



Zentrifugation: Alles dreht sich um Ihre Workflows

- > VisioNize®-System: das vernetzte Labor wird Realität
- > ViscoTip®: neuer Spezialist für zähe Fälle
- > Der richtige Umgang mit Zellen im Labor (IV)

Application Notes

Xeno-freie Expansion von hiPS-Zellen mit der neuen CCCadvanced™ FN motifs Wachstums-
oberfläche · ViscoTip®: optimale Leistung mit hochviskosen Flüssigkeiten · etc.





Liebe Leser,

Willkommen zu einer neuen BioNews-Ausgabe mit Neuigkeiten und Informationen aus dem Hause Eppendorf.

Bei Eppendorf dreht sich in diesem Jahr (fast) alles um Zentrifugation. Unsere zwei neuesten Modelle – Centrifuge 5910 R und Centrifuge 5425 – sind dabei, sich ihren Platz in den Laboren dieser Welt zu erobern. Erfahren Sie mehr in unserem Leitartikel auf den Seiten 4–5.

Arbeiten Sie mit problematischen Flüssigkeiten, z.B. hochviskosen, dicken oder klebrigen Lösungen? Dass ein großer Bedarf nach besseren Produkten zur Pipettierung solcher Flüssigkeiten besteht, war uns bewusst. Trotzdem waren wir von der positiven Publikumsresonanz auf den neuen ViscoTip® geradezu überwältigt. Diese neue Dispenserspitze für die Multipette® wird Ihr neuer Problemlöser! Mehr dazu auf Seite 6 und in den Application Notes 5–6.

In der Digitalisierung und Vernetzung sieht Eppendorf eine der wichtigsten künftigen Marktanforderungen. Das VisioNize®-System ermöglicht Anwendern, eine Vielzahl von Eppendorf-Instrumenten gleichzeitig zentral zu überwachen (S. 11). Viele unserer neuen Produkte erlauben eine VisioNize-Vernetzung: z.B. der Mastercycler® X50 (S. 11), der biologische Schüttler Innova® S44i (S. 9) und der CO₂-Inkubator CellXpert® (S. 10), um nur einige zu nennen.

Wir feiern noch immer unser 25-jähriges BioNews-Jubiläum. Auch im Preisträtsel dieser Ausgabe gibt es daher wieder 5 personalisierte Pipetten mit Lasergravur nach Ihrer Wahl zu gewinnen. Viel Glück!

Weitere Berichte und vier Application Notes zu unterschiedlichsten Themen runden dieses Heft ab.

Wir hoffen, es gefällt Ihnen!

Ihr Eppendorf BioNews-Team

Impressum

Redaktion

Berit Hoff (Projektleitung), Axel Jahns,
Jochen Müller-Ibeler, Tanja Musiol,
Natascha Weiß

Anschrift

Eppendorf AG
Barkhausenweg 1, 22339 Hamburg
Telefon: + 49 40 53 801-0
Fax: + 49 40 53 801-556
E-Mail: bionews@eppendorf.de
www.eppendorf.com/bionews

Beiträge von Lesern sind willkommen.
Für unverlangt eingesandte Manuskripte
wird keine Verantwortung übernommen.

Ihre Ansprechpartner

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

Vertrieb Schweiz

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

Vertrieb Österreich

Eppendorf Austria GmbH
Ignaz-Köck-Straße 10
1210 Wien
Tel. (01) 8901364-0
E-Mail: office@eppendorf.at

Hinweis

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit
haben wir im Text auf die konsequente
Nennung der männlichen und weiblichen
Form verzichtet. Es sind selbstverständ-
lich immer beide Geschlechter gemeint.

Die Einführung von Produkten kann in
verschiedenen Märkten zu unterschied-
lichen Zeitpunkten erfolgen. Wir beraten
Sie gern.

Irrtum und technische Änderungen
vorbehalten.

Alle Rechte vorbehalten,
einschließlich der Grafiken und Bilder.
© Copyright Eppendorf AG, Juni 2018.
Klimaneutral gedruckt in Deutschland.



IM BLICKPUNKT

LABORPRACTIS

INNOVATION

NAHAUFNAHME

NEWS/TIPPS

SERVICE

Bei der Zentrifugation dreht sich alles um Ihre Workflows	4–5
Bioprozesstechnik trifft Statistik: Software für tieferen Einblick	8
PCR-Optimierung in neuer Dimension	11
Der richtige Umgang mit Zellen im Labor (IV)	12
Premium-Adresse für Laborwissen	13
Der neue ViscoTip®: ein Spezialist für zähe Fälle	6
CellXpert® C170i: der neue Spezialist für die Kultivierung sensibler Zellen	10
FastTemp ... was? FastTemp pro®!	5
Next Generation Sequencing: einfach und effizient	7
Innova® S44i: auf kleinerer Fläche mehr Zellen kultivieren	9
VisioNize®: ein intelligentes Netzwerk zur Organisation Ihres Labors	11
Top 5 Gründe für automatisierte NGS-Library-Prep	13
Eppendorf-Preisträger 2017/2018: Flavio Donato & Andrea Ablasser	14
Warenzeichenhinweise	14
Gewinnspiel: Personalisierte Pipetten zu gewinnen	15



Eppendorf BioNews Application Notes

AMANDA SUTTLE, MA SHA Kultivierung von CHO-Zellen im Eppendorf BioBLU® 10c Single-Use Vessel	1–2
AURÉLIE TACHENY, SILVIA TEJERINA, WIÂME BEN EL MOSTAPHA, NADINE MELLIES, FRANÇOISE DE LONGUEVILLE Xeno-freie Expansion von humanen pluripotenten Stammzellen mit der neuen CCCadvanced™ FN motifs Wachstums Oberfläche	3–4
HANAË HENKE, ANDREAS RATZKA ViscoTip®: optimale Leistung mit hochviskosen Flüssigkeiten	5–6
ERIC GANCAREK, DOMINIK SCHNEIDER, SANDRINE HAMELS Das 10 µL Dosierwerkzeug gewährleistet hochgradig genaues und präzises Pipettieren im sub-Mikroliterbereich auf der epMotion® 5073I	7–8

FLORIAN BUNDIS, EPPENDORF AG

Bei der Zentrifugation dreht sich alles um Ihre Workflows

Zentrifugation ist ein integraler Bestandteil vieler Arbeitsprozesse in modernen wissenschaftlichen und diagnostischen Laboren. Das Methodenspektrum reicht vom Pelletieren gefällter DNA in der Molekularbiologie bis zur Aufreinigung von Lymphozyten und Monozyten durch Dichtegradientenzentrifugation in der Zellbiologie und Humandiagnostik. Eppendorf stellte zum Jahresbeginn zwei ganz neue Zentrifugen vor. Beide Instrumente erfüllen die hohen Qualitätsstandards von Eppendorf bei Zuverlässigkeit, Sicherheit und Bedienkomfort – die Leistung, die Sie für Ihre erfolgreichen Laboranwendungen benötigen.

Mit der Erfahrung aus über 50 Jahren ...

Im Jahr 1964 hat Eppendorf die erste Mikrozentrifuge für Anwendungen im Labor auf den Markt gebracht. Das Modell 3200 war mit fester Drehzahl und nur einem Einstellrad zur Wahl der Laufzeit noch recht einfach aufgebaut. Zusammen mit den kurz zuvor vorgestellten Mikroliterpipetten und „Eppi“-Gefäßen war das Modell 3200 integraler Bestandteil des Eppendorf-Mikroliter-Systems. Dieses System ermöglichte die Arbeit mit kleinsten Probenmengen und revolutionierte so die biomedizinische Forschung weltweit.

... und der Innovationskraft von heute ...

Heute entwickelt Eppendorf innovative und hochwertige Zentrifugen für ein breites Anwendungsspektrum. Sie bieten ein ergonomisches Bedienkonzept mit einer Vielzahl von Optionen und folgen hohen Sicherheitsstandards. Gekühlte Zentrifugen verfügen zusätzlich über ein aufwändiges Temperaturmanagement, um Ihre empfindlichen Proben vor Wärme zu schützen. Maxime der Eppendorf-Produktentwicklung ist, die Erwartungen unserer Kunden zu übertreffen, Laborprozesse zu vereinfachen sowie den Anwendern zukunftsweisende Technologien zur Verfügung zu stellen.

... für die Labore von morgen

Eppendorf stellt in diesem Jahre gleich zwei neue Zentrifugen vor. Bei den Mikrozentrifugen mit bis zu 24 Plätzen gibt es einen Generationswechsel.

Dabei löst die komplett neu entwickelte, ungekühlte Centrifuge 5425 den legendären „Laborstandard“ Centrifuge 5424 ab. Im Segment der großen, gekühlten Tischzentrifugen mit hoher Kapazität erweitert Eppendorf mit der Centrifuge 5910 R das Produktsortiment um eine besonders vielseitige Variante mit völlig neu entwickeltem Adapterkonzept für noch schnelleres Beladen.



Die neue ungekühlte Centrifuge 5425 löst den legendären „Laborstandard“ Centrifuge 5424 ab.

Centrifuge 5425 – My Lab. My Centrifuge.

Die Centrifuge 5425 hat alles, was Sie am Vorgängermodell so geliebt haben und bietet zusätzlich neue großartige Features, um die Laborarbeit noch angenehmer zu gestalten. So wurde bei der Entwicklung dieser 24-Platz-Mikrozentrifuge ganz besonders auf eine extrem geringe Geräuschentwicklung geachtet. Kurze Läufe von bis zu 12 Minuten sind mit durchschnittlich 45 dB(A) flüsterleise. Diese Zeit ist für Zentrifugationsschritte der meisten DNA- und RNA-Isolierungskits ausreichend. Erst bei längeren Läufen schaltet der Lüfter auf volle Leistung und führt die Wärme aus dem Gerät ab. Aber selbst dann ist die Centrifuge 5425 noch immer die leiseste ungekühlte Mikrozentrifuge auf dem Markt.



Ausschwingrotor für 96 PCR-Tubes

Auch in Bezug auf Vielseitigkeit werden bei der Centrifuge 5425 neue Maßstäbe gesetzt. Erstmals wird für eine Mikrozentrifuge ein Ausschwingrotor für 96 PCR-Tubes zum schnellen Abzentrifugieren



Die gekühlte Centrifuge 5910 R wurde für ein besonders breites Anwendungsspektrum ausgelegt.

von Tröpfchen und Kondensat vor bzw. nach der PCR/qPCR angeboten. Bei der Ernte von Bakterien und Hefen kommt ein neuer Festwinkelrotor für 5 mL-Tubes mit Schraub- oder Schnappdeckeln zum Einsatz.

Centrifuge 5910 R – The Next Benchmark

Die gekühlte Centrifuge 5910 R setzt durch Vielseitigkeit und Kapazität die nächste Benchmark bei den Tischzentrifugen. Mit einem umfangreichen Portfolio aus Festwinkel- und Ausschwingrotoren wurde diese Zentrifuge für ein besonders breites Anwendungsspektrum ausgelegt.

Zellernten in Flaschen bis 750 mL, DNA- und RNA-Isolierungen auch im großen Maßstab sowie Ficoll®-Gradienten für die Lymphozyten- und Monozyten-Aufreinigung sind nur einige der vielen Einsatzgebiete.

Für noch schnelleres Beladen steht der neue Universal-Ausschwingrotor mit einzigartigen Universaladaptern zur Verfügung. Mit diesen können erstmalig konische Gefäße bis 50 mL, Platten und 250 mL-Flaschen zentrifugiert werden, ohne Rotor, Rotorbecher oder Adapter zu wechseln.

Für den Schutz Ihrer Proben wird die Leistung des Kühlsystems den jeweiligen Erfordernissen dynamisch angepasst und die eingestellte Temperatur zu jeder Zeit stabil gehalten. Neben der FastTemp-Funktion für das superschnelle Vorkühlen, bietet die Centrifuge 5910 R auch die Funktion FastTemp pro®. Das Vorkühlen startet automatisch zu einem vorprogrammierten Zeitpunkt, und die Zentrifuge ist bereits heruntergeköhlt, wenn Sie morgens ins Labor kommen.



Der neue Universal-Ausschwingrotor mit besonders vielseitigen Universaladaptern

Fit für die Zukunft

Heute, nach mehr als 50 Jahren, steht der Name Eppendorf mehr denn je für innovative, verlässliche und zukunftsweisende Zentrifugen, die sich im langjährigen Einsatz bewährt haben und Sie bei Ihrer Arbeit im Labor unterstützen – heute und in Zukunft!



QR-Code scannen für
mehr Informationen!

Mehr Informationen zur
Centrifuge 5425 unter
[www.eppendorf.com/
my-lab-my-centrifuge](http://www.eppendorf.com/my-lab-my-centrifuge)



QR-Code scannen für
mehr Informationen!

Mehr Informationen zur
Centrifuge 5910 R unter
[www.eppendorf.com/
next-benchmark](http://www.eppendorf.com/next-benchmark)

Nahaufnahme

FastTemp ... was? FastTemp pro®!

Ergänzend zur bekannten FastTemp-Funktion für superschnelles Vorkühlen bietet die Centrifuge 5910 R die neue FastTemp pro Software-Option. Diese ermöglicht das vorprogrammierte, automatische Vorkühlen Ihrer Zentrifuge zu einem gewünschten Datum und einer gewünschten Uhrzeit. Nach der Programmierung versetzen Sie die Zentrifuge in den Standby-Modus, bevor Sie das Labor abends verlassen. Am folgenden Morgen erledigt FastTemp pro das Vorkühlen für Sie. Die Programmierung ist super einfach, und in Verbindung mit dem Standby-Betrieb erreichen Sie über Nacht eine Stromersparnis von mehr als 90 %.



Fazit

Die Centrifuge 5910 R ist mit einem leistungsstarken Kühlsystem mit hochmodernem Temperaturmanagement ausgestattet, damit Sie Ihre Proben sicher zentrifugieren können. Mit der programmierbaren Vorkühl-Funktion FastTemp pro nutzen Sie Ihre Zeit besser und effizienter.

Unser kurzes Videotutorial zeigt anschaulich, wie unkompliziert die Programmierung ist. Besuchen Sie
www.eppendorf.com/fast_temp_pro



QR-Code scannen für
mehr Informationen!

Übrigens: Auch die Centrifuge 5920 R und die Centrifuge 5430 R bieten die praktische FastTemp pro-Funktion! Mehr Informationen unter www.eppendorf.com/centrifugation

CHRISTIAN HABERLANDT, EPPENDORF AG

Der neue ViscoTip®: ein Spezialist für zähe Fälle

Hochviskose Flüssigkeiten wie Glycerin 99,5 %, Kollagen, Nagellack, Cremes, Öle oder flüssigen Honig im Milli-liter-Volumenbereich zu verarbeiten, ist eine schwierige Aufgabe in Labor und Analytik. Häufig werden hierzu suboptimale Hilfsmittel wie z.B. Löffel verwendet. Dies verlangsamt sowohl den Transfer zäher Flüssigkeiten von Gefäß zu Gefäß als auch die präzise Volumenbestimmung sowie Mischungsprozesse. Erfahren Sie hier, wie der neue ViscoTip die Verarbeitung zähflüssiger Proben erleichtert.

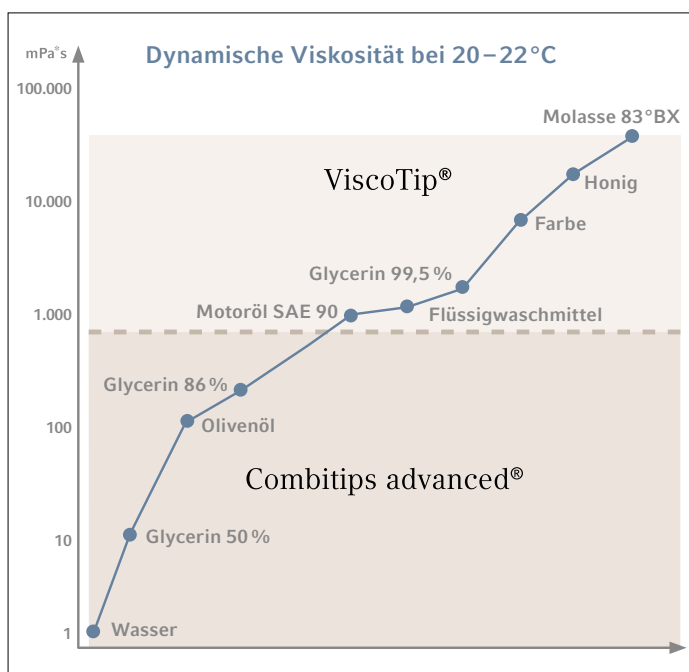
Um wässrige Flüssigkeiten präzise zu verarbeiten, werden im Labor Pipetten mit verschiedenen Funktionsprinzipien und entsprechenden Pipettenspitzen eingesetzt. Besonders für viskose Flüssigkeiten haben sich sogenannte Direktverdrängersysteme durchgesetzt, die ähnlich einer Spritze arbeiten. Ein Beispiel ist das System aus Eppendorf-Handdispensern der Multipette®-Familie mit den passenden Combitips advanced®-Dispenserspitzen.

Mit steigender Viskosität werden allerdings auch die entstehenden Fließwiderstände und Adhäsionskräfte in den Pipettenspitzen größer. Hinzu kommt, dass diese Widerstände umso größer werden, je größer das zu verarbeitende Volumen wird.

Die Folge: Die Handkraft des Bedieners, das Material der Bedienelemente oder der Motor elektronischer Pipetten stoßen an ihre Grenzen. Zusätzlich nimmt mit steigender Viskosität die Prozessgeschwindigkeit ab, insbesondere wenn Präzision erforderlich ist. Werden Combitips advanced mit 10 mL Volumen verwendet, liegt die Grenze für die sogenannte dynamische Viskosität, abhängig von der Leistungsfähigkeit des Pipettensystems bzw. des Bedieners, bei etwa 200 – 300 mPa*s. Dies entspricht ungefähr der Viskosität von Glycerin 86 % bei 20°C.

Diese Viskositätsgrenze wird nun mit dem neuen ViscoTip für das Multipette-System aufgelöst und nach oben verschoben. So werden auch zähe Flüssigkeiten, wie Honig oder Cremes, bis zu 14.000 mPa*s präzise und schnell verarbeitbar. Der ViscoTip gehört zur Familie der Combitips advanced, lässt sich aber leicht von ihnen unterscheiden und wird von Multipetten automatisch erkannt.

Der ViscoTip wurde im Frühjahr 2018 erstmals dem Fachpublikum aus unterschiedlichen Industriezweigen vorgestellt und traf auf große Resonanz. Weiterführende Informationen finden Sie unter www.eppendorf.com/multipette-system.



Viskositätscheck: ViscoTip vs. Combitips advanced. Der ViscoTip erweitert den Anwendungsbereich bis 14.000 mPa*s (Ergebnis mit Multipette E3/E3x).



Auch zähe Flüssigkeiten wie Cremes können mit dem ViscoTip und der Multipette verarbeitet werden.



QR-Code scannen für
mehr Informationen!

TANJA MUSIOL, EPPENDORF AG

Next Generation Sequencing: einfach und effizient

Next Generation Sequencing (NGS) hat die Sanger-Sequenzierungsmethode zum Großteil abgelöst. Das NGS-Verfahren zeichnet sich durch eine deutlich höhere Effizienz aus und erlaubt das Sequenzieren mehrerer Proben in kürzerer Zeit. Auf der SLAS-Automationsmesse in San Diego, Kalifornien, USA, hat Eppendorf im Januar 2018 erfolgreich seine Lösungen, besonders für die zeitaufwändigen Schritte der Library-Erstellung und der allgemeinen Probenvorbereitung, präsentiert.

Intensiver Austausch mit Anwendern

Die SLAS ist eine Automationsmesse, auf der Lösungen für unterschiedlichste Anwendungen gezeigt werden. Eppendorf hat sich dort in den letzten Jahren als Anbieter von automatisierten Liquid-Handling-Systemen etabliert. In diesem Jahr hat Eppendorf spezielle Lösungen zum Thema Next Generation Sequencing vorgestellt. Eine breit aufgestellte Eppendorf-Standmannschaft nutzte die Gelegenheit zu intensiven, fachspezifischen Diskussionen mit NGS-Anwendern. Bei den Standbesuchern stieß diese Beratungskompetenz auf große Resonanz, und es konnten viele Publikumsfragen zu Automatisierung und NGS beantwortet werden.

Optimierte Automationslösung

Das Herzstück des Messestandes stellte das *epMotion*® 5075t NGS Solution Paket dar: Ein automatisiertes Liquid-Handling-System, welches mit neuen Softwareeigenschaften, seiner Ausstattung und mitgeliefertem Verbrauchsmaterial speziell auf die Bedürfnisse im NGS-Workflow ausgelegt ist.



Die automatisierte Liquid-Handling-Workstation *epMotion* optimiert den NGS-Workflow.

Eine Kooperation mit einem der führenden Anbieter im Bereich NGS-Kits und Sequenzierung, der Firma Illumina® mit Hauptsitz in Kalifornien, USA, ermöglichte das Etablieren von mehr als 15 speziell angepassten Methoden. Diese Methoden sind für die automatisierte Anwendung der Illumina-Kits optimiert, von Illumina selbst verifiziert und für interessierte Kunden als vorgefertigte Methoden für die *epMotion* 5075t erhältlich. Notwendige NGS-Protokolle müssen somit nicht mehr selbst erstellt und optimiert werden. Das spart Zeit und Geld.

Equipment für maximierte Probenausbeute

Neben der *epMotion* bietet Eppendorf auch weitere Geräte und Verbrauchsmaterial an, welche die Effizienz im NGS-Workflow steigern können. Da die eingangs erwähnten Prozesse der Library-Erstellung äußerst zeitintensiv sind und mehrere Zyklen durchlaufen müssen, führt jede Zeitersparnis gleichzeitig zu einer Effizienzsteigerung. Dabei gilt: Je höher die Ausgangskonzentration einer Probe ist, desto weniger Zyklen sind notwendig. Probenverlust oder eine ungenaue Konzentrationsbestimmung können sich somit auf die Effizienz auswirken.

Die Eppendorf LoBind® Consumables sorgen dafür, dass möglichst kein Probenmaterial an den Wandungen eines Gefäßes verloren geht. Das Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence erlaubt eine präzise und sensitive Quantifizierung der Nukleinsäure, im UV/Vis-Bereich oder mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen. Die schnellen Heiz- und Kühlraten des neuen Mastercycler® X50 PCR-Geräts sorgen für eine höchst reproduzierbare Anreicherung des Probenmaterials bei gleichzeitiger Zeitersparnis.

Mehr Informationen

Wenn Sie neugierig auf die Eppendorf-Lösungen rund um das Thema NGS geworden sind, besuchen Sie uns einfach auf einer der nächsten Messen oder auf www.eppendorf.com/ngs-made-easy.



QR-Code scannen für
mehr Informationen!

ULRIKE BECKEN, EPPENDORF AG BIOPROCESS CENTER, JÜLICH

Bioprozesstechnik trifft Statistik: Software für tieferen Einblick

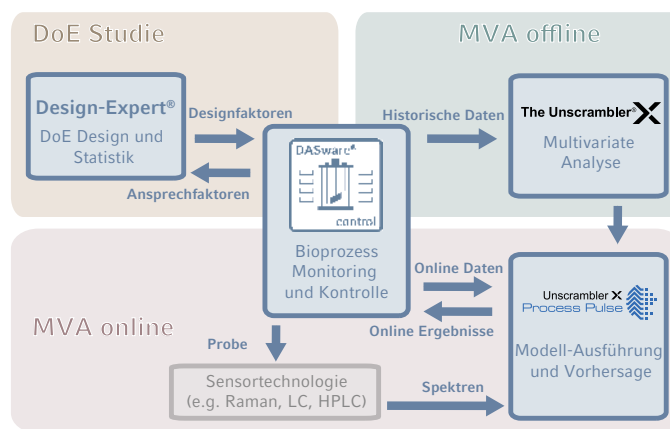
In der Bioprozesstechnik erfassen Forscher große Datenmengen. Deren genaue Analyse ist entscheidend, um zu verstehen, wie verschiedene Prozessparameter das Wachstum von Zellen oder Mikroorganismen und die Bildung und Qualität des gewünschten Endproduktes beeinflussen. Eppendorf und CAMO Software AS stellen eine integrierte Lösung vor, die die Komplexität dieser enormen Aufgabe reduziert.

Um wettbewerbsfähig zu sein, müssen industrielle Bioprozesse robust funktionieren und Produkte von gleichbleibender Qualität und in hoher Ausbeute liefern. Für die Etablierung eines robusten Verfahrens ist es maßgeblich, zu verstehen, wie Variablen wie der pH-Wert des Mediums, die Temperatur sowie die Konzentrationen von Sauerstoff, Nährstoffen und Nebenprodukten das Zellwachstum und wichtige Produkteigenschaften beeinflussen. Bioverfahrensingenieure analysieren dies im Zuge der Prozessentwicklung. Design of Experiments (DoE) Ansätze helfen, die benötigten Daten zu erfassen und gleichzeitig Experimente, die keinen Nutzen versprechen, zu vermeiden.

Daten in Wissen übersetzen

Mit moderner Sensortechnik und Bioprozess-Steuerungssoftware können Wissenschaftler während des Bioprozesses viele Parameter verfolgen und das Produkt analysieren. Es ist eine enorme Aufgabe, aus den Daten ein tiefes Verständnis des Prozesses zu entwickeln.

Eine der Schwierigkeiten, neben der überwältigenden Datenmenge, ist die Tatsache, dass häufig nicht nur zwei, sondern gleich eine Vielzahl von Variablen voneinander abhängen. Zum Beispiel könnte die Entstehung der Biomasse ausreichende Konzentrationen an Sauerstoff, Glucose und weiteren Nährstoffen im Medium benötigen, während sie hingegen durch bestimmte Stoffwechselprodukte, deren Bildung ebenfalls von der Nährstoffkon-



Zusammenführung der Eppendorf DASware control 5 Software und der CAMO Software-Pakete. Mit dem Unscrambler® X mit Design-Expert® und Unscrambler X Process Pulse II präsentieren wir eine integrierte Software-Lösung für die Bioprozess-Steuerung, DoE und MVA.

zentration abhängt, negativ beeinflusst wird. Die Identifizierung solch komplexer Zusammenhänge setzt eine ausgereifte statistische Analyse voraus.

Das Geheimnis entschlüsseln

Multivariate Datenanalyse (MVA) ist das Werkzeug der Wahl, wenn es darum geht, Muster und Beziehungen zwischen mehreren Variablen simultan aufzudecken. Mit diesem Wissen können Wissenschaftler ein umfassendes Prozessverständnis gewinnen und weiterführende Prozesssteuerungsstrategien entwickeln. Im Idealfall ermöglicht dies, den Prozess vollständig zu kontrollieren: Ihn in Echtzeit zu überwachen und bei Abweichungen vom Sollzustand sofort eingreifen zu können.

Die Überwachung und Steuerung von Bioprozessen und die statistische Datenanalyse gehen miteinander einher; allerdings werden diese Aufgaben traditionell

mit Hilfe unterschiedlicher Software-Tools durchgeführt. Um diese Lücke zu schließen, kooperiert Eppendorf mit CAMO, einem führenden Anbieter von Software-Lösungen für die statistische Analyse. Das Ergebnis ist eine nahtlose Verbindung zwischen der Eppendorf Bioprozess-Steuerungssoftware DASware® control und der CAMO Produktpalette für MVA und DoE. Diese Lösung automatisiert den Datentransfer zwischen den Software-Paketen. So kann der Wissenschaftler die Fähigkeiten all dieser Software-Tools nutzen, ohne sich um die zugrundeliegende Infrastruktur der Daten sorgen zu müssen.



Tipp: Ein aufgezeichnetes Webinar zum Thema finden Sie unter www.eppendorf.com/webinar_mva.

QR-Code scannen für mehr Informationen!

Kultivierung von CHO-Zellen im Eppendorf BioBLU® 10c Single-Use Vessel

AMANDA SUTTLE UND MA SHA, EPPENDORF INC., ENFIELD, CT, USA

Zusammenfassung

Der Arbeitsablauf in einem Bioprozess-Labor kann erheblich vereinfacht werden, wenn herkömmliche Glasbioreaktoren durch Einweg-Materialien ersetzt werden. Einweg-Bioreaktoren machen das Reinigen und Autoklavieren überflüssig. Dies reduziert den Zeitaufwand für die Vorbereitung eines Bioprozesses und senkt das Kontaminationsrisiko.

Ein weiterer Vorteil, insbesondere im größeren Labormaßstab, ist das geringere Gewicht von Kunststoffgefäßen im Vergleich zu Glas. Dadurch können die Sicherheitsrisiken am Arbeitsplatz verringert werden, die mit dem Umgang mit schweren Lasten einhergehen. Das Portfolio der Eppendorf BioBLU c Single-Use Vessel für die Zellkultur deckt Arbeitsvolumina von 100 mL bis 40 L ab. Mit einem Arbeitsvolumen von 3,5 L bis 10 L ist das BioBLU 10c Single-Use Vessel ein wichtiges Bindeglied für den Scale-up vom kleinen Maßstab bis hin zum Hochkapazitäts-Labormaßstab (Abb. 1).



Abb. 1: BioBLU 10c Single-Use Vessel

In dieser Studie haben wir die BioBLU 10c Single-Use Vessel in einem CHO-Zellkulturprozess getestet. Um die Prozessleistung zu bewerten, haben wir Zellwachstum, Viabilität, das metabolische Profil, sowie die Produktion eines IgG-Antikörpers analysiert. Zudem verglichen wir die Zeit, die benötigt wird, um einen Bioprozesslauf unter Verwendung eines Einweg-Bioreaktors und eines Glasgefäßes vorzubereiten.

Wir erreichten eine maximale Zelldichte von etwa 12 Millionen Zellen/mL bei einer Viabilität von über 95 %. Die Ergebnisse zeigen, dass in Zellkultur-Bioprosessen im größeren Labormaßstab das BioBLU 10c Single-Use Vessel 10 L-Glasgefäße ersetzen kann.

Material und Methoden

Zelllinie und Medium

Wir haben eine proprietäre CHO-Suspensionszelllinie der Firma TPG Biologics, Inc. verwendet, die einen humanen, monoklonalen Antikörper (hMAb) produziert. Wir haben die Zellen in CD-FortiCHO™ Medium (Thermo Fisher Scientific®, USA) kultiviert, das mit 1x Antibiotikum-Antimycotikum (Thermo Fisher Scientific, USA), 1x Anti-Verklumpungsmittel (Thermo Fisher Scientific, USA) und 8 mM L-Glutamin versetzt worden war (Komplettmedium).

Vorbereitung der Vorkultur und Inokulation

Wir haben 1×10^7 Zellen in einem 125 mL-Schüttelkolben angeimpft, der 30 mL (24 % des Gesamtvolumens) vorgewärmtes Komplettmedium enthielt. Die CHO-Zellen wurden in einem New Brunswick™ S41i CO₂ Inkubationsschüttler (Eppendorf, Deutschland) bei 37°C in einer Atmosphäre mit 8 % CO₂ und mit einer Rührgeschwindigkeit von 125 rpm kultiviert.

Für eine Woche haben wir die Zellen jeden zweiten Tag passagiert ohne das Volumen zu vergrößern, um genügend Zeit nach dem Auftauen zu lassen. Wir haben dann die Kultur zunächst auf drei 250 mL-Kolben und dann auf sechs 1 L-Kolben erweitert.

Während der Expansion des Kulturvolumens wurden die Inokulationsdichte, die prozentuale Füllung der Schüttelkolben und alle anderen Kulturparameter konstant gehalten.

Wir haben die Kulturen aus allen 1 L-Flaschen kombiniert. Die Zelldichte betrug etwa $4,0 \times 10^6$ Zellen/mL. 99 % der Zellen waren lebensfähig. Wir setzten 729 mL der kombinierten Kultur ein, um das BioBLU 10c Single-Use Vessel, das 10 L Medium enthielt, mit einer Inokulationsdichte von etwa $0,3 \times 10^6$ Zellen/mL zu inokulieren.

Bioreaktor-Steuerung und Prozessparameter

Das BioBLU 10c Single-Use Vessel wurde mit einem BioFlo® 320 Bioprozess Controller gesteuert. Wir kultivierten die CHO-Zellen bei 37°C. Die Temperatur wurde mittels einer Heizmanschette geregelt. Wir haben die Gelöstsauerstoffkonzentration (dissolved oxygen; DO) in der Kultur mit einem optischen ISM® DO-Sensor (Mettler Toledo®, Schweiz) überwacht und sie im 3-Gas Auto Modus auf 50 % reguliert. Da ein höherer Gasfluss zu Beginn eine übermäßige Fluktuation der Gelöstsauerstoffkonzentration und zum Ende der Kultur eine übermäßige Schaumbildung zur Folge haben kann, begrenzten wir die Sauerstoffzufuhr vorausschauend auf 0–3,0 SLPM und den Gasfluss auf 0,04–3,0 SLPM. Zusätzlich wurde Antifoam C Emulsion (Sigma-Aldrich®, USA) nach Bedarf zugesetzt. Wir setzten einen optischen ISM pH-Sensor (Mettler Toledo, Schweiz) ein, um den pH-Wert während des Laufes bei 7,0 (Totzone = 0,2) zu halten, mit einer Kaskade zu CO₂ (Säure) und 0,45 M Natriumhydrogencarbonat (Base). Wir haben täglich eine Probe aus dem Bioreaktor entnommen und die Zelldichte und Viabilität, den pH sowie die Konzentrationen verschiedener Stoffwechselprodukte offline gemessen. Die integrierten DO- und pH-Hülsen im BioBLU 10c Single-Use Vessel ermöglichen den nicht-invasiven Einsatz von optischen DO- und pH-Sensoren, ohne dass eine Sterilisation der Sensoren erforderlich gewesen wäre.

Kultivierung von CHO-Zellen im Eppendorf BioBLU® 10c Single-Use Vessel

Dieses nicht-invasive Design erhöht die Sensorlebensdauer, da es den inkrementellen Sensorschaden eliminiert, der durch wiederholte Sterilisation bei 121°C verursacht wird.

Analytik

Wir haben die Zelldichte und die Viabilität einmal täglich mit Hilfe des Vi-Cell® XR Viability Analyzers (Beckman Coulter®, USA) quantifiziert. Der pH-Wert des Kulturmediums wurde ebenfalls offline gemessen. Wir haben diese Werte verwendet, um die optische pH-Kalibrierung des Controllers zu standardisieren und somit Diskrepanzen zwischen online und offline pH-Messungen zu reduzieren.

Ergebnisse

Vorbereitungszeit

Abb. 2 vergleicht die Zeit für die Vorbereitung und den Abbau von Glas- und Einweg-Bioreaktoren. Der Einsatz des BioBLU 10c Single-Use Vessels sparte Zeit, da das Gefäß vor dem Lauf nicht autoklaviert und nach dem Gebrauch nicht gereinigt werden musste (Abb. 2).

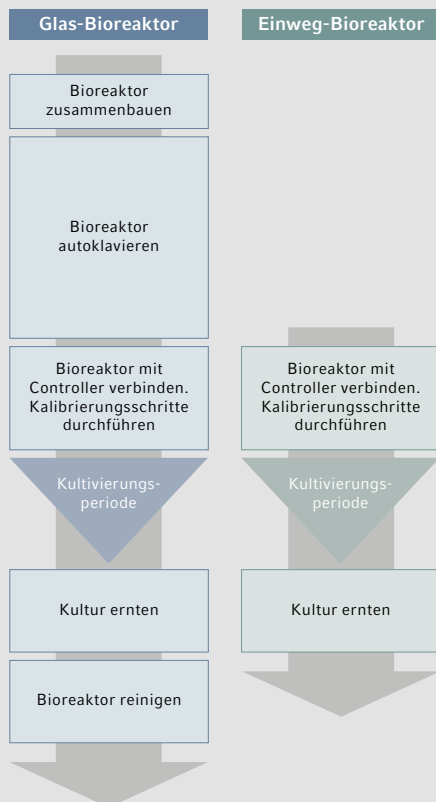


Abb. 2: Arbeitsablauf bei Bioprozess-Läufen in Glas- und Einweg-Bioreaktoren

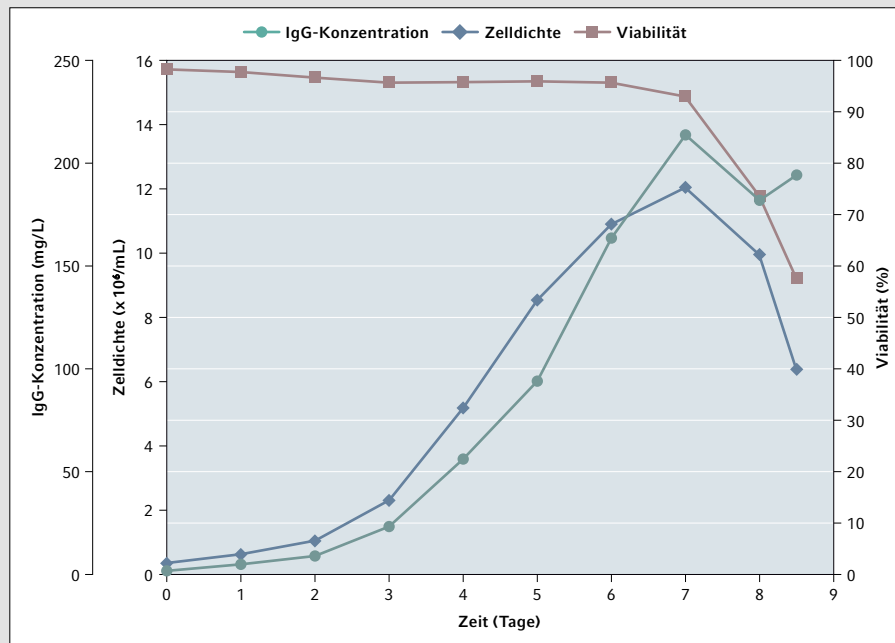


Abb. 3: Bioprozessdaten, gemessen im Laufe eines CHO-Zellkultur Batch-Prozesses

Bioprozess-Daten

In dem Bioprozess haben wir an Tag 7 ein Maximum in der Lebendzellendichte von $12,05 \times 10^6$ Zellen/mL erreicht. Danach nahmen sowohl die Zelldichte als auch deren Lebensfähigkeit wie erwartet ab (Abb. 3).

Die Zellwachstumskurve in dem Einweg-Bioreaktor war mit dem Wachstum dieser Zelllinie in einem Batch-Prozess in einem traditionellen Glasgefäß vergleichbar [1].

An Tag 7 hatten die Zellen die anfänglich zugeführte Glucose verbraucht. Die Ammoniakkonzentration stieg täglich sukzessive bis auf 10,52 mmol/L an Tag 8 an (Daten nicht gezeigt). Sowohl die Abreicherung von Glucose als auch der Anstieg der Ammoniakkonzentration trugen wahrscheinlich zur Verringerung der Lebendzellendichte ab Tag 7 bei.

Im Laufe des achttägigen Batch-Prozesses produzierten die Zellen 212 mg/L hMAb (Abb. 3). Wir beendeten unsere Kultur am Ende des achten Tages.

Fazit

In dem CHO-Batch-Bioprozess haben wir haben mehr als 12 Million Zellen/mL erhalten.

Der Einsatz des BioBLU 10c Single-Use Vessels führte im Vergleich zu normalen Glasgefäßen zu einer erheblichen Zeitersparnis bei der Vorbereitung und beim Abbau des Gefäßes sowie bei der Reinigung. Darüber hinaus wurden arbeitsbedingte Sicherheitsrisiken durch das wesentlich geringere Gewicht des Einweg-Bioreaktors deutlich reduziert.

Literatur

[1] Willard S, Suttle A, Han K, Dorceus M, Cheng P-J, Sha M. Comparing culture methods for monoclonal antibody production. *BioProcess International*. 2017.

Xeno-freie Expansion von humanen pluripotenten Stammzellen mit der neuen CCCadvanced™ FN motifs Wachstums Oberfläche

AURÉLIE TACHENY, SILVIA TEJERINA, WIÂME BEN EL MOSTAPHA, FRANÇOISE DE LONGUEVILLE,
EPPENDORF APPLICATION TECHNOLOGIES S.A., NAMUR, BELGIEN
NADINE MELLIES, EPPENDORF AG, HAMBURG

Einleitung

Pluripotente Stammzellen bieten vielversprechende Möglichkeiten und eine breite Palette von Anwendungen in der Zellkultur [1].

Während der letzten Jahre haben sich die Kulturbedingungen für die Expansion immer weiter von dem traditionellen Modell basierend auf einem „Feeder Layer“ aus murinen embryonalen Fibroblasten in die Richtung von definierten fibroblastenfreien Kultursystemen entwickelt [2].

Allerdings sind allgemein anerkannte biologische Beschichtungen wie z.B. Corning® Matrigel® mit undefinierten Wachstumsfaktoren und Komponenten der extrazellulären Matrix (EZM) versehen, von denen bekannt ist, dass sie die Adhäsion von Zellen sowie die Pluripotenz unterstützen und aufrechterhalten. Dies umfasst jedoch eine undefinierte Zusammensetzung, eine von Charge zu Charge variierende Qualität und Reinheit sowie das potenzielle Risiko einer Kontamination mit Pathogenen.

Vollsynthetische Kultursysteme ohne den Zusatz von tierischen Bestandteilen, die konstante und definierte Kulturbedingungen bieten, sind von großem Interesse, wenn es darum geht, pluripotente Stammzellen in weiterführenden Anwendungen zu verwenden [3].

Die auf einer Eppendorf eigenen Beschichtungstechnologie beruhende CCCadvanced FN1 motifs Oberfläche besteht aus synthetischen von Fibronektin abgeleiteten Motiven, die spezifisch konzipiert sind, um die Zellanheftungsstellen natürlich vorkommender EZM-Proteine zu imitieren. Kombiniert mit einem definierten Kulturmedium sowie Dissoziationslösung stellt diese Oberfläche ohne tierische oder humane Bestandteile eine effektive Alternative zum konventionellen „Feeder Layer“-basierten Kultursystem sowie zu anderen Kultursystemen dar, die auf einer biologischen Beschichtung der Wachstumsfläche basieren. Hier zeigen wir, dass die FN1 motifs Oberfläche hervorragend für die

langfristige Expansion von undifferenzierten humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPS-Zellen) geeignet ist, die als genetisch modifizierte adulte Zellen vergleichbar mit pluripotenten Stammzellen sind.

Material und Methoden

Kryokonservierte hiPS-Zellen wurden zunächst aufgetaut und auf einer mit Matrigel beschichteten Oberfläche (Corning, USA) in einem spezifisch auf die fibroblastenfreie Expansion von hiPS-Zellen angepassten xeno-freien Medium kultiviert. Nach 5 Passagen wurden die Zellen auf der FN1 motifs Oberfläche ausgesät. Das Kulturmedium wurde täglich vollständig durch frisches Medium ersetzt, bis die gewünschte Konfluenz erreicht wurde.

Die hiPS-Zellen wurden für bis zu 25 aufeinanderfolgende Passagen auf der FN1 motifs Oberfläche kultiviert. Das Wachstum der hiPS-Zellen auf FN1 motifs wurde mit hiPS-Zellen verglichen, die parallel auf einer mit Corning Matrigel beschichteten Oberfläche

kultiviert wurden. hiPS-Zellen wurden anhand ihrer Morphologie, Verdopplungszeit, Expression von Pluripotenzmarkern, ihrem Karyotyp sowie ihrem *in vitro* Differenzierungspotenzial in die drei Keimblätter charakterisiert. Ausführliche Informationen zu Material und Methoden stehen in der Application Note 389 zur Verfügung [4].

Ergebnisse und Diskussion

Morphologie und Proliferation

Die FN1 motifs Oberfläche unterstützt die langfristige Expansion von undifferenzierten hiPS-Zellen unter xeno-freien Wachstumsbedingungen. Die Morphologie der hiPS-Zellen entsprach der in einem fibroblastenfreien System erwarteten Morphologie (Abb. 1) und blieb über die gesamten 25 Passagen unverändert. Die Zellen zeigten eine effiziente und konsistente Verdopplungszeit von durchschnittlich 24 h. Die Morphologie und Verdopplungszeit entsprachen in etwa den Werten der parallel auf der Matrigel-Oberfläche kultivierten hiPS-Zellen.

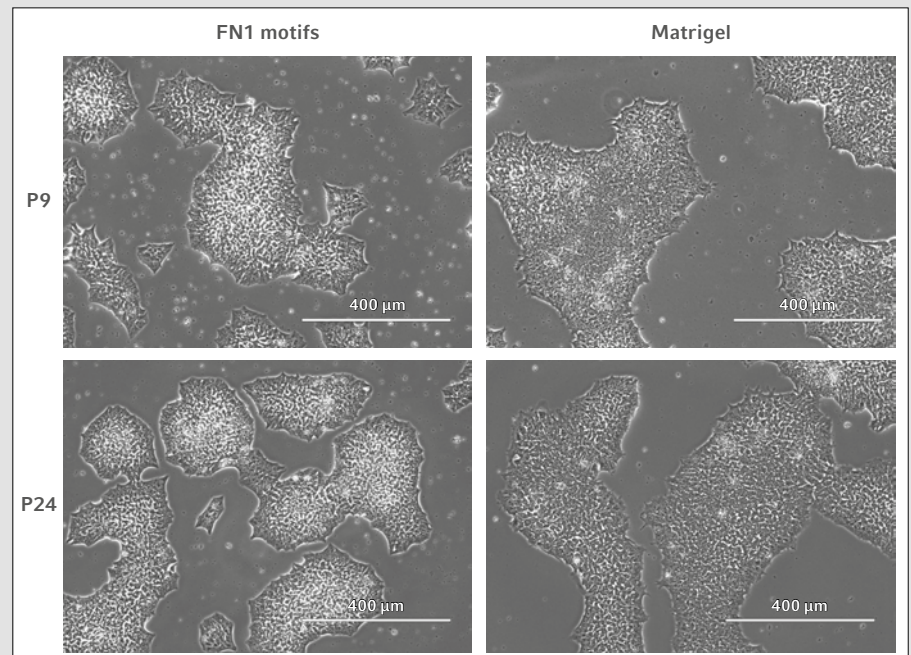


Abb. 1: Morphologie der hiPS-Zellen während langfristiger Expansion

hiPS-Zellen, die auf der FN1 motifs Oberfläche sowie auf einer mit Corning Matrigel beschichteten Oberfläche kultiviert wurden, zeigten homogene flache, glänzende Kolonien mit gut definierten Grenzen. Die Abbildungen zeigen repräsentative Bereiche während der Passagen 9 bzw. 24.

Xeno-freie Expansion von humanen pluripotenten Stammzellen mit der neuen CCCadvanced™ FN motifs Wachstums Oberfläche

Dies zeigt, dass die auf FN1 motifs expandierten hiPS-Zellen eine vergleichbare Morphologie bzw. Proliferationsrate aufweisen wie hiPS-Zellen, die auf dem fibroblastenfreien Referenzsystem expandiert wurden.

Funktionelle Pluripotenz

Die funktionelle Pluripotenz der auf der FN1 motifs Oberfläche expandierten hiPS-Zellen wurde mit Hilfe einer umfangreichen Charakterisierung bestätigt. Während der gesamten Expansion wurde kaum spontane Zelldifferenzierung der hiPS-Zellen beobachtet (<2 % der Gesamtoberfläche einer 6-Well-Platte). Eine Färbung mit alkalischer Phosphatase bestätigt dies. Nach 25 aufeinanderfolgenden Passagen auf FN1 motifs exprimierten die hiPS-Zellen die pluripotenzspezifischen Oberflächenproteine

TRA-1-60 und SSEA4 sowie die mit der Selbsterneuerung assoziierten nukleären Transkriptionsfaktoren SOX2 und OCT4 (Abb. 2). Die Analyse der quantitativen Expression von entscheidenden pluripotenz-assoziierten Transkriptionsfaktoren mittels Durchflusszytometrie bestätigte diese Ergebnisse: hiPS-Zellen exprimierten weiterhin einen hohen Grad an Nanog, OCT3/4 und SOX2 (>95 % positive Zellen innerhalb der Gesamtpopulation). Dieses Expressionsmuster war vergleichbar mit dem der hiPS-Zellen, die auf der Matrigel beschichteten Oberfläche expandiert wurden. Die *in vitro* Differenzierung in Zellen der drei embryonalen Keimblätter bestätigte endgültig den Erhalt der funktionellen Pluripotenz der hiPS-Zellen, die 20 Passagen auf FN1 motifs kultiviert wurden (Abb. 3).

Genomische Stabilität

Da eine langfristige Expansion unter fibroblastenfreien Bedingungen u.U. zu chromosomalen Anomalien in pluripotenten Stammzellen führen kann, ist es enorm wichtig, die genomische Stabilität zu kontrollieren. Eine Analyse der G-Bänderung des Karyotyps zeigte einen normalen humanen Karyotyp (46XY) ohne chromosomale Anomalien und bestätigte die genomische Stabilität von hiPS-Zellen nach der Langzeitkultur auf der FN1 motifs Oberfläche.

Fazit

Die gebrauchsfertige FN1 motifs Oberfläche unterstützt die langfristige Expansion von hiPS-Zellen bei konstanter Wachstumsrate, wobei die hiPS-Zellen ihre charakteristische Morphologie in dem vollständig definierten Kultursystem beibehalten. Während der Expansion über mindestens 20 aufeinanderfolgende Passagen bleiben die hiPS-Zellen undifferenziert und behalten alle spezifischen Eigenschaften pluripotenter Stammzellen, einschließlich des Keimbahn-Differenzierungspotenzials sowie ihrer genomischen Integrität, bei.

Literatur

- [1] Kumar D, Anand T, Kues WA. Clinical potential of human-induced pluripotent stem cells: Perspectives of induced pluripotent stem cells. *Cell Biology and Toxicology* 2017; 33(2): 99-112.
- [2] Celiz AD, Smith JG, Langer R, Anderson DG, Winkler DA, Barrett DA, Davies MC, Young LE, Denning C, Alexander MR. Materials for stem cell factories of the future. *Nature Materials* 2014; 13(6): 570-579.
- [3] Tong Z, Solanki A, Hamilos A, Levy O, Wen K, Yin X, Karp JM. Application of biomaterials to advance induced pluripotent stem cell research and therapy. *EMBO* 2015; 34(8): 987-1008.
- [4] Tacheny A, Tejerina S, Ben El Mostapha W, Mellies N, de Longueville F. Ready-to-use CCCadvanced™ FN1 Motifs Surface for Xeno-Free Expansion of Human Pluripotent Stem Cells. *Eppendorf Application Note* 389; erhältlich unter www.eppendorf.com/appnote389 oder mittels QR Code.

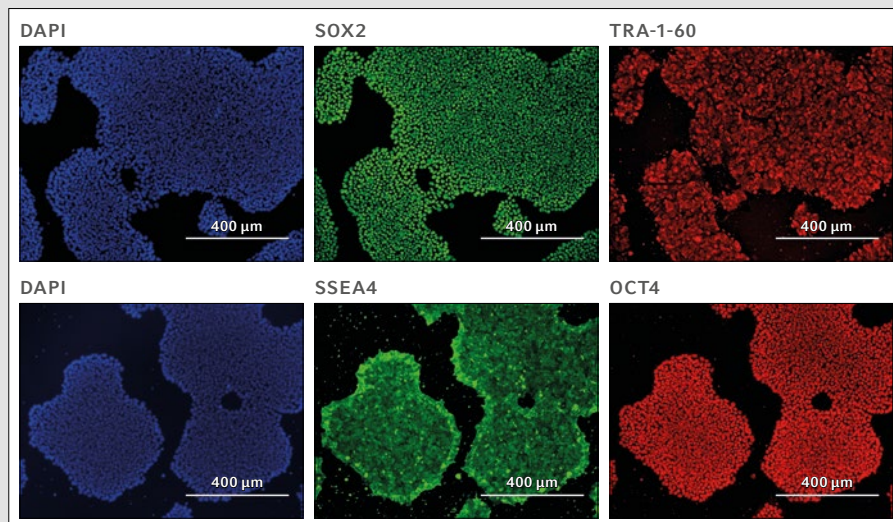


Abb. 2: Immunofluoreszenzfärbung von Pluripotenzmarkern nach langfristiger Expansion von hiPS-Zellen

Nach 25 aufeinanderfolgenden Passagen auf der FN1 motifs Oberfläche exprimierten die hiPS-Zellen laut Immunfluoreszenzfärbung die Pluripotenzmarker SOX2, TRA-1-60, SSEA4 und OCT4. Die Zellen wurden mit DAPI gegengefärbt. Die Bilder zeigen repräsentative Bereiche der nach 25 Passagen in Kultur angefärbten hiPS-Zellen.

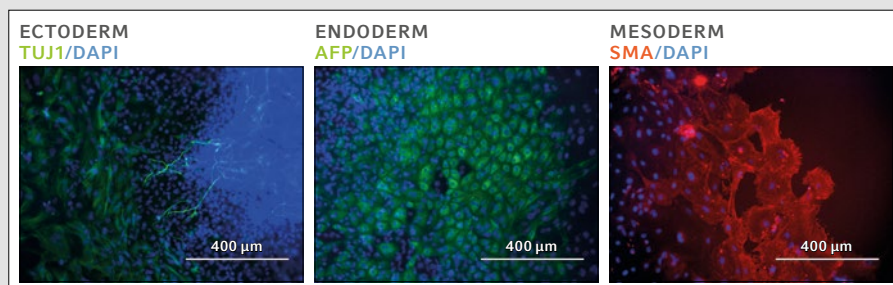


Abb. 3: Potenzial der Differenzierung in die drei Keimblätter nach langfristiger Expansion von hiPS-Zellen

Nach 20 aufeinanderfolgenden Passagen auf der FN1 motifs Oberfläche behielten hiPS-Zellen ihr Differenzierungspotenzial in die drei Keimblätter bei, wie durch die spezifische Fluoreszenzfärbung von drei spezifischen Markern der embryonalen Keimbahnen bestätigt werden konnte: β -III Tubulin (TUJ1) im Ektoderm, alpha-Fetoprotein (AFP) im Endoderm und Glattmuskel-Aktin (SMA) im Mesoderm. Die Zellen wurden mit DAPI gegengefärbt.



QR-Code scannen für
mehr Informationen!

ViscoTip®: optimale Leistung mit hochviskosen Flüssigkeiten

HANAË HENKE UND ANDREAS RATZKA, EPPENDORF AG, HAMBURG

Zusammenfassung

In dieser Application Note maßen wir die Präzision und die Genauigkeit beim Dosieren von Glycerin 99,5 % mit Hilfe von ViscoTip Pipettenspitzen und konnten zeigen, dass sowohl der systematische Fehler als auch der Zufallsfehler innerhalb der in ISO 8655 dargelegten Fehlergrenzen für destilliertes Wasser fallen. Zusätzlich verglichen wir 10 mL ViscoTip Pipettenspitzen und 10 mL Combitips advanced® beim Umgang mit verschiedenen viskosen Flüssigkeiten. Combitips advanced konnten Flüssigkeiten mit Viskositäten bis zu 200 mPa*s (z.B. Glycerin 86 %) bewältigen. Im Gegensatz dazu waren die ViscoTip Pipettenspitzen in der Lage, auch hochviskose Flüssigkeiten (z.B. flüssigen Honig, circa 12.000 mPa*s) mühelos und mit geringeren Aufnahme- und Abgabekräften zu pipettieren. Insgesamt empfehlen wir ViscoTip Pipettenspitzen für zuverlässiges Arbeiten mit Flüssigkeiten, deren Viskosität 200 mPa*s übersteigt.

Einleitung

Hochgradig viskose Flüssigkeiten wie z.B. Glycerin oder Tween® 20 finden regelmäßige Anwendung im Labor – häufig als Pufferkomponenten. Durch ihr spezielles Fließverhalten gestaltet sich der Umgang mit diesen Flüssigkeiten häufig schwierig. Direktverdränger-Pipetten und -Dispenser, welche nach dem Prinzip einer Spritze funktionieren, vereinfachen das Arbeiten mit viskosen Lösungen bis zu ihrer individuellen Grenze. Wenn ein gewisser Grad an Viskosität erreicht ist, nehmen Präzision und Genauigkeit jedoch i.d.R. ab und die Aufnahme- und Abgabekräfte, welche aufgebracht werden müssen, steigen an.

Die Viskosität wird mit Hilfe von Viskosimetern bestimmt, wobei die meisten die Flüssigkeitsbewegung messen, d.h. die dynamische Viskosität. Die dynamische Viskosität wird als diejenige Kraft definiert, welche von einer Flüssigkeit aufgebracht werden muss, um ihre eigene molekulare Reibung, den internen Fließwiderstand, zu überwinden.

Die dynamische Viskosität wird in der Maßeinheit mPa*s (Millipascalsekunde) ausgedrückt [1, 2].

In dieser Application Note wurden ViscoTip Pipettenspitzen und Combitips advanced getestet und mit Bezug auf Präzision, Genauigkeit und die Kraft, welche für die Aufnahme bzw. Abgabe aufgewendet werden muss, miteinander verglichen.

Material und Methoden

Bestimmung des systematischen Fehlers und des Zufallsfehlers mit Hilfe von Glycerin 99,5 %

Der systematische Fehler und der Zufallsfehler von ViscoTip Pipettenspitzen wurden gravimetrisch mit Hilfe von anhydriertem Glycerin 99,5 % bestimmt. Die Messungen wurden gemäß der ISO 8655-Vorschriften durchgeführt. Da für Glycerin keine Fehlergrenzen definiert sind, wurden die Fehlergrenzen von destilliertem Wasser, wie in ISO 8655 dargelegt [3], sowie die strengeren Eppendorf-Fehlergrenzen der 10 mL Combitips advanced [4] als Referenzwerte eingesetzt.

Bestimmung des korrekten Dosiervolumens mit Hilfe verschiedener viskoser Flüssigkeiten

Das korrekte Dosiervolumen der 10 mL Combitips advanced und der

10 mL ViscoTip Pipettenspitzen wurde gravimetrisch mit Hilfe verschiedener viskoser Flüssigkeiten bestimmt. Die Multipette® E3x wurde für diese Versuche eingesetzt. Für die Aufnahme sowie die Abgabe wurden die Geschwindigkeitsstufen 5 bzw. 2 gewählt.

Vergleich von Aufnahme- und Abgabekräften verschiedener viskoser Flüssigkeiten

Die Messungen von Aufnahme- und Abgabekräften für Flüssigkeiten, die mit Combitips advanced und ViscoTip Pipettenspitzen pipettiert werden können, wurden mittels des digitalen Kraftmessers FH 100 (Sauter GmbH) durchgeführt. 5 mL einer jeden Flüssigkeit wurden jeweils fünfmal aspiriert und wieder abgegeben. Das arithmetische Mittel wurde sodann berechnet.

Ergebnisse und Diskussion

Sowohl der systematische Fehler als auch der Zufallsfehler beim Pipettieren von Glycerin 99,5 % befinden sich innerhalb der ISO-Grenzen für destilliertes Wasser

Glycerin 99,5 % ist eine der am häufigsten eingesetzten Flüssigkeiten im Labor und ist zugleich hochgradig herausfordernd. In unserer Testserie lagen sowohl der systematische Fehler als auch der Zufallsfehler beim Dosieren von Glycerin 99,5 % mit Hilfe der Multipette M4 mit ViscoTip Pipettenspitzen innerhalb der ISO 8655-Fehlergrenzen für destilliertes Wasser. Zusätzlich lagen die Fehler ebenfalls innerhalb der wesentlich strengeren Eppendorf-Fehlergrenzen für Direktverdränger-Dosiersysteme. Beim Einsatz einer Multipette E3x mit ViscoTip Pipettenspitzen erfüllten die Fehlergrenzen ebenfalls die ISO 8655-Vorgaben für destilliertes Wasser (Tabelle 1). Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse, dass der ViscoTip mit Glycerin so präzise und genau arbeitet wie andere Direktverdränger-Tips mit destilliertem Wasser.

Der ViscoTip übertrifft klassische Tips beim Pipettieren verschiedener viskoser Flüssigkeiten

Anhand der 10 mL Combitips advanced und verschiedener viskoser Flüssigkeiten wurde gezeigt, dass die Grenze des

Multipette® E3x	Gemessene Werte			ISO 8655-Fehlergrenzen		
	1.000 µL	5 mL	10 mL	1.000 µL	5 mL	10 mL
Systematischer Fehler [%]	-0,3	-0,3	-0,3	±5,0	±1,0	±0,5
Zufallsfehler [%]	0,3	0,2	0,1	±3,0	±0,6	±0,3

Multipette® M4	Gemessene Werte			ISO 8655-Fehlergrenzen		
	200 µL	1.000 µL	2.000 µL	200 µL	1.000 µL	2.000 µL
Systematischer Fehler [%]	-0,3	-0,3	-0,3	±8,0	±1,6	±0,8
Zufallsfehler [%]	0,5	0,3	0,2	±4,0	±0,8	±0,4

Tabelle 1: Systematischer Fehler und Zufallsfehler des ViscoTip mit Glycerin 99,5 % (n=10)

ViscoTip®: optimale Leistung mit hochviskosen Flüssigkeiten

Flüssigkeit	Dynamische Viskosität in mPa*s	Combitip advanced 10 mL	ViscoTip® 10 mL
Mineralöl	26 (23°C)	✓	✓
Motorenöl	130 (23°C)	✓	✓
Paraffinöl	200 (20°C)	✓	✓
Triton® X-100	240 (25°C)	(✓)	✓
Tween® 20	400 (25°C)	(✓)	✓
Viskositätsstandard APN1400	5.041 (20°C) 3.418 (25°C)	X	✓
Flüssiger Honig	12.500 (22°C)	X	✓
Handcreme	13.600 (23°C)	X	✓
Viskositätsstandard APN4000	14.042 (20°C) 9.256 (25°C)	X	✓

Tabelle 2: Vergleich der Verwendbarkeit von Combitips advanced und ViscoTip für das Verarbeiten verschiedener viskoser Flüssigkeiten

✓ Dosierte Flüssigkeitsvolumina waren korrekt;

(✓) Fehlermeldung im letzten Dosierschritt;

X Dosierte Flüssigkeitsvolumina waren nicht korrekt oder Aufnahme/Abgabe unmöglich

Pipettieren bei einer dynamischen Viskosität um die 200 mPa*s liegt. Flüssigkeiten mit höherer Viskosität können ab diesem Punkt nicht mehr pipettiert werden (Tabelle 2).

Im Gegensatz dazu ermöglichen die ViscoTip Pipettenspitzen das Dosieren von korrekten Volumina verschiedener viskoser Flüssigkeiten. Eine jede Spitze wurde vor dem Messvorgang vorbefeuchtet. Unsere Versuche zeigten, dass die Vorbefeuchtung der ViscoTip Pipettenspitzen entscheidend ist, um zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen.

Wir konnten zeigen, dass der ViscoTip in der Lage ist, eine breite Palette an Flüssigkeiten mit dynamischen Viskositäten

zwischen <200 und 14.000 mPa*s zu bewältigen. Im Vergleich dazu erreichten die 10 mL Combitips advanced generell bei einer dynamischen Viskosität von etwa 200 mPa*s ihre Grenze. Bei Tween 20 und Triton® X-100 war der letzte Dosierschritt mit Combitips advanced nicht mehr korrekt durchführbar und führte zu einer Fehlermeldung. Demgegenüber konnten alle untersuchten Flüssigkeiten erfolgreich mit dem ViscoTip aspiriert und dosiert werden.

Der ViscoTip reduziert Aufnahme- und Abgabekräfte

Ein weiterer wichtiger Parameter beim Pipettieren von viskosen Flüssigkeiten ist die Bedienkraft, welche zum Aufnehmen und Abgeben der Flüssigkeit

aufgebracht werden muss. Diejenigen Flüssigkeiten, welche in den vorangegangenen Tests das korrekte Dosiervolumen zeigten, wurden ebenfalls eingesetzt, um auch die Bedienkräfte der Combitips advanced zu bestimmen. Es konnte gezeigt werden, dass die Aufnahme- und Abgabekräfte der ViscoTip Pipettenspitzen gegenüber denjenigen der Combitips advanced stark reduziert waren (Abb. 1).

Aus diesem Grunde empfehlen wir den Einsatz von ViscoTip Pipettenspitzen auch für solche Flüssigkeiten, die mit beiden Spitzenvarianten verarbeitet werden können, um die besten Ergebnisse mit dem geringsten Kraftaufwand zu erzielen.

Fazit

Die Ergebnisse aus den Versuchen mit verschiedenen viskosen Flüssigkeiten zeigten, dass der ViscoTip in der Lage war, viskose Flüssigkeiten bis zu 14.000 mPa*s zu bewältigen.

Darüberhinaus erfüllte er beim Dosieren von Glycerin 99,5% sowohl die in ISO 8655 dargelegten Fehlergrenzen sowie die strengeren Eppendorf-Fehlergrenzen. Aufnahme- und Abgabekräfte waren weiterhin stark reduziert, wenn ViscoTip Pipettenspitzen im Vergleich zu Combitips advanced eingesetzt wurden.

Generell empfehlen wir den Gebrauch von 10 mL Combitips advanced für Flüssigkeiten mit einer maximalen Viskosität von 200 mPa*s. Für Flüssigkeiten mit höherer Viskosität sollten ViscoTip Pipettenspitzen eingesetzt werden, um korrekte Dosierergebnisse zu garantieren.

Literatur

[1] <https://www.corrosionpedia.com/definition/5323/dynamic-viscosity>

[2] <https://www.apgsensors.com/about-us/blog/how-to-measure-the-level-of-viscous-liquids>

[3] DIN EN ISO 8655:2002, Teile 1–6. Volummessgeräte mit Hubkolben. Beuth-Verlag, Berlin

[4] Standard Operating Procedure. www.eppendorf.com/sop

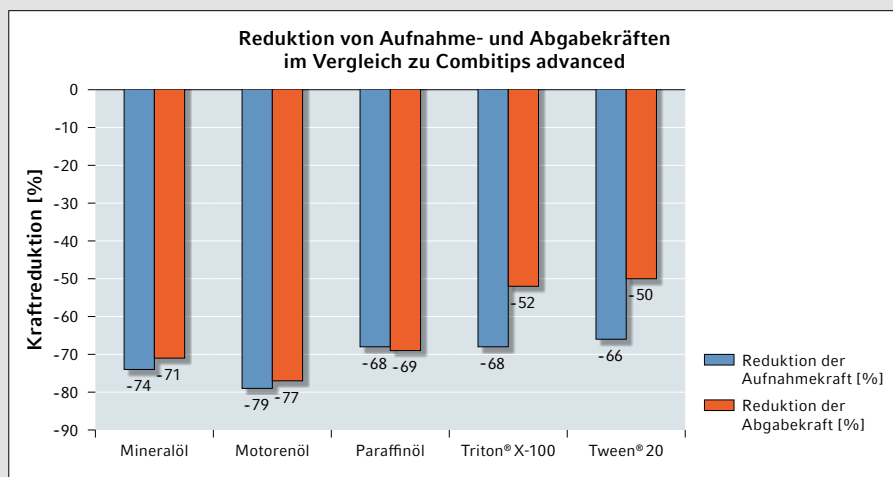


Abb. 1: Reduktion von Kräften, welche zum Aufnehmen/Abgeben von Flüssigkeiten mit dem ViscoTip im Vergleich zu Combitips advanced (Ausgangswert) aufgebracht werden müssen. n=3

Das 10 µL Dosierwerkzeug gewährleistet hochgradig genaues und präzises Pipettieren im sub-Mikroliterbereich auf der epMotion® 5073I

ERIC GANCAREK, SANDRINE HAMELS, EPPENDORF APPLICATION TECHNOLOGIES S.A., NAMUR, BELGIEN
DOMINIK SCHNEIDER, EPPENDORF AG, HAMBURG

Zusammenfassung

Diese Application Note beschreibt, wie ein quantitativer Polymerasekettenreaktionsansatz (qPCR) mit kleinen Reaktionsvolumina mit Hilfe des epMotion 10 µL Dosierwerkzeuges automatisiert werden kann. Für den PCR-Ansatz wurde ein Probenvolumen von 0,2 µL in einem Gesamtreaktionsvolumen von 5 µL eingesetzt. Die Leistung der qPCR wurde anhand eines hochsensitiven qPCR-Assays bewertet. Aufgrund der herausragenden Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass ein qPCR-Ansatz mit geringen Volumina erfolgreich auf der epMotion 5073I automatisiert werden kann. Der Einsatz der epMotion erhöht sowohl die Konsistenz als auch die Effizienz der Dosierung von Kleinstvolumina, da menschliche und tagesbedingte Variationen als Fehlerquellen vermieden werden. Zusätzlich sparen Forscher durch die Vermeidung repetitiver Arbeitsschritte bzw. durch den geringeren Bedarf an teuren Reagenzien Zeit und Geld.

Einleitung

Laborverfahren gewinnen heutzutage zunehmend an Komplexität, was die Notwendigkeit von Maßstabsverringern bei Assays immer weiter vorantreibt. Die Tendenz zur Miniaturisierung von Assays findet im Rahmen einer Vielzahl verschiedener Anwendungen statt, wie z.B. dem Screening von Wirkstoffen in der Arzneimittelforschung der pharmazeutischen Industrie [1].

Die Möglichkeit, primäre Screening-Assays in Mikrotiterplatten in Volumina von 1–2 µL durchzuführen, wird die Frühstadien der Medikamentenforschung beschleunigen und somit die Kosten reduzieren. Ein weiteres Anwendungsgebiet stellt die molekularbiologische Forschung dar, insbesondere die Technologie der quantitativen PCR. Diese ist jedoch kostenintensiv. Eine Möglichkeit, die Kosten zu senken, ist die Verringerung der Reagenzvolumina. Die Maßstabsverkleinerung von Assays bietet weitere Vorteile, da das Volumen von

DNA-Extrakten für die qPCR in vielen Fällen begrenzt ist, wie z.B. in der gerichtsmmedizinischen Analyse [2].

Ein miniaturisierter Assay ermöglicht die Durchführung einer qPCR auch bei geringer Menge an vorhandener DNA, oder es können mit derselben Menge an biologischem Material mehr Experimente durchgeführt werden, was eine bessere Interpretation der Ergebnisse ermöglicht. Eine Maßstabsverkleinerung erhöht ebenfalls die Anzahl der parallel durchführbaren Reaktionen und verringert somit die Dauer einer Analyse. Aus diesen Gründen werden qPCR-Systeme im Niedrigdurchsatz vermehrt durch 384-Well-Geräte ersetzt. Trotz dieser Vorteile verlangt die Miniaturisierung des Versuchsansatzes eine genaue und präzise Dosierung kleinster Volumina. Die Abgabe von sub-µL Volumina ist anspruchsvoll und stellt eine beachtliche Hürde bei der Etablierung von miniaturisierten Assays dar. Eines der Probleme, vor dem alle Labore stehen, ist der menschliche Faktor, da miniaturisierte Assays typischerweise im 384-Well-Plattenformat durchgeführt werden. Daher gilt: Je geringer das Dosiervolumen ist, desto größer sollte die Erfahrung des technischen Personals sein. Abschließend können neben dem menschlichen Faktor noch geringe Variationen in der Labortemperatur und der Luftfeuchtigkeit einen signifikanten Einfluss auf die korrekte Dosierung kleiner Volumina ausüben. Bei einer derart großen Anzahl von Variablen, welche den Dosiervorgang beeinflussen, ist die Auswahl der optimalen Lösung für das Arbeiten mit Kleinstvolumina von höchster Bedeutung. Eine solche Lösung, welche insbesondere für die Verarbeitung von großen Probenzahlen innerhalb eines geringen Zeitraumes gut geeignet ist, ist die Automatisierung. Die Möglichkeit zur automatisierten Vorbereitung von qPCR-Assays mit Hilfe von epMotion Liquid-Handling-Systemen wurde bereits gezeigt [3–5].

Durch eine Minimierung menschlichen Eingreifens und dank eines akkuraten Pipettiersystems liefern die epMotion-

Systeme eine gleichbleibend hohe Reproduzierbarkeit von Assays ohne Kreuzkontamination und somit zuverlässige Ergebnisse. Das neue, für die automatisierten epMotion Liquid-Handling-Systeme entwickelte 10 µL Dosierwerkzeug ermöglicht genaues und präzises Dosieren von kleinen Volumina bis 200 nL. In dieser Application Note wird die Effizienz des 10 µL Werkzeugs durch die Entwicklung einer PCR-Vorbereitung mit kleinen Probenvolumina demonstriert.

Material & Methoden

Das KAPA® Library Quantification Kit für Illumina® Sequenzierplattformen wurde für die Experimente verwendet. Das Kit beinhaltet den Master Mix, Primer (Sense: 5'-AAT GAT ACG GCG ACC ACC GA-3'; Antisense: 5'-CAA GCA GAA GAC GGC ATA CGA-3') sowie gebrauchsfertige DNA-Standards. Alle Reaktionen wurden in einem Gesamtvolumen von 5 µL mit 4,8 µL Master Mix mit Primern und Wasser durchgeführt. Als template-DNA wurden 0,2 µL des DNA-Standards verwendet. Der Ansatz wurde den folgenden Temperaturbedingungen ausgesetzt: 5 min bei 95°C, gefolgt von 35 Zyklen à 30 s bei 95°C und 45 s bei 60°C. Der PCR-Ansatz wurde auf einem epMotion 5073I System automatisiert vorbereitet. 4,8 µL des Mastermixes, einschließlich der spezifischen Oligonukleotide, wurden in einer 96-Well-Platte vorgelegt, gefolgt von der Zugabe von 0,2 µL des DNA-Templates oder H₂O für die Kontrollen ohne Template.

Ergebnisse und Diskussion

Die Automatisierung des qPCR-Ansatzes mit Hilfe des 10 µL Dosierwerkzeugs und der epMotion 5073I wurde mit einem manuellen Ansatz verglichen. Zum direkten Vergleich wurden die manuellen und automatisierten Ansätze am selben Tag und in der gleichen qPCR-Platte durchgeführt.

Effizienz und Reproduzierbarkeit des Assays

Um die Dosiereffizienz der epMotion 5073I zu beurteilen, wurde ein hochsen-

Das 10 µL Dosierwerkzeug gewährleistet hochgradig genaues und präzises Pipettieren im sub-Mikroliterbereich auf der epMotion® 5073I

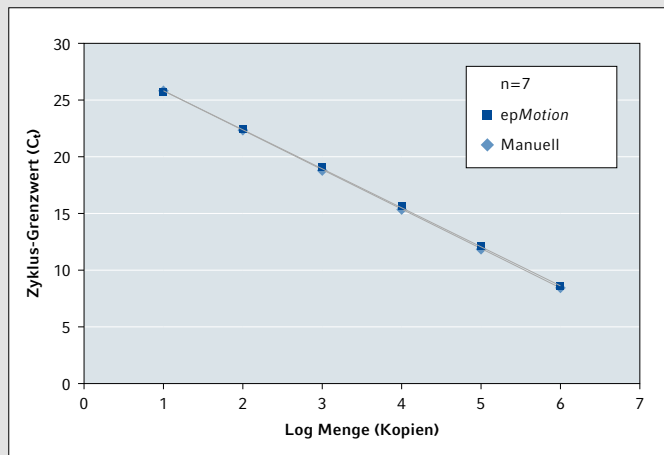


Abb. 1: Standardkurven für das KAPA Library Quantification Kit. Die Standardkurven wurden mit Hilfe von sechs DNA Standards mit Template-Volumina von jeweils 0,2 µL erstellt.

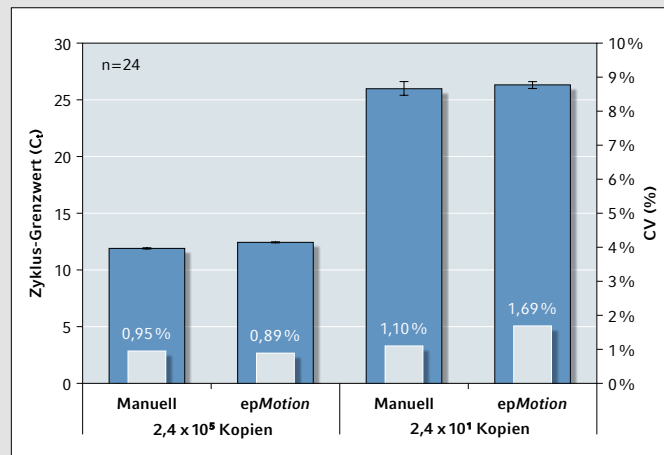


Abb. 2: Reproduzierbarkeit des KAPA Library Quantification Kits. Mittlerer Ct-Wert zwischen den einzelnen Proben, Standardabweichung und Variationskoeffizient (CV) wurden für jede Platte mit 24 Positivkontrollen errechnet.

Parameter	Manuell	epMotion
Steigung	-3,48	-3,42
Effizienz	94 %	96 %
R ²	1,0	0,9995
Nachweisgrenze	24 Kopien	24 Kopien

Tabelle 1: qPCR-Effizienzparameter für das KAPA Library Quantification Kit

sitiver qPCR-Assay, das KAPA Library Quantification Kit, verwendet. Dieses Kit stellt alle für die qPCR-Quantifizierung von Illumina-Bibliotheken benötigten Reagenzien sowie sechs gebrauchsfertige, definierte Standards bereit. Die Effizienzen wurden anhand einer Standardkurve der DNA-Standards errechnet, und sie zeigten vergleichbare Ergebnisse zum manuellen PCR-Ansatz (Abb. 1, Tabelle 1).

Die Reproduzierbarkeit des Assays wurde durch den Vergleich der Ergebnisse aus 24 Positivkontrollen, die entweder niedrige oder hohe Anzahlen von DNA-Kopien enthielten, beurteilt. Es konnte gezeigt werden, dass der mittlere Ct-Wert sowohl im automatisierten als auch im manuellen Ansatz für eine definierte Menge an DNA-Kopien hochgradig konstant ist. Der Variationskoeffizient des automatisierten qPCR-Ansatzes übersteigt in keinem Fall 0,89 % für hohe Kopienzahlen bzw. 1,69 % für niedrige Kopienzahlen (Abb. 2).

Fazit

In dieser Application Note wurde die Fähigkeit des epMotion 5073I Liquid-Handling-Systems, die Vorbereitung eines vollständigen qPCR-Ansatzes mit kleinen Volumina wie z.B. 0,2 µL zu automatisieren, dargestellt.

Die Ergebnisse aus dem automatisierten qPCR-Ansatz waren hochgradig genau und reproduzierbar und mit den Ergebnissen eines manuellen Ansatzes vergleichbar. Als eine äußerst empfindliche Anwendung wurde die qPCR herangezogen, um die Robustheit des 10 µL epMotion Dosierwerkzeugs zu veranschaulichen.

Das Dosieren von sub-µL Volumina kann auf eine Vielzahl von Anwendungen, welche den Umgang mit Kleinstvolumina erfordern, wie z.B. die Arbeit mit Proteinen, das Wirkstoff-Screening oder Zellkultur-Assays, ausgeweitet werden. Die hier dargelegten Ergebnisse zeigen eindeutig, dass die automatische epMotion mit dem 10 µL Dosierwerkzeug eine hohe Reproduzierbarkeit von Assays garantiert, was durch die Reduzierung von menschlichen Fehlern und durch die genaue Pipettierleistung stabile und zuverlässige Ergebnisse liefert.

Literatur

- [1] Hertzberg RP and Pope AJ. High-throughput screening: new technology for the 21st century. *Current Opinion in Chemical Biology* 2000; 4:445-451.
- [2] Valones MAA, Guimarães RL, Brandão LAC, Eleutério de Souza PR, Carvalho AT and Crovela S. Principles and applications of Polymerase Chain Reaction in medical diagnostic fields: a review. *Brazilian Journal of Microbiology* 2009; 40:1-11.
- [3] Espy MJ, Uhl JR, Sloan M, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA, Yao JDC, Wengenack NL, Rosenblatt JE, Cockerill III FR and Smith TF. Real-Time PCR in Clinical Microbiology: Applications for Routine Laboratory Testing. *Clinical Microbiology Reviews* 2006; 19:165-256.
- [4] Proff C, Rothschild MA and Schneider PM. Low volume PCR (LV-PCR) for STR typing of forensic casework samples. *International Congress Series* 1288 2006; 645-647.
- [5] Gancarek E, Vanbellighen B, Hamels S and Art M. Efficient qPCR Setup Without Cross Contamination Using the epMotion® Family of Automated Liquid Handling Systems; *Eppendorf Application Note* No. 368; 2016. www.eppendorf.com/appnote368

MATTHEW JURKIEWICZ, EPPENDORF AG

Innova® S44i: auf kleinerer Fläche mehr Zellen kultivieren

Seit über 70 Jahren tragen Eppendorf und die biologischen Schüttler der Innova-Familie dazu bei, dass Wissenschaftler bessere Ergebnisse erzielen. Jetzt haben wir die Schüttlertechnologie bereit für die Zukunft gemacht und möchten Ihnen helfen, Ihr Labor und Ihre Forschung weiterzuentwickeln. Erfahren Sie mehr über den neuen biologischen Schüttler Innova S44i, die neueste Ergänzung unseres bekannten Portfolios an Life-Science-Lösungen. Nutzen Sie die Kombination aus hervorragender Leistung und Zuverlässigkeit und erweitern Sie das Potential Ihres Labors!

S44i: stapelbarer Schüttler mit großer Kapazität

Platz im Labor ist immer knapp. Im Verhältnis zu seiner Stellfläche und seiner Größe muss jedes Gerät maximale Ergebnisse liefern. Der Innova S44i hat eine optimierte Kammer und bietet Plattformen und Erweiterungsmöglichkeiten ganz nach Ihrem Bedarf. Die geräumige Kammer fasst mehrere 5-Liter-Erlenmeyerkolben sowie eine Vielzahl an Racks, Platten und Gefäßen für mehr Flexibilität. Zur Kapazitätserweiterung kann der Innova S44i zweifach oder dreifach übereinandergestapelt werden, ohne wertvollen Stellplatz im Labor zu vereinnahmen. Innerhalb der Kammer ermöglicht ein optionaler statischer Einlegeboden die Inkubation von Proben, die keine Agitation benötigen.



Innova S44i: die nächste Generation der biologischen Schüttler

Zuverlässiges Schütteln

Seit seiner Einführung ist der gusseiserne Dreifach-Exzenterantrieb der Innova-Vorgängermodelle der Goldstandard in der Schüttler-Antriebstechnologie. Er ist das Fundament, auf dem die Innova-Shaker und das Vertrauen der wissenschaftlichen Gemeinde gebaut sind.

Der neue, verbesserte und patentierte* Eppendorf X-Drive verleiht dem modernen biologischen Schüttler eine noch höhere Leistungsfähigkeit, Flexibilität und Anwendersicherheit. Mit seinen fünf Exzenterachsen gleicht der Eppendorf X-Drive auch schwerste Beladungen aus und sorgt für gleichmäßiges, reibungsloses Schütteln. Die robuste Bauweise dieses Präzisionsantriebs ist für dauerhaften Betrieb ausgelegt. (*Patentnummer US 8,226,291 B2).

Zukunftsweisende Bedienung

Kapazität und Zuverlässigkeit sind nur eine Seite der Medaille. Genauso wichtig sind eine einfache Programmierung und Versuchsüberwachung sowie der Export von experimentellen Daten. Das neue Touchscreen-Bedienfeld des Innova S44i bietet weit mehr als nur bequeme Bedienung. Mit diesem Multi-Touch-Display können Sie alle benötigten Informationen unkompliziert überwachen und verfolgen.

Der nach Ihren Bedürfnissen konfigurierbare Home-Bildschirm bietet umfassende Daten auf einen Blick, erlaubt die Einstellung mehrstufiger Programme und die Verwaltung mehrerer Benutzer.



Intuitive Bedienung per Touchscreen

VisioNize® vernetzt Ihr Labor

Durch die Anbindung des Innova S44i an das VisioNize-System profitieren Sie von den Vorzügen eines intelligenten Labornetzwerks. VisioNize verbindet Laborgeräte mit einer zentralen Überwachungs- und Datenmanagementsoftware, so dass Sie Ihre vernetzten Laborgeräte jederzeit und von überall effizient organisieren können. Der Innova S44i ist als VisioNize-onboard-Gerät bereits mit VisioNize-Funktionen ausgestattet, so dass Sie seinen Status per VisioNize core an Ihrem PC oder über die mobile App VisioNize go überwachen können.

Für weitere Informationen über die nächste Evolution der biologischen Schüttler, den Innova S44i, besuchen Sie www.eppendorf.com/InnovaS44i.

CHRISTIAN HABERLANDT, EPPENDORF AG

CellXpert® C170i: der neue Spezialist für die Kultivierung sensibler Zellen

Sensible Zellen wie Stammzellen oder primäre Zellen stellen hohe Anforderungen an ihre Kulturbedingungen. Das richtige Zellkulturmedium, eine optimale Wachstumsfläche sowie eine hochkonstante Inkubationsatmosphäre sind dabei wesentliche Faktoren. Der neue Eppendorf CellXpert C170i setzt im Bereich der CO₂-Inkubation neue Maßstäbe, gewährleistet eine hohe Flexibilität für die Zukunft, vereinfacht eine umfassende, ausfallsichere Dokumentation und ist integraler Bestandteil des vernetzten Labors von morgen.



Sichere Entnahme von Gefäßen mit wertvollen Zellen und Medien. Innen- und Außentür lassen sich z.B. mit dem Ellenbogen schließen.

Flexibel in die Zukunft

Können Sie heute schon entscheiden, was Ihr neuer Inkubator in fünf Jahren alles können muss? Mit welchen Zellen und unter welchen Kulturbedingungen werden Sie arbeiten? Wie wird sich die personelle und räumliche Situation des Labors entwickeln? Der CellXpert C170i ermöglicht Ihnen, sich veränderten Anforderungen und Bedingungen flexibel anzupassen. Neben zahlreichen Ab-Werk-Optionen gibt es diverse Upgrade-Möglichkeiten direkt bei Ihnen vor Ort. Wenn Sie z.B. in zwei Jahren Stammzellen kultivieren möchten, können Sie ein Paket zur O₂-Kontrolle einfach nachrüsten lassen. Auch beim Thema digitaler Wandel im Labor und Vernetzung ist der C170i bereits in der Zukunft angekommen: Per VisioNize®-Schnittstelle (s. auch S. 11) können z.B. Inkubationsparameter und Ereignisse am Inkubator aus der Ferne überwacht und dokumentiert werden.

Einfache und sichere Dokumentation

Der CellXpert C170i dokumentiert die Kulturbedingungen innerhalb der Kammer und synchron Ereignisse wie Türöffnungen und Alarmer sicher auf einem integrierten SSD-Speicher. Die Daten sind schnell, einfach und ggf. gefiltert per USB-Port exportierbar. Anschließend können die in gängigen Dateiformaten verfügbaren Daten leicht abgelegt oder ausgedruckt werden. Ebenso schnell können Protokolle zur Dokumentation der 180°C-Hochtemperatur-Dekontamination gespeichert und gedruckt werden.

Spart Zeit und Kosten

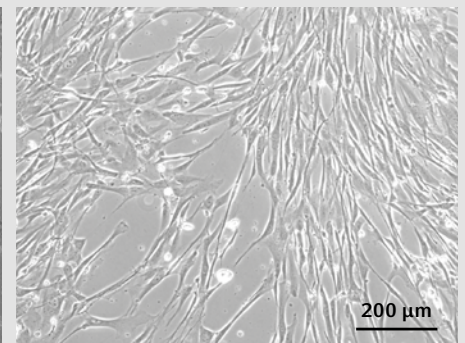
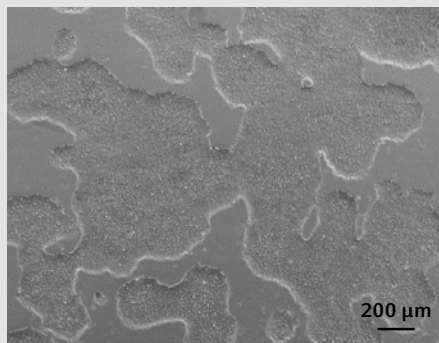
Vor dem Neuerwerb eines CO₂-Inkubators lohnt sich ein Blick auf folgende Fragen:

> Wieviel Raum steht in Ihrem Zellkultur-labor zur Verfügung?

- > Wie viele Zellkulturgefäße können in Ihrem Inkubator optimal untergebracht werden?
- > Was kostet der regelmäßige Tausch des HEPA-Filters oder der UV-Lampe bei Ihrem jetzigen Inkubator über Jahre?
- > Wie viel Zeit erfordert die Gerätereinigung und der Abbau der Innenteile zur Dekontamination?
- > Wie aufwändig ist die Dokumentation der Kulturbedingungen und Dekontaminationen?
- > Wieviel Gas verbraucht das Gerät?

Der Vergleich der Antworten auf diese Fragen hilft Ihnen, die richtige Kaufentscheidung zu treffen!

Mehr erfahren Sie beim nächsten Besuch Ihres Eppendorf-Partners.



Sensible Zellen wie hiPS-Zellen (humane induzierte pluripotente Stammzellen, links) oder humane MSC (mesenchymale Stammzellen, rechts) finden im C170i und auf der neuen CCCadvanced™ FN1 Motifs-Oberfläche* ideale Wachstumsbedingungen.

*s. auch Application Notes S. 3–4

BERRIT HOFF, EPPENDORF AG

PCR-Optimierung in neuer Dimension

Der neue Mastercycler® X50 verbindet elegant Geschwindigkeit, Flexibilität und PCR-Optimierung für PCR-Forschungsanwendungen und die Standardisierung von Routine-PCR-Anwendungen, wie z.B. die Analyse von Lebensmitteln. Über den besonders intuitiven Touchscreen sind all diese Vorteile stets verfügbar.

Durch seine Geschwindigkeit und seine verbesserten PCR-Optimierungsfunktionen, wie den 2D-Gradienten, ist der Mastercycler X50 der ideale PCR-Cycler für die modernste molekularbiologische Forschung. Mit der erstklassigen Regelung der Blocktemperatur macht auch die Reproduzierbarkeit der PCR einen Schritt nach vorne. Hinzu kommen anpassbare Benutzerverwaltungs- und umfassende Dokumentationsmöglichkeiten für ein unbesorgtes Arbeiten auch bei definierten Laborstandards.

Das intuitive Touchscreen-Display für schnelle Programmierung, ein niedriger Geräuschpegel, der niedrige Energieverbrauch und das vielseitige flexlid®-Konzept runden die Funktionen dieses leistungsstarken PCR-Cyclers ab. Es können bis zu 10 PCR-Cycler kombiniert werden – ideal für Hochdurchsatz-Anwendungen oder Labore mit einer hohen Anzahl von Anwendern und unterschiedlichen Assays. Wenn Sie noch flexibler

sein wollen oder Ihr Durchsatz noch höher ist, können Sie 50 PCR-Cycler in einem computergestützten Netzwerk miteinander verbinden. Selbstverständlich lässt sich der Mastercycler X50 auch mit dem VisioNize®-System verbinden.

Die nächste Stufe der PCR-Optimierung

Mit dem innovativen 2D-Gradienten können Sie die Denaturierungstemperatur und die Annealing-Temperatur während desselben Laufs optimieren. Höhere Denaturierungstemperaturen können den Vorteil erhöhter Spezifität haben, während niedrigere Denaturierungstemperaturen weniger Stress für die Biomoleküle bedeuten und zu höheren DNA-Ausbeuten führen können*. Assays, die bei einer Denaturierungstemperatur von 95°C nicht verlässlich funktionieren, können von einer Optimierung der Denaturierungstemperatur profitieren.

(*s. Application Note No. 387, Download unter www.eppendorf.com/appnote387)

Mehr Informationen unter www.eppendorf.com/mastercycler



QR-Code scannen für mehr Informationen!



Tipp

VisioNize®: ein intelligentes Netzwerk zur Organisation Ihres Labors

Mit dem Eppendorf VisioNize-System können Sie Ihre Laborgeräte unkompliziert an eine zentrale Überwachungs- und Datenmanagementsoftware anbinden. Das VisioNize-System besteht aus Software-Anwendungen, VisioNize-onboard-Geräten, die bereits mit VisioNize-Funktionalität ausgestattet sind, sowie der VisioNize box, einer anwenderfreundlichen Schnittstelle zum Anschluss zusätzlicher Geräte. Verbinden Sie Ihre Laborgeräte mit VisioNize und überwachen diese von Ihrem PC im Büro oder von unterwegs mit Hilfe der mobilen App VisioNize go.



Nutzen Sie das VisioNize-System zur Optimierung essentieller Laborroutinen!

- Die Software-Anwendungen VisioNize core und VisioNize go ermöglichen es Ihnen,
- > die Leistung und den Status Ihrer angeschlossenen Laborgeräte zu überprüfen und zu überwachen
 - > Ausfallzeiten zur Wartung im Voraus zu planen
 - > Übernacht-Ansätze von zuhause oder die verbleibende Laufzeit von Experimenten von Ihrem Büro aus zu überwachen
 - > relevante Informationen zu empfangen und Dank E-Mail-Benachrichtigung stets informiert zu bleiben.

Mit VisioNize können Sie Ihre Laborabläufe effektiv organisieren und somit die Effizienz steigern!

Mehr Informationen unter www.eppendorf.com/visionize

SAMIRA SCHROEDER, EPPENDORF AG

Der richtige Umgang mit Zellen im Labor (IV)

Nachdem wir in früheren BioNews-Ausgaben die Themen „Kontaminationsvermeidung in der Zellkultur“, „Identität von Zellen“ sowie „Reproduzierbarkeit von Ergebnissen“ behandelt haben, beleuchten wir in diesem Heft wesentliche Konsequenzen einer Mykoplasmen-Kontamination. Wir zeigen auf, wie Sie diese erkennen und vor allem vermeiden können.

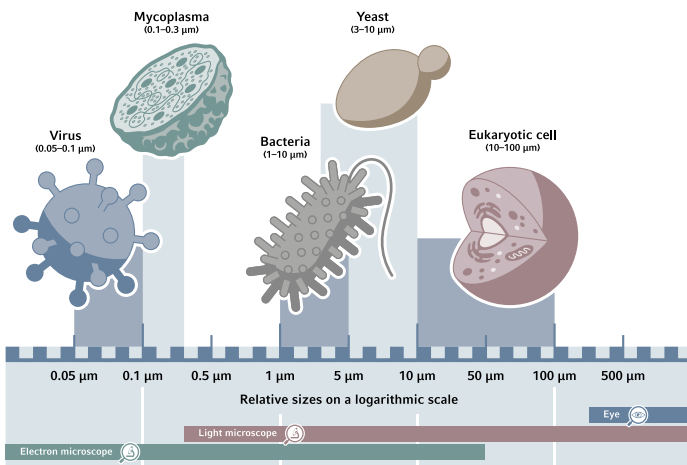


Abb. 1: Verschiedene Mikroorganismen und ihre Größen, darunter auch Mykoplasmen, welche nicht mehr mittels Hellfeldmikroskopie erkennbar sind.

Die Herausforderung

Mykoplasmen sind auf Zellmembranen lebende Parasiten mit einer Größe von durchschnittlich 0,1–0,3 µm (Abb. 1). Im Gegensatz zu vielen anderen Mikroorganismen können diese nicht mittels Hellfeldmikroskopie in der Routineuntersuchung erkannt werden. Ihre fehlende Zellwand, verbunden mit einer relativ guten Verformbarkeit, ermöglicht zudem die Überwindung von Standard-Membranfiltern mit Porengrößen von 0,2 µm.

Auch sichtbare Veränderungen am Medium, wie Verfärbung oder Eintrübung, sind bei einer Mykoplasmen-Kontamination nicht zu erwarten. Die sonst so hilfreichen Indikatoren bei Kontamination mit Mikroorganismen versagen hier. Die Verwendung von Antibiotika kann zudem ein trügerisches Gefühl der Sicherheit vermitteln, was eine unbemerkte Verbreitung von Mykoplasmen begünstigt.

Konsequenzen

Mykoplasmen produzieren Toxine und konkurrieren mit den Wirtszellen um vorhandene Nahrung. Die Beeinflussung der Genexpression als Folge kann nahezu jeden Parameter innerhalb des Wirtszell-Systems beeinflussen und damit zu nicht reproduzierbaren Aussagen führen.

Vermeidung

Labormitarbeiter selbst sind die Hauptquelle von Mykoplasmen. Insbesondere bei Missachtung einer guten Laborpraxis können diese leicht auf die Zellkultur übertragen werden. Eine Kontamination kann aber auch unbemerkt von Labor zu Labor übertragen werden, z.B. beim Austausch von Zellen.

Abschätzungen in der wissenschaftlichen Literatur zufolge sind etwa 5–30 % aller Zelllinien weltweit mit Mykoplasmen kontaminiert. Labore, die regelmäßig testen, reduzieren die Kontaminationsrate signifikant. Für eine bessere Reproduzierbarkeit von Ergebnissen sollten sämtliche Zellkulturen regelmäßig auf Mykoplasmen getestet werden, z.B. mittels PCR, ELISA oder mikrobiologischer Kulturmethoden.

Mehr Sicherheit mit Eppendorf Cell Culture Flasks

Einen effizienten Schutz vor Kontamination bei gleichzeitig optimalem Gasaustausch bietet die innovative Luftfiltertechnologie der Eppendorf Cell Culture Flasks (Abb. 2). Der hoch-effiziente Volumenfilter hindert Partikel daran, in die Zellkulturflasche zu gelangen.



Abb. 2: Schnitt durch den hoch-effizienten Volumenfilter der Eppendorf Cell Culture Flasks

Zwei wesentliche Eigenschaften des Eppendorf-Filters tragen dazu bei: Anders als bei herkömmlichen, relativ dünnen Membranfiltern bietet der Eppendorf-Filter mit einer Dicke von ca. 1 mm eine signifikant größere Distanz für externe Partikel. Zusätzlich sorgt eine undefinierte, unregelmäßige Filterstruktur – anstelle von definierten Poren – dafür, dass sich Partikel im Filter verfangen.

Eine Liste von Mykoplasma-Detektionsmethoden sowie weitere Informationen zum Thema Kontaminationsvermeidung finden Sie auf www.eppendorf.com/cellexperts.



QR-Code scannen für
mehr Informationen!

HANAË HENKE, EPPENDORF AG

Premium-Adresse für Laborwissen

Täglich versuchen Wissenschaftler, die vielen Herausforderungen des Laboralltags zu meistern und Abläufe zu verbessern. Heutzutage kommen jedoch zahlreiche Routineaufgaben und administrative Tätigkeiten zur Laborarbeit hinzu. So bleibt oft wenig Freiraum für lösungsorientiertes Denken oder die kreative Optimierung von Experimenten bestehen.

Wenn die Zeit zur Problemlösung fehlt, suchen wir heute nach schnell verfügbaren Informationen. Wir sind es gewohnt, zu jeder Zeit online zu gehen, ob via PC, Tablet oder Smartphone. Bei der Vielzahl an Foren und freien Online-Bibliotheken ist jedoch nicht immer klar ersichtlich, wie vertrauenswürdig und korrekt die gefundene Information ist.

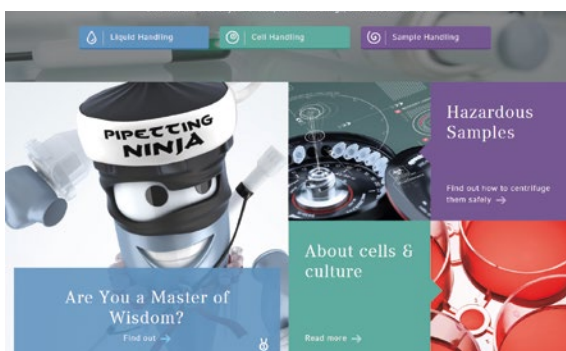
Wenn es z.B. um Tipps und Tricks zu besseren Pipettier-Techniken geht, gibt es unzählige Hinweise und Quellen. Soll man nun alle vergleichen und sich aus den am häufigsten genannten Tipps einen Konsens ziehen? Einfacher, sicherer und zeitsparender ist es, auf Hilfestellungen und Hintergrundinfos zu vertrauen, die von Wissenschaftlern verfasst und geprüft wurden.

Expertenwissen attraktiv präsentiert

Auf der Eppendorf Handling Solutions Homepage www.eppendorf.com/handling-solutions finden Sie Beiträge

zu wichtigen Aspekten des Laboralltags in den Bereichen Liquid Handling, Cell Handling und Sample Handling – auf hohem Niveau und verfasst von laborerfahrenen Applikationsspezialisten. Ob es um die Umrechnung von *g*-Zahlen in rpm beim Zentrifugieren, um anschauliche Beschreibungen zur Vermeidung bakterieller Kontamination in der Zellkultur oder um anspruchsvolle Anwendungen und deren Optimierung im Bioprozess-Bereich geht – unser Ziel ist es, Ihnen aktuelles Fachwissen zu vermitteln und so die tägliche Arbeit zu erleichtern. Neben Artikeln zu wissenschaftlichen Themen und Anwendungshilfen für Protokolle finden Sie darüber hinaus auch Videos, Comics, eine unterhaltsame Quizabteilung und vieles mehr!

Unsere Empfehlung: Wenn Sie Inhalte suchen, die nah an heutigen Laborabläufen orientiert und dabei leicht verständlich aufbereitet sind, dann besuchen Sie www.eppendorf.com/handling-solutions.



QR-Code scannen für mehr Informationen!

Tipp

Top 5 Gründe für automatisierte NGS-Library-Prep

Die NGS-Probenvorbereitung ist ein arbeitsintensiver Prozess, der Erfahrung, Präzision und Genauigkeit erfordert, um qualitativ hochwertige NGS-Libraries zu erzeugen. Diesen Vorgang mithilfe einer *epMotion*® zu automatisieren, minimiert Fehlerquellen, liefert reproduzierbare Ergebnisse und steigert Ihre Produktivität selbst bei Läufen mit geringer Probenanzahl.

Hier sind die Top 5 Gründe für eine automatisierte NGS-Probenvorbereitung!

Grund 1: Fehlerquellen minimieren! Da NGS-Reagenzien sehr kostspielig sind, kosten Fehler bares Geld. Eine NGS-Methode für 24 Proben kann mehr als 1.200 Pipettierschritte erfordern. In einem derart langen Workflow sind Fehler durch manuelles Pipettieren nicht auszuschließen. Mit dem automatisierten *epMotion* Liquid-Handling-System minimieren Sie den menschlichen Bedienaufwand erheblich.

Grund 2: Bessere Ergebnisse erzielen! Eine höhere Pipettiergenauigkeit führt zu besseren und reproduzierbareren Resultaten.

Grund 3: Den Reagenzverbrauch reduzieren! Eine höhere Pipettiergenauigkeit ermöglicht das Pipettieren kleinerer Volumina.

Grund 4: Entlasten Sie Ihre TAs – und lassen Sie die *epMotion* die lästige Arbeit erledigen.

Grund 5: Automatisiertes Pipettieren schützt Sie vor RSI (Repetitive Strain Injury).

Mehr Informationen unter www.eppendorf.com/ngs-made-easy



QR-Code scannen für mehr Informationen!

CAROLYN TAUBERT UND BERRIT HOFF, EPPENDORF AG

Eppendorf-Preisträger 2017/2018: Flavio Donato & Andrea Ablasser



eppendorf
& Science
PRIZE FOR
NEURO
BIOLOGY

Flavio Donato



Andrea Ablasser

Der italienische Wissenschaftler Flavio Donato, Ph.D., erhielt den mit 25.000 US\$ dotierten *Eppendorf & Science Prize for Neurobiology* 2017 für seine Forschungsarbeit an Mechanismen der Reifung von neuronalen Schaltkreisen, die im Gehirn an der Verarbeitung von räumlicher Information beteiligt sind.

Dr. Donato arbeitet im Labor von Prof. May-Britt Moser und Prof. Edvard Moser am Kavli Institute der Norwegian University of Science and Technology in Trondheim. Seine Forschung hat gezeigt, dass Sternzellen im medialen entorhinalen Cortex während der Entwicklung des Gehirns ein aktivitätsabhängiges Signal entsenden, das zur Reifung jener Nervenzellen führt, die uns ein Gefühl dafür geben, wo wir uns befinden. Diese Entdeckung beweist die Existenz von autonomen intrinsischen Impulsgebern, welche die Reifung von weiten Regionen des Cortex steuern. Die Entschlüsselung des spezifischen Beitrags dieser Nervenzellpopulationen zur Funktion neuronaler Schaltkreise fördert unser Verständnis darüber, wie das Gehirn abstrakte kognitive Funktionen verarbeitet.

Mehr Informationen unter www.eppendorf.com/prize

Der *Eppendorf Award for Young European Investigators* 2018, dotiert mit € 20.000 ging an Prof. Dr. Andrea Ablasser, Assistant Professor am Swiss Federal Institute of Technology, Lausanne, Schweiz. Sie erhielt diese Auszeichnung für die Erforschung eines wesentlichen Schrittes in der angeborenen Immunabwehr, bei dem eine Abwehrreaktion getriggert wird, sobald Zellen von Mikroorganismen angegriffen werden.

Ihre Arbeit erklärt Mechanismen, durch die Zellen über das Eindringen von Fremd-DNA informiert werden. Kürzlich konnte sie nachweisen, dass derselbe Mechanismus in alternden Zellen ausgelöst wird und so zur Seneszenz beiträgt. „Andrea Ablassers Arbeit kann zur Entwicklung neuer Ansätze für Therapien sowohl mikrobieller Infektionen als auch autoinflammatorischer Syndrome beitragen“, so die Jury unter Vorsitz von Prof. Reinhard Jahn (Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen) in ihrer Begründung.

Mehr Informationen unter www.eppendorf.com/award

Beide Preisträger werden im Laufe des Jahres 2018 Eppendorf in Hamburg besuchen. Wir werden berichten!

Warenzeichenhinweise

Amazon® is a registered trademark of Amazon Tech, Inc., USA. Corning® and Matrigel® are registered trademarks of Corning, Inc., USA. Coulter® and Vi-CELL® are registered trademarks of Beckman Coulter, Inc., USA. Design-Expert® is a registered trademark of Stat-Ease, Inc., USA. Ficoll® is a registered trademark of GE Healthcare Bio-Sciences AB, Sweden. GE Healthcare® is a registered trademark of General Electric Company, USA. Illumina® is a registered trademark of Illumina, Inc., USA. KAPA® is a registered trademark of Roche Diagnostics GmbH, Germany. Mettler Toledo® and ISM® are registered trademarks of Mettler-Toledo AG, Switzerland. Sigma-Aldrich® is a registered trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC, USA. Thermo Fisher Scientific® is a registered trademark of Thermo Fisher Scientific, Inc., USA. Triton® is a registered trademark of Union Carbide Chemicals and Plastics Co., Inc., USA. Tween® is a registered trademark of ICI Americas, Inc., USA. The Unscrambler® X is a registered trademark of CAMO Software AS, Norway. CD FortiCHO™ is a trademark of Thermo Fisher Scientific, Inc., USA.

Eppendorf®, the Eppendorf Brand Design, BioBLU®, CellXpert®, Combitips advanced®, epMotion®, Eppendorf BioSpectrometer®, Eppendorf LoBind®, Eppendorf Research®, Eppi®, epPoints®, FastTemp pro®, flexlid®, Mastercycler®, Multipette®, ViscoTip®, VisioNize®, and the VisioNize logo are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany. CCCAdvanced™ and New Brunswick™ are trademarks of Eppendorf AG, Germany. BioFlo® and Innova® are registered trademarks of Eppendorf, Inc., USA. DASware® is a registered trademark of DASGIP Information and Process Technology GmbH, Germany. U.S. Design Patents are listed on www.eppendorf.com/ip.

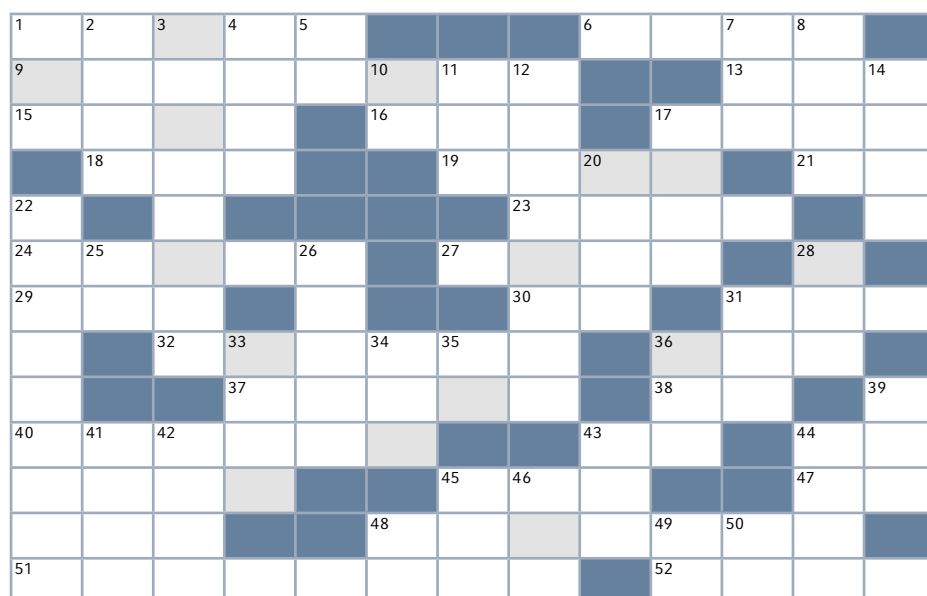
Personalisierte Pipetten zu gewinnen

Die Lösung des Preisrätsels aus BioNews Nr. 47 lautete „Smart. Connected. Nize“. Der Hauptgewinn ging an Matthew Sullivan (University of Auckland, Neuseeland).

Viel Glück bei einem weiteren „Jubiläums“-Rätsel!

Bringen Sie alle Buchstaben in den grau hinterlegten Feldern in die korrekte Reihenfolge und schicken Sie uns die richtige Antwort bis zum **31. Oktober 2018**.

Einfach eine E-Mail an bionews@eppendorf.de senden oder online teilnehmen unter www.eppendorf.com/bn-service. Unter allen richtigen Einsendungen verlosen wir wieder attraktive Preise. Die Gewinner werden schriftlich benachrichtigt. Eine Barauszahlung ist nicht möglich. Der Rechtsweg ist ausgeschlossen. Eppendorf-Mitarbeiter und deren Angehörige dürfen nicht teilnehmen. Die Gewinner der ersten fünf Preise werden in Ausgabe 51 veröffentlicht.



WAAGERECHT

- 1 Männlicher Vorname
- 6 Träne (Engl.)
- 9 Boxtraining
- 13 Misst in der Schifffahrt die Wassertiefe
- 15 Internationale Luftverkehrs-Vereinigung (Abk.)
- 16 Englische Präposition
- 17 Stern (Engl.)
- 18 Leuchtdiode (Abk.)
- 19 Welle (Engl.)
- 21 Iso-Kürzel für Deutschland
- 23 Puppe (Engl.)
- 24 Lineares Stilelement in der Architektur
- 27 Tablette (Engl.)
- 29 Heißgetränk
- 30 Und (Lat.)
- 31 Vorgang, möglich mit in und out
- 32 Hauptstadt des Vereinigten Königreiches
- 36 Vervollständigt Paulo

- 37 Bemalen (Engl.)
- 38 Operation (Abk.)
- 40 Flora und Fauna (engl. Überbegriff)
- 43 Langspielplatte (Abk.)
- 44 Polypropylen (Abk.)
- 45 Dem Wind abgewandte Seite
- 47 Instant Message (Abk.)
- 48 Populäre R&B-Sängerin
- 51 Fadenwurm
- 52 In Verbindung mit 17 waagerecht kriegarisches SciFi-Abenteuer

SENKRECHT

- 1 Verletzung durch wiederholte Belastung (Abk.)
- 2 Mineral und Schmuckstein
- 3 Stoff, aus dem etwas gemacht ist
- 4 Kreis und Stadt in Rumänien
- 5 ISO-Kürzel für Nauru
- 7 Taste auf Computertastatur
- 8 Straße (Engl.)
- 10 Falls, wenn (Engl.)
- 11 Jetzt, in diesem Moment (Engl.)
- 12 Funktion in einem Thermocycler
- 14 In Verbindung mit 17 waagerecht eine berühmte Weltall-Reise
- 17 Verkaufen (Engl.)
- 20 Maßeinheit für elektr. Spannung
- 22 Englische Tageszeit
- 25 Chemisches Kürzel für Rhenium
- 26 Echolot (Engl.)
- 28 Tierpark
- 31 Rennrunde (Engl.)
- 33 Schöpferisches Werk
- 34 Weibl. Pronomen und Artikel
- 35 Englische Präposition
- 36 Standard Operating Procedure (Abk.)
- 39 Umdrehungen pro Minute (engl. Abk.)
- 41 Das „a“ in a.m.
- 42 Arbeitsgruppe, Sportmannschaft
- 43 Männlicher Vorname
- 44 Anlegestelle im Hafen
- 46 Sehorgan (Engl.)
- 48 Iso-Kürzel für Bolivien
- 49 Abkürzung für Nordwest
- 50 Ungefähr (Abk.)

1. bis 5. Preis:

Je 1 personalisierte Eppendorf Research® plus Pipette (Einkanal, variabel) nach Wahl

6. bis 10. Preis:

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

11. bis 15. Preis:

je 400 Bonus epPoints®

(Registrierung bei epPoints erforderlich)

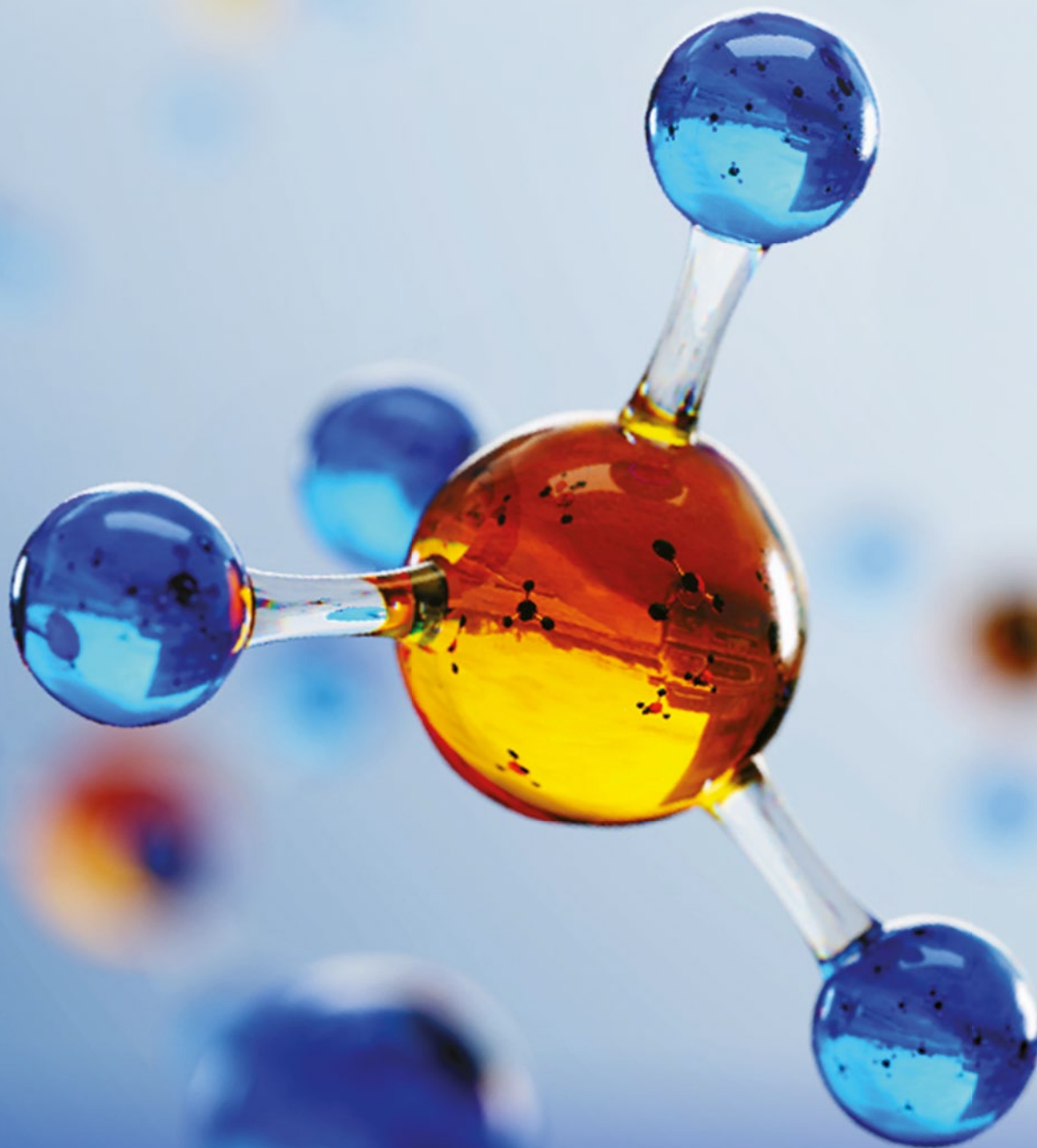
Lösungshinweis für das Gewinnspiel BioNews Nr. 49:

I E S

Einsendeschluss für das Gewinnspiel: **31. Oktober 2018**. Online teilnehmen unter www.eppendorf.com/bn-service oder das Lösungswort per E-Mail an bionews@eppendorf.de senden!



Science Congratulates Eppendorf BioNews on its 25th Anniversary



Submit Your Research for Publication in the Science Family of Journals

The *Science* family of journals 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.

For more information, please visit: www.sciencemag.org

Science
AAAS