



Eppendorf Conical Tubes 25 mL: The Next Level

- > Vorteile von Standardisierung in der Mikrobiom-Forschung
- > Eppendorf Digital Solutions: Probenverwaltung digitalisieren
- > 25 Jahre Eppendorf Award for Young European Investigators

Application Notes

Bakterienkultur und Plasmidaufreinigung optimieren mit Eppendorf Conical Tubes 25 mL·hMSCs: Zuverlässige Expansion mit der CCCadvanced® FN1 motifs Oberfläche·etc.





Liebe Leser,

arbeiten auch Sie häufig mit Probenvolumina, die größer als 15 mL, aber deutlich kleiner als 50 mL sind? Und ärgern Sie sich, wenn Sie ein herkömmliches 50-mL-Gefäß verwenden müssen, das für Ihre Probe viel zu groß ist? Dann können Sie sich jetzt freuen, denn mit den neuen Eppendorf Conical Tubes 25 mL profitieren Sie in mehrfacher Hinsicht. Dieses neue Gefäßformat ist deutlich niedriger und bietet so ein verbessertes Handling und Potenzial für Platzeinsparung bei der Lagerung. Der damit verbundene geringere Rohstoffverbrauch schont Ressourcen und reduziert die Laborabfallmenge. Ganz neu ist auch die Variante mit Schnappdeckel, der einhändiges Öffnen und Schließen ermöglicht. Mehr dazu auf den Seiten 4–5.

Gerald Vallentin aus Leipzig hat fast 48 Jahre lang mit Eppendorf-Produkten gearbeitet. Kurz vor seinem Ruhestand hat er seine Karriere Revue passieren lassen (S. 11–12). Vielen Dank für den schönen Beitrag, lieber Herr Vallentin!

Probenkennzeichnung, Probenlagerung, Probensicherheit, Probenidentifikation, Probendokumentation, Probenverwaltung: Gleich in zwei Beiträgen erhalten Sie wertvolle Informationen und Anregungen zum Umgang mit Ihren kostbaren Proben (S. 6–7 und Seite 9).

Wie immer runden weitere Berichte und vier Application Notes im Innenteil diese BioNews-Ausgabe ab.

Wir hoffen, sie gefällt Ihnen! Ihr Eppendorf BioNews-Team

Impressum

Herausgeber

Eppendorf AG, Barkhausenweg 1, 22339 Hamburg, Deutschland Telefon: + 49 40 53 801-0 Fax: + 49 40 53 801-556

E-Mail: bionews@eppendorf.de www.eppendorf.com/bionews

Redaktionsteam

Berrit Hoff (Projektleitung), Dr. Hanaë König, Dr. Tanja Musiol, Natascha Weiß

Gestaltung

Holger Paulsen Grafik-Design, Hamburg

Druck

Gebr. Klingenberg & Rompel in Hamburg GmbH, Hamburg

Bildnachweis

Alle Bilder Eppendorf AG. Ausnahmen: S. 10–11: G. Vallentin; S. 24: Science/ AAAS; Application Note S. 8: H. Matsui

Contakt

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

Hinweise

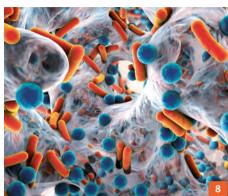
Ihre Beiträge sind willkommen. Für unverlangt eingesandte Manuskripte wird keine Verantwortung übernommen. Die Einführung von Produkten kann in verschiedenen Märkten zu unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgen. Wir beraten Sie gern.

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit und ohne jede Diskriminierungsabsicht wird im Text 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 AG, Januar 2020. Klimaneutral gedruckt in Deutschland.







IM BLICKPUNKT

LABORPRAXIS

INNOVATION

NEWS/TIPPS

SERVICE

Eppendorf Conical Tubes 25 mL: The Next Level	4-5
Vorteile von Standardisierung in der Mikrobiom-Forschung	8
Eiszeit für Ihre Proben?	9
48 Jahre mit Eppendorf, ein Labortechniker erinnert sich	10-11
Your Sample Goes Digital: Optimieren Sie Ihr Probenmanagement	6-7
Flaschendrehen: Steigern Sie Kapazität und Durchsatz	
So bleiben Ihre Pipettierergebnisse reproduzierbar!	11
25-jähriges Jubiläum des Eppendorf Award	12-13
Registrieren Sie Ihre Produkte – jetzt noch einfacher!	13
Willkommen in Hamburg: Johannes Kohl und Georg Winter	14
Markenhinweise	
Gewinnspiel: Neues Pipettiersystem zu gewinnen	15

Eppendorf BioNews Application Notes

RAFAL GRZESKOWIAK, SANDRINE HAMELS, BLANDINE VANBELLINGHEN Optimierung der Bakterienkultur und Plasmidaufreinigung mit Hilfe von Eppendorf Conical Tubes 25 mL	1–2
SANDRINE HAMELS & ERIC GANCAREK, MARC-MANUEL HAHN Einfache Automatisierung der Erstellung metagenomischer Bibliotheken mit der ep <i>Motion®</i> 5073m NGS	3-4
AURÉLIE TACHENY, WIÂME BEN EL MOSTAPHA, FRANÇOISE DE LONGUEVILLE, NADINE MELLIES Robuste Expansion von humanen mesenchymalen Stammzellen mit der synthetischen CCCadvanced® FN1 motifs Wachstumsoberfläche	5-6
HIDENORI MATSUI Optimierung einer "Long-range" PCR mit dem Mastercycler® X50 von Eppendorf	7–8

BRIGITTE KLOSE & BERRIT HOFF, EPPENDORF AG

Eppendorf Conical Tubes 25 mL: The Next Level

Speziell für Probenvolumina größer als 15 mL, aber deutlich kleiner als 50 mL hat Eppendorf ein Conical Tube im Format 25 mL entwickelt. Es schließt die Lücke zwischen den herkömmlichen konischen Gefäßen mit 15 mL und 50 mL Volumen. Dieser innovative Gefäßtyp ist wahlweise mit Schraubdeckel oder dem patentierten SnapTec®-Schnappdeckel erhältlich. Ein komplettes Zubehörsystem ermöglicht die Verwendung des 25-mL-Gefäßes in verschiedenen Workflowschritten.



Das neue 25-mL-Format (Mitte) schließt die Lücke zwischen den herkömmlichen konischen Gefäßen mit 15 mL und 50 mL Volumen.

Auf den Gebieten der Bakterien- und Mikroorganismenkultur, für die Aufreinigung von Plasmiden/Biomolekülen, in der Zellkultur oder bei der Aufbereitung von Assays wird oft mit Probenvolumina zwischen 15 mL und 25 mL gearbeitet.

Mangels Alternative greifen Anwender in diesem Fall auf traditionelle 50-mL-Gefäße zurück, in dem Wissen, dass diese eigentlich viel zu groß sind. Hierdurch wird – ärgerlicherweise – nicht nur kostbarer Gefäßrohstoff verschwendet, sondern es entsteht auch unnötiger Kunststoffabfall. Ganz zu schweigen von dem Lagerplatz, den Gefäße dieser Größenordnung bei Aufbewahrung im Freezer einnehmen.

Eine nicht ganz unberechtigte Frage

"Warum gibt es eigentlich kein konisches Gefäß mit einem Volumen zwischen 15 mL und 50 mL?", lautete daher eine häufig gestellte Frage im Laboralltag, der wir im Gespräch mit Anwendern immer wieder begegneten. Der Beantwortung dieser Frage haben sich die Eppendorf-Entwickler nur zu gerne angenommen.

Unsere Lösung

Speziell für Probenvolumina größer als 15 mL, aber deutlich kleiner als 50 mL hat Eppendorf das Conical Tube 25 mL entwickelt. Dieses ist erhältlich mit dem neuen patentierten SnapTec*- Schnapp-

deckel oder als Schraubdeckelvariante. Wie alle anderen Eppendorf Tubes® werden die 25-mL-Gefäße aus hochwertigen Rohstoffen ohne Einsatz von Gleitmitteln, Weichmachern oder Bioziden hergestellt.

*Geschützt durch Europäische Patente EP 2 965 816 A1, EP 2 654 958 A1

Spart Platz und schont Ressourcen

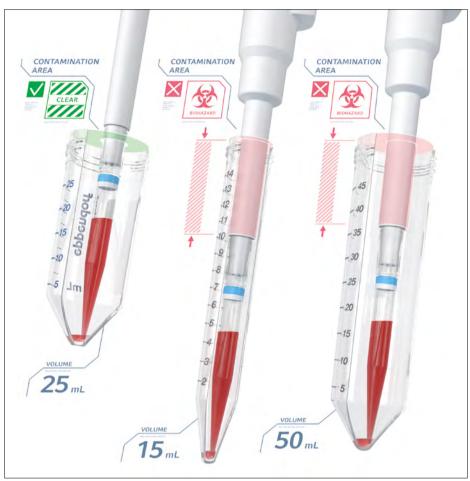
Das 25-mL-Gefäßformat hat den gleichen Durchmesser wie herkömmliche 50 mL Conical Tubes, allerdings mit einer ca. 20 % geringeren Höhe. Dies spart nicht nur Platz bei der Lagerung; dank der geringeren Höhe ist der Verbrauch von wertvollen Rohstoffen bei der SnapTec-Schnappdeckelvariante um 20 % und bei dem Gefäß mit Schraubdeckel sogar um 26 % geringer als bei herkömmlichen 50 mL Conical Tubes – eine sichtbare Vermeidung von Laborabfall und Schonung von Ressourcen.

Verbesserte Probenverarbeitung

Die zuvor erwähnte weite Öffnung bei geringerer Höhe erleichtert den Zugang zur Probe sowie die Probenrückgewinnung. Besonders beim Arbeiten mit Pipetten und Spitzen kleinerer Volumina ist das Risiko einer Kreuzkontamination zwischen Pipette und Gefäß durch das Berühren der inneren Gefäßwand minimiert.

Schraub- oder Schnappdeckel?

Der Schraubdeckel ist geriffelt und dadurch sicher und ergonomisch in der Handhabung. Darüber hinaus ist er seitlich abgeflacht, d.h. er rollt nicht weg und



Verbesserter Probenzugang, verbesserte Probenwiedergewinnung

kann aufrecht auf dem Labortisch gelagert werden. Das Kontaminationsrisiko wird so minimiert. Diesem intelligenten Deckeldesign vertrauen bereits die Anwender der Eppendorf Conical Tubes 15 mL und 50 mL.



SnapTec-Deckel ermöglicht einhändiges Öffnen und Schließen

Der patentierte SnapTec-Deckel des 25-mL-Gefäßes ist eine Besonderheit bei konischen Gefäßen. Der Deckel ist fest mit dem Gefäß verbunden und kommt somit nicht mit dem Labortisch in Berührung. Das Risiko einer Kreuzkontamination wird reduziert und die Verwechslung mit anderen Deckeln ausgeschlossen.

Der SnapTec-Deckel ermöglicht einhändiges Öffnen und Schließen für eine schnelle Flüssigkeitsentnahme oder Probenzugabe. Insbesondere in mehrstufigen Labor-Protokollen spart dies Zeit und damit auch Kosten. Das 25-mL-Gefäß mit SnapTec-Deckel ist darüber hinaus autoklavierbar.

SnapTec: Auf Herz und Nieren geprüft

Die Plasmidaufreinigung aus Bakterienkulturen gehört zu den Standardmethoden in Life Science-Laboren. Für die Medienaufbereitung kommen üblicherweise 15 mL Conical Tubes mit Schraubdeckel zum Einsatz.

Ob sich mit dem 25-mL-Gefäßformat Verbesserungen erzielen lassen, haben die Eppendorf-Applikationsspezialisten untersucht. In einer Low-Copy Plasmid-DNA-Extraktion konnten sie nachweisen. dass die Verwendung von 25-mL-Gefäßen mit SnapTec-Schnappdeckel zu erheblich höherer Produktivität der Bakterienkultur und daraus resultierender DNA-Ausbeute führte als in herkömmlichen 15 mL Conical Tubes mit Schraubdeckel. Mehr dazu auf den Seiten 1-2 der Application Notes im Innenteil.

Konsequenter Systemgedanke

Bei aller Liebe zum kleinsten technischen Detail ist es uns ein Anliegen, dass sich jedes unserer Gefäße reibungslos in bestehende Laborabläufe einfügt. So ermöglicht ein komplettes Zubehörsystem für Zentrifugation, Heizen, Mischen, Automation, Probenvorbereitung und Lagerung den sofortigen Einsatz des 25-mL-Gefäßes.

Fazit

Das neue Mitglied der großen Eppendorf Tubes-Familie schließt die Lücke zwischen den herkömmlichen konischen Gefäßen mit 15 mL und 50 mL Volumen. Ein komplettes Zubehörsystem ermöglicht die Verwendung des 25-mL-Gefäßes in verschiedenen Workflowschritten.

Die besonderen Stärken des Eppendorf Conical Tube 25 mL

- > Einhändige Bedienung (SnapTec-Schnappdeckel)
- > Reduziertes Kontaminationsrisiko
- > Verbesserter Probenzugang, verbesserte Probenwiedergewinnung
- > 30 % Platzeinsparung bei Lagerung

haben wir in einem kurzen Video anschaulich visualisiert. Einfach QR-Code scannen oder bit.ly/2LhxTKd eingeben.



Weitere Informationen finden Sie auf der Landingpage www.eppendorf.com/25mL, wo Sie auch ein kostenloses Muster bestellen können.

ANN-CLAIRE FOETSCH & JAN-HENDRIK BEBERMEIER, EPPENDORF AG

Your Sample Goes Digital

Haben Sie jemals den Wert der in Ihrem Ultratiefkühlgerät gelagerten Proben überschlagen? Ausgehend von einem Durchschnittswert von 10 EUR pro Gefäß, kommt man leicht auf 500.000 EUR. In anderen Worten: Ihr Freezer ist eine wahre Schatztruhe! Wenn Sie Ihre Schätze sicher lagern, einfach identifizieren und problemlos erreichen möchten, wird Ihnen eine sorgfältige Probenkennzeichnung das Leben leichter machen.

Keine Lust, alle 20 Gefäße zu beschriften? Alles mit der Hand abzutippen, wo Sie doch so viel anderes auf dem Zettel haben? Von 1 bis 20 zu beschriften käme natürlich auch in Frage. Aber es muss doch auch einfacher gehen! Falls Ihnen diese Gedanken bekannt vorkommen, hat Eppendorf die Lösung: Eppendorf Digital Lab Solutions.

Genervt von unleserlicher Probenkennzeichnung?

Eine klare und eindeutige Probenbeschriftung wird empfohlen, um das Lesen so einfach wie möglich zu gestalten. Darüber mag man sich in allen Laboren einig sein, doch im wahren Leben findet man häufig Gefäße im Freezer, die entweder überhaupt nicht gekennzeichnet sind oder deren Beschriftung unleserlich ist. Einer der Hauptgründe liegt darin, dass zuver-



lässiges Beschriften von Proben ein mühsames Unterfangen ist.

Smarte Beschriftungen Ihrer wertvollen Proben sind jedoch für die sichere Identifikation und letztendlich für zuverlässige Ergebnisse unerlässlich. Mit einfacher Schrift bedruckte Etiketten auf Gefäßen stellen die Mindestvoraussetzung für eindeutige Lesbarkeit dar. Barcodes gehen einen Schritt weiter in die Richtung der schnellen und sicheren Probenidentifikation.

Ab 2020 sind unleserliche Proben ein Problem der Vergangenheit. Eppendorf bietet Ihnen serienmäßig vorbeschriftete Verbrauchsartikel zum sofortigen Einsatz an. Ihre Proben werden durch ein langfristig beständiges Etikett zur sicheren Probenidentifikation digitalisiert.

Sie haben mehrere Proben?

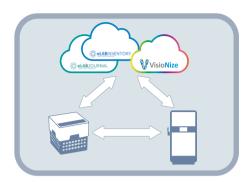
Der erste Schritt ist gemacht. Ihre Proben sind schnell und gut lesbar beschriftet. Nun gilt es die nächste Hürde zu überwinden: die Lagerung. Hierbei ist es notwendig, die Proben sowohl sicher als auch zugänglich zu verwahren. Ihre Kollegen müssen in der Lage sein, die gewünschten Proben zu finden.

Nehmen Sie ein Rack, beladen Sie es mit Ihren vorbeschrifteten Probengefäßen und scannen Sie alle Ihre Proben gleichzeitig. Das RackScan Gerät für Datamatrixkodierte Proben ist ein komfortables, einfaches Plug-in-System, welches das Lesen von mehr als einer Probe deutlich vereinfacht. Die RackScan Geräte arbeiten perfekt in Kombination mit den digitalen Labor-Lösungen von Eppendorf – der eLABInventory und der eLABJournal® Software.



Fühlen Sie sich verloren zwischen Proben und Prozessen?

Kombinieren Sie jetzt die akkurate Barcode-Beschriftung Ihrer Proben mit den Datensätzen Ihrer Schätze in Ihrem Gefriergerät. Mit Hilfe der eLABInventory Software können Sie Ihre Proben auf einfache Weise verwalten. Die Software erkennt freie Plätze in Ihrem Freezer, und das Einlesen der Barcodes ermöglicht eine problemlose Probenidentifikation. Keine Probe wird verlorengehen. Ihre Kollegen werden es Ihnen danken. Darüber hinaus dokumentiert eLABJournal alle Arbeitsschritte im Labor. Was kann jetzt noch passieren?



Besorgt über die Sicherheit Ihrer Proben?

Nicht mit unserem CryoCube® F740hi Freezer. Das Gefriergerät ist mit unserem VisioNize® Touch-Interface ausgestattet, welches es Ihnen ermöglicht, die Leistung des Freezers jederzeit zu überprüfen direkt vor Ort. Im Falle eines Stromausfalls oder eines Temperaturverlustes stellt ein sichtbarer und hörbarer Alarm den allgemeinen Standard für Gefriergeräte dar. Dank der VisioNize Services Monitoring und Notifications erleben Sie jetzt sogar noch größere Sicherheit für Ihre digitalisierten Proben, da Sie sowohl Alarm- als auch Ereignis-Benachrichtigungen erhalten können. Überwachen Sie die Leistung Ihres Gefriergeräts aus der Ferne, jederzeit von überall, und entscheiden Sie im Alarmfall über die nächsten Schritte. Sichere Probenlagerung – 24 Stunden am Tag, 7 Tage die Woche – durch digitale Fernüberwachung.

Digitalisieren Sie Ihre Probenverwaltung

eLABInventory

Steigen Sie von Papierlisten und -tabellen auf eine intuitive, sichere Probenverwaltungs-Software um und nutzen Sie die Vorteile der strukturierten Organisation Ihrer Proben.

eLABInventory wird durch Bio-ITech (ein Unternehmen der Eppendorf Gruppe) angeboten. Daten von Barcode-beschrifteten Gefäßen, wie z.B. den CryoStorage Vials mit SafeCode™, können problemlos in die Software integriert werden. Ergänzende Dokumente können ebenfalls gespeichert werden. Mittels externer Etikettendrucker können Sie mit eLABInventory ebenfalls Ihre eigenen maßgeschneiderten Barcodes erstellen. Erfassen Sie alle Informationen über Ihre wertvollen Proben online - mit Sicherheit.



Testen Sie jetzt kostenlos die Software für 30 Tage. Besuchen Sie www.elabinventory.com/eppendorf

eLABJournal

Dokumentieren Sie Ihre tägliche Arbeit noch immer in Laborbüchern aus Papier? Das eLABJournal Electronic Lab Notebook bietet eine intuitive, flexible Lösung zur Dokumentation Ihrer Forschungsergebnisse und zur Nachverfolgung Ihrer Daten. Verbessern Sie die Effizienz in der Dokumentation, Organisation, Recherche und Archivierung Ihrer gesammelten Daten. Alle aus eLABInventory bekannten Dienstleistungen und Funktionen sind im eLABJournal-Lieferumfang enthalten.



Testen Sie jetzt kostenlos die Software für 30 Tage. Besuchen Sie www.elabjournal.com/eppendorf

VisioNize

VisioNize ist die digitale Plattform von Eppendorf; sie bietet wertvolle Services rund um unsere Eppendorf-Geräte. Mit VisioNize an Ihrer Seite können Sie Ihr Labor mit Hilfe von z.B. Fernüberwachung sicher und mit ruhigem Gewissen in eine smarte Zukunft steuern. Vernetzen Sie Ihr Labor jetzt; melden Sie sich gratis an!



Mehr erfahren unter: www.eppendorf.com/visionize

Tipp

Flaschendrehen

Wenn Durchsatz für Ihr Labor wichtig ist, dann ist Kapazität die Lösung. Steigern Sie Kapazität und Durchsatz mit den neuen großvolumigen Flaschen für die Centrifuge 5910 R. Diese wiederverwendbaren Weithalsflaschen mit 400 mL bzw. 1.000 mL Volumen sind ideal für Anwendungen mit großen Volumina und geringer Geschwindigkeit wie die Ernte von Bakterien, Algen, Hefen und Säugerzellen. Die 1.000-mL-Flasche wurde speziell für den Ausschwingrotor S-4xUniversal entwickelt. So wird die Centrifuge 5910 R zu einem 4-Liter-System. Die 400-mL-Flasche passt in den Ausschwingrotor S-4x400.

Die Verwendung der neuen Flaschen ist einfach und ergonomisch. Sie bieten einen dichten Verschluss und sind leicht zu öffnen und zu schließen. Zur Minimierung des Kontaminationsrisikos sind Flaschen und Deckel autoklavierbar, UV-resistent und spülmaschinengeeignet. Die geringe Trübung des Materials (Polypropylen) garantiert eine sehr gute Sichtbarkeit von Probe und Pellet.

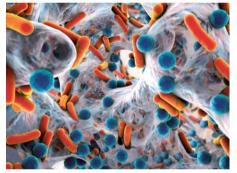


Für die sichere Zentrifugation gefährlicher Proben können die Flaschen optional mit aerosoldichten Deckeln verwendet werden.

Mehr Informationen auf www.eppendorf.com/next-benchmark HANAË KÖNIG, EPPENDORF AG

Vorteile von Standardisierung in der Mikrobiom-Forschung

Die Mikrobiom-Forschung liefert hilfreiche Erkenntnisse zur Diagnose und Behandlung von Krankheiten. Dieses Forschungsgebiet ist jedoch äußerst komplex und stellt hohe Anforderungen an den Forscher und das Labor. Dabei spielen die Standardisierung von Prozessen und Methoden sowie die passende Laborausstattung eine entscheidende Rolle, um die Probenbearbeitung reproduzierbar und verlässlich zu gestalten.



Die Analyse des Mikrobioms kann Aufschluss über den Gesundheitszustand eines Patienten geben.

Wir teilen unsere Welt mit Milliarden mikroskopisch kleiner Einzeller, den Bakterien. Sie leben auf uns, in uns und um uns herum – von den Tiefen des Ozeans bis hinauf ins Weltall. Die Zusammensetzung der Bakterien, das Mikrobiom, ist dabei für jedes Habitat einzigartig, charakteristisch und essentiell. So kann die Analyse des Mikrobioms Aufschluss über den Gesundheitszustand eines Patienten geben. Sind die Arten und Mengen der Bakterien aus dem Gleichgewicht geraten, lassen sich durch Förderung "guter" Bakterien zahlreiche Probleme lösen. Allerdings sind große Datenmengen erforderlich, um Abweichungen zwischen verschiedenen Mikrobiomen festzustellen und herauszufinden, was gesund ist und was nicht.

Erfolgsfaktor Standardisierung

Um die statistische Verwertbarkeit der Daten zu garantieren, sind standardisierte Abläufe für eine stets gleiche Probenbehandlung und kontinuierlich hohe Probenqualität unabdingbar. Neben der Probennahme und -lagerung betrifft dies die Extraktionsmethoden, das Verfahren und das Gerät zur Erstellung der Next-Generation Sequencing (NGS) Bibliothek, das Verbrauchsmaterial sowie den Thermocycler für die PCR.

Viele Labore aus Universitäten und Industrie haben sich in Großprojekten zur Mikrobiom-Forschung zusammengeschlossen. Umso entscheidender ist es, dass alle Kollaborationspartner mit den gleichen Methoden und Geräten arbeiten, um die Daten vergleichen und die richtigen Schlüsse ziehen zu können.

Um Fehler in der Bearbeitung der Probe auszuschließen und die Reproduzierbarkeit massiv zu erhöhen, werden langwierige Dosieraufgaben von automatisierten Pipettiersystemen wie z.B. der ep*Motion*® übernommen.



Automatisierte Pipettiersysteme, wie z.B. die ep*Motion*, übernehmen langwierige Pipettieraufgaben.

Anders als bei der manuellen Probenbearbeitung führen standardisierte, automatisierte Methoden zur Aufreinigung der DNA/RNA und Erstellung der NGS-Bibliothek zu vergleichbaren und qualitativ hochwertigen Ergebnissen. Da die ep*Motion* auch Inkubationsschritte übernimmt, können Anwender sich währenddessen anderen Aufgaben widmen und somit wertvolle Zeit sparen.

Ein weiterer Erfolgsfaktor ist die verlässliche PCR, welche einen qualitativ hochwertigen Thermocycler wie z.B. den Mastercycler® X50 erfordert, der die notwendige Temperaturstabilität sowie schnelle Heiz- und Kühlraten bietet. Vor Probenverlust und Kontamination in der gesamten Prozesskette schützt grundsätzlich die Verwendung qualitativ hochwertiger Verbrauchsartikel.

Fazit

Gerade bei groß angelegten Studien und internationalen Kooperationen ist eine Investition in Standardisierung enorm hilfreich. Diese schützt vor unzureichenden Ergebnissen und ermöglicht vergleichbare, reproduzierbare Daten, die global genutzt werden können.

Weitere Informationen auf www.eppendorf.com/automation

Optimierung der Bakterienkultur und Plasmidaufreinigung mit Hilfe von Eppendorf Conical Tubes 25 mL

RAFAL GRZESKOWIAK, EPPENDORF AG, HAMBURG
SANDRINE HAMELS, BLANDINE VANBELLINGHEN, EPPENDORF APPLICATION TECHNOLOGIES, S.A., NAMUR, BELGIEN

Zusammenfassung

Die Plasmidaufreinigung aus Bakterienkulturen stellt ein weitverbreitetes Protokoll in Laboren der Molekularbiologie und der Life Sciences dar. Für mittelgroße Ansätze werden meist 15 mL konische Gefäße mit Schraubdeckelverschluss eingesetzt; diese ziehen jedoch häufig Nachteile in der Handhabung nach sich und erzielen weder eine optimale Produktivität der Bakterienkultur noch eine maximale DNA-Ausbeute. Eppendorf Conical Tubes 25 mL mit Schnappdeckel nehmen sich dieser Hindernisse an. In der vorliegenden Application Note zeigen wir, dass die Produktivität der Bakterienkultur sowie die DNA-Ausbeute beim Einsatz von 25-mL-Gefäßen im Vergleich wesentlich höher ausfielen als mit standardmäßigen 15 mL konischen Gefäßen, und dass gleichzeitig sowohl die Handhabung als auch die Durchführung des Workflows deutlich verbessert werden konnten.

Einleitung

Die Bakterienkultur und die nachfolgende Plasmidaufreinigung gehören zweifelsohne zu den am häufigsten durchgeführten Protokollen in Laboren der Molekularbiologie und der Life Sciences. Trotz zunehmender Verfügbarkeit und Erschwinglichkeit von Plasmidaufreinigungs-Kits verschiedener Anbieter ist die Standardmethode der alkalischen Lyse [1] nach wie vor weit verbreitet und im akademischen Sektor fest etabliert. Diese Methode ist kostengünstig und skalierbar, und sie erzielt typischerweise hohe Ausbeuten an reiner Plasmid-DNA, welche sodann direkt in zahlreichen nachfolgenden Anwendungen, wie z.B. Restriktionsverdau, Klonierungen oder Sequenzierungen, eingesetzt werden kann.

Für mittelgroße Ansätze werden in der Regel 15 mL konische Gefäße mit Schraubdeckel eingesetzt. Diese bieten einen dichten Deckelabschluss und gute Zentrifugationsstabilität; allerdings sind sie ebenfalls mit Nachteilen bei der Handhabung behaftet (der Umgang mit dem Schraubdeckel, Kreuzkontamination, schwierige Erreichbarkeit der Probe am Boden des



Gefäßes), und häufig dienen sie daher nicht der optimalen Produktivität einer Bakterienkultur und somit der maximalen DNA-Ausbeute – insbesondere bei low-copy Plasmiden.

Diese Nachteile werden speziell durch die Eppendorf Conical Tubes 25 mL mit Schnappdeckel (SnapTec®) in Angriff genommen. Sie bieten eine deutlich verbesserte Einhandbedienung, bei gleichbleibender Sicherheit für Applikationen im mittleren Volumenbereich zwischen 15 mL und 50 mL.

Im Rahmen dieser Anwendung wurden sowohl die Bakterienkultur als auch die nachfolgende Aufreinigung von low-copy Plasmid-DNA durch standardmäßige alkalische Lyse mit Hilfe von entweder Eppendorf Conical Tubes 25 mL oder regulären 15 mL konischen Gefäßen miteinander verglichen. Der Einsatz von 25-mL-Gefäßen erzielte eine erhöhte Produktivität der Bakterienkultur sowie eine erhöhte Ausbeute an Plasmid-DNA, bei gleichzeitiger Verbesserung der Handhabung sowie des gesamten Workflows.

Material und Methoden

Bakterienkultur

Escherichia coli Bakterien (DH5α, Invitrogen™), transformiert mit low-copy Plasmid-DNA (pBR322™, Invitrogen), wurden in dreifacher Ausführung über einen Zeitraum von 16 Stunden in LB-Medium mit Ampizillin kultiviert (37°C, 250 Upm, Innova® S44i Schüttler, Eppendorf). Das Zellwachstum wurde durch Messung der optischen Dichte bei 600 nm (OD₆₀₀) mit Hilfe eines Eppendorf BioSpectrometer® bestimmt, und eine Schätzung der Anzahl an *E. coli* Bakterien wurde durch die folgende Umrechnungsformel vorgenommen:

OD_{600} von $1.0 \approx 5 \times 10^8$ Zellen/mL

Extraktion von low-copy Plasmid-DNA

Die Extraktion von Plasmid-DNA erfolgte mit Hilfe eines standardmäßigen alkalischen Lyse-Protokolls: 7,5 mL der Bakterienkultur wurden bei 10.000 x g zentrifugiert (5 min, Raumtemperatur), und die Pellets wurden in 1,5 mL Lösung 1 (50 mM Glucose; 10 mM EDTA; 25 mM Tris pH 8,0; 100 µg/mL RNase A) aufgenommen. Nach 5 min Inkubationszeit wurden 3 mL der Lösung 2 (0,2 NaOH; 1% SDS) hinzugegeben, gefolgt von einer weiteren Inkubation (10 min, Eis). Sodann wurden 2,25 mL der Lösung 3 (3M KOAc, pH 5,4) hinzugefügt. Die Proben wurden durchmischt und bei 17.000 x g (30 min, 4°C) zentrifugiert. Die Überstände wurden in frische Gefäße überführt, mit einem Volumen Isopropanol gefällt, durchmischt und sodann erneut bei 17.000 x g (30 min, 4°C) zentrifugiert. Die Pellets wurden gewaschen und in 200 µL TE Puffer resuspendiert.

Für die 15 mL Bakterienkultur wurden die Puffer zur alkalischen Lyse um den Faktor 2 hochskaliert. Die Zentrifugation wurde in der Eppendorf Centrifuge 5810 R mit dem Rotor FA-45-6-30 und entsprechenden Gefäßadaptern durchgeführt.

Optimierung der Bakterienkultur und Plasmidaufreinigung mit Hilfe von Eppendorf Conical Tubes 25 mL

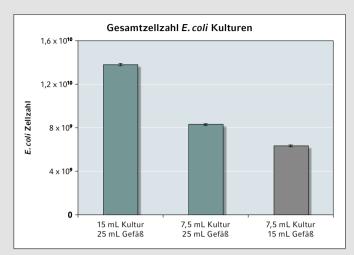


Abb.1: Gesamtzellzahl der *E.coli* Kulturen, inkubiert in Eppendorf Conical Tubes 25 mL mit Schnappdeckel bzw. standardmäßigen 15 mL konischen Gefäßen

Die Plasmidausbeute und -qualität wurden durch Absorptionsmessungen bei 260 nm bestimmt (Eppendorf BioSpectrometer).

Ergebnisse und Diskussion

Der Vergleich von Wachstum und Produktivität der verschiedenen Bakterienkulturen ist in Abb. 1 dargestellt. Die Dichte der Bakterienkultur sowie die Gesamtzellzahlen waren sowohl für die 7,5 mL als auch die 15 mL Kulturvolumina, welche in Eppendorf Conical Tubes 25 mL mit Schnappdeckel inkubiert worden waren, höher. Dies weist auf bessere Wachstumsraten sowie eine bessere Gesamtproduktivität durch effizientere Belüftung und Mischeigenschaften in Eppendorf Conical Tubes 25 mL im Vergleich zu regulären 15-mL-Gefäßen hin.

Extraktion von Iow-copy Plasmid-DNA

Bakterienkulturen wurden direkt zur Extraktion von low-copy Plasmid-DNA (pBR322, Invitrogen) mit Hilfe eines standard-mäßigen alkalischen Lyseprotokolls eingesetzt. Insbesondere ist hervorzuheben, dass im Rahmen dieser Methode mehrfache Hochgeschwindigkeits-Zentrifugationsschritte (bis zu 17,000 x g) sowie Misch- und Phasengewinnungsschritte stattfinden. Die dichte Versiegelung des Deckels und die damit einhergehende Sicherheit der Eppendorf Conical Tubes 25 mL waren mit den regulären 15 mL konischen Gefäßen mit Schraubdeckel vergleichbar.

Kreuzkontaminationen sind bei der parallelen Bearbeitung mehrerer Schraubdeckelgefäße nicht auszuschließen; die Schnappdeckel ermöglichten ein drastisch reduziertes Kontaminationsrisiko bei gleichzeitig schnellerer Handhabung.

Wie in Abb. 2 gezeigt, waren die mittels Eppendorf Conical Tubes 25 mL erzielten Ausbeuten an Plasmid-DNA deutlich höher als jene, die mit regulären 15 mL konischen Gefäßen gewonnen worden waren. Für die 7,5 mL und 15 mL Bakterienkultur-Volumina konnten 70 % bzw. 400 % höhere Ausbeuten verzeichnet werden, was auf eine hohe Kulturdichte und verbesserte Wachstumsparameter schließen lässt, wodurch eine erhöhte Produktion von Plasmid-DNA ermöglicht wurde.

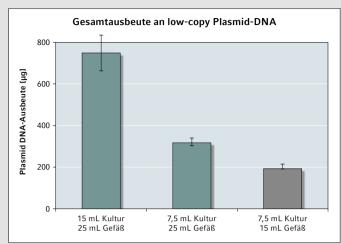


Abb. 2: Gesamtausbeute an low-copy Plasmid-DNA (pBR322), aufgereinigt aus Bakterienkulturen, welche entweder in Eppendorf Conical Tubes 25 mL mit Schnappdeckel oder in standardmäßigen 15 mL konischen Gefäßen inkubiert worden waren

OD-Quotienten bestätigten die Reinheit der DNA-Aufbereitungen: A260/280 > 1,9 und A260/230 > 2,0.

Fazit

Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl die Produktivität der in Eppendorf Conical Tubes 25 mL mit Schnappdeckel (SnapTec) kultivierten Bakterienkulturen als auch die daraus resultierenden Ausbeuten an Plasmid-DNA sehr viel höher waren (70 % bis 400 %) als Kulturen aus den standardmäßigen 15 mL konischen Gefäßen. Die signifikant erhöhten Wachstumsraten, die mit den 25-mL-Gefäßen erzielt wurden, waren auf die effizientere Belüftung sowie Mischeigenschaften der Bakterienkultur zurückzuführen.

Sowohl die dichte Deckelversiegelung und die sichere Handhabung als auch die Zentrifugationsstabilität der Eppendorf Conical Tubes 25 mL standen den 15 mL konischen Gefäßen mit Schraubdeckel in nichts nach. Gleichzeitig wird die Handhabung von Ansätzen im mittleren Volumenbereich zwischen 15 mL und 50 mL deutlich optimiert.

Nicht zuletzt ermöglichten Eppendorf Conical Tubes 25 mL einen verbesserten Zugang zur Probe, was das Risiko einer Kreuzkontamination während der Aufreinigung reduzierte. Dies bietet weitere Vorteile bei der Durchführung zahlreicher Protokolle in der Molekularbiologie und den Life Sciences.

Literatur

[1] Birnboim, HC. A rapid alkaline extraction method for the isolation of plasmid DNA. *Methods Enzymol.* 1983; 100: 243–255.

Einfache Automatisierung der Erstellung metagenomischer Bibliotheken mit der ep*Motion*® 5073m NGS

SANDRINE HAMELS & ERIC GANCAREK, EPPENDORF APPLICATION TECHNOLOGIES, S.A., NAMUR, BELGIEN MARC-MANUEL HAHN, EPPENDORF AG, HAMBURG

Zusammenfassung

Metagenomische Studien sind in der Lage, die genetische Zusammensetzung von mikrobiologischen Proben zu ermitteln. Diese Studien beruhen in der Regel auf sog. Marker-Genen, wie z.B. der 16S rDNA, zur phylogenetischen Klassifikation. Welches spezifische Marker-Gen und welche DNA-Region untersucht und wie tief diese sequenziert werden, hängt von der Zielsetzung der Studie ab. Das grundlegende Prinzip der Bibliothekserstellung ist jedoch allen experimentellen Ansätzen gemein. Zur fehlerfreien Analyse der Proben ist ein robuster Workflow unerlässlich. In dieser Application Note stellen wir einen Workflow vor, der an spezifische Kundenbedürfnisse angepasst werden kann.

Einleitung

Wissenschaftliche Fragestellungen rund um das Mikrobiom, wie z.B. Fallkontroll- oder Longitudinalstudien, brauchen bewährte Praktiken und standardisierte und reproduzierbare Labor-Workflows, um hunderte, manchmal tausende von Proben zur Identifikation zu bearbeiten und vergleichbare Resultate zu generieren [1]. Eine Automatisierung der Bibliothekserstellung minimiert den Verlust von Proben, die Verschwendung von

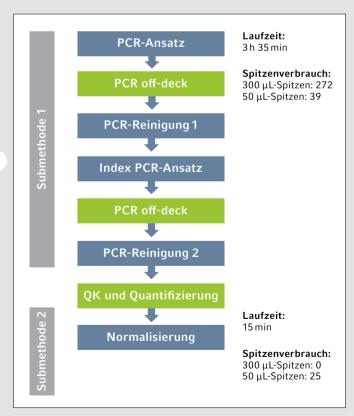


Abb. 1: Dargestellter Workflow des Illumina 16S rDNA Protokolls auf der epMotion. Die grauen Kästen zeigen die zwei auf der epMotion durchgeführten Teilprotokolle. In grün unterlegte Schritte werden "off-deck" ausgeführt. PCR-Amplifikationen wurden auf dem Mastercycler X50 von Eppendorf durchgeführt. Im Einklang mit dem Protokoll werden die Workflows in logische Einheiten unterteilt, die an sicheren Endpunkten gestoppt werden können. Detaillierte Laufzeiten sowie die benötigten Verbrauchsgüter sind neben jeder Submethode aufgezeigt.

Reagenzien und Verzögerungen bei der Sequenzierung. Sie reduziert ebenfalls die Variabilität zwischen verschiedenen Anwendern sowie Fehler bei der Probennachverfolgung. Diese Application Note beschreibt die automatisierte Bearbeitung mikrobieller DNA-Proben auf der ep*Motion* (Eppendorf) zu sequenzfertigen Bibliotheken.

Experimenteller Versuchsaufbau

Die Bibliotheken wurden mit Hilfe einer automatisierten Version eines Illumina® Protokolls erstellt [2]. Das automatisierte Protokoll ist in zwei Submethoden unterteilt (Abb. 1), die jeweils an einem sicheren Endpunkt gestoppt werden. Sämtliche Amplifikationen wurden auf einem Mastercycler® X50 von Eppendorf durchgeführt. Zu Beginn des Experiments wurden 12,5 ng genomischer *Escherichia coli* MG1655 DNA (ATCC® 700926D5™) eingesetzt. Pro Lauf wurden 24 Proben vorbereitet. Für jede Bibliothek wurde eine Qualitätskontrolle (Größenverteilung und Quantifizierung) mit Hilfe eines Agilent® 2100 Bioanalyzer® DNA 1000 Kits durchgeführt. Im zweiten Teil des Experiments wurde eine Mock Community aus 20 Strain Staggered Mix Genomic Material (ATCC MSA1003™) verwendet, um 16 auf der ep*Motion* erstellte und 8 manuell hergestellte Bibliotheken miteinander zu vergleichen.

Um eine Anzahl von 24 Proben für den automatisierten Lauf zu vervollständigen, schlossen wir zur Kontrolle 4 *E. coli* Proben sowie 4 Proben ohne DNA (sog. Non-Template-Control [NTC]) ein. Da die Kontrollen gute Ergebnisse zeigten, wurden die gepoolten Bibliotheken auf einem Illumina MiSeq® System im paired-end Modus (2 x 150 bp) sequenziert. Die Daten wurden mit Hilfe der Illumina BaseSpace® 16S Metagenomics App ausgewertet.

Ergebnisse und Diskussion

Etablierung einer 16S rDNA-Methode mit Hilfe genomischer DNA aus E. coli

Wir planten zunächst, die Funktionalität unseres Ansatzes durch Amplifikation der V3-V4 Region der 16S rDNA aus *E. coli* zu veranschaulichen. Wir untersuchten die Variabilität und die Ausbeute von 24 verschiedenen Replikaten derselben Input-DNA. Die Resultate pro Probe waren ähnlich, mit einer mittleren Amplifikatgröße von 657 bp (CV 0,5%) und einer mittleren Ausbeute von 218 nM (CV 10,9%). Es waren keine Primer Dimer zu verzeichnen, was auf effiziente PCR-Ansätze sowie Bead-Aufreinigungen schließen ließ.

Ein Faktor mit potenziell negativer Relevanz in metagenomischen Studien ist die Kreuzkontamination. Um dies zu untersuchen, wurde ein Bibliotheks-Präparationslauf mit abwechselnden Sets von *E. coli* DNA-Template bzw. Non-Template Controls (NTC) entworfen und ausgeführt. Die nachfolgende Gelelektrophorese zeigte keinerlei Amplifikation innerhalb der NTC-Proben, sondern lediglich einige Primer Dimer, welche in den Proben mit DNA jedoch nicht vorkamen (Abb. 2).

Einfache Automatisierung der Erstellung metagenomischer Bibliotheken mit der ep*Motion*® 5073m NGS

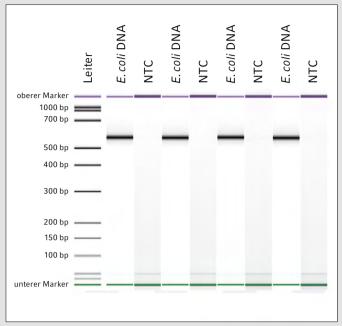


Abb. 2: Die automatisierte Bibliothekserstellung mit alternierenden Sets von *E. coli* DNA und NTC-Kontrollen bestätigt die Abwesenheit einer Kreuzkontamination.

Studien zur Reproduzierbarkeit mit Hilfe einer aus 20 Stämmen bestehenden Mock Community

Sodann setzten wir die oben beschriebene Methode ein, um die Reproduzierbarkeit der metagenomischen Diversität zu testen. Dazu wurden 16 Replikate einer Mock Community aus 20 Stämmen auf der ep*Motion* angesetzt. Zum Vergleich führten wir das gleiche Experiment manuell in 8 Replikaten durch. Die daraus resultierenden 24 Proben wurden zusammen in einem 2x150 bp MiSeq-Lauf sequenziert. Mit Hilfe der Illumina 16S BaseSpace App wurden die daraus resultierenden Dateien einer "operational taxonomic unit" (OTU)-Klassifizie-

rung unterzogen, um zu untersuchen, ob die einzelnen Genera innerhalb der künstlichen Gemeinschaft re-identifiziert werden konnten. Die Anzahl der Reads aus diesem Experiment war mit einem robusten Durchschnittswert von 87,1% groß genug, um die Zuordnung zu einem jeden Genus bei den verschiedenen Proben nicht zu beeinträchtigen. Manuelle sowie automatisierte Probenansätze sind nötig, um mögliche Unterschiede in der Community zu beurteilen; eine Principal Coordinate Analysis (PCoA) wurde zum Vergleich der Ansätze auf Genus-Niveau durchgeführt (Abb. 3).

Die PCoA zeigte ein sehr dichtes Clustering der Proben, was auf eine sehr geringe bis keine Variation zwischen dem manuellen und dem automatisierten Verfahren zur Bibliothekserstellung schließen ließ. Die dargestellten Ergebnisse qualifizieren die automatisierte Methode dahingehend, dass sie Sequenzierbibliotheken von gleicher bzw. besserer Qualität erzeugt als die manuelle Methode.

Fazit

Die steigende Nachfrage nach hochqualitativen NGS-Bibliotheken in Laboren erforderte die Entwicklung von robusten, automatisierten Methoden zur Herstellung solcher Bibliotheken. Diese Application Note veranschaulicht die erfolgreiche und reproduzierbare Automation von 16S rDNA Amplikon-Bibliotheken auf der ep*Motion* 5073m NGS solution von Eppendorf, und sie bestätigt eine mit manuellen Protokollen vergleichbare Leistung.

Literatur

- [1] Knight, R. et al. Best practices for analyzing microbiomes. *Nature Microbiology Review* 2018; 16:410-422.
- [2] Illumina. 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Guide. Part # 15044223 Rev. B

Die Langversion dieser Application Note können Sie unter www.eppendorf.com/appnote420 herunterladen.

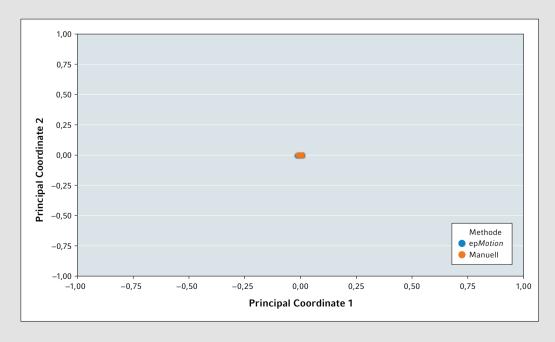


Abb. 3: Principle Coordinate Analysis (PCoA) der OTU-Klassifikation von 24 Replikaten der Mock Community. Die Principal Coordinates sind per Probentyp für die 8 manuellen Proben (orange) bzw. die 16 in der ep*Motion* 5073m NGS solution erstellten Proben farblich unterlegt. Dieses Streudiagramm zeigt eine PCoA der normalisierten relativen Häufigkeit aller Proben. Die PCoA misst Unterschiede in der Verteilung von taxonomischen Klassifikationen zwischen den Proben auf dem Genus-Niveau. Das Genus-Niveau zeigt ein dichtes taxonomisches Clustering der Ergebnisse.

Robuste Expansion von humanen mesenchymalen Stammzellen mit der synthetischen CCCadvanced® FN1 motifs Wachstumsoberfläche

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

Einleitung

Humane mesenchymale Stammzellen (hMSCs) haben in den letzten zehn Jahren zunehmendes Interesse geweckt. Es handelt sich hierbei um multipotente Zellen in einer heterogenen Population, die aus unterschiedlichen Geweben isoliert werden können [1]. Ihre spezifischen Eigenschaften, wie z.B. ihr mesenchymales Differenzierungspotenzial sowie die Immunmodulation und Sekretion von entzündungshemmenden Molekülen, machen sie zu einer vielversprechenden Stammzellpopulation auf verschiedenen Gebieten der Grundlagenbzw. angewandten Forschung [2]. Da sie in ihren Ursprungsgeweben in relativ geringer Zellzahl vorliegen, erfordert es einen robusten in vitro Expansionsprozess, um eine ausreichende Anzahl an qualitativ hochwertigen hMSCs zu erhalten.

Für gewöhnlich werden hMSCs in vitro in serumhaltigem Medium auf einer TC-behandelten (TCT) Oberfläche expandiert. Allerdings ist der Gebrauch von aus Tieren gewonnenen Materialien, wie z.B. Serum, mit zahlreichen Nachteilen behaftet [3]. Enthält das Kultursystem keine Serumproteine, ist für die Kultivierung von hMSCs eine zusätzliche

Beschichtung auf der Kulturoberfläche notwendig, die die Zelladhäsion unterstützt. Dabei sind die häufig eingesetzten Beschichtungen biologischen Ursprungs und naturgemäß komplex und undefiniert, was die Reproduzierbarkeit von Experimenten beeinträchtigen kann.

Die FN1 motifs Oberfläche besteht aus synthetischen, von RGD abgeleiteten Motiven, die spezifisch konzipiert wurden, um die Zellanheftungsstellen natürlicher Proteine der extrazellulären Matrix, wie z.B. Fibronektin, zu imitieren. Kombiniert mit synthetischen Kulturmedien und Dissoziationslösungen, ist diese Oberfläche eine effektive synthetische Alternative zu biologischen Beschichtungen. Da sie gebrauchsfertig ist, reduziert sich zudem der Aufwand und damit die Arbeitszeit.

Hier zeigen wir, dass die FN1 motifs Wachstumsoberfläche in Kombination mit verschiedenen xeno-freien Medien sowohl für eine erfolgreiche kurzzeitige als auch langfristige Expansion von aus Knochenmark gewonnenen hMSCs (hMSC-BM) geeignet ist.*

Ergebnisse und Diskussion

Effiziente Expansion von hMSC-BM in verschiedenen xeno-freien Kulturmedien

Die FN1 motifs Oberfläche unterstützt das effiziente Wachstum von hMSC-BM in Kombination mit unterschiedlichen xeno-freien (XF) Kulturmedien (Abb. 1).

In einem serumhaltigen Kultursystem adhärieren und proliferieren hMSCs in vergleichbarer Weise auf der FN1 motifs und TCT-Oberfläche. Auf beiden Oberflächen zeigen die Zellen ihre typische fibroblastenähnliche Morphologie.

In einem serumfreien Medium haben die hMSCs auf der TCT-Oberfläche Schwierigkeiten zu proliferieren, was auf die Notwendigkeit einer zusätzlichen adhäsionsfördernden Beschichtung schließen lässt. Im Gegensatz dazu unterstützt FN1 motifs die Adhäsion und das Wachstum von hMSCs effizient, unabhängig von den untersuchten Medien. Die Zellen zeigen die für eine xeno-freie Kultivierung charakteristische länglichspindelförmige Morphologie [4].

Robuste langfristige Expansion von hMSC-BM in einem vollständig definierten, synthetischen Kultursystem

Um zu bestätigen, dass die FN1 motifs Oberfläche die langfristige Expansion von hMSC-BM in einem vollständig synthetischen Kultursystem unterstützt, ohne die Zellqualität zu beeinträchtigen,

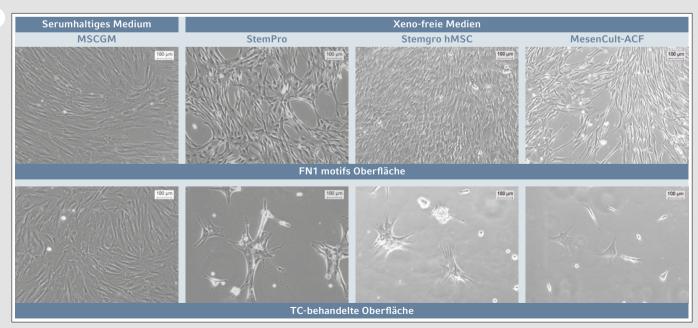


Abb.1: hMSC-BM Morphologie nach kurzer Expansion auf der CCCadvanced FN1 motifs Oberfläche in verschiedenen Kulturmedien

Robuste Expansion von humanen mesenchymalen Stammzellen mit der synthetischen CCCadvanced® FN1 motifs Wachstumsoberfläche

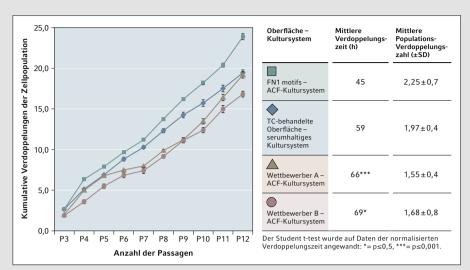


Abb. 2: Proliferationsrate der hMSCs im Laufe einer Langzeitexpansion in verschiedenen Kultursystemen ohne die Zugabe von tierischen Komponenten

wurden die Zellen über einen Zeitraum von 10 aufeinanderfolgenden Passagen auf der Oberfläche kultiviert. In einem Parallelansatz wurden die Zellen auf zwei anderen synthetischen Oberflächen kultiviert (gebrauchsfertig von Wettbewerber A und manuell beschichtet von Wettbewerber B).

Als Referenz wurden Zellen in einem konventionellen Kultursystem (TCT, serumhaltiges Medium und Trypsin/EDTA) expandiert. Die Proliferationsraten zeigen, dass FN1 motifs die robuste und beständige hMSC-Proliferation über den gesamten Kulturzeitraum unterstützt (Abb. 2).

Im Vergleich zu den anderen experimentellen Bedingungen zeigen die auf FN1 motifs expandierten Zellen eine signifikant schnellere Proliferationsrate mit kürzeren Verdoppelungszeiten sowie höherer Populations-Verdoppelungszahl.

Um die Beibehaltung ihrer charakteristischen Multipotenz nach langfristiger

Expansion in einem synthetischen Kultursystem mit FN1 motifs als Wachstumsoberfläche zu bestätigen, wurden die expandierten hMSCs in vitro in osteogene, adipogene bzw. chondrogene Linien differenziert. Wie mittels Immunfluoreszenzfärbung in Abb. 3 gezeigt, behalten hMSC-BM auch nach mehreren Chondrogen nicht induziert

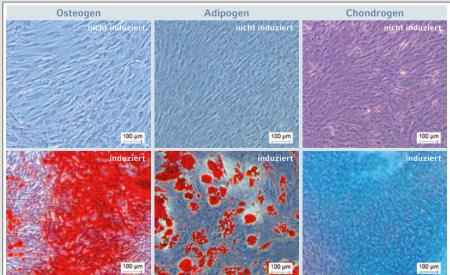


Abb. 3: Differenzierungspotenzial der hMSC-BM nach Expansion auf CCCadvanced FN1 motifs in einem Kultursystem ohne Zusatz tierischer Substanzen

Passagen auf der FN1 motifs Oberfläche ihr Differenzierungspotenzial bei. Parallel dazu wurde der hMSC-spezifische Immunphänotyp mit Hilfe der Durchflusszytometrie analysiert (Daten nicht gezeigt). Die Ergebnisse bestätigen, dass hMSCs auch nach langfristiger Expansion auf FN1 motifs mesenchymale Marker exprimierten und negativ für hämatopoetische Marker blieben.

Fazit

Die gebrauchsfertige CCCadvanced FN1 motifs Oberfläche von Eppendorf unterstützt eine langfristige Expansion von hMSC-BM in einem vollständig definierten Kultursystem. Während der gesamten Expansion behielten die hMSCs eine stabile und robuste Proliferationsrate und ihre typische hMSC-Morphologie bei. Zusätzlich zeigten die Zellen ihr charakteristisches Markerexpressionsprofil sowie ihr Differenzierungspotenzial auch nach mehreren Passagen in einem Kultursystem, dem keinerlei tierische Materialien zugesetzt worden waren.

FN1 motifs unterstützt somit eine effiziente hMSC-BM Proliferation in Kombination mit verschiedenen kommerziellen XF Kulturmedien und erleichtert die Etablierung einer definierten Umgebung für die Kultivierung von hMSCs.

*Besuchen Sie www.eppendorf.com/ appnote390 für detaillierte Angaben zu Material und Methoden.

Literatur

[1] Bobis S et al. Mesenchymal stem cells: characteristics and clinical applications. Folia Histochemica et Cytobiologica, 2006; 44 (4): 215-230

[2] Sharma RR et al. Mesenchymal stem or stromal cells: a review of clinical applications and manufacturing practices. Transfusion 2014; 54. 1418-1437

[3] Karnieli O et al. A consensus introduction to serum remplacements and serum-free media for cellular therapies. Cytotherapy 2017; 19: 155-169

[4] Dolley-Sonneville PJ et al. Synthetic surface for expansion of human mesenchymal stem cells in xeno-free, chemically defined culture conditions. PLoS One 2013; 8(8): e70263

Optimierung einer "Long-range" PCR mit dem Mastercycler® X50 von Eppendorf

HIDENORI MATSUI, KITASATO INSTITUTE FOR LIFE SCIENCES, KITASATO UNIVERSITY, TOKIO, JAPAN

Zusammenfassung

Es besteht ein starker Zusammenhang zwischen der *Helico-bacter suis*-Infektion und Erkrankungen des Magens, sowohl in Tieren als auch im Menschen. Die Genomsequenzen von *H. suis* sind in der Lage, zum Verständnis des Virulenzmechanismus dieser Pathogene beizutragen. Im Rahmen dieser Arbeit führten wir die "Long-range" PCR-Amplifikation des Genoms von nicht kultivierbaren *H. suis*-Stämmen erfolgreich auf dem Mastercycler X50 von Eppendorf, gefolgt von einer Nanopore-Sequenzierung, durch.

Einleitung

Helicobacter pylori (H. pylori) ist ein gram-negatives mikroaerophiles Bakterium, das naturgemäß im Magen vorkommt und typischerweise mit verschiedenen Erkrankungen im Bereich des Magens und des Zwölffingerdarms, wie z.B. chronischer Gastritis und Magengeschwüren, assoziiert wird. H. pylori-Infektionen werden ebenfalls mit dem Risiko, Magenkrebs zu entwickeln, in Verbindung gebracht [1, 2]. Abgesehen von H. pylori werden mehrere weitere Helicobacter-Spezies ebenfalls mit zahlreichen pathologischen Veränderungen des Magens assoziiert [3, 4]. Diese weiteren Helicobacter-Spezies werden unter dem Sammelbegriff H. heilmannii-ähnliche Organismen (HHLO) zusammengefasst, einschließlich H. suis (Typ 1 H. heilmannii), wobei H. suis die vorherrschende gastrische nicht-H. pylori Helicobacter-Spezies im Menschen darstellt. Obwohl die H. heilmannii-Gastritis wesentlich seltener vorkommt als die H. pylori-Gastritis, wurden sowohl H. heilmannii- als auch H. suis-Infektionen mit einer hohen Rate an Lymphomen des Magenschleimhaut-assoziierten Lymphgewebes (MALT) verbunden [4, 5, 6].

Die Diagnostik einer Helicobacter-Infektion umfasst den Urease Test (HU-Test), den ¹³C Harnstoff-Atemtest sowie in vitro-Kultur und serologische und immunhistochemische Analysen. Diese Methoden wurden jedoch ursprünglich anhand von H. pylori-Characteristika entwickelt und optimiert, was die Sensibilität und Spezifität dieser Tests bezüglich der Detektion von HHLO drastisch reduziert – insbesondere beim Menschen. Den differenzierenden immunhistochemischen Analysemethoden fehlen nicht allein die HHLO-spezifischen Antikörper und Antigene - HHLO kommen typischerweise in der Schleimhautschicht auf der Oberfläche foveolarer Epithelzellen vor, was die Eignung dieser Methoden zur Diagnose einer HHLO-Infektion aus Biopsiematerial weiter einschränkt. Zusätzlich stellte sich die in vitro-Kultur der HHLO mit Hilfe traditioneller H. pylori-Kulturtechniken als hochgradig schwierig heraus. Daher besteht die dringende Notwendigkeit, eine sensible, einfache, zuverlässige und kostengünstige Methode zur Detektion dieser HHLO in Biopsien aus Patienten zu entwickeln.

Die genetische Diagnose durch Polymerasekettenreaktion (PCR) ist spezifisch, robust und preisgünstig, und zur Durchführung sind keine hochgradig technischen Fachkenntnisse vonnöten. Diese Methode ist daher sehr gut zur einfachen

klinischen Diagnose geeignet. Diese Application Note stellt die Etablierung einer auf Endpunkt-PCR beruhenden Methode vor, die sich eines spezifischen Primer-Paars zum Nachweis von *H. suis* in gastrischen Biopsie-Proben bedient.

Material und Methoden

Unkultivierbare *Helicobacter suis-*Stämme wurden individuell in den Mägen von C57BL/6 Mäusen durch wiederholtes Beimpfen gastrischer Schleimhauthomogenate von infizierten Mäusen auf uninfizierte Mäuse in Intervallen von ca. 6 Monaten aufrechterhalten.

Gesamt-DNA wurde aus gastrischen Biopsien sowie aus Proben von Schleimhauthomogenaten mit Hilfe des QIAGEN® DNeasy Tissue Kits extrahiert.

Zur Herstellung von gastrischen Schleimhauthomogenaten wurde der Mäusemagen entlang der großen Magenkurvatur von der Speiseröhre bis zum proximalen Zwölffingerdarm geschnitten. Die Magenschleimhaut wurde zwischen zwei runden gläsernen Objektträgern zerquetscht und sodann in Phosphatpuffer (PBS) homogenisiert. Die fertigen DNA-Proben wurden bis zur weiteren Verarbeitung bei –20°C gelagert.

Die folgenden Primer wurden zur Amplifikation eines 10 kb-Fragmentes, einschließlich eines Gens für ein äußeres Membranprotein, eingesetzt:

Vorwärts-Primer

5'-ATAAAGCCCATGAATTCTTAGGCATGCGTGCTCTG-3'

Rückwärts-Primer

5'-TATTCAAGGAAAGTCCCTGGAGAAACTCCAGAGAC-3'

Die extrahierte DNA wurde als Template für das "Long-range" PCR-Protokoll mit der KOD FX DNA Polymerase (Toyobo®) eingesetzt. Der PCR Master Mix wurde in 0,2 mL PCR-Gefäßen vorgelegt: 2x PCR-Puffer, 2 mM dNTP Mix, 5 µM pro Primer, 10 ng des DNA-Templates, sowie 1 U DNA-Polymerase. Das endgültige Volumen von 50 µL pro Reaktion wurde auf dem Mastercycler X50s entsprechend den in Tabelle 1 aufgeführten Einstellungen und Zyklusbedingungen gefahren.

Die PCR-Produkte wurden mit Hilfe von Phenolextraktion und Ethanolfällung aufgereinigt. Danach wurden sie durch Gelektrophorese auf einem 0,6 % Agarosegel aufgetrennt und mit dem DNA-Farbstoff Ethidiumbromid auf dem FAS-III System (Toyobo) sichtbar gemacht.

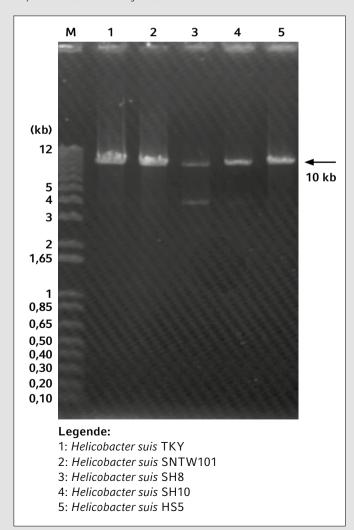
Ergebnisse und Diskussion

Bis zum heutigen Tag besteht ein Mangel an etablierten genetischen Methoden zur Diagnose von HHLO in Magenbiopsien des Menschen. Die jüngste Arbeit wurde von Blaecher *et al.* 2017 veröffentlicht [7], eine auf Sonden beruhende Real-Time PCR (RT-PCR) Methode, welche einen hohen Grad an diagnostischer Spezifität sowie analytischer Sensibilität aufwies.

Optimierung einer "Long-range" PCR mit dem Mastercycler® X50 von Eppendorf

	Lid	105°C
Header	TSP/ESP	ON
(Eppendorf Einstellungen)	Lid auto-off	ON
Lingtonungen,	Temperature mode	Fast
Initiale Denaturierung		94°C/2 min
7l.l.a. F	Denaturierung	98°C/10 s
Zyklen 5 x	Annealing + Elongation	74°C/5 min
Zuklan Ev	Denaturierung	98°C/10 s
Zyklen 5x	Annealing + Elongation	72°C/5 min
Zuklan Ev	Denaturierung	98°C/10 s
Zyklen 5 x	Annealing + Elongation	70°C/5 min
Zuklan 20v	Denaturierung	98°C/10 s
Zyklen 20 x	Annealing + Elongation	68°C/5 min
Finale Elongation		68°C/10 min
Aufbewahrung	Hold	22°C

Tabelle 1: PCR-Zyklusbedingungen und Einstellungen auf dem Mastercycler X50s zur Amplifikation des 10 kb-Genfraqmentes



 $\textbf{Abb.1: } \verb|`Long-range''-Amplifikation von fünf verschiedenen \textit{H.suis-} Stämmen$

In dieser Arbeit stellen wir eine robuste, auf Endpunkt-PCR basierende Nachweismethode mit einem für *H. suis* spezifischen Primer-Paar vor.

Abb. 1 zeigt die Amplifikation eines hochspezifischen 10 kb langen PCR-Produktes mit Hilfe der Touch-down PCR-Strategie. Dieses PCR-System ist in der Lage, DNA aller verschiedenen *H. suis-*Stämme, die aus angeimpften C57BL/6 Mäusen isoliert wurde, erfolgreich zu amplifizieren.

Fazit

Die oben beschriebenen Methoden können für den Nachweis oder die Isolierung von *H. suis* aus humanen Magenbiopsien eingesetzt werden.

Literatur

- [1] Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ (July 2006). "Pathogenesis of Helicobacter pylori infection". Clin Microbiol Rev. 19(3): 449–90.
- [2] Suerbaum S, Michetti P (October 2002). "Helicobacter pylori infection". N. Engl. J. Med. 347 (15): 1175–86.
- [3] Zhang G, Ducatelle R, Mihi B, Smet A, Flahou B, Haesebrouck F. (2016) *Helicobacter suis* affects the health and function of porcine gastric parietal cells. *Vet Res.*; 47(1): 101.
- [4] Stolte M, Kroher G, Meining A, Morgner A, Bayerdorffer E, Bethke B. (1997 Jan). A comparison of *Helicobacter pylori* and *H. heilmannii* gastritis. A matched control study involving 404 patients. *Scand J Gastroenterol*. 1997 Jan; 32(1): 28-33.
- [5] Morgner A, Lehn N, Andersen LP, Thiede C, Bennedsen M, Trebesius K, Neubauer B, Neubauer A, Stolte M, Bayerdorffer E (2000). *Helicobacter heilmannii*-associated primary gastric low-grade MALT lymphoma: complete remission after curing the infection. *Gastroenterology* 118: 821–828
- [6] Goji S, Tamura Y, Sasaki M, Nakamura M, Matsui H, Murayama SY, Ebi M, Ogasawara N, Funaki Y, Kasugai K (2015). *Helicobacter suis*-Infected Nodular Gastritis and a Review of Diagnostic Sensitivity for *Helicobacter heilmannii*-Like Organisms. *Case Rep Gastroenterol* 9: 179–187.
- [7] Blaecher C, Bauwens E, Tay A, Peters F, Dobbs S, Dobbs J, Charlett A, Ducatelle R, Haesebrouck F, Smet A (June 2017). A novel isolation protocol and probe-based RT PCR for diagnosis of gastric infections with the zoonotic pathogen *Helicobacter suis*. *Helicobacter* 22(3). *DOI*: 10.1111/hel.12369

JAN-HENDRIK BEBERMEIER, EPPENDORF AG

Eiszeit für Ihre Proben?

Die Lagerung von Proben ist einfach. Sie müssen Ihre Probengefäße lediglich in den Ultratiefkühlschrank stellen. Doch auch bei diesem simplen Arbeitsschritt gibt es Aspekte, die üblicherweise nicht Teil von Trainings oder Studiengängen an Universitäten sind, für das reale Leben im Labor jedoch wichtig sind. Besuchen Sie unsere Wissensdatenbank "Eppendorf Solutions". Hier finden Sie Antworten auf Fragen zur Lagerung von Proben sowie Inhalte zu Themen wie Zentrifugation, Amplifikation, Zellkultur, Liquid Handling und Photometrie.

Viele, wenn nicht die meisten der biologischen Proben landen schließlich in einem Ultratiefkühlschrank bei -80°C. Aber haben Sie jemals den Wert der Proben in Ihrem Freezer berechnet? Der Wert Ihrer Proben sowie die Zeit, die Sie zur Herstellung aufgewendet haben, können sich in einem Gerät mit Kapazität für 50.000 Proben rasch auf 500.000 € belaufen.

Ultratiefkühlschränke: komplexer als gedacht

Auf den ersten Blick beeindrucken diese voluminösen Riesen vor allem durch ihre Größe und ihr Gewicht, jedoch nicht durch eine komplizierte Bedienung. Man öffnet die Tür, sucht einen freien Platz und legt die Proben hinein. Jetzt noch die Tür schließen und fertig! Fertig? Nun, manchmal gibt es Fragen, die nicht durch die Bedienungsanleitung (die nicht jeder liest), den Rat kompetenter Kollegen ("Frier die Probe einfach ein!"), das Lehrbuch (in dem Freezer gar nicht vorkommen) oder den Verkäufer ("Wie viele Geräte benötigen Sie?") beantwortet werden. Besonders bei der Auswahl eines neuen Ultratiefkühlschranks sehen sich Anwender mit Schlagworten und Fragen konfrontiert, wie z.B.

- > Muss ich wirklich die (EU) Nr. 517/2014 lesen, um zu verstehen, ob ich FCKW, HFC oder HC als Kühlflüssigkeit auswählen soll?
- > Wie soll die Wasserkühlung ausreichen, um -80°C zu erreichen?
- > Welchen Nutzen haben eigentlich diese sargartigen Ultratiefkühltruhen, wie sie im Keller stehen?
- > Warum ist es um den Freezer herum immer warm? Sollte es nicht lieber kalt sein?
- > Wie können wir unsere "Freestyle"-Probenlagerung verbes-
- > Kann ich meine Probe in weniger als fünf Minuten im Ultratiefkühlschrank wiederfinden?
- > Was bedeutet "digitale Speicherung" meiner Proben ist da ein Computer im Freezer?
- > Muss ich einen Kryptologen beauftragen, um ein Probenetikett zu entziffern?

Sie finden diese (teils ironischen) Fragen interessant, weil Sie Wissenschaftler oder Labortechniker sind. Ihre Forschung macht Sie neugierig. Sie wollen immer alles wissen und verstehen. Aussagen wie "Das haben wir schon immer so gemacht" oder ein achselzuckendes "Das ist nun mal so, gewöhne Dich daran" befriedigen Sie nicht wirklich.

Klarheit gewinnen, um fundierte Entscheidungen zu treffen

Wir von Eppendorf glauben an die Kraft der Wissenschaft und teilen Ihre Begeisterung dafür. Seit Jahrzehnten entwickelt Eppendorf Problemlösungen für zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse. Unzählige Arbeitsstunden von Ingenieuren, Chemikern, Molekularbiologen, Biotechnologie-Experten und anderen Kollegen fließen in die Entwicklung unserer Produkte ein. So entsteht ein großer Pool an wertvollem Wissen und Erfahrung in den Bereichen Liquid Handling, Cell Handling und Sample Handling. Wir freuen uns, dieses Wissen weiterzugeben.

Auf www.eppendorf.com/handling-solutions gewinnen Sie Klarheit für viele Fragestellungen.



Tipp: Unter https://bit.ly/2m3IXBW können Sie direkt ins Thema Lagerung bei -80°C einsteigen!

Sprechen Sie uns gerne an, wenn es Themen gibt, über die Sie mehr erfahren möchten.

GASTAUTOR: GERALD VALLENTIN, LEIPZIG

48 Jahre mit Eppendorf, ein Labortechniker erinnert sich

Ahnungslos, aber voller Vorfreude betrat ich 1972, als frisch eingestellter Auszubildender im Bereich Medizin der Universität Leipzig, das biochemische Labor. Großartig, all diese fremden Geräte und Chemikalien, weißer Kittel sowieso – und dann diese Gerüche: Schwefelwasserstoff und Mercaptoethanol, gemischt mit Rattenstallduft und Lösungsmitteldämpfen.

Der Laborantenberuf schien interessant, lehrreich und aufregend zu sein, und das hat sich von Anfang an bestätigt. Zunächst gab es aber Überraschungen. Für Schüler in der DDR wurde zur damaligen Zeit alles, was aus Richtung "Westen" kam, misstrauisch beäugt. Und jetzt stand da ein Gerät von "Eppendorf Gerätebau Netheler und Hinz GmbH" aus Hamburg!

Fan von Anfang an

Das Eppendorf-Spektrallinienphotometer wurde dann in den siebziger Jahren mein Lieblingsgerät und wichtigstes Arbeitsmittel. Gerade zum Beginn meiner Berufslaufbahn fand im analytischen Bereich der Umbruch von der "Eimer-Chemie" zur Mikrolitertechnik statt. Glaspipetten und Mundpipettierung wichen nun auch in unserem Bereich den modernen, neuartigen Luftpolster-Kolbenhubpipetten - von

Eppendorf (Abb. 1). Versuche des Nachbaus von Pipetten scheiterten, und diese wurden daher nur sehr ungern genutzt.

Ebenso war auch das nötige Equipment zur Nutzung der neuartigen Eppendorf-Reaktionsgefäße vorhanden: Ständer, Schüttler und Heizblock, der automatische Küvettenwechsler für das Eppendorf-Photometer und der Eppendorf-Thermostat zum Temperieren des Küvettenhalters.

Gute Methoden zur enzymatischen Analyse, z.B. von Boehringer Mannheim, standen zur Verfügung. So haben wir über die Jahre bei tausenden von Blut- und Organproben die Enzym- und Substratkonzentrationen gemessen, mit Analoganzeige (Lichtmarke) und viel Schreib- und Rechenarbeit, um z.B. Extinktionsänderungen pro Zeiteinheit zu ermitteln. Welches Glück, so arbeiten zu dürfen.

Wiedersehen mit alten Freunden

Nach abgeschlossener Ausbildung und Studium wechselte ich in ein Institut der Veterinärmedizin der Universität und war nun auch für die Pflege, Reparatur und Ersatzteilbeschaffung zuständig. Es war eine Freude, als ich 1980 hier wieder auf das vertraute Eppendorf-Photometer traf! Allerdings war dieses Gerät viel älter, es war 1964 angeschafft worden und hatte ein altmodisch anmutendes Gehäuse anthrazitfarben, mit abgerundeten Kanten. Der Anschaffungspreis ist auf der Inventarkarte (Abb. 2) vermerkt: 13.687,60 MDN (Mark der Deutschen Notenbank).

An diesem Gerät, welches sogar einen Fluoreszenz-Messansatz hatte, habe ich bis Anfang der neunziger Jahre gearbeitet. Es wurden verschiedenste Endpunktmethoden in großen Serien gemessen,



Abb. 1: Gerald Vallentin 1979 mit moderner Luftposter Kolbenhubpipette am Eppendorf-Photometer

ezeichnung)	objekt:	9	hosemeter . Eppen	dorf nov	GM-Art: 8 Melde-Nr.: 874
		Menge	nangaben - Stück	Wertange	oben - MDN -
Datum	Zugang	Abgang	Bestand	Brutto-Wert*)	Gesamt-Bruttowert
1	2	3	4	5	6
			It. Umbewertung:		It. Umbewertung:
			Q . 0 307	12/04 (0	
1.67	1		Clepproferhous 1.6.7	13687,60	
1.67	1		Clepprofubul 1.6.7	13607,60	
7.67	j		6. N. M M 67782	Sektion	Terproduktion erinärmedizin

Abb.2: Inventarkarte des Eppendorf-Photometer 1100



Abb. 3: Gerald Vallentin 2019 mit "historischer" Eppendorf-Pipette

was durch die Eppendorf-Absaugtechnik in Kombination mit der Durchflussküvette möglich war. Weiterhin wurden die Plasmahormone ACTH und 11-OHCS nach Aufarbeitung und Derivatisierung mit Fluoreszenz erfasst und es wurde die Aktivität der Acetylcholinesterase analysiert.

Die Beschaffung von Ersatzmaterial bzw. Verschleißteilen musste, da es sich um Importartikel aus dem "Nichtsozialistischen Wirtschaftsgebiet" handelte, frühzeitig, d.h. mindestens drei Jahre im Voraus, bedacht und eingereicht werden. Noch für 1990 hatte ich eine neue Quecksilberdampflampe und einen neuen Photomultiplier bestellt, welche auch geliefert wurden.

Nach der Wende wurde 1990 im Institut ein kompletter Enzymmessplatz gekauft. Eine enorme Erleichterung dank der nun digitalen Erfassung der Messwerte, in Kombination mit Küvettenwechsler, Kleinrechner und Drucker. Das alte Photometer blieb aber immer bei mir stehen und diente bis zuletzt als Anschauungs- und Übungsgerät bei der Ausbildung von Studenten und Laboranten, denen so eindrücklich die Funktion eines Spektrallinienphotometers dargestellt werden konnte.

Abschied aus dem Berufsleben

Etwas wehmütig verabschiede ich mich Anfang 2020 nach 48 Jahren aus dem

aktiven Berufsleben. Meine so lange gehegten Laborgeräte gehen mit mir in den Ruhestand, denn wer könnte sie nun noch nutzen oder reparieren. Während der großen Verschrottungsaktion kam mir die Idee, das alte Photometer der Firma Eppendorf für museale Zwecke anzubieten. Dann wurde ich gebeten, meine kleine Geschichte zu erzählen.

Und nun schauen Sie sich bitte die Pipette in Abb. 3 an. Es ist das gleiche Gerät wie in der Abb. 1 vor 40 Jahren! Damals in den Siebzigern und heute: formschön, elegant und funktionstüchtig wie ehedem! Wenn ich das doch auch von mir so sagen könnte ...

Immerhin beweist sich so: Eppendorf steht für Qualität! Um Missverständnissen vorzubeugen – natürlich arbeiten wir heute mit modernsten Geräten, u.a. von Eppendorf.

Tischzentrifugen, Thermocycler, Schüttler, manuelle und elektronische Pipetten sind unabdingbare Arbeitsgeräte der täglichen Laborpraxis. Und so kann man doch mit allem zufrieden sein.

Mit den besten Grüßen an Eppendorf und an Laborkollegen in nah und fern.

Gerald Vallentin

Dipl.-Ing. (FH) Medizinische Laboratoriumstechnik. Technischer Mitarbeiter am Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut.

Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig.

Tipp

So bleiben Ihre Pipettierergebnisse reproduzierbar!



Pipetten und Dosierer sind, je nach Gebrauch, unterschiedlichem Verschleiß mit Auswirkungen auf Präzision und Richtigkeit ausgesetzt. Nur eine regelmäßige, gründliche Wartung und Kalibrierung garantiert die Zuverlässigkeit dieser Präzisionsinstrumente und damit das Vertrauen in die Qualität der Ergebnisse.

Eppendorf bietet Ihnen weltweit direkt oder durch regionale Partner einen kompetenten Wartungs- und Kalibrierservice gemäß ISO 8655 in ISO 17025-akkreditierten Pipettenservice-Laboren. Hochqualifizierte Techniker mit über 200 Trainingsstunden nutzen eine nach der ISO/IEC 17025:2017-11 validierte Kalibriersoftware. Je nach Pipetten-Typ werden zwischen 10 bis 720 Messwerte nach Herstellerspezifikationen oder gemäß der ISO 8655 mit Ein- bzw. Mehrkanalwaagen kalibriert und ein detailliertes Protokoll

Diesen Service bieten wir für Eppendorf-Pipetten sowie mehr als 4.500 Modelle anderer Hersteller an. Nutzen Sie unsere Erfahrung und Expertise, um Ihre Pipetten und Dosierer im besten Zustand zu erhalten – für verlässliche, reproduzierbare Ergebnisse.



Mehr Informationen unter www.eppendorf.com/epServices BERRIT HOFF, EPPENDORF AG

25-jähriges Jubiläum des **Eppendorf Award**

Im Jahr 2020 wird Eppendorf 75 Jahre alt. Gleichzeitig begeht der Eppendorf Award for Young European Investigators sein 25-jähriges Jubiläum. Der mit 20.000 EUR dotierte Wissenschaftspreis honoriert seit 1995 einmal jährlich herausragende Leistungen auf dem Gebiet der biomedizinischen Forschung in Europa. Der Preis wird in Zusammenarbeit mit dem Wissenschaftsjournal Nature® verliehen.



Eppendorf fördert junge Talente

Der Eppendorf Award for Young European Investigators wurde 1995 durch Dr. Heinrich Netheler, einen der beiden Firmengründer, anlässlich des 50-jährigen Firmenjubiläums ins Leben gerufen. Der Preis sollte die enge Verbindung Eppendorfs zur biomedizinischen Forschung untermauern und die eigenständige, kreative Forschung junger Talente bis zu 35 Jahren im europäischen Raum fördern. In den 25 Jahren seines Bestehens hat sich der Preis zu einer prestigereichen Auszeichnung mit namhaften Preisträgern entwickelt.

Von Beginn an unabhängig

Der Bewerbungsprozess sowie die Gewinnerauswahl waren von Beginn an durch Unabhängigkeit charakterisiert. Zum einen gibt es keine Nominierung durch Dritte, die Bewerbung erfolgt auf eigene Initiative.

Zum anderen haben weder Eppendorf noch Nature Einfluss auf die Auswahl des Preisträgers. "Als ich von den Eppendorf-Eigentümern angesprochen wurde, eine Jury für den Eppendorf Young Investigator Award zusammenzustellen, habe ich ohne Zögern zugesagt", so der damalige Juryvorsitzende Prof. Ernst-Ludwig Winnacker [1]. Winnacker stellte allerdings zwei Bedingungen: Die Jury sollte die Freiheit haben – unabhängig von Eppendorf – den jeweiligen Gewinner ausschließlich auf Basis exzellenter Arbeit auszuwählen.

Als zweite Bedingung formulierte er den Wunsch, den Fokus auf die Förderung junger Forscher in europäischen Laboren zu richten.

Besonderes Jubiläum, besondere Feierlichkeit

Das besondere Jubiläum des Eppendorf Award wird mit der Young European Investigators Conference am 25. Juni 2020 am EMBL Advanced Training Centre in Heidelberg gefeiert. Zu dieser Veranstaltung haben sich hochkarätige Award-Alumni angekündigt, um über ihre Forschung und Karriere zu sprechen und sich mit den Konferenzteilnehmern auszutauschen.

So gibt es u.a. ein Wiedersehen mit dem ersten Gewinner - Prof. Steve Jackson aus Großbritannien.

Das wissenschaftliche Programm wird organisiert von den ehemaligen Preisträgern Dr. Simon Boulton (The Francis Crick Institute, Großbritannien) und Dr. Óscar Fernández-Capetillo (CNIO, Spanien & Karolinska Institute, Schweden). Die 1-tägige Veranstaltung ist offen für Wissenschaftler/innen aus dem Bereich der biomedizinischen Forschung.

2020 begeht Eppendorf das 75-jährige Firmenjubiläum. Teil der Festivitäten wird das 25-jährige Jubiläum des Eppendorf Award for Young European Investigators sein. Dieses wird mit der Young European Investigators Conference 2020 gefeiert (s. auch Seite 13).



Networking-Pausen inklusive Verpflegung werden ebenso geboten wie ein abendliches Galabuffet im Anschluss an den Vortrag des neu gekürten Award-Gewinners 2020 (Gewinnerbekanntgabe im März 2020).

Anmeldeschluss für die Konferenz ist der 30. April 2020 (Kapazitäten begrenzt).

Der Juryvorsitzende Prof. Reinhard Jahn vom Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie in Göttingen freut sich:

"Ich bin absolut begeistert von dem Meeting. Es zeigt die herausragende Bedeutung der Forschungsarbeit der bisherigen Gewinner des Eppendorf Awards."

Informationen zur Konferenz unter www.eppendorf.com/award/25years

Informationen zum Award unter www.eppendorf.com/award

[1] Jubiläumsschrift 5th Anniversary, Eppendorf AG

Tipp

Registrieren Sie Ihre Produkte jetzt noch einfacher!

Neben der herkömmlichen Methode zur Registrierung von Produkten über die Website, bietet Eppendorf nun auch eine Fast-Track-Option. In nur drei einfachen Schritten können Sie jetzt Ihre Produkte mit der Eppendorf App registrieren. Für jede Registrierung können Sie bis zu 100 epPoints® erhalten und künftig exklusive Vorteile genießen.

Und in unserer Eppendorf App gibt es noch mehr zu entdecken:

- > Blättern Sie durch den Eppendorf Produktkatalog.
- > Entdecken Sie Augmented Reality und erleben Sie unsere Produkte live.
- > Oder werden Sie "Geschicklichkeitsmeister" mit einem unserer Eppendorf-Spiele.

Holen Sie sich die App und beginnen Sie mit dem Scannen www.eppendorf.com/scan-on



PS: Wenn Sie immer noch die klassische Methode über die Website bevorzugen, melden Sie sich in Ihrem myEppendorf-Konto an oder erstellen Sie ein neues Konto und beginnen Sie mit der Regist-

Presented in partnership with **nature**

eppendorf

Young European Investigators Conference 2020

FREE Conference: June 25, 2020 / EMBL Advanced Training Centre, Heidelberg, Germany

The Eppendorf Award for Young European Investigators is granted annually to an early career scientist for outstanding contributions to biomedical research. It has been awarded, in partnership with Nature, since 1995.

In 2020, we will celebrate 25 years of this prestigious prize with an event welcoming back Award Alumni to talk about their science and careers. The conference will be rounded off with a talk from the newly minted 2020 Award Winner.

This free one-day conference is open to all scientists in biomedical research.

Event includes networking coffee breaks and lunch, and a gala dinner in the evening. Mingle with our Alumni!

Register for free at: www.eppendorf.com/award/25years

Be inspired by award-winning researchers!

Scientific Program Organizers

Simon Boulton
The Francis Crick Institute • United Kingdom

Óscar Fernández-Capetillo CNIO • Spain Karolinska Institute • Sweden

Speakers*

Andrea Ablasser EPFL • Switzerland

Dario Alessi

University of Dundee • United Kinadom

Silvia Arber University of Basel & FMI • Switzerland

Mónica Bettencourt-Dias Instituto Gulbenkian de Ciência · Portugal

Patrick Cramer
Max Planck Institute for Biophysical Chemistry • Germany

Thomas Helleday University of Sheffield • United Kingdom

Steve Jackson

Gurdon Institute • United Kingdom

Ben Lehner CRG • Spain

Elizabeth Murchison University of Cambridge • United Kingdom

Jean Pieters University of Basel • Switzerland

Luca Scorrano

University of Padova – VIMM • Italy

Michael Wegner University of Erlangen-Nürnberg • Germany

Georg Winter CeMM • Austria

Thomas Wollert Institut Pasteur • France

*Status: August 2019

25 Years

For more information and to register visit: www.eppendorf.com/award/25years

CAROLYN TAUBERT UND BERRIT HOFF, EPPENDORF AG

Willkommen in Hamburg: Johannes Kohl und Georg Winter



eppendorf **&** Science PRIZE FOR **NEURO BIOLOGY**

Erinnerung an Hamburg: Johannes Kohl mit personalisierter Pipette

Der deutsche Wissenschaftler Johannes Kohl, Ph.D., besuchte Eppendorf im Frühjahr 2019. Johannes hatte den Eppendorf & Science Prize for Neurobiology 2018 für seine an der Harvard University durchgeführte Arbeit zu neuronalen Mechanismen erhalten, die der elterlichen Fürsorge bei Mäusen zugrunde liegen. In seinem eigenen Labor am Francis Crick Institute in London will Johannes Kohl untersuchen, wie Schwangerschaft, Stress, Schlaf oder Hunger bei Mäusen die Informationsverarbeitung beeinflussen und so ein bestimmtes Verhalten triggern.

Nach dem Besuch zeigte er sich begeistert: "Es war großartig, einen Einblick in die inneren Abläufe bei Eppendorf zu bekommen und viele interessante Menschen kennenzulernen." Die Produktionsbereiche haben es Johannes besonders angetan. "Beeindruckend, wieviel Sorgfalt jedem Detail gewidmet wird und welch hohe Ingenieurskunst in jede einzelne Pipette einfließt. Ich bin mit noch höherer Wertschätzung für die Präzisionsinstrumente in meinem Labor nach England zurückgekehrt."

www.eppendorf.com/prize





Georg Winter mit Eva van Pelt, Vorstand Vertrieb, Marketing und Service

Einige Wochen später war auch Dr. Georg Winter vom CeMM-Forschungszentrum für Molekulare Medizin der Österreichischen Akademie der Wissenschaften in Wien zu Gast bei Eppendorf. Georg hatte den Eppendorf Award for Young European Investigators 2019 gewonnen. Er erhielt die mit 20.000 Euro dotierte Auszeichnung für seine Arbeit an der Entwicklung einer generalisierbaren Methode für den gezielten Proteinabbau in vivo. Der zielgerichtete Proteinabbau ist eine neue und radikal andere Methode in der Medikamentenentwicklung. Georg Winter und sein Team erhoffen sich, dass durch diesen Ansatz zusätzliche krankheitsrelevante Proteine erschlossen werden können und somit neuen Therapien der Weg geebnet wird.

Auch Georg genoss den Kurztrip nach Hamburg sowie die Eindrücke, die er sammeln konnte: "Ich habe sehr viel gelernt und mitgenommen, und es war sehr spannend zu sehen, wie Eppendorf-Produkte entstehen."

www.eppendorf.com/award

Markenhinweise

Agilent® and Bioanalyzer® are registered trademarks of Agilent Technologies, Inc., USA. Amazon® is a registered trademark of Amazon Technologies, Inc., USA. ATCC® is a registered trademark of the American Type Culture Collection, USA. Illumina®, MiSeq®, and BaseSpace® are registered trademarks of Illumina, Inc., USA. Nature® is a registered trademark of Springer Nature Ltd., UK. QIÁGEN® is a registered trademark of QIÁGEN GmbH, Germany. Toyobo® is a registered trademark of Toyobo Ćo., Ltd., Japan. 700926D5™ and MSA1003™ are trademarks of the American Type Culture Collection, USA. Invitrogen™ is a trademark of ThermoFisher Scientific, Inc., USA.

Eppendorf®, the Eppendorf Brand Design, CCCadvanced®, CryoCube®, epMotion®, Eppendorf BioSpectrometer®, Eppendorf Research®, Eppendorf Tubes®, epPoints®, the epServices® logo, Mastercycler®, SnapTec®, and VisioNize® are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany. Innova® is a registered trademark of Eppendorf, Inc., USA. eLABJournal® is a registered trademark of Bio-ITech B.V., Netherlands. SafeCode™ is a trademark of Eppendorf.AG, Germany. U.S. Design Patents are listed on https://corporate.eppendorf.com/en/ trademarks-patents/. All rights reserved, including graphics and images. Copyright © 2020 by Eppendorf AG.

Neues Pipettiersystem zu gewinnen

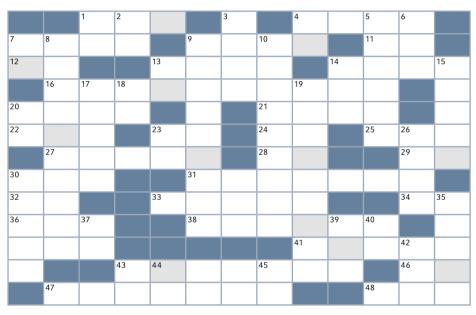
Die Lösung des Preisrätsels aus der BioNews Nr. 50 lautete "Eppendorf Conical Tubes Amber". Der Hauptgewinn, ein Pipetten-3er-Pack, ging an Robert Barthel in Frankreich.

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. Juni 2020.

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 drei Preise werden in Ausgabe 54 veröffentlicht.



Je 1 Eppendorf Research® plus 16- oder 24-Kanalpipette Ihrer Wahl

4. bis 6. Preis:

je 1 Amazon® Gutschein im Wert von 50.00 Euro

7. bis 15. Preis:

je 500 Bonus epPoints®

(Registrierung bei epPoints erforderlich)

WAAGERECHT

- Schnell, zügig
- Bauernhof (Engl.)
- Kurzreise
- Beitrag in sozialen Netzwerken
- Das einatmen und dann reden ... lustig! (Abk.)
- Caracas ist die Hauptstadt (ISO-Länderkürzel)
- Frau eines Radschas
- Paste auf Basis von Soiabohnen
- 16 Altersquppe innerhalb einer Gesellschaft
- Er entwickelte eine Färbemethode für Bakterien
- Funktion, die mit Strg + Z (oder Command-Z) ausgelöst wird "Englische" Tetrapoden haben 4
- davon (Sing.)
- 10⁻³ m (Abk.)
- Binnenstaat in Südasien (ISO-Länderkürzel)

- 25 Ozean, Meer (Engl.)
- Skipiste (Engl.)
- Bleiähnliches, giftiges Metall
- (chem. Symbol)
- US-Bundesstaat in Neuengland (Abk.)
- Verwendung, Gebrauch (Engl.)
- Sieg, Siegeszug
- Legierungsmetall zur Stahlveredelung (chem. Symbol)
- Wurde durch Robinson Crusoe berühmt (Nachname)
- Alles korrekt (Abk.)
- Ist elektrisch geladen
- Läufer (Engl.)
- Schwarz-weiß gestreiftes Herdentier
- Solch ein Cycler wird für PCR benötiat (Enal.)
- Spanischer Artikel
- Das erste F in FFF
- Weiblicher Vorname

SENKRECHT

- Hier liegen Tampere und Turku (ISO-Länderkürzel)
- Internetprotokoll (Abk.)
- Das Portrait dieser Lisa hängt im Louvre
- 0,3048 m (engl. Abk.)
- Gehörntes Säugetier (engl. Kurzbezeichnung, Pl.)
- Spanisch für Monat
- Massenmedium (Abk.)
- Rückbildung, Rückentwicklung
- Kennarößen
- Verhältnisse, Umstände, augenblickliche Lage
- Hat die Ordnungszahl 75 (chem. Symbol)
- Britische Subkultur der frühen 60er Jahre
- Amtstracht
- Großer Greifvogel (engl. Bezeichnung)

- 18 10**-9** m (Abk.)
- Virusgrippe
- 109 L (Abk.)
- Halbleise Tonstärke (Abk.) 23
- Zwischen Delta und Foxtrot
- Bund, Zusammenschluss
- Verrückt nach Eukalyptus
- Zweiter Teil der Bibel (Abk.)
- Wanderfischart (engl. Bezeichnung)
- Hat die Ordnungszahl 37 (chem. Symbol)
- Reife Erdbeeren und Tomaten haben
- diese Farbe (in England) Italienische Liebeserklärung:
- Deutsche Universitätsstadt am Neckar (KFZ-Kennzeichen)
- Chronisch-entzündliche neurologische Erkrankung (Abk.)

Lösungshinweis für das Gewinnspiel BioNews Nr. 52:

Н L

Science Webinars keeps you on pace with breakthroughs in cancer research. Search out one of our Webinars today.

