISO 10993-5:2012 („Prüfungen auf In-Vitro Zytotoxizität“) und der ISO 10993-12:2012 („Probenvorbereitung und Referenzmaterialien“) Standards durchgeführt und beinhalteten eine umfassende Beurteilung der Zellmorphologie sowie der Zellviabilität.

Weder die fossilbasierten noch die biobasierten Materialien induzierten wesentliche morphologische Veränderungen oder Beeinträchtigungen der Zellviabilität. Dies weist darauf hin, dass das biobasierte Material hervorragende Eigenschaften in Bezug auf Zellkulturparameter aufweist, identisch mit denen des fossilbasierten Materials. Biobasierte Verbrauchsartikel stellen somit eine wesentliche Entwicklung zur Verbesserung der allgemeinen Nachhaltigkeit von Laborverbrauchsartikeln bei gleicher Produktqualität und Leistung dar.

Die vollständige [Application Note 470](#) herunterladen.

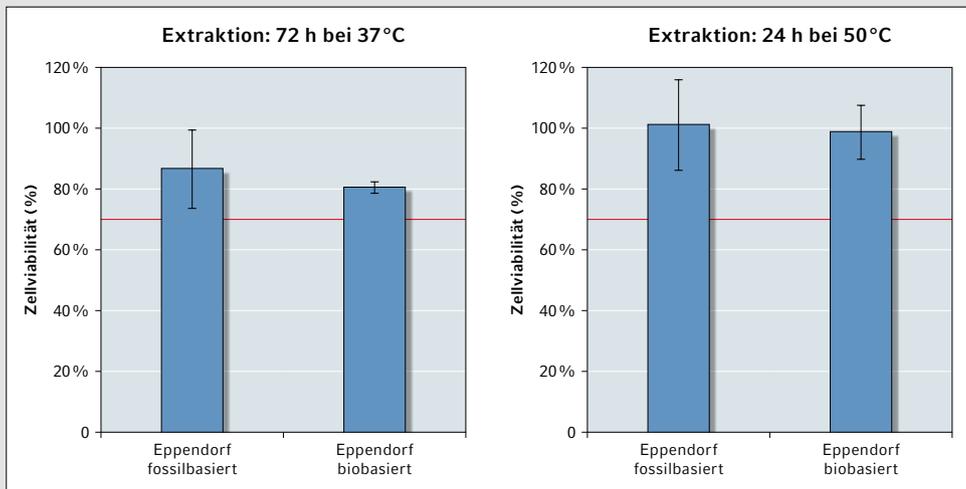


Abb.3: Zellviabilität der L929-Zellen je nach Extraktionsbedingungen und extrahiertem Gefäßmaterial

### Literatur

- [1] [www.iscc-system.org](http://www.iscc-system.org)
- [2] Hermuth-Kleinschmidt K, Consumables Made of Bioplastics Enter the Lab, [Eppendorf White Paper No. 78](#)

Die Eppendorf SE behält sich das Recht vor, ihre Produkte und Dienstleistungen jederzeit zu ändern. Diese Application Note kann ohne Vorankündigung geändert werden. Wenngleich größte Sorgfalt darauf verwendet wurde, die Richtigkeit und Vollständigkeit dieser Informationen zu gewährleisten, übernimmt die Eppendorf SE keine Haftung für eventuelle Fehler oder Schäden, die sich aus der Anwendung oder dem Gebrauch dieser Informationen ergeben. Die Heranziehung von Application Notes allein kann das Lesen und Einhalten der jeweils aktuellen Version der Bedienungsanleitung nicht ersetzen.

JESSICA WAGENER, EPPENDORF SE

# Zellen richtig aussäen: Tipps & Tricks



Das Aussäen von Zellen gehört zu den Standardtechniken eines jeden Zellkulturlabors. Hier erfahren Sie, worauf es dabei ankommt, um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen.

## Der Zeitfaktor

Der Zelltransfer beim Aussäen, z.B. aus einem 15 mL-Tube in eine Multiwellplatte, kann nicht nur von Anwender zu Anwender stark variieren, sondern hängt auch von der Tagesform des Anwenders ab. Je länger die Aussaat dauert, desto mehr Zellen sedimentieren und desto weniger Zellen werden pro Pipettierschritt transferriert (Abb. 1).

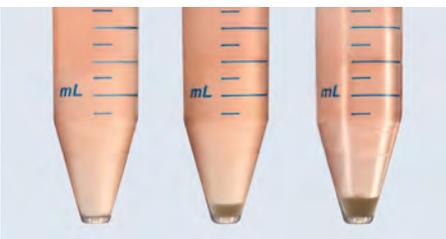


Abb. 1: Je länger die Aussaat dauert, desto mehr Zellen sedimentieren und desto weniger Zellen werden pro Pipettierschritt transferriert

Dieser Prozess läuft innerhalb weniger Minuten ab und kann zu signifikanten Unterschieden der Zellzahl pro Well und damit zu hoher Ergebnisvariabilität führen.

*Tipp:* Das Sediment resuspendieren und die Suspension noch einmal sanft mischen. Die anschließende Aussaat sollte dann so zügig wie möglich, aber auch so schonend wie nötig ablaufen.

## Luftblasen während der Zellaussaat

Wegen des hohen Proteingehalts neigen Zellkulturmedien zur Schaumbildung. Entstehende Luftblasen können die Zelladhäsion behindern (Abb. 2) und so zu einer Well-zu-Well-Variabilität führen. Dieser Effekt ist bei kleinen Plattenformaten wie etwa 96- oder 384-Well-Platten besonders ausgeprägt. Hier nimmt eine Luftblase im Vergleich zur Wachstumsoberfläche eine größere Fläche ein und stört mehr Zellen bei der Adhäsion.

*Tipp:* Zellsuspensionen zwar sorgfältig, jedoch nicht schnell und häufig mischen. So vermeiden Sie außerdem Stress für die Zellen aufgrund starker Scherkräfte.

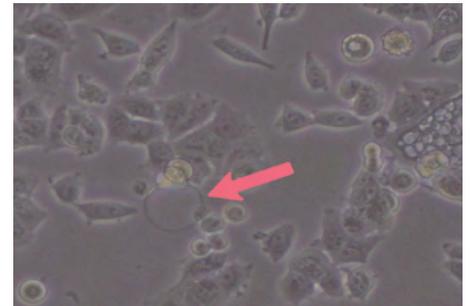


Abb. 2: Die Zelle über dem Pfeil wird durch eine Luftblase (Pfeil) an der Adhäsion behindert

## „Acht“- oder „Kreuz“-Technik?

Neben einer konstanten Zellzahl pro Kulturgefäß oder Well hat auch die Verteilung der Zellen auf der Oberfläche einen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit nachfolgender Experimente. Hierfür existieren verschiedene Techniken, die häufig von erfahrenen Forschenden an neue Kolleginnen und Kollegen weitergegeben werden (Abb. 3).



Abb. 3: Die richtige Aussaattechnik entscheidet mit über die homogene Verteilung von Zellen auf der Oberfläche des Zellkulturgefäßes

Doch welche Aussaattechnik ist die beste, und welche Rolle spielt die richtige Zelldichte bei der Aussaat? Erfahren Sie mehr in unserem **Online-Artikel** in der Eppendorf Lab Academy.

## Noch mehr Tipps & Tricks für die Zellkultur benötigt?

Abonnieren Sie unseren monatlichen Inside Cell Culture Newsletter für Zellkulturprofis unter [www.eppendorf.com/icc](http://www.eppendorf.com/icc)

JAN-HENDRIK BEBERMEIER, EPPENDORF SE

# „Ich hätte mir mehr Notizen machen sollen“

Die Dokumentation von Prozessen und Proben nimmt immer mehr Zeit in Anspruch. Dieser Mehraufwand wird in der Retrospektive belohnt, wenn Proben leicht identifiziert werden können und Begleitdaten zur Verfügung stehen. Mit dem SafeCode-System wird die Dokumentation so einfach und umfassend wie nie zuvor. Eine echte Problemlösung!



Fehlende Daten werden hauptsächlich bei der nachträglichen Überprüfung festgestellt. „Ich hätte mir mehr Notizen machen sollen“ ist wohl einer der am häufigsten geäußerten Sätze in der Wissenschaft. Vor allem bei Verbrauchsmaterialien sind alle relevanten Informationen über Charge, Art des Produkts oder Reinheitsgrad auf dem Außenkarton aufgedruckt. Dieser wird mit allen wichtigen Informationen zum Produkt meist als erstes entsorgt, während die Röhren mit den entsprechenden Proben jahrelang gelagert werden.

Das SafeCode-System löst diese Probleme: Die vorcodierten Verbrauchsmaterialien sind mit einem DataMatrix-Code und einem Schrift-Code voretikettiert, der eine Art Seriennummer für jedes einzelne Verbrauchsmaterial codiert. Diese Kennung bietet eine weitaus zuverlässigere Proben-

identifizierung als selbst erstellte Aufkleber und ermöglicht den Zugang zu den oben erwähnten speziellen Gefäßinformationen und Zertifikaten. Diese Datensätze können über die Eppendorf-Website heruntergeladen werden.

Da das Probenmanagement in vielen Projekten relevant wird, ist das SafeCode-Datenkonzept für die eLabNext-Softwarelösung optimiert, kann aber auch als offenes System genutzt werden. Die SafeCode-Funktion ist für verschiedene Verbrauchsmaterialien wie CryoStorage-Vials, konische Röhren und verschiedene Plattenformate verfügbar.

## Mehr Informationen

- > Entdecken Sie **SafeCode**
- > Testen Sie **eLabNext** für 30 Tage kostenlos

## News

### Offen für Zusammenarbeit



Digitalisierung hilft dabei, die Laborarbeit effizienter zu machen, Proben zu schützen und das Beste aus Ihren Daten herauszuholen. Für die Nutzerfreundlichkeit ist elementar, dass verschiedene Anwendungen Hand in Hand arbeiten. VisioNize® Lab Suite (VNLS), das Labormanagementsystem von Eppendorf, ist mit Systemen anderer Hersteller kompatibel.

Die VNLS ist fester Bestandteil vieler Eppendorf-Produkte – z. B. der sogenannten „VisioNize touch enabled devices“ wie dem ULT-Freezer CryoCube® F740hi oder dem Zellinkubator CellXpert® C170i. Sie ermöglicht die Überwachung von Geräten, das Empfangen von Alarman, das Geräte-Management und mehr. Die VNLS ist eine offene Plattform, d. h. dass auch ältere Geräte von Eppendorf und anderen Herstellern angeschlossen werden können.

#### Clustermarket: Partner im VisioNize Ökosystem

Die wenigsten Labore verwenden Geräte und Softwareprodukte nur eines Herstellers. Eppendorf kooperiert daher mit ausgewählten Partnern, um die VNLS in die digitalen Produkte von Drittanbietern zu integrieren und so dem Anwender eine digitale Lösung aus einem Guss anbieten zu können.

Clustermarket ist der neueste Partner der VNLS. Mit dem Clustermarket-Dashboard können Anwender die Nutzung und Wartung von Laborgeräten planen und verfolgen sowie den Status von gemeinsam genutzten Laborgeräten einsehen. Clustermarket hat mehr als 100.000 aktive Nutzer.

#### Mehr Informationen

ULRIKE RASCHE, EPPENDORF SE, BIOPROCESS CENTER, JÜLICH

# Qualität der Bioprozessdaten verbessern, Aufwand verringern

Die Entnahme von Proben aus Ihrem Bioprozess ist erforderlich, um zu beobachten, wie Ihre Kultur wächst, wie das gewünschte Produkt produziert wird und in welchem Umfang Nährstoffe verbraucht werden. Solche Informationen sind für die Prozessoptimierung unerlässlich. Wenn Sie die Probennahme an einen Autosampler delegieren, können Sie rund um die Uhr in kurzen und regelmäßigen Abständen Proben nehmen und so vollständige Datensätze gewinnen.

Haben Sie schon einmal viel Zeit und Mühe in die Probennahme Ihres Bioprozesses gesteckt, um dann festzustellen, dass trotzdem ein wichtiger Datenpunkt fehlt? Weil er mitten in der Nacht hätte genommen werden müssen, als Sie nicht im Labor waren? Solche Situationen können vermieden werden, indem die Probennahme an einen Autosampler delegiert wird.

## Der Bioprocess Autosampler nimmt Ihnen manuelle Arbeit ab

Lassen Sie uns anhand eines Beispiels anschauen, wie Autosampling die Arbeit des Bioprocessingenieurs vereinfachen kann. Einer unserer Kunden hat den neuen Bioprocess Autosampler in einem *E. coli* Fermentationsprozess getestet.

Er plante einen parallelen Prozess mit acht Bioreaktoren, um verschiedene Prozessbedingungen zu vergleichen. Während der Prozesslaufzeit von 35 h sollte in regelmäßigen Abständen zu acht Zeitpunkten eine Probe gezogen werden. Was hätte dies bedeutet, hätte er eine manuelle Probennahme gewählt?

Zunächst hätte es ein Schichtsystem erfordert, um die Prozesslaufzeit abzudecken. Und die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler hätten einen signifikanten Anteil ihrer Arbeitszeit auf die Probennahme verwendet.

Besagter Anwender nutzt seit längerem ein DASbox® Mini Bioreactor System von Eppendorf, welches nun mit dem Bioprocess Autosampler aufgerüstet wurde.

In unserem Beispiel wurden BioBLU® Single-Use Bioreactors verwendet, aber das System kann genauso gut mit Glasbioreaktoren eingesetzt werden. Außerdem kann es auch mit dem DASGIP® Parallel Bioreactor System verwendet werden, wenn größere Arbeitsvolumina benötigt werden.

## Autosampling auf einen Blick

Der Bioprocess Autosampler entnahm pro Probenschritt eine Probe aus einem Bioreaktor und überführte sie in ein vordefiniertes Gefäß, das in einer temperierten Umgebung gelagert wurde.

Das Probennahmegerät wurde automatisch gereinigt, so dass der Bioprocess Autosampler für den nächsten Entnahmeschritt bereit war. Auf diese Weise ermöglichte der Bioprocess Autosampler regelmäßige Probennahmen rund um die Uhr. Die Lagerungsposition der Proben wurde in der Eppendorf Bioprocess Kontrollsoftware DASware® control vordefiniert und die Proben automatisch positioniert. Durch diese automatisierte Probenlagerung wurde das Risiko für menschliche Fehler vermieden. Um mehr über diesen Anwendungsfall zu erfahren, lesen Sie unsere Application Note 3–4.

## Mehr Informationen

Wenn Sie mehr über den Bioprocess Autosampler erfahren möchten und darüber, wie er Ihnen helfen kann, bessere Bioprozessdaten zu erhalten, besuchen Sie [www.eppendorf.com/bp-autosampler](http://www.eppendorf.com/bp-autosampler)



JAN-HENDRIK BEBERMEIER, EPPENDORF SE

# Persönliche –80°C in Reichweite?

ULT-Gefriergeräte mit ihren –80°C werden in vielen Laboratorien tagtäglich verwendet. Kritische Proben werden über lange Zeit in diesen klobigen und stromfressenden Geräten gelagert. Gibt es Optionen zur sicheren Probenaufbewahrung möglichst nah an Ihrem Arbeitsplatz?



Viele Forschungsteams und sogar verschiedene Gruppen teilen sich einen ULT-Gefrierschrank. Nicht selten befindet sich das Gerät auf dem Flur oder sogar noch weiter entfernt im Keller. Beide Standorte stellen eine Herausforderung dar: Verschiedene Personen haben Zugang zu Ihren wertvollen Proben, und es kann mehrere Minuten dauern, bis Sie kritische Proben bei –80°C lagern können.

Der CryoCube® F101h löst beide Herausforderungen. Dieser Untertischgefrierschrank ermöglicht Ihnen „persönliche –80°C“ zur Probenaufbewahrung in Reichweite. Um eine hohe Probensicherheit zu gewährleisten, haben wir das Gerät weiter verbessert: Die Abkühlzeit auf –80°C beträgt nur 120 min und die „door-open-recovery“ (DOR; 60 s Öffnung) konnte auf 21 min verkürzt werden, um eine schnelle

Rückkehr zur eingestellten Temperatur von –80°C zu ermöglichen.

## Nachhaltigkeit inklusive

Eppendorf ULT-Gefrierschränke werden mit 100 % erneuerbarer Energie in unserem Werk montiert. Der CryoCube F101h benötigt nur 3,2 kWh/Tag (–70°C; 230 V) bzw. 4,7 kWh/Tag (–80°C; 230 V). Diese Werte basieren auf externen Tests.

Profitieren Sie außerdem vom sehr niedrigen Treibhauspotenzial (GWP) der grünen Kohlenwasserstoff-Kühlflüssigkeiten (R170/R290), die wir seit 2008 für immer mehr unserer ULT-Modelle verwenden.

Mehr unter  
[www.eppendorf.com/freezers](http://www.eppendorf.com/freezers)

## Tipp

„Willkommen,  
es ist Zeit für den  
Pipetten-Service!“

So würden wir Sie künftig gerne in unserem neuen Online Service Portal\* begrüßen!

- > Hier haben Sie stets den Überblick über alle Services für Ihre Pipetten
- > Hier bestellen Sie Ihren Pipetten-Service – intuitiv und mühelos

## Das neue Service Portal

- > Kostenfreier, cloud-basierter Service-daten-Backup Ihres Pipetten-Inventars
- > Individuelle Kalibrierintervalle mit Erinnerungen an bevorstehende Services
- > Schnelle und intuitive Online-Buchung von Pipetten-Services
- > Direkter Zugang zu Ihren Servicebuchungen und -dokumenten
- > Überblick über den Status und den Verlauf Ihrer Services

## Navigieren im Service Portal

Sie können Ihre Pipetten einfach und schnell im Service Portal registrieren, die notwendigen Kalibrierintervalle definieren und Ihre Pipetten-Services aus unserem umfangreichen Portfolio buchen.

- > Loggen Sie sich mit Ihrem myEppendorf Konto in das Service Portal ein
- > Registrieren oder importieren Sie Ihre Pipetten-Daten – auch mit Microsoft® Excel® Template möglich
- > Bestellen Sie Ihre Services – Hochladen eigener Dokumente möglich
- > Drucken Sie Ihre Bestelldokumente aus und verpacken Sie Ihre Pipetten
- > Senden Sie Ihre Pipetten zum Service Center

Hier registrieren:  
[serviceportal.eppendorf.com](http://serviceportal.eppendorf.com)

Mehr Informationen  
[www.eppendorf.com/pipette-service](http://www.eppendorf.com/pipette-service)

\*Noch nicht in jedem Land verfügbar

BARBRO PATTERSON, EPPENDORF SE

# ISO 8655-6:2022: Die hohe Kunst der Pipetten-Kalibrierung

Regelmäßige Wartung und Kalibrierung stellen sicher, dass eine Pipette optimal und entsprechend den Spezifikationen und Vorgaben funktioniert. Verschlossene Komponenten sind oft nicht auf den ersten Blick zu erkennen. Wenn eine Pipette eine routinemäßige Kalibrierung „wie vorgefunden“ nicht besteht, kann dies einen enormen Aufwand nach sich ziehen. Die ISO 8655 beschreibt die operativen und rechtlichen Vorgaben zur Kalibrierung und Prüfung von kolbenbetriebenen volumetrischen Apparaten. Die überarbeitete ISO 8655:2022 wurde im April 2022 veröffentlicht.



Die ISO 8655 ist ein internationaler Standard für Kalibrier- und Prüfverfahren von kolbenbetriebenen volumetrischen Geräten (POVA) wie Pipetten, Büretten, Dilutoren und Dispensern. Sie definiert die Kriterien sowie die maximalen Fehlergrenzen für die getesteten Volumina: die Anzahl der Messungen und Volumina, die Umgebungsbedingungen und die zulässige Qualität der Prüfkette.

## Kalibrierungsintervalle für Pipetten

- > Die Einhaltung der Fehlergrenzen muss mindestens einmal jährlich als Teil Ihrer Testgeräte-Kontrolle oder der analytischen Qualitätssicherung geprüft werden.
- > Je nach Anwendung und Genauigkeitsanforderung können Sie kürzere Intervalle und eigene zulässige Fehlergrenzen bestimmen.

## Änderungen in der ISO 8655-6:2022 mit Auswirkungen

ISO 8655 Teil 6 beschreibt die gravimetrischen Methode zur Messfehlerermittlung für POVA mit den folgenden wesentlichen Änderungen:

- > *Anzahl der Messungen zur Ermittlung des Messfehlers:*  
10 Messungen oder mehr sollen pro Testvolumen durchgeführt werden.
- > *Austausch von Spitzen während der Messzyklen:*  
Die Spitzen müssen mindestens einmal getauscht werden, um beschädigte oder mangelhafte Spitzen zu erkennen und die Variabilität der Spitzen zu beurteilen.
- > *Dokumentieren der Ergebnisse:*  
Der Testbericht schließt alle Informationen ein, welche zur Interpretation der Kalibrierergebnisse notwendig sind, allerdings ohne die erweiterte Messunsicherheit.

## Neues Kapitel ISO 8655-7:2022

ISO 8655 Teil 7 beschreibt alternative Volumenmessverfahren für POVA mit den folgenden wesentlichen Änderungen:

### *Anzahl der Messungen*

- > Für routinemäßige Tests werden 10 Messungen empfohlen. Weniger Messzyklen sind möglich, falls sich die erweiterte Messunsicherheit für den Verwendungszweck eignet, allerdings nicht weniger als 4.
- > Nach Reparatur oder Justierung müssen mindestens 10 Messungen durchgeführt werden.

## Kalibrierung in einem ISO 17025-akkreditierten Labor

Benötigen Sie eine lückenlose Rückverfolgung von Resultaten für einen laborübergreifenden Vergleich und/oder die Einhaltung der Vorschriften? Die Premium-Qualität-Services in unseren ISO 17025-akkreditierten Kalibriereinrichtungen umfassen Kalibrierzertifikate mit allen Rohdaten und den erweiterten Messunsicherheiten. Wir freuen uns darauf, Sie zu unterstützen.

## Mehr Informationen

in unserem [Online-Artikel](#)

CORDULA RICHTER, EPPENDORF SE

# Dr. Maurice Michel erhält Eppendorf Award 2023



Die unabhängige Jury unter Vorsitz von Prof. Reinhard Jahn wählte Dr. Maurice Michel vom Karolinska Institutet, Stockholm, Schweden zum 28. Gewinner des *Eppendorf Award for Young European Investigators*.

Maurice Michel, Jahrgang 1986, erhält die mit 20.000 Euro dotierte Auszeichnung für seine Arbeiten über künstliche Funktionen von DNA-Reparaturenzymen. „Dr. Michel zeigte, dass die Bindung eines kleinen Moleküls an die aktive Stelle eines DNA-Reparaturenzyms nicht nur dessen Aktivität erhöht, sondern es auch dazu veranlasst, eine Reaktion auszuführen, die im freien Protein nicht vorkommt, was zu einer verbesserten DNA-Reparatur nach oxidativen Schäden führt. Diese bahnbrechenden Entdeckungen könnten weitreichende Anwendungen bei der Behandlung von Krebs oder altersbedingter Degeneration haben“, so die Jury.

Maurice Michel: „Es ist eine große Ehre, mit dem Eppendorf Award 2023 ausgezeichnet zu werden. Dies wäre nicht möglich gewesen ohne den Beitrag und den Geist vieler Wissenschaftler, ob Kollegen, Mitarbeiter oder Mentoren, sowie meiner unglaublichen Familie.“

Mit Hilfe von Organokatalysatoren auf der Basis kleiner Moleküle haben wir neue biochemische Reaktionen in ein Enzym eingebaut und so den Basen-Exzisionsreparaturweg neu geschrieben. Unsere Forschung konzentriert sich nun darauf, diese Technologiebasis zu erweitern, indem wir andere Enzyme untersuchen und biochemische Reaktionswege und ihre biologischen Konsequenzen verstehen.“

Die Preisverleihung fand am 22. Juni 2023 im Advanced Training Center des European Molecular Biology Laboratory (EMBL) in Heidelberg statt.

Informationen zu Bewerbungsmodalitäten, Auswahlkriterien und bisherigen Preisträgern finden Sie auf

[www.eppendorf.com/award](http://www.eppendorf.com/award)

## Eppendorf & Science Prize for Neurobiology 2023

Der/Die Gewinner/in stand zum Zeitpunkt der Veröffentlichung noch nicht fest.

Mehr Informationen unter [www.eppendorf.com/prize](http://www.eppendorf.com/prize)



### Markenhinweise

Amazon® is a registered trademark of Amazon Technologies, Inc., USA. ATCC® is a registered trademark of the American Type Culture Collection, USA. Excel® and Microsoft® are registered trademarks of Microsoft Corp., USA. Promega® is a registered trademark of Promega Corporation, USA. SpeedSTAR™ is a trademark of Takara Bio Inc, Japan. YouTube™ is a trademark of Google, Inc., USA.

Eppendorf®, the Eppendorf Brand Design, BioBLU®, CellXpert®, CryoCube®, ep Dualfilter T.I.P.S.®, epMotion®, epT.I.P.S.®, Eppendorf Research®, Eppendorf Tubes®, Eppendorf Xplorer®, Eppi®, epPoints®, epT.I.P.S.®, Mastercycler®, Move It®, and VisioNize® are registered trademarks of Eppendorf SE, Germany. DASbox®, DASGIP®, and DASware® are registered trademarks of DASGIP Information and Process Technology GmbH, Germany.

U.S. Design Patents are listed on <https://corporate.eppendorf.com/en/trademarks-patents>

# Pipetten 3er-Set zu gewinnen

„EPPENDORF LAB CHANNEL“ lautete die Lösung des Preisrätsels aus der BioNews Nr. 57. Der Hauptgewinn, eine Eppendorf Xplorer® plus 8-Kanal-Pipette, ging an Johanna S., Deutschland.

## Viel Glück bei unserem neuen Rätsel!

Bringen Sie alle Buchstaben in den grau hinterlegten Feldern in die korrekte Reihenfolge und schicken Sie uns die richtige Antwort bis zum **30. November 2023**.

Online teilnehmen unter [www.eppendorf.com/bn-service](http://www.eppendorf.com/bn-service) oder die Lösung per E-Mail an [bionews@eppendorf.de](mailto:bionews@eppendorf.de) senden.

Unter allen richtigen Einsendungen verlosen wir wieder attraktive Preise für Ihr Labor. Die Gewinner werden schriftlich benachrichtigt. Eine Barauszahlung ist nicht möglich. Der Rechtsweg ist ausgeschlossen. Eppendorf-Mitarbeitende und deren Angehörige dürfen nicht teilnehmen. Der Gewinner des ersten Preises wird in Ausgabe 61 veröffentlicht.

1	2		3		4	5		6	7		8
			9					10			
11					12				13		14
15			16	17				18			19
20						21			22		
23								24			
25				26	27			28			
29				30					31	32	
33		34								35	
				36	37		38		39		40
		41	42					43			
44	45					46			47		48
49								50			

## 1. Preis:

1 Eppendorf Research® plus 3er-Pack Ihrer Wahl

## 2. bis 5. Preis:

je 1 Amazon® Gutschein im Wert von 50,00 Euro

## 6. bis 10. Preis:

je 500 Bonus epPoints®

(Registrierung bei epPoints erforderlich)

### WAAGERECHT

- 1 Engl.: Black Tie
- 6 Beutel aus starkem Material
- 9 Kains Bruder
- 10 Verwendet in Lampen und Displays
- 11 Bekannter Singvogel
- 12 Entspannungsoase mit Dampfbad und mehr
- 13 Bekannter Aktienindex (Kurzform)
- 15 Zelluläres Membrannetzwerk (Abk.)
- 16 Nachhaltigkeitslabel
- 18 Gibt's in blanc, noir, gris
- 20 Engl. Himmelsrichtung
- 21 Kleines nordisches Königreich (ISO-Länderkürzel)
- 22 In Barcelona geborener Maler
- 23 Nashville ist die Hauptstadt (Abk.)
- 24 Lästig, nervig (Engl.)
- 25 Ist elektrisch geladen
- 26 Von Mullis entwickelte Labormethode

- 28 Nicht out
- 29 10<sup>-9</sup> m (Abk.)
- 30 Kraftfahrzeug
- 31 Showformat
- 33 Schlangenförmiger Fisch (engl. Bez.)
- 35 Mündet bei Venedig ins Meer
- 36 Element mit Ordnungszahl 81 (chem. Symbol)
- 39 Nicht up
- 41 Leitende Persönlichkeit
- 44 Eine der weltweit erfolgreichsten Sängerinnen
- 46 Aerodynamisches Bauteil eines Fahrzeugs
- 49 Erzeugt und verstärkt kohärentes Licht
- 50 Helle Haarfarbe

### SENKRECHT

- 2 Musikalischer Taktgeber (pl.)
- 3 Kampfsport
- 4 Schlaf-, Wohn- und Brutstätte
- 5 Qualitätssicherungssystem im Labor (Abk.)
- 6 Ablagerung, Bodensatz
- 7 Gestalt aus der griech. Mythologie
- 8 Eintausend hiervon sind ein MB (Abk.)
- 11 Gefühlsbetont, gefühlvoll
- 14 Ablauf von Schritten in einem Prozess (Engl.)
- 17 Berühmt für Käse, Schokolade, Uhren und mehr (ISO-Länderkürzel)
- 19 Spielzeug für englische Kinder
- 21 Pfeilwurfspiel und Präzisionssport
- 24 Mathematische Konstante
- 26 Gefährte, Mitspieler
- 27 Zwischen Nickel und Zink (Abk.)
- 32 Fly me to the moon ...
- 34 Grenzwall des römischen Reiches
- 37 Heimat der Lakers (Abk.)
- 38 Abk. für Wiederholungen z.B. im Kraftsport
- 40 Geht auf in Spezial- oder Nischenthemen
- 42 Biersorte
- 43 Männlicher Vorname
- 45 Atomare Masseneinheit, benannt nach John D. (Abk.)
- 47 ISO-Länderkürzel für Israel
- 48 Europäische Normen (Abk.)

## Lösungshinweis für das Gewinnspiel BioNews Nr. 59:

E E B

Einsendeschluss für das Gewinnspiel: **30. November 2023**. Online teilnehmen unter

[www.eppendorf.com/bn-service](http://www.eppendorf.com/bn-service) oder die Lösung per E-Mail an [bionews@eppendorf.de](mailto:bionews@eppendorf.de) senden.

Informationen über die Verwendung Ihrer persönlichen Daten finden Sie unter [www.eppendorf.com/gdpr](http://www.eppendorf.com/gdpr)



## Publish your research in the *Science* family of journals

The *Science* family of journals (*Science*, *Science Advances*, *Science Immunology*, *Science Robotics*, *Science Signaling*, and *Science Translational Medicine*) are among the most highly-regarded journals in the world for quality and selectivity. Our peer-reviewed journals are committed to publishing cutting-edge research, incisive scientific commentary, and insights on what's important to the scientific world at the highest standards.

**Submit your research today!**  
Learn more at [Science.org/journals](https://www.science.org/journals)

**Science**  
JOURNALS AAAS