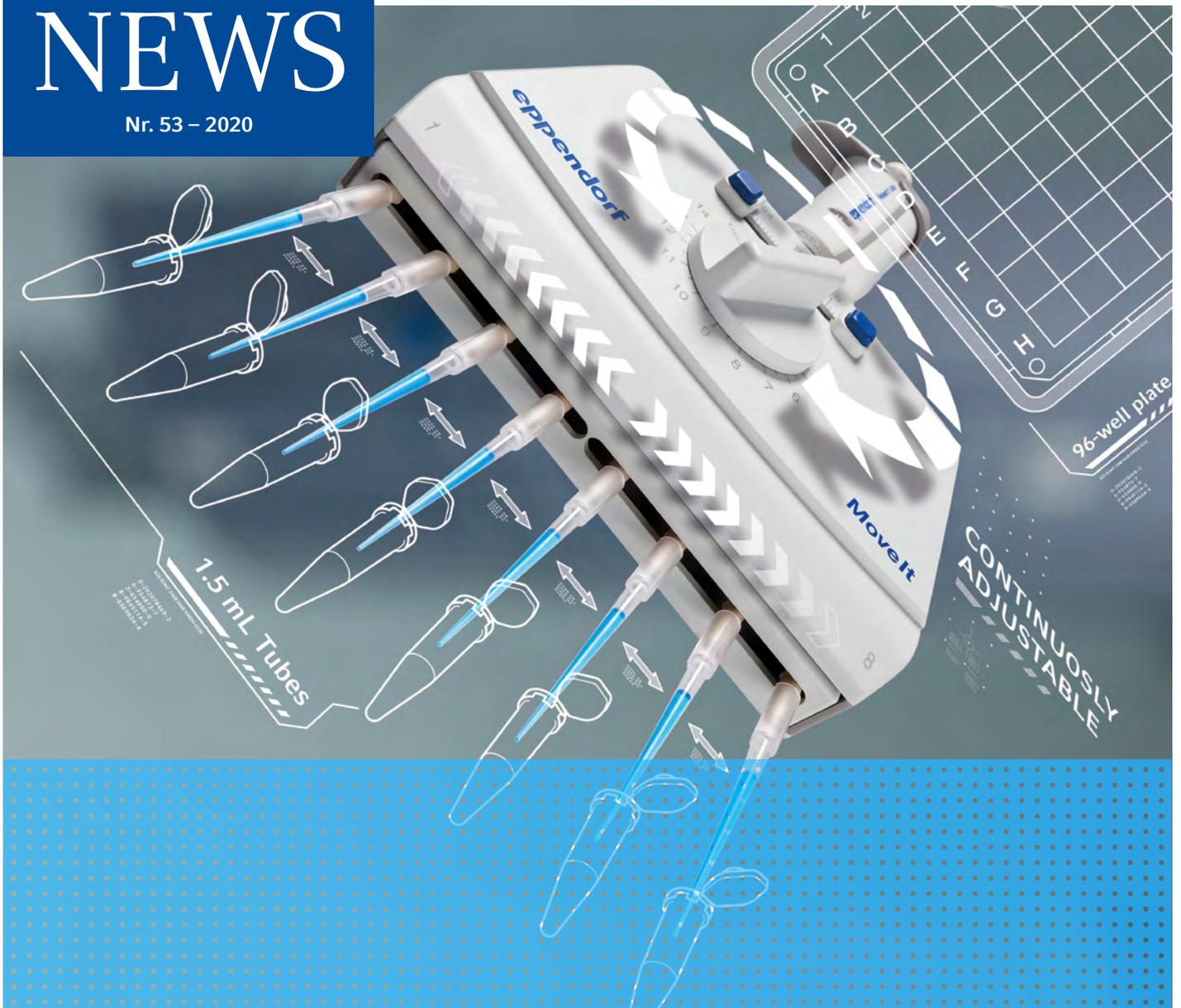


BIO NEWS

Nr. 53 – 2020

eppendorf



Immer schön beweglich bleiben: Move It®

- > epT.I.P.S.®: Upgrade für Design und Nachhaltigkeit
- > Dokumentieren Sie den Weg Ihrer Proben?
- > Flexibel lernen: kostenfreie Webinare

Application Notes

Erhöhung von PCR-Ausbeute und -Spezifität · Generierung eines optimalen Bioreaktor-Inokulums im Schüttelkolben · Vollständige Probenrückgewinnung in Conical Tubes · etc.





Liebe Leser,

das Corona-Virus SARS-CoV-2 berührt unser Leben nach wie vor, und wie lange dieser Zustand anhalten wird, ist noch nicht absehbar. Weltweit sind zahlreiche Forscherteams unter Hochdruck dabei, wirksame Impfstoffe und Medikamente zu entwickeln. Dabei gilt es, die größtmögliche Sicherheit für Mensch und Probenmaterial zu gewährleisten.

Wissenschaftler rund um den Globus unterstützen wir dabei mit

- > Zentrifugen mit innovativen aerosoldichten Rotoren
- > Systemen für automatisiertes Liquid Handling zur Beschleunigung von Workflows und reproduzierbar präzise Ergebnisse
- > Bioprozess-Lösungen für rasche Fortschritte bei Impfstoffforschung und -entwicklung
- > manuellen Pipetten und Pipettenspitzen für ergonomischen, sicheren Proben-transfer
- > CO₂ Inkubatoren, die eine sichere, einfach zu sterilisierende Umgebung für Zellen bieten

Und die Entwicklung geht stetig weiter. Unsere Kunden haben uns z.B. nach einer effizienten, sicheren und ergonomischen Lösung zum Mehrfachproben-transfer zwischen unterschiedlichen Formaten gefragt. Die Antwort hierauf ist „Move It[®]“, eine neue Generation von Mehrkanalpipetten mit justierbaren Spitzenabständen. Mehr dazu auf Seite 4–5. Die Notwendigkeit zu mehr Nachhaltigkeit macht auch vor dem Labor nicht halt. Nach 17 erfolgreichen Jahren epT.I.P.S.[®] Pipettenspitzen im Markt machen wir mit einer Designüberarbeitung bei den Einweg-Racks einen messbaren Schritt bei der Einsparung von Kunststoff (Seite 6–7). Weitere Themen dieser Ausgabe behandeln die Probenidentifizierung und die Prozessverfolgung im Labor. Mehr dazu auf Seite 10–11.

Ihren Laboralltag zu erleichtern und effizienter zu gestalten und Sie bei wichtigen Zukunftsfragen zu unterstützen – das treibt Eppendorf seit 75 Jahren an und wird es auch künftig tun. Ganz im Einklang mit unserer Mission, einen Beitrag zur Verbesserung der Lebensbedingungen der Menschen zu leisten.

Sie möchten mehr über 75 Jahre Eppendorf erfahren?

Besuchen Sie <http://eppendorf.global/kuR>

Ihr Eppendorf BioNews-Team

Hinweis: Aufgrund der Corona-Krise wurde die **Young European Investigators Conference** (wir berichteten in der letzten Ausgabe) auf den 24. Juni 2021 verschoben. Mehr Info unter <http://eppendorf.global/kwG>

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. Jan-Hendrik Bebermeier,
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. 14 rechts: ETH Zürich; S. 24: Science/
AAAS; Application Note S. 4: MPI CBG,
Genotyping Facility, Dresden

Kontakt

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

Vertrieb Schweiz

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

Vertrieb Österreich

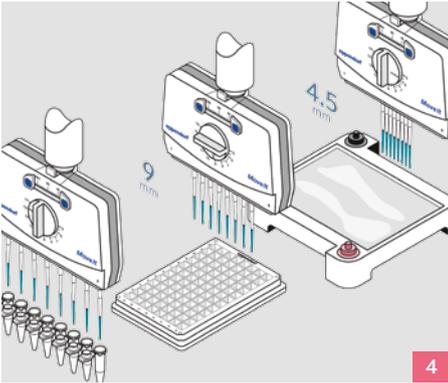
Eppendorf Austria GmbH
Ignaz-Köck-Straße 10, 1210 Wien
Tel. (01) 8901364-0
E-Mail: office@eppendorf.at

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, Juli 2020.
Klimaneutral gedruckt in Deutschland.



IM BLICKPUNKT LABORPRAXIS	Immer schön beweglich bleiben: Move It®!	4–5	
	Vom Labor zum Regelkreis-Wachstumssystem	8	
	Dokumentieren Sie den Weg Ihrer Proben?	10–11	
	INNOVATION	Upgrade für Design und Nachhaltigkeit	6–7
		Software-Update: Do It Yourself!	5
	NEWS/TIPPS	Für mehr Platz auf dem Labortisch	7
		Gesicherte Performance, maximierte Lebensdauer	9
		Flexibel lernen: kostenfreie Webinare	12
		Online-Shopping bei Eppendorf	12
		Erfolgsfaktor Produktdesign	13
SERVICE	Relaunch der Eppendorf App	13	
	Eppendorf-Preisträger 2019/2020: Lauren Orefice & Randall Platt	14	
	Markenhinweise	14	
	Gewinnspiel: neues Pipettiersystem zu gewinnen	15	

Eppendorf BioNews Application Notes

	<p>BIN LI, MA SHA Escherichia coli-Fermentation: Scale-up vom Klein- zum Pilotmaßstab</p>	1–2
	<p>LIANE FUNKE, ANNE KRAUS, SYLKE WINKLER, FLORIAN HILBERS Erhöhung von PCR-Ausbeute und -Spezifität mit dem Mastercycler® X50 mit 2D-Gradient</p>	3–4
	<p>RAFAL GRZESKOWIAK, SANDRINE HAMELS, BLANDINE VANBELLINGHEN Vollständige Probenrückgewinnung in Eppendorf Protein LoBind Conical Tubes</p>	5–6
	<p>MAIKE RIEL, FRANK EIDEN, LARS BLANK, NICOLA FREYER, INES HARTMANN Generierung eines optimalen Bioreaktor-Inokulums im Schüttelkolben</p>	7–8

STEFANIE RÖSEL & SAMIRA SCHROEDER, EPPENDORF AG

Immer schön beweglich bleiben: Move It®!

Müssen auch Sie regelmäßig Proben zwischen verschiedenen Gefäßformaten hin- und herpipettieren? Schlimmstenfalls sogar mit Einkanalpipetten zwischen Tubes und 96- bzw. 384-Well-Platten? Eine ineffiziente, umständliche und ermüdende Prozedur. Und wenn der Durchsatz steigt, sinkt die Performance. Mit den neuen Adjustable Spacer-Pipetten „Move It“ können Sie mehrere Proben gleichzeitig transferieren und bis zu 3x schneller fertig sein. Testkunden loben: „Move It sorgt für eine echte Performance-Steigerung im Labor“.

Herausforderung angenommen und gemeistert

Mehrkanalpipetten konnten lange Zeit nur für das Vorlegen von Flüssigkeiten wie Mastermix, Puffer oder Zellkulturmedium verwendet werden. So blieb die Einkanalpipette das Mittel der Wahl, um individuelle Proben für PCR, ELISA, FACS & Co. in Reaktionsgefäße, Platten oder Agarosegele zu übertragen.

Beim Beladen von Mikrotiterplatten mit bis zu 384 Wells hieß das bis zu 384 Mal pipettieren! Dies dauert lang, erfordert höchste Konzentration und ist ineffizient. Passieren beim Aufbringen Fehler, stimmen die Ergebnisse nicht mehr mit den Proben überein.

Unsere Kunden haben uns daher nach einer effizienten und sicheren Lösung zum Mehrfachprobentransfer gefragt, die gleichzeitig komfortables und ergonomisches Arbeiten ermöglicht.

Dieser Herausforderung haben sich die Eppendorf-Entwickler gestellt und mit „Move It“ eine neue Pipettengeneration geschaffen. Ihr Credo: Doppelte Performance durch maximale Effizienz und gleichzeitig sicheren Probentransfer.

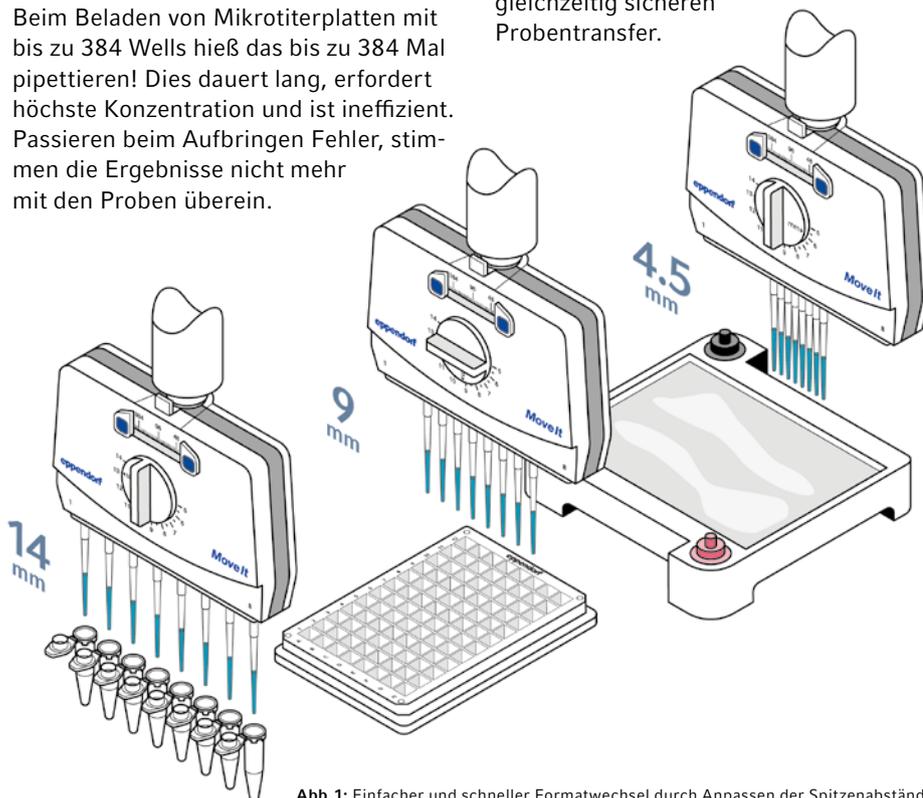


Abb. 1: Einfacher und schneller Formatwechsel durch Anpassen der Spitzensabstände

*„Move It steht für
maximale Effizienz“*

Goodbye, Einkanalpipette

Mehrere Proben zwischen Reaktionsgefäßen unterschiedlicher Formate transferieren, anstatt mehrfach mit Einkanalpipetten pipettieren? Nach Belieben zwischen den Formaten hin- und herwechseln? Kein Problem! Per Drehknopf können Sie den Spitzensabstand bei Mehrkanalpipetten manuell anpassen – einfach und schnell (Abb. 1). Übertragen Sie gleichzeitig vier bis zwölf Proben von Reaktionsgefäßen in Mikrotiterplatten oder Agarosegele.

Werden Sie 3x schneller

Mit Move It reduzieren Sie Ihre Bearbeitungszeit um bis zu 70%. Vordefinierte Einstellungen ermöglichen einfache und schnelle Formatwechsel. Mithilfe der integrierten Abstandskontrolle lassen sich die Spitzensabstände schnell an Ausgangs- und Zielgefäße anpassen. Unsere Testkunden resümieren: „Die Voreinstellung der Spitzensabstände erleichtert den Arbeitsablauf enorm. Zwischen ihnen hin- und herzuwechseln geht einfach, schnell und ohne hinsehen zu müssen.“

Arbeiten Sie ermüdungsfrei – den ganzen Tag

Schnelle, effiziente Workflows erfordern gleichzeitig eine komfortable Handhabung der Pipette. „Bei der Entwicklung von

Pipetten mit verstellbarem Spitzenabstand war der Kundenwunsch nach einer perfekten Balance in der Hand eine der größten Herausforderungen“, berichtet Peter Schmidt, Business Manager bei Eppendorf. „Unsere Produktdesigner haben speziell für diese Anforderung ein ausgeklügeltes Designkonzept entwickelt. Die Handhaltung bleibt natürlich und entspannt, Ermüdungserscheinungen werden auf ein Minimum reduziert. Anwender brauchen weniger Pausen und können den ganzen Tag entspannt arbeiten.“

Kein Verbiegen

Das Pipettenoberteil ist 360° um die eigene Achse drehbar. So können Sie das Display mit allen wichtigen Parametern in jeder Position rasch und komfortabel ablesen, ohne sich zu verbiegen (Abb. 2). Dies unterstützt eine allzeit ergonomische Körperhaltung.

„Move It steht für sicheren Probentransfer“

Proben präzise und reproduzierbar übertragen

Move It-Pipetten sind ohne Schläuche konzipiert (Abb. 3). Kolbenzylindersystem und Konus sind direkt miteinander verbunden.



Abb. 2: Komfortable Lesbarkeit des Displays in jeder Körperhaltung, da Pipettenunterteil um 360° drehbar

Dies hat folgende Vorteile: Die direkte Verbindung reduziert die Größe des Luftpuffers um ein Vielfaches und damit den Einfluss von Motor- oder Handwärme, die zu unpräzisen Pipettiermengen führen und die Reproduzierbarkeit beeinträchtigen könnten. Die Temperatur bleibt stabiler, Präzision und Reproduzierbarkeit werden erhöht.

Auch Risiken durch „Kabelsalat“, poröse Schläuche und Undichtigkeiten werden vermieden. Durch die Reduktion beweglicher Teile ist die Pipette zudem weniger anfällig für Verschleiß; sie ist langlebig und Ihr Garant für dauerhafte Präzision. Um das Kontaminationsrisiko für Ihre Proben weiter zu reduzieren, können Sie Ihre Move It-Pipette auch autoklavieren*.

*Eppendorf Research plus: vollständig autoklavierbar;
Eppendorf Xplorer plus: Unterteil autoklavierbar

Keine Sicherheitslücke

Eine bekannte Herausforderung beim Arbeiten mit Adjustable Spacer-Pipetten sind Motorvibrationen, die beim Anpassen der Spitzenabstände entstehen können. Dabei können sich im schlimmsten Fall Tropfen bilden, die wiederum Probenverlust und Kreuzkontamination begünstigen können. Versuche müssen in so einem Fall wiederholt werden, Kosten entstehen und wertvolle Zeit geht verloren.

Move It-Pipetten arbeiten daher ohne Motor. Die Spitzenabstände werden mit einem manuell bedienbaren Drehknopf völlig vibrationsfrei eingestellt – für einen tropfenfreien, sicheren Probentransfer.

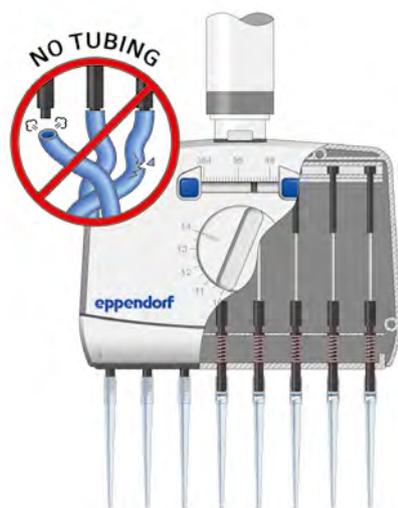


Abb. 3: Sicherer Probentransfer durch schlauchfreies System

Erfahren Sie mehr

Ab Sommer 2020 sind unsere Mehrkanalpipettiersysteme Eppendorf Xplorer® plus (elektronisch) und Eppendorf Research® plus (mechanisch) mit „Move It“-Funktionalität erhältlich.

Um mehr zu erfahren oder sich zu einer Produktdemo anzumelden, besuchen Sie <http://eppendorf.global/kjS>

Tipps

Software-Update: Do It Yourself!

Mit regelmäßigen Software-Updates halten Sie Ihre elektronischen Pipetten und Dispenser immer auf dem neuesten Stand. So können zum einen „Bugs“ behoben, als auch neue, wertvolle Features aufgespielt und nebenbei die Lebensdauer Ihrer Geräte verlängert werden.



Ab sofort können Sie diese Software-Updates ganz bequem selbstständig an Ihrem Arbeitsplatz durchführen. Starten Sie den Update-Prozess auf der Eppendorf-Homepage im Service & Support-Bereich und laden sich das Update-Programm auf Ihren Rechner. Verbinden Sie über die USB-Schnittstelle ganz einfach Ihre Pipette* oder den Dispenser mit dem Rechner und starten den Update-Prozess. Schon wird die neueste Software-Version auf Ihr Gerät aufgespielt. Dieser Prozess dauert nur wenige Minuten, und Sie können nacheinander so viele Geräte updaten wie Sie mögen.

Bleiben Sie unabhängig und flexibel. Verpassen Sie keine Produktverbesserungen. Mehr Info: <http://eppendorf.global/kle>

*Alle Pipetten mit einem Push-ON/Off Key sind updatetfähig.

BRIGITTE KLOSE, EPPENDORF AG

Upgrade für Design und Nachhaltigkeit

Schon bei der Entwicklung der epT.I.P.S.[®] Box für Pipettenspitzen im Jahr 2002 spielte Nachhaltigkeit eine Rolle. Bis zu 100 Mal autoklavierbar, war diese Mehrweg-Box dazu bestimmt, mit epT.I.P.S. Pipettenspitzen (z.B. „Reloads“) nachbefüllt zu werden. Ausschließlich für vorsterilisierte Pipettenspitzen wie z.B. ep Dualfilter T.I.P.S.[®] wurden zusätzlich Einweg-Racks angeboten. Nach 17 erfolgreichen Jahren epT.I.P.S. Pipettenspitzen im Markt haben wir im Rahmen einer Designüberarbeitung vor allem auf Nachhaltigkeit bei den Einweg-Racks und eine optimierte Funktionalität bei den Mehrweg-Boxen geachtet.

Bewährtes bleibt

Das neue Design unserer Boxen und Racks ist eine konsequente, moderne Weiterentwicklung des vertrauten Markendesigns der epT.I.P.S. Pipettenspitzen. Wesentliche Merkmale wie die blaue Deckelfarbe der Boxen und Racks sowie die Farbe des Verschlussknopfes der Box sind erhalten geblieben. Auch das prägnante horizontale Liniendesign auf der Frontansicht der Mehrweg-Box findet sich in modifizierter Form auf der neuen Box und dem neuen Rack wieder.

Optimierte Funktionalitäten

Das neue Design birgt jedoch auch Veränderungen, welche die Handhabung und Funktion deutlich verbessern. Die auffälligen Sichtschlitze auf der Rückseite der Box sind weitgehend verschwunden. Diese Öffnungen, die bei einigen unserer Kunden immer wieder zu Ängsten bezüglich möglicher Kontamination der Spitzen in der Box geführt hatten, konnten nahezu entfernt werden. Bei den zwei kleinen Boxengrößen für Spitzen bis 1.250 µL sind sie ganz verschwunden, bei der Box für

Spitzen ab 2,5 mL ist eine kleine Öffnung geblieben, die aber keine Verbindung zum Innenraum der Box hat, in dem die Pipettenspitzen sich befinden.

Rechteckige Vertiefungen an den Seiten der Deckel von Racks und Boxen sorgen für eine optimierte Stapelbarkeit. Im Gegensatz zum bisherigen Rack hat der neue Deckel einen Verschluss. Gerade beim sterilen Arbeiten sind die neuen Einweg-Racks immer wieder sicher verschließbar und die Gefahr, die Pipettenspitzen versehentlich zu verlieren, ist nicht mehr ge-



Die Form des Verschlussknopfes der Box ist hingegen moderner und die Farbe der Boxen und Rack-Unterteile sichtbar heller und leichter. Das Rack selbst ist nicht länger doppelwandig und dadurch deutlich verschlankt.



geben. Die Unversehrtheit des Produktes wird durch einen neuen, ausschließlich auf dem Verschluss platzierten Reinheitssticker sichergestellt.

Es gibt kein umlaufendes Klebeband mehr, das gerade beim sterilen Arbeiten mit Handschuhen gerne an diesen kleben bleibt bzw. sie beschädigt. Auch weitere Bestandteile der epT.I.P.S. Racks, Reloads und Boxen wurden optimiert. Neue übersichtlich gestaltete Produktsticker mit eindeutigen Piktogrammen des enthaltenen Spizentyps erleichtern die sichere Handhabung.

Unser Beitrag zur Nachhaltigkeit im Labor

Eppendorf ist sich seiner sozialen Verantwortung in Bezug auf Nachhaltigkeit und Umwelt bewusst, kennt aber auch die entscheidende Rolle von Kunststoff-Verbrauchsprodukten im Labor. Viele Aufgaben im Rahmen von Forschung und Entwicklung könnten heute nicht in der Qualität, Präzision und Reproduzierbarkeit erfüllt werden, wenn es nicht Gefäße, Pipettenspitzen oder Platten aus Kunststoff gäbe. Das Gleichgewicht zwischen den Anforderungen moderner Wissenschaft und der Sorge um die Umwelt in Bezug auf Kunststoffabfälle ist eine zentrale Herausforderung für das Management eines biowissenschaftlichen Labors.

Wir bei Eppendorf haben es uns zur Aufgabe gemacht, dem Prinzip „Reduce & Reuse“ zu folgen, wo immer es möglich ist. Bei den neu entwickelten Verpackungsformen Einweg-Racks und Mehrweg-Boxen haben wir dieses Ziel bereits erreicht. Die neuen Racks sind so gestaltet, dass je nach Größe des Racks 20 % bis 35 % weniger Polypropylen* benötigt wird.

*Polypropylen (PP) ist ein durch Kettenpolymerisation von Propen hergestellter thermoplastischer Kunststoff. Es gehört zur Gruppe der Polyolefine und ist teilkristallin und unpolare. Seine Eigenschaften ähneln Polyethylen, es ist jedoch etwas härter und wärmebeständiger.

Propen (Propylen) ist ein farbloses brennbares Gas. Es wird durch thermische Spaltung (Steamcracken) der bei der Erdölverarbeitung anfallenden Leichtbenzine erhalten.

In Zahlen ausgedrückt: Bei einem fiktiven Monatsbedarf von 100 Racks der mittleren Größe (z.B. Pipettenspitzen für 1.000 µL) werden für die Produktion 46,3 kg Polypropylen (in Rohöl 84,7 Liter) pro Jahr eingespart.

Die neue epT.I.P.S. Box ist wie ihre Vorgängerin nachweislich bis zu 100 Mal autoklavierbar. Mehr und mehr Kunden nutzen daher die Mehrweg-Box für das Wiederbefüllen mit epT.I.P.S. Pipettenspitzen in Reloads oder in Beuteln (Bulk) in den Volumen von 10 µL bis 5 mL.

Reduce & Reuse – auch bei unseren weiteren Neuentwicklungen für Eppendorf Laborverbrauchsprodukte wird dies unsere Maßgabe sein. Das Potential einerseits für die Verringerung von Rohstoffen für die Produktion und andererseits für die Wiederverwendung von Produkt-Darreichungsformen ist noch nicht erschöpft.

Wir betreiben weiterhin einen hohen Zeit- und Investitionsaufwand für die Erforschung von umweltfreundlicheren

Alternativen zu den üblicherweise verwendeten Einweg-Kunststoffen auf Rohölbasis. Hierzu gehören Kunststoffe aus erneuerbarer Biomasse und biologisch abbaubare Kunststoffe. Die größte Herausforderung bei der Betrachtung dieser neuen Materialien besteht darin, sicherzustellen, dass ein Wechsel die Qualität und Funktion des Produktes und damit die Qualität der Arbeitsergebnisse im Labor nicht beeinträchtigt.

Bleiben Sie also neugierig und erwarten Sie nur das Beste von Eppendorf – auch wenn es um Nachhaltigkeit im Labor geht.

Mehr zum optimierten Handling erfahren Sie in unserem Video unter <http://eppendorf.global/kl>

Tipp: Auch bei unseren Pipettenspitzen hat sich etwas getan! Für Ihre elektronische Pipette Eppendorf Xplorer®/Eppendorf Xplorer® plus und manuelle Eppendorf Reference® 2 Pipette oder Eppendorf Research® plus 2,5 mL gibt es jetzt auch ep Dualfilter T.I.P.S. 0,25 – 2,5 mL.

Tipp

Für mehr Platz auf dem Labortisch

Ist das Platzangebot in Ihrem Labor begrenzt oder suchen Sie nach einer ergonomischen Aufstellmöglichkeit für Ihre Eppendorf-Tischzentrifuge? Mit den neuen Rolltischen von Eppendorf sparen Sie kostbaren Platz auf Ihrem Labortisch und können Ihre Zentrifuge 5804/5804 R, 5810/5810 R, 5910 R oder 5920 R ganz einfach in ein anderes Labor bringen und genau dort verwenden, wo Sie sie benötigen.

Ganz gleich, ob Sie sich für die niedrigere Ausführung für die Aufbewahrung Ihrer Zentrifuge unter dem Labortisch oder die höhere Ausführung für ergonomisches Be- und Entladen der Rotoren und Proben entscheiden, beide Rolltische zeichnen sich durch ein besonders stabiles Design für die sichere Zentrifugation aus und sind mit Schwerlastrollen und Bremsen ausgestattet. Beide Varianten erfüllen die anspruchsvollen Eppendorf-Standards für Sicherheit und Zuverlässigkeit.

Mehr Informationen unter <http://eppendorf.global/krB>



DAVID SOLBACH, EPPENDORF AG BIOPROCESS CENTER, JÜLICH

Vom Labor zum Regelkreis-Wachstumssystem

Um wettbewerbsfähig zu bleiben, muss die moderne Biotechnologie robust, reproduzierbar und kosteneffizient sein. Erhöhte Produktivität bedeutet in der Regel einen Ausbau von Arbeitseinrichtungen. Für biologische Kultur-anwendungen trifft dies nur teilweise zu; eine Vielzahl von Zellen kann in Bioreaktoren/Fermentoren kultiviert werden, was Platz spart und gleichzeitig die Qualität und die Ausbeute des Prozesses stark erhöht. Die ersten Zellen, die eingesetzt werden, um den Bioreaktor anzupflanzen, haben jedoch bereits einen langen Weg hinter sich.

Prozessentwicklung

Die Kultivierung von Zellen in Flaschen oder auf Platten stellt einen der ersten Schritte auf dem langen Wachstumsweg einer Zelle dar. Schüttler und Inkubatoren sind nützliche Werkzeuge in der frühen Phase der Prozessentwicklung sowie zum Testen verschiedener Einzelparameter wie z.B. Temperatur und Nährstoffvorrat. Obwohl die Online-Überwachung aller Prozessparameter nicht möglich ist, stehen moderne Schüttler und Inkubatoren zur Verfügung, die in der Lage sind, Umweltbedingungen streng zu kontrollieren und zu steuern und somit reproduzierbares Wachstum gesunder Zellen zu gewährleisten. Die in diesem ersten Schritt gewonnenen Zellen ermöglichen das Hochskalieren und die Prozesssteuerung, die die moderne biotechnologische Industrie antreibt.

Produktion im Kleinformat

Doch bevor die Zellen schließlich in der Lage sind, große Mengen des gewünschten Produktes in einem Bioreaktortank zu erzeugen, gilt es, die größten Vorteile der parallelen Bioreaktoren im Klein- und Labormaßstab zu nutzen: Überwachung in Echtzeit sowie die parallele Überwachung mehrerer Bioreaktoren mit unterschiedlichen Verfahren, wobei alle wichtigen Parameter systematisch getestet werden können, um einen effizienten, reproduzierbaren und zuverlässigen Prozess aufzubauen. Kulturbedingungen wie z.B. Rührgeschwindigkeit, pH, gelöster Sauerstoff, Nährstoffkonzentration und

Temperatur können mit Hilfe von Software-Lösungen überwacht, gesammelt und ausgewertet werden.

Ansatzvergrößerung (Up-Scaling)

Der nächste Schritt in der Entwicklung der Zellkultur ist die Ansatzvergrößerung hin zu Bioreaktoren im größeren Maßstab, um Batch-zu-Batch Variationen zu vermeiden. Sprechen wir bei den ersten Schritten noch von Volumina von wenigen Millilitern bis Litern, werden industrielle Verfahren in großen Pilot- und Produktionsmaßstäben von 2.000 Litern und mehr durchgeführt.

Bei jedem Schritt puffert eine zuverlässige Software Variationen in Echtzeit ab, indem sie Veränderungen nachvollzieht und automatisch reagiert. Der lange Wachstums-

weg einer Zelle, der im Gefrierschrank beginnt und zum großen Bioreaktor führt, verläuft reibungslos, wenn alle Schritte gut geplant und die verschiedenen Systeme aufeinander abgestimmt sind. Software-Lösungen wie z.B. VisioNize®-onboard sorgen für durchgängige Benutzerfreundlichkeit über verschiedene Geräte hinweg. Dieses enge Zusammenspiel zwischen den Geräten vereinfacht den Arbeitsablauf und verringert Fehlerquellen.

Um mehr über Up-Scaling und die Erhöhung der Produktivität Ihres Prozesses mit Hilfe von Bioreaktoren zu erfahren, laden Sie unser e-book RESOLVING CULTIVATION BOTTLENECKS: THE BIOPROCESSING JOURNEY herunter <http://eppendorf.global/kjT>



Escherichia coli-Fermentation: Scale-up vom Klein- zum Pilotmaßstab

BIN LI UND MA SHA, EPPENDORF, INC., ENFIELD, USA

Zusammenfassung

Die Maßstabsvergrößerung von Fermentationsprozessen ist entscheidend für den Erfolg der industriellen Fermentation zur Produktion bioaktiver Substanzen für den biopharmazeutischen Markt. Ein im Kleinmaßstab optimiertes Verfahren kann mit Hilfe von etablierten Scale-up Strategien in den Pilotmaßstab übertragen werden. Die Bioprozess-Systeme von Eppendorf decken mit autoklavierbaren und Einwegbioreaktoren, sowie Sterilize-in-Place (SIP) Gefäßen ein Arbeitsvolumen von weniger als einem Liter bis zu 2.400 L ab. Eppendorf-Fermentationssysteme wurden in Übereinstimmung mit Rührtank-Designstandards aus der Bioverfahrensindustrie konzipiert. Auf Grund ihrer geometrischen Eigenschaften ermöglichen sie eine hervorragende Skalierbarkeit. Im Verlauf dieser Studie wurde die Maßstabsvergrößerung der *E. coli*-Fermentation evaluiert. Zunächst wurden für die Maßstabsvergrößerung kritische verfahrenstechnische Parameter untersucht. Die erhaltenen Daten wurden eingesetzt, um ein *E. coli*-Verfahren nach der konstanten P/V-Maßstabsvergrößerungs-Strategie aus dem Kleinformat (1 L) in das Pilotformat (100 L) zu übertragen. Hier zeigen wir die Scale-up Fähigkeiten der Eppendorf-Fermentationssysteme, vom Klein- über das Labor- bis hin zum Pilotmaßstab. Die Fermentationsläufe in allen drei Größenordnungen erzielten über die Zeit sehr ähnliche Ausbeuten an Biomasse, was auf eine ausgezeichnete Skalierbarkeit innerhalb der Eppendorf-Fermenter schließen lässt.

Material und Methoden

Ausstattung

Abb. 1 zeigt die in diesem Projekt eingesetzten Eppendorf-Fermentationssysteme. Für den Prozess kritische Gefäßparameter sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Bestimmung der Sauerstofftransferate (OTR) und der Newton-Zahl (Np)

OTR ist die Rate, bei welcher Sauerstoff aus der Luft in die Flüssigkeit innerhalb eines Gefäßes übertragen wird.

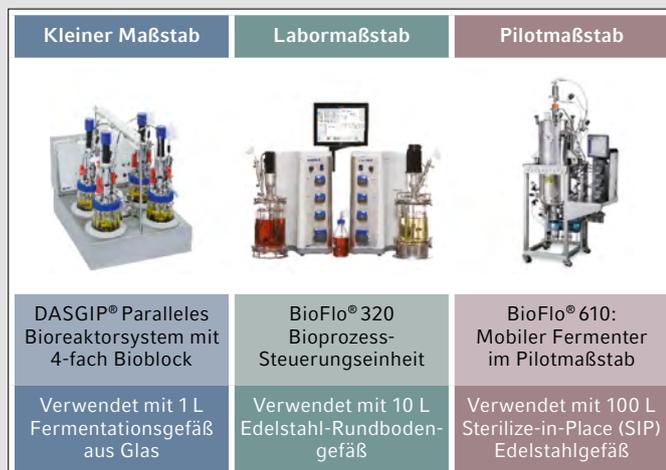


Abb. 1: Die in diesem Projekt eingesetzten Eppendorf-Fermentationssysteme

	Bioblock 1 L	BioFlo 320 10 L	BioFlo 610 100 L
Maximaler Gasfluss (SLPM)	4,2	20,0	150,0
Gefäßtyp	Glas	Glas	Edelstahl
Arbeitsvolumen (L)	0,2 – 1,0	3,5 – 10,5	32 – 100,0
V _{max} Höhe (mm)*	136,0	323,0	904,0
Gefäß Innendurchmesser (ID) (mm)	100,0	211,0	381,0
Verhältnis V _{max} Höhe : Gefäß ID pro Rührer	0,7	0,8	0,8
Rührertyp; Rührermaterial	Rushton/Rushton-type; 316 L		
Anzahl der Rührer	2	2	3
Rührerdurchmesser (D) (mm)	46,0	84,4	165,1
Verhältnis Rührerdurchmesser : Gefäß ID	0,4	0,4	0,4
Max. Umdrehung (rpm)	1.600	1.200	500
Max. Umfangsgeschwindigkeit (m/s)	3,85	5,30	4,32

Tabelle 1: Proportional konzipierte Gefäße und Rührer in verschiedenen Maßstäben.

*V_{max} Höhe = Höhe vom Gefäßboden zum höchsten Stand der Flüssigkeitsoberfläche bei höchstem Arbeitsvolumen des Gefäßes

Da Sauerstoff bei aerober Fermentation häufig den limitierenden Faktor darstellt, ist es wichtig, dass die verwendeten Gefäße in verschiedenen Größen vergleichbare OTR-Eigenschaften aufweisen. Die (Rührer) Newton-Zahl ist eine mit verschiedenen Rührertypen assoziierte dimensionslose Zahl. Die OTR-Messungen wurden mit Hilfe eines bereits veröffentlichten, auf Sulfit-Abnahme beruhenden Protokolls durchgeführt [1]. Indem das Drehmoment des Rührers mit Hilfe eines Rotations-Drehmoment-Sensors gemessen wurde, wurden die Newton-Zahl und die P/V-Werte bei verschiedenen Spitzengeschwindigkeiten auf die höheren Rührgeschwindigkeiten berechnet, die normalerweise für die Fermentationsraten eingesetzt werden. Da routinemäßige Fermentationsexperimente unter hohen Begasungsbedingungen durchgeführt werden und die Begasung das Drehmoment des Rührers stark herabsetzt, haben wir die Newton-Zahl (Np) bei einem hohen Gasfluss von 1,5 VVM sowie ohne Begasung bestimmt.

Bioreaktor-Aufbau und E. coli-Fermentation

20 µL einer Zellbank-Stammkultur wurden zur Animpfung von 500 mL TSB Medium in einer 2 L Schüttelflasche (VWR®, UK) eingesetzt und bei 37°C und 200 rpm über Nacht in einem Innova® 44 Schüttler inkubiert.

Wir entschieden uns dazu, 90 % des maximalen Arbeitsvolumens der drei Fermenter zu nutzen. *E. coli* wurden in einem chemisch definierten Medium bei einem pH von 7,0 im Dauer-Fermentationsmodus kultiviert, um ein konstantes Arbeitsvolumen beizubehalten.

Das Wachstumsmedium aller drei Fermenter wurde mit einer Impfkultur von 10 % des ursprünglichen Fermentationsmedium-Volumens angeimpft. Antifoam 204 (Sigma-Aldrich®, USA) wurde nur bei Schaumbildung eingesetzt. Das Zellwachstum wurde offline durch stündliche Probenentnahmen überwacht.

Sensorkalibrierung und Steuerung

Die pH-Sensoren wurden außerhalb der Gefäße mit Hilfe der Zwei-Punkt-Kalibrierungsmethode und Standardpuffern vor dem Autoklavieren geeicht. Der pH wurde durch den Zusatz

Escherichia coli-Fermentation: Scale-up vom Klein- zum Pilotmaßstab

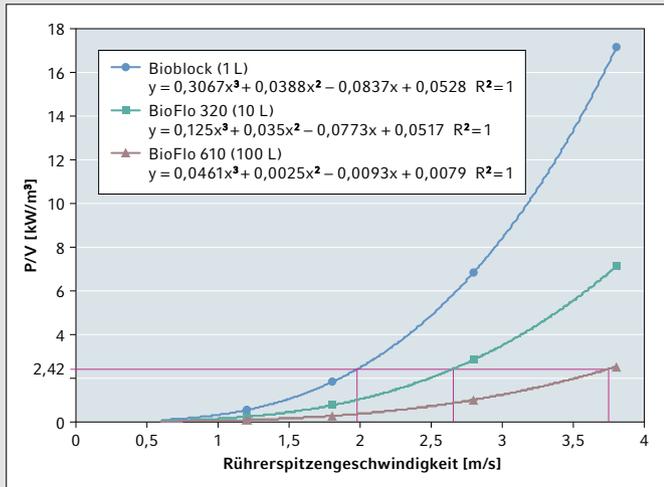


Abb. 2: Bestimmung der konstanten P/V-Werte für das Scale-up bei einem Gasfluss von 1,5 VVM

von 25 % (v/v) NH_4OH mit Hilfe einer Pumpe (zugewiesen als „Base“) automatisch bei 7,0 beibehalten. Die Totzone für die pH-Steuerung wurde auf 0,05 eingestellt.

Die Sensorkalibrierung für gelösten Sauerstoff (DO) wurde mit einem analogen polarographischen DO-Sensor und der Zweipunkt-Kalibrierungsmethode durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Alle drei Fermentationssysteme wurden nach den gleichen geometrischen Grundsätzen für Gefäß und Rührer konzipiert, was eine gute Grundlage für die nachfolgende Maßstabsvergrößerung darstellte. Die Auswahl von Gerätschaften verschiedener Größen mit hohen OTR-Fähigkeiten ist ebenfalls wichtig. So sind die verschiedenen Formate in Bezug auf ihre Höchstleistung miteinander vergleichbar, und Erfolge im Kleinformat können im Großformat wiederholt werden. Alle drei Systeme erzielten hohe OTR-Werte von ~ 350 mmol/L/h oder höher. Dies ermöglichte die Durchführung von Scale-up Fermentationsläufen bei höherer Kapazität, was entsprechende Biomassen-Wachstumskurven bei sehr hoher bakterieller Dichte lieferte.

Maßstabsgerechte Geometrie und entsprechend hohe OTR-Werte bieten die Grundlage und den Rahmen für Fermentationsexperimente mit hohen Zelldichten zur Maßstabsvergrößerung; allerdings stellen sie nicht die eigentliche Maßstabsvergrößerungs-Strategie dar. Verschiedene Strategien wurden zur Maßstabsvergrößerung der Fermentation eingesetzt, einschließlich des Konstanthaltens der Rührergeschwindigkeit, gemessen am Umfang des Rührers. Die zuverlässigste Methode bleibt jedoch nach wie vor die konstante Leistung (P/V). Diese Methode benötigt die Bestimmung der Newton-Zahlen der Rührer (Np). Die Rührer Np-Werte für Eppendorf-Fermentationsgefäße betragen ~ 10 ohne Begasung und ~ 5 mit 1,5 VVM Durchperlung mit Luft.

Das Beibehalten konstanter P/V zwischen den Gefäßen stellt eine der am breitesten akzeptierten Strategien für Scale-up Ansätze dar. Mit Hilfe der gemessenen Np-Werte waren wir

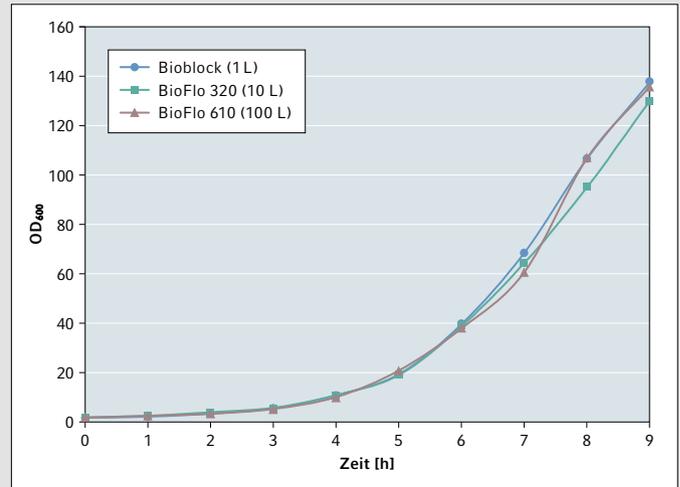


Abb. 3: Biomassen-Wachstumskurven der Fermentationen in allen drei Systemen. Die Fermentationen wurden bei einem konstanten P/V-Wert von $2,42 \text{ kW/m}^3$ durchgeführt, welcher aus Abb. 2 bestimmt wurde.

in der Lage, den Leistungsverbrauch der Rührer pro Volumen Flüssigkeit zu berechnen (P/V, W/m^3).

Die Np-Werte bei 1,5 VVM Luftfluss wurden zur Berechnung eingesetzt. Die maximal erreichbaren P/V aller dreier Formate betrug $\sim 2,42 \text{ kW/m}^3$. Wir wählten diesen Wert als den konstanten P/V-Wert, welcher sodann die Maßstabsvergrößerung regulierte (Abb. 2). Die Rückberechnung der Rührergeschwindigkeit aus diesem P/V-Wert ergab Rührergeschwindigkeiten von 822, 600 bzw. 433 rpm für den Bioblock (1 L), BioFlo 320 (10 L) und den BioFlo 610 (100 L).

Wir erstellten drei Fermentationsläufe und entnahmen stündlich Proben, um das Zellwachstum zu überwachen (OD_{600} Wert). Wie in Abb. 3 gezeigt, waren die Wachstumskurven für alle drei Fermentationsläufe sehr ähnlich, was darauf schließen lässt, dass mit Hilfe der konstanten P/V-Scale-up-Strategie eine hervorragende Skalierbarkeit erzielt werden konnte.

Fazit

Die Eppendorf-Fermenter, vom Bioblock zum BioFlo, sind von geometrisch und proportional ähnlichem Rührertank-Design. Alle drei Systeme sind in der Lage, hohe OTR Werte zu liefern und sind somit ideal zur hochgradig dichten aeroben skalierbaren Fermentation geeignet. Die Beibehaltung eines konstanten P/V-Wertes bei unterschiedlichen Gefäßgrößen während des Fermentations-Scale-up von 1 L bis auf 100 L ergab nahezu identische *E. coli*-Wachstumskurven. Dies lieferte einen zuverlässigen Beleg für die Skalierbarkeit der Eppendorf-Fermentationssysteme. Die Np-Werte der Rührer können auch für weitere Scale-up- oder Scale-down-Studien zwischen Rührertank-Fermentern von Eppendorf und anderen Herstellern eingesetzt werden.

Literatur

[1] How to Measure and Calculate OTR Using a New Brunswick™ Fermenter. 2013, Applications Training Document, Eppendorf, Inc.

Die vollständige Application Note 306 können Sie unter <http://eppendorf.global/kq0> herunterladen.

Erhöhung von PCR-Ausbeute und -Spezifität mit dem Mastercycler® X50 mit 2D-Gradient

LIANE FUNKE, ANNE KRAUS, SYLKE WINKLER, MPI CBG, GENOTYPING FACILITY, PFOTENHAUERSTR. 108, 01307 DRESDEN
FLORIAN HILBERS, EPPENDORF AG, HAMBURG

Zusammenfassung

Diese Application Note beschreibt den Einsatz des 2D-Gradienten zur Eliminierung unspezifischer Produkte sowie zur Erhöhung der Produktausbeute in der PCR. Der 2D-Gradient ermöglicht einen Temperaturgradienten während des Denaturierungs- UND des Annealingschrittes – in einem einzigen PCR-Lauf. Dies erlaubt das gleichzeitige Testen von 96 verschiedenen Bedingungen in einem Lauf und beschleunigt somit die Ermittlung der optimalen Temperaturkombination, um sowohl Zeit als auch Ressourcen zu sparen.

Einleitung

Die PCR kommt routinemäßig in Forschung, Diagnostik und Industrie zum Einsatz. Sie wurde 1983 entdeckt und war zu der Zeit ein mühseliger und langwieriger Prozess, der große Mengen an Ressourcen erforderte [1,2]. Es war daher nicht überraschend, dass der Entdeckung der PCR die Entwicklung des ersten Thermocyclers folgte [3] und sich über Peltier-beheizte und -gekühlte Metallblöcke [4], einen beheizbaren Deckel [5] und einen Temperaturgradienten (für bis zu 12 verschiedene Annealingtemperaturen in einem Lauf auf einem 96-Well-Cycler) [6] bis hin zum aktuellen Mastercycler X50 fortsetzte.

Bei der Annealingtemperatur handelt es sich um die Temperatur, die üblicherweise optimiert wird. Im Gegensatz dazu stand die Denaturierungstemperatur bislang nicht im Blickpunkt, da der Einfluss der Annealingtemperatur als deutlich höher eingeschätzt wird. Unterschiedliche Denaturierungstemperaturen, insbesondere bei GC-reichen Templates, können jedoch die Ausbeute steigern und sollten bei der PCR-Optimierung berücksichtigt werden. Unser Ziel ist es zu zeigen, dass die Optimierung der Denaturierungstemperatur in der Tat für viele PCR-Reaktionen von Vorteil ist. Der 2D-Gradient des Mastercycler X50 bietet erstmals die Möglichkeit, beide Temperaturen in einem PCR-Lauf zu optimieren und somit 96 verschiedene Bedingungen in einem einzigen PCR-Lauf abzudecken (Abb. 1).

Man könnte meinen, dass auch die Analyse von 96 verschiedenen Bedingungen mühsam sei und Zeit und Ressourcen koste. Aus diesem Grund haben wir uns entschieden, den Aufwand mit Hilfe eines etablierten Pipettier- und Temperierschemas zu minimieren und daher eine effiziente Anzahl an verschiedenen Temperaturkombinationen beizubehalten (s. vollständige Application Note Nr. 423*).

Die vollständige Application Note zeigt, dass die Modulierung der Denaturierungstemperatur tatsächlich das Ergebnis der PCR verändert, d.h. die Spezifität und/oder Ausbeute des PCR-Produktes werden erhöht. Drei verschiedene, im Labor häufig eingesetzte Zielsequenzen wurden optimiert: ein Plasmidkonstrukt, ein Gen der Maus und ein Zebrafisch-Gen. Mit Hilfe dieser drei Templates waren wir in der Lage, drei verschiedene Vorteile aufzuzeigen.

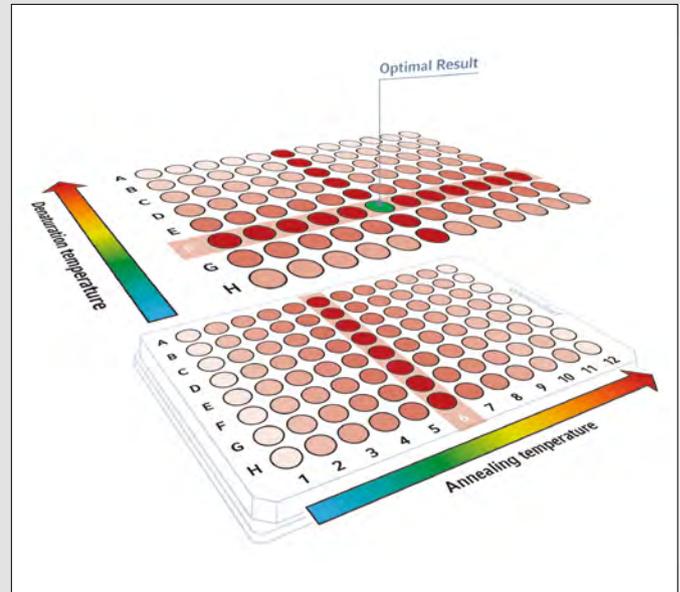


Abb. 1: Prinzip des 2D-Temperaturgradienten. Der traditionelle Gradient des Annealingschrittes ist auf dem unteren Teil der Abbildung dargestellt, während die zweite Dimension durch den Zusatz eines Temperaturgradienten im Rahmen des Denaturierungsschrittes erreicht wird. Dies resultiert in 96 verschiedenen Bedingungen auf einer einzigen PCR-Platte.

- Erstens:** Eine Erhöhung der Spezifität der Amplifikation des Gens aus dem Plasmidkonstrukt.
- Zweitens:** Eine Erhöhung der Ausbeute des murinen Gens.
- Drittens:** Wir konnten zeigen, dass eine Veränderung der Denaturierungstemperatur ein Scheitern der Amplifikation eines der beiden spezifischen Zielprodukte in einer genetisch modifizierten Zebrafisch-Linie zur Folge hat.

Diese Kurzversion konzentriert sich auf einen der drei genannten Vorteile: die Erhöhung der Ausbeute.

Material und Methoden

Alle Experimente wurden auf einem Mastercycler X50s (Eppendorf) bei einer Deckeltemperatur von 105°C, im Energiesparmodus und im Temperaturmodus „Standard“ durchgeführt. Für den Block wurde „Silver 96“ gewählt.

Eppendorf twin.tec® PCR Plates 96 (semi-skirted und skirted) wurden in allen Experimenten eingesetzt. Die Platten wurden mit Eppendorf PCR Film oder Eppendorf Heat Sealing Film versiegelt.

Murines Gen B

Der 10 µL Reaktionsansatz enthielt 5 µL REExtract-N-Amp™ PCR ReadyMix™ (Sigma Bestellnummer R4775), 3,2 µL ultrapures Wasser, 0,4 µM Forward Primer Gen B (5'-AAA GTC GCT CTG AGT TGT TAT-3'), 0,4 µM Reverse Primer Gen B (5'-GGA GCG GGA GAA ATG GAT ATG-3'), 30 ng genomische DNA (aufgereinigt mittels eines Isopropanol-Protokolls).

Erhöhung von PCR-Ausbeute und -Spezifität mit dem Mastercycler® X50 mit 2D-Gradient

Das folgende PCR-Programm wurde für die Amplifikation verwendet:

Initiale Denaturierung	95°C	120 s
Zyklen 35x	Gradient 98–90°C	30 s
	Gradient 50–70°C	30 s
	72°C	60 s
Abschließende Elongation	72°C	60 s
Lagerung	15°C	Halten

Die eingesetzten Temperaturkombinationen sind im Ergebnisteil dargestellt. Die PCR-Produkte wurden mittels Agarosegel-Elektrophorese analysiert (1,5% Agarose in 1x TAE. Lauf: 45 min bei 100 V in 1x TAE).

Ergebnisse und Diskussion

Die Optimierung einer PCR stellt u.U. ein Ressourcen-intensives Verfahren dar; insbesondere dann, wenn das gewünschte Produkt nicht erscheint oder wenn unerwünschte, unspezifische Banden nicht verschwinden. Ein möglicher Grund ist eine nicht ausreichend optimierte Denaturierungstemperatur – denn normalerweise wird diese als „einfach nur heiß“ angesehen. Diese Arbeit zeigt, dass eine Modulation der Denaturierungstemperatur tatsächlich in der Lage ist, die Spezifität, die Ausbeute und im Extremfall sogar die An- oder Abwesenheit spezifischer Banden zu beeinflussen.

Murines Gen B

Dieses Ziel-Amplifikat hat eine Größe von 600 bp und ist in allen Proben mit Ausnahme von einer enthalten. Keine unspezifischen Banden sind zu erkennen; daher ist eine Optimierung an dieser Stelle nicht notwendig. Ein 2D-Gradient zeigt jedoch Variationen bei der Ausbeute auf, sobald die Denaturierungstemperatur moduliert wird. Im Temperaturbereich zwischen 96,5°C und 90,2°C ist die Produktausbeute akzeptabel; die höchste Ausbeute wird allerdings bei einer Denaturierungstemperatur im Bereich von 91,5°C bis 90°C und einer Annealingtemperatur von 56,2°C erzielt (Abb. 2). Die ursprünglich gewählte Denaturierungstemperatur betrug 94°C, d.h. das Produkt liegt im akzeptablen Bereich – es handelt sich jedoch nicht um die optimale Denaturierungstemperatur. Dies führt sodann zu einer verminderten Produktausbeute, welche mit Hilfe eines 2D-Gradienten problemlos optimiert werden kann.

Dies zeigt, dass nicht nur die Annealingtemperatur, sondern auch die Denaturierungstemperatur der Optimierung bedarf. Beide Faktoren beeinflussen die Produktausbeute. Die Optimierung beider Temperaturbedingungen könnte sogar *ohne* eine Erhöhung der Anzahl der PCR-Zyklen in einem Lauf zu einer besseren Ausbeute führen und somit signifikant zur Einsparung von Zeit und Ressourcen beitragen. Die Optimierung lässt sich mittels 2D-Gradient in einem einzigen PCR-Lauf erzielen. Ohne 2D-Gradient sind mindestens 8 PCR-Läufe nötig, um die gezeigten Ergebnisse zu erzielen.

Fazit

Wir konnten anhand von drei unterschiedlichen Ursprungsorganismen mit verschiedenen Zielgenen darlegen, dass die Denaturierungstemperatur einen wesentlichen Einfluss auf das PCR-Ergebnis hat – sei es Spezifität, Ausbeute oder falsch negative Ergebnisse. Eine Optimierung der Annealing- und der Denaturierungstemperatur ist jedoch bei der Verwendung von konventionellen Thermocyclern mit 1D-Gradienten zeit- und langwierig. Ein solcher Ansatz würde mindestens 8 verschiedene PCR-Läufe benötigen, um das gewünschte Ergebnis zu liefern.

Der Mastercycler X50 mit seinem 2D-Gradienten reduziert die Optimierungszeit auf eine einzige PCR, da alle Gradienten gleichzeitig auf einem Thermoblock gefahren werden können.

Danksagung

Wir möchten dem Genotyping Service des MPI-CBG für die Zuverfügungstellung der Mäuse- sowie der Zebrafisch-gDNA danken. Wir danken ebenfalls der Protein Expression Purification and Characterization (PEPC) Gruppe des MPI-CBG für die Isolierung der hauseigenen *Taq* DNA Polymerase und für den 10x PCR Puffer-Mix.

*Download unter <http://eppendorf.global/kpZ>

Literatur

- [1] Rabinow P, Making PCR. A Story of Biotechnology. *University of Chicago Press*; 1996.
- [2] Saiki RK *et al.*, Enzymatic Amplification of β -globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anemia. *Science* 1985; 230:1350-54.
- [3] Mr. Cycle: An Automated PCR Prototype. <https://www.the-scientist.com/foundations-old/mr-cycle-an-automated-pcr-prototype-47003>
- [4] US patent US603236B2, 1990
- [5] US patent US7504241B2, 1990
- [6] European patent EP 1 426 110 A3, 1997

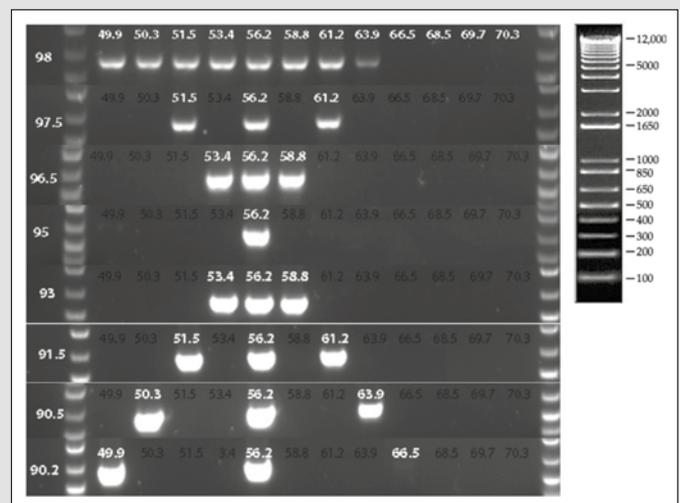


Abb. 2: Agarosegel-Analyse des murinen Gens B. Dieses Experiment zeigt eine erhöhte Ausbeute sofern die Denaturierungstemperatur verringert wurde. Diese Daten zeigen, dass die optimale Ausbeute bei einer Denaturierungstemperatur von ca. 91°C erzielt werden kann.

Vollständige Probenrückgewinnung in Eppendorf Protein LoBind Conical Tubes

RAFAL GRZESKOWIAK, EPPENDORF AG, HAMBURG

SANDRINE HAMELS, BLANDINE VANBELLINGHEN, EPPENDORF APPLICATION TECHNOLOGIES, S.A., NAMUR, BELGIEN

Zusammenfassung

Die Aufbereitung und die Lagerung von Proteinen sind wichtige Schritte bei vielen Laboranwendungen, einschließlich verschiedener Methoden auf den Gebieten der Proteomik, Molekularbiologie, Forensik und Bio-Pharma. Es konnte gezeigt werden, dass die unspezifische Adsorption von Protein-/Peptid-Molekülen an Polymeroberflächen von Labor-Verbrauchsartikeln in großem Maße zu Probenverlust und -abbau beiträgt. Dies kann experimentelle Ergebnisse negativ beeinflussen, insbesondere wenn empfindliche Methoden/Assays oder geringe Probenmengen zum Einsatz kommen. In der vorliegenden Studie wurden die Rückgewinnungsraten von Proteinproben geringer Konzentration aus konischen Gefäßen verschiedener Hersteller anhand eines sensiblen Fluoreszenzassays miteinander verglichen. Unter den geprüften konischen Gefäßen zeigten Eppendorf Protein LoBind Conical Tubes die höchste Proteinrückgewinnungsrate (im Durchschnitt 100 %) und gewährleisteten somit den höchsten Schutz vor Probenverlust.

Einleitung

Die Aufbereitung und Lagerung von Proteinen sind wichtige Schritte im

Rahmen zahlreicher Protokolle auf den Gebieten der Proteomik, Molekularbiologie, Forensik und Bio-Pharma. Es konnte gezeigt werden, dass die unspezifische Adsorption und Denaturierung von Protein-/Peptid-Molekülen an Polymeroberflächen von Labor-Verbrauchsartikeln sowohl die Aktivität als auch die Konzentration der Probe reduziert [1, 2, 3].

Diese Effekte kommen insbesondere bei sensiblen Methoden/Assays oder beim Einsatz geringer Probenvolumina zum Tragen, wie z.B. in Protokollen der Proteomik oder Forensik. In dieser Application Note haben wir die unspezifische Bindung von niedrig konzentrierten Proteinproben mit Hilfe eines sensiblen Fluoreszenzassays untersucht. Die Probenrückgewinnungsraten aus konischen Standard-Polypropylengefäßen verschiedener Hersteller sowie aus Eppendorf Protein LoBind Conical Tubes wurden miteinander verglichen.

Material und Methoden

Die Proteinrückgewinnungsraten wurden mit Hilfe eines fluoreszenzmarkierten Proteinassays in 15 mL Polypropylen-Gefäßen untersucht: Eppendorf Protein LoBind Conical Tubes und konischen Standard-Polypropylengefäßen der Hersteller Sa, Co, Gr, Bd, Nu, Br.

Der Assay wurde wie folgt durchgeführt: 256 µL einer FITC-konjugierten BSA-Lösung (1 µg/mL in 1 x Dulbecco's PBS) wurden in jedes Gefäß überführt und über einen Zeitraum von 24 Stunden bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert.

Auf die Inkubation folgend wurden aus jedem Gefäß 190 µL der Lösung für Fluoreszenzmessungen im Fluoroskan Ascent™ Microplate Fluorometer (ThermoFisher) eingesetzt. Die verbleibende FITC-BSA-Konzentration sowie die prozentuale Rückgewinnungsrate wurden mit Hilfe einer aus der Ausgangslösung erstellten Kalibrationskurve errechnet. Zwei unabhängige Versuche wurden in Dreifachausführung durchgeführt (n=6).

Ergebnisse und Diskussion

Die Rückgewinnungsraten der FITC-konjugierten BSA-Proben nach 24 Stunden Inkubation in den verschiedenen Gefäßen sind in Abb. 1 dargestellt.

Die Analyse zeigte, dass der Großteil der Proteinproben an die Wand der Standardgefäße aus Polypropylen adsorbiert wurde und dass die allgemeine Rückgewinnungsrate nach 24 Stunden lediglich bei etwa 15 % lag.

Alle untersuchten Gefäße, mit Ausnahme von Eppendorf Protein LoBind, zeigten geringe Rückgewinnungsraten zwischen 10 % und 17 %. Dieses Ergebnis zeigt, dass das für Standardgefäße verwendete Polypropylenmaterial unter den angewandten Versuchsbedingungen ein hohes Risiko für den Verlust signifikanter Proteinmengen aus den Proben darstellt.

Die Eppendorf Protein LoBind Conical Tubes zeigten im Gegensatz dazu sehr hohe Rückgewinnungsraten der untersuchten Proteinproben: Nach 24 Stunden Inkubation wurde mit einer durchschnittlichen Rückgewinnungsrate von 100 % praktisch kein Verlust verzeichnet. Dies garantiert ein Höchstmaß an Probenschutz und sorgt für zuverlässige Ergebnisse bei nachfolgenden Anwendungen.

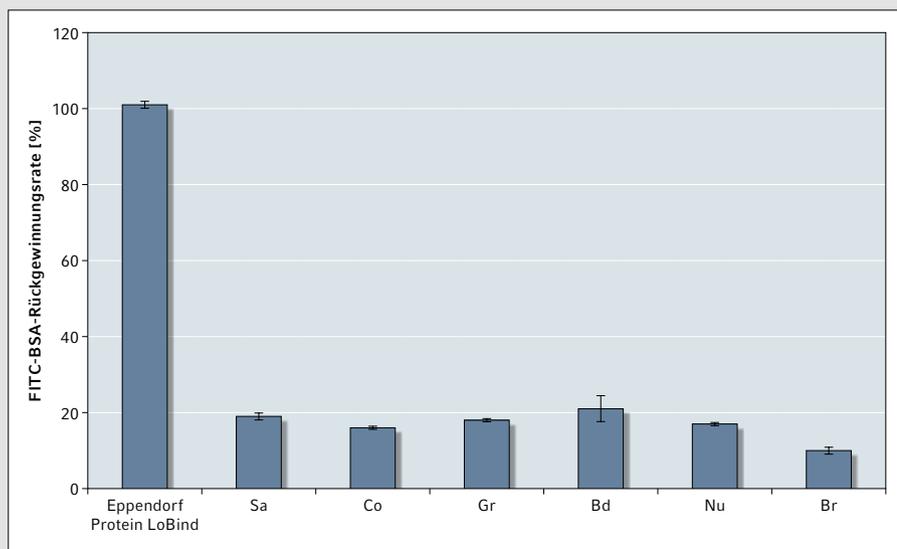


Abb. 1: FITC-BSA-Rückgewinnungsrate nach 24 Stunden Inkubation in 15 mL konischen Gefäßen verschiedener Hersteller. Die Balken stellen Durchschnittswerte von zwei unabhängigen, in Dreifachausführung durchgeführten Experimenten dar (n=6).

Vollständige Probenrückgewinnung in Eppendorf Protein LoBind Conical Tubes

Fazit

In dieser Studie setzten wir einen sensiblen Fluoreszenzassay ein, um die Rückgewinnungsraten von Proben aus verschiedenen konischen Standardgefäßen sowie aus Eppendorf Protein LoBind Conical Tubes nach Inkubation über einen Zeitraum von 24 Stunden zu messen. Wir zeigten, dass die Rückgewinnungsraten derjenigen Proben, welche in konischen Standardgefäßen verschiedener Hersteller inkubiert worden waren, gering ausfielen (10 % bis 17 %), und dass diese Gefäße daher u. U. nicht ausreichend für den Schutz vor unspezifischem Probenverlust sorgen.

Im Gegensatz dazu ermöglichten die Eppendorf Protein LoBind Conical Tubes eine nahezu vollständige Probenrückgewinnung (im Durchschnitt 100 %) und gewährleisteten somit den höchstmöglichen Schutz der Proben sowie deren Integrität und daher ebenso die Integrität aller nachfolgenden Anwendungen.

Literatur

[1] Kristensen K, Henriksen JR, Andresen TL. Adsorption of cationic peptides to solid surfaces of glass and plastic. *PLoS One* 2015; 10(5).

[2] Hoofnagle AN1, Whiteaker JR2, Carr SA3, Kuhn E3, Liu T4, Massoni SA5, Thomas SN6, Townsend RR7 et al. Recommendations for the Generation, Quantification, Storage, and Handling of Peptides Used for Mass Spectrometry-Based Assays. *Clin Chem* 2016; 62(1):48-69.

[3] Kraut A, Marcellin M, Adrait A, Kuhn L, Louwagie M, Kieffer-Jaquinod S, Lebert D, Masselon CD, Dupuis A, Bruley C, Jaquinod M, Garin J, Gallagher-Gambarelli M. Peptide storage: are you getting the best return on your investment? Defining optimal storage conditions for proteomics samples. *J Proteome Res* 2009; 7:3778-85.

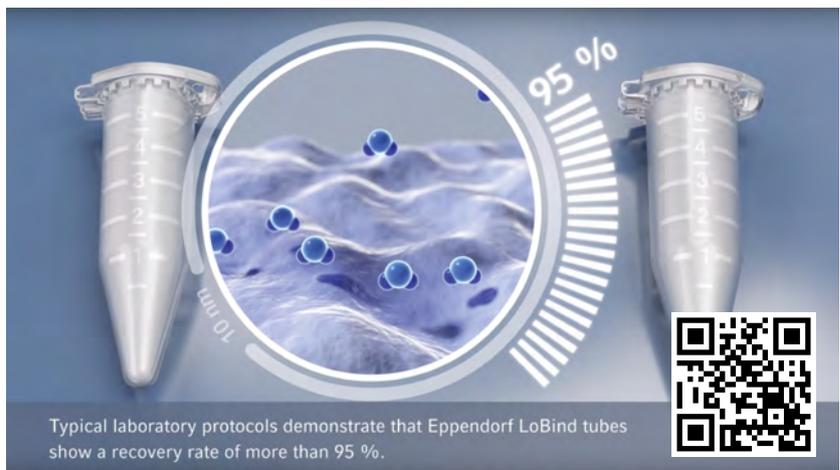


Eppendorf LoBind®

- > Eppendorf LoBind-Material gewährleistet eine optimierte Probenrückgewinnung für bessere Versuchsergebnisse
- > Ohne Oberflächenbeschichtung (z.B. Silikon), um die Gefahr einer Probenbeeinflussung zu minimieren
- > Chargenzertifizierter Reinheitsgrad PCR clean: frei von menschlicher DNA, DNase, RNase und PCR-Inhibitoren
- > Zum problemlosen Aufskalieren als Reaktionsgefäß, Mikrottestplatte und Deepwell-Platte erhältlich
- > Präzise Deckeldichtung für minierte Probenverdunstung

Bei der Lagerung oder Inkubation von biologischen Proben in Standard-Reaktionsgefäßen können innerhalb von 24 Stunden über 90 % der Probe durch Bindung an die Kunststoffoberfläche verloren gehen. Eppendorf LoBind Tubes maximieren die Probenrückgewinnung, indem sie Probenbindung an die Oberfläche erheblich verringern.

Ein spezieller Zwei-Komponenten-Polymermix erzeugt eine hydrophile Oberfläche, die für optimierte Rückgewinnungsraten wertvoller Proben sorgt. Protein LoBind Tubes sind speziell für den Einsatz bei sensiblen Testmethoden in der Proteomik oder in der Proteinforschung konzipiert und ermöglichen hier oft deutlich bessere Analyseergebnisse.



Typical laboratory protocols demonstrate that Eppendorf LoBind tubes show a recovery rate of more than 95 %.

Mehr in unserem Video „Eppendorf LoBind® – How it works“ auf <http://eppendorf.global/kjR>

Generierung eines optimalen Bioreaktor-Inokulums im Schüttelkolben

MAIKE RIEL, FRANK EIDEN, WESTFÄLISCHE HOCHSCHULE, AG BIOPROZESSTECHNIK, RECKLINGHAUSEN

LARS BLANK, RWTH IAMB, AACHEN

NICOLA FREYER, AQUILA BIOLABS GMBH, BAESWEILER

INES HARTMANN, EPPENDORF AG, HAMBURG

Zusammenfassung

Während die Überwachung und Kontrolle des Kulturwachstums schon ab der frühen Phase im Fermenter gut etabliert sind, wird dieses bei der Vorkultur, die in der Regel im Schüttelkolben hergestellt werden, meist vernachlässigt. Insbesondere für Organismen mit komplexer Stoffwechselregulierung kann der Einsatz suboptimaler Vorkulturen das Bioprozess-Ergebnis wesentlich beeinträchtigen. Anhand eines *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol-Produktionsverfahrens zeigen wir hier einen integrierten Ansatz für die optimale Generierung einer Vorkultur auf. Automatisierte Animpfung der Vorkultur, Konditionierung und Online-Überwachung des Wachstums ermöglichen die Erstellung reproduzierbarer Inokula und geben die Möglichkeit, den Zeitpunkt der Zellernte flexibel zu planen.

Einleitung

Fermentative Ethanolproduktion mit Hilfe von *Saccharomyces cerevisiae* ist ein klassisches Beispiel für einen Bioprozess mit hoher Störanfälligkeit gegenüber der Qualität des Inokulums. Ethanol stellt ein wichtiges biotechnologisches Produkt mit einer globalen Produktion von über 100 Millionen Tonnen dar [2], [3].

Suboptimale Impfkulturen können die Profitabilität des gesamten Bioprozesses aufgrund geringerer Ausbeuten bei der Fermentation stark verringern. Zahlreiche Wachstumseigenschaften von *S. cerevisiae* komplizieren die Erstellung optimaler Inokula: das diauxische Wachstumsverhalten in Gegenwart von Glucose mit einer anfänglichen respiratorischen Wachstumsphase mit gewünschter Ethanolproduktion, gefolgt von einer respiratorischen Wachstumsphase mit unerwünschtem Ethanolkonsum [4]. Diese Diauxie geht mit wachstumsphasenabhängigen Unterschieden in der Zellzusammensetzung einher: u.a. Speicherkohlenhydrat-Verbrauch und Morphologie [5]–[8].

Die zugrundeliegenden Stoffwechselfluktuationen und deren Regulierung bestimmen u.a. die Länge der Lag-Phase [9]. Die Vorbereitung der Vorkultur wird weiterhin durch die Tatsache kompliziert, dass die Wachstumsrate und die Produktivität von *S. cerevisiae* weitgehend von der Zelldichte der Vorkultur abhängen [10]–[12].

Material und Methoden

Der integrierte Ansatz zur Generierung der Vorkultur beruht auf dem programmierbaren Eppendorf Innova® S44i und dem Flüssigkeits-Injektionssystem LIS sowie dem Biomasse-Monitoringsystem CGQ, beides von aquila biolabs (Abb. 1).

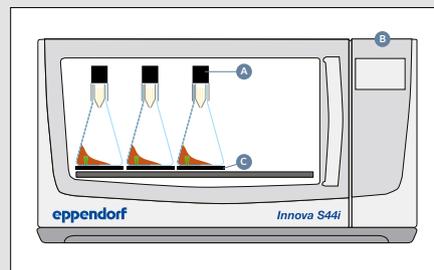


Abb. 1: Integriertes Konzept für den optimalen Vorkultur-Ansatz **A:** Automatisierte Animpfung der Vorkultur (LIS, aquila biolabs), **B:** Konditionierung (programmierbarer Inkubationsschüttler Innova S44i, Eppendorf) und **C:** Online-Überwachung (CGQ, aquila biolabs)

Für das automatische Animpfen der Vorkultur wurden drei verschiedene Konzentrationen von *S. cerevisiae* in LIS-Patronen gefüllt und mit vorprogrammierten LIS-Drives auf die Schüttelkolben aufgesetzt. Der Innova S44i wurde auf 10 °C und 100 rpm für die initiale Konditionierungsphase mit nachfolgendem Wechsel auf die Wachstumsphase von 30 °C und 200 rpm vorprogrammiert. Das Zellwachstum wurde in Echtzeit mit Hilfe des CGQ Systems überwacht. Weitere Informationen zur Anwendung von CGQ und LIS finden Sie auf der aquila biolabs Website www.aquila-biolabs.de

Ergebnisse und Diskussion

Eine optimale *S. cerevisiae* Vorkultur für die Ethanolproduktion sollte während der respiro-fermentativen Wachstumsphase geerntet werden.

Ergebnisse aus einem repräsentativen Vorkulturansatz zum Zweck des Bioprozesses für Ethanolproduktion mit Hilfe von *S. cerevisiae* sind in Abb. 2 dargestellt.

Die ersten 2 Stunden wurden die resuspendierten Zellen innerhalb der Patrone in einer kalten Atmosphäre bei niedriger Umdrehungszahl in einem glucosefreien Kulturmedium vorkonditioniert, um das Zellwachstum zu verhindern und um es den Zellen zu ermöglichen, ihren Stoffwechsel an die anderen Medium-Komponenten anzupassen.

Anschließend erfolgte die automatische Erhöhung der Temperatur und der Schüttelgeschwindigkeit auf die gewünschten Bedingungen der Wachstumsphase. Von dem Zeitpunkt des Animpfens in den Kolben über LIS begannen die Kulturen, nahezu ohne Lag-Phase zu wachsen, was die Nützlichkeit einer kontrollierten Vorkonditionierungsphase verdeutlicht. Im Einklang mit der Literatur [10]–[12] wurden, in Abhängigkeit von der initialen Biomassekonzentration, unterschiedliche Wachstumsraten beobachtet.

Durch den Einsatz dreier verschiedener Biomassekonzentrationen mit entsprechend unterschiedlichen Wachstumsraten war es möglich, das optimale Erntezeit-Fenster von ca. 0,6 h für eine einzelne Kultur auf über 2 h für die Kombination der Kulturen auszudehnen. Dies bietet dem Bioprozess-Anwender mehr Flexibilität bei der Zeitplanung der Animpfung.

Anstatt die Kulturen zum optimalen Zeitpunkt zu ernten, wurden die Zellen weiterhin kultiviert, um den diauxischen Wechsel darzustellen. Dieser beginnt bei *S. cerevisiae* Kulturen, sobald die Glucose aufgebraucht ist. Dieser diauxische Wechsel zum auf dem akkumulierten Ethanol basierenden Respirationswachstum ist klar erkennbar; dieser stellt die klassische in der Literatur beschriebene *S. cerevisiae* Wachstumskurve dar [4], [5], [7].

Generierung eines optimalen Bioreaktor-Inokulums im Schüttelkolben

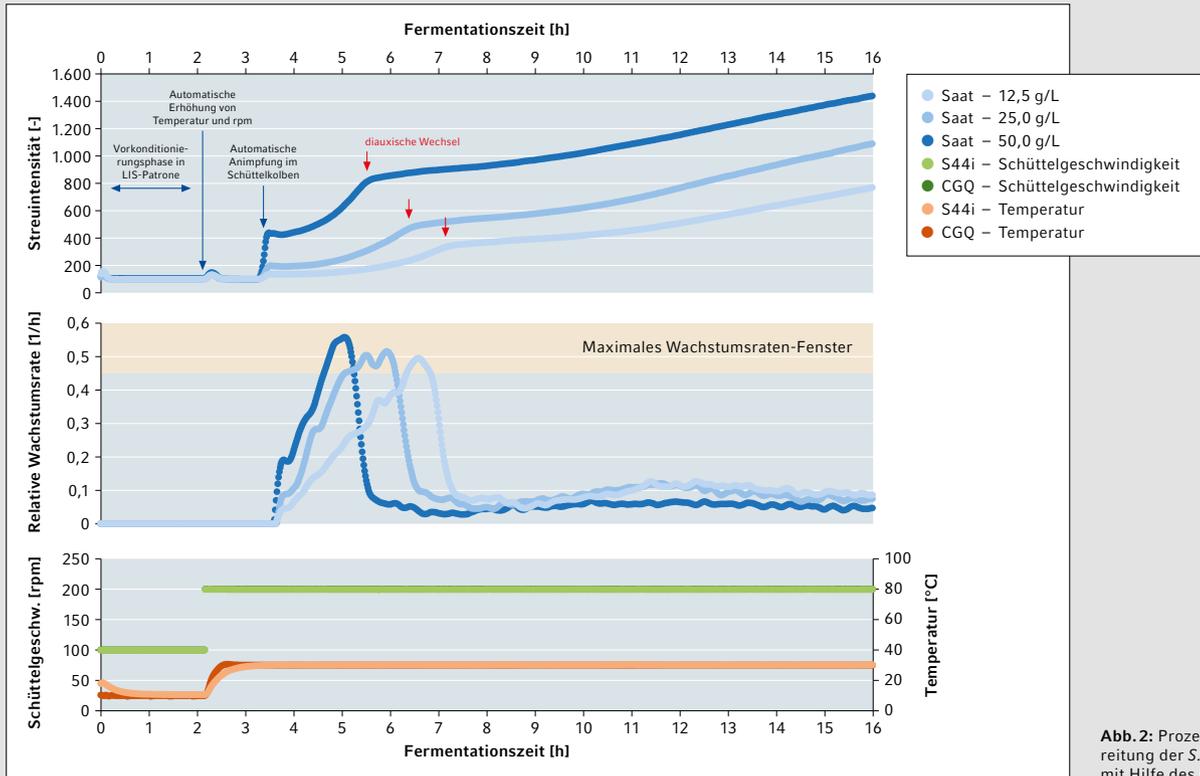


Abb. 2: Prozessdaten für die Vorbereitung der *S. cerevisiae* Impfkulturen mit Hilfe des integrierten Ansatzes

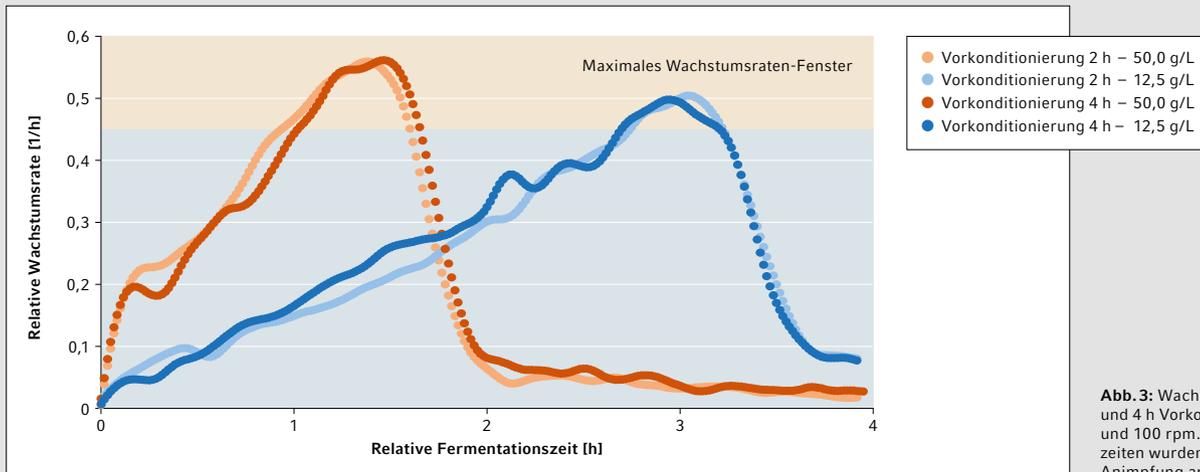


Abb. 3: Wachstumsraten mit 2 h und 4 h Vorkonditionierung bei 10°C und 100 rpm. Die Fermentationszeiten wurden relativ zum Start der Animpfung angepasst.

Es wird deutlich, dass die Wahrscheinlichkeit, eine unkontrollierte Übernacht-Animpfkultur zu einem suboptimalen Zeitpunkt zu ernten, extrem hoch ist. Mit Hilfe des integrierten Ansatzes können die Reproduzierbarkeit und die Qualität der Vorkultur verbessert werden. Durch die Programmierbarkeit des Schüttlers und des LIS-Systems kann der Anwender den Zeitpunkt der Ernte flexibel bestimmen, indem die Länge der Vorkonditionierungsphase entsprechend eingestellt wird.

Wie in Abb. 3 dargestellt, zeigen die Kurven der Wachstumsraten keine signifikanten Unterschiede – unabhängig von der Dauer der Vorkonditionierungsphase.

Fazit

Mit diesem System kann der Anwender optimale und reproduzierbare Inokula für Bioreaktoren generieren. Die Programmierfunktion des S44i und des LIS-Systems ermöglichen die flexible zeitliche Planung der Vorkonditionierungs- und Wachstumsphasen und machen somit

die Nacht oder das Wochenende zu produktiven Zeiten für den Ansatz optimaler Impfkulturen.

Literatur

Siehe vollständige Application Note 431: <http://eppendorf.global/kuw>

BARBRO PATTERSON, EPPENDORF AG

Gesicherte Performance, maximierte Lebensdauer

Die ständige Verfügbarkeit und der sichere Betrieb von Laborgeräten sind ein Muss für ein effizientes, erfolgreiches Labor. Durch regelmäßige Wartung und Qualifizierung Ihrer Laborinstrumente können Sie wesentlich zum Erfolg Ihrer täglichen Arbeit beitragen. Mit unseren neuen Servicevertragsmodellen bieten wir Ihnen die optimale Lösung für Ihre individuellen Anforderungen: von der Installation vor Ort bis zu Inspektion, Kalibrierung, Wartung, Qualifizierung und Reparatur.



Mit Serviceverträgen die Effizienz erhöhen

Eppendorf bietet eine Auswahl an Vertragsoptionen von kosten-effizienten Modellen bis hin zu All-Inclusive-Paketen für einen einfachen Serviceprozess und eine maximale Verfügbarkeit Ihrer Laborgeräte. Für bessere finanzielle Planbarkeit bieten wir erweiterte Garantievereinbarungen, die nach Ablauf der Standardgarantiezeit Reparaturkosten abdecken und optional auch eine Wartung beinhalten. Unser qualifiziertes Servicepersonal stellt sicher, dass Sie zeitnah und professionell betreut werden.

Serviceverträge	AdvancedCare	PremiumCare
Vorbeugende Wartung	1/Jahr	1/Jahr
Software-Update	■	■
Reparatur (Teile, Arbeit, Reise)	20 % Rabatt	inklusive
Zusätzliche Services (z.B. IQ/OQ)	10 % Rabatt	10 % Rabatt



Garantieverlängerung

Im Falle einer notwendigen Reparatur sind Verschleißteile, Arbeits- und Reisekosten enthalten. Die Garantieverlängerung kann einmalig für ein Jahr innerhalb der Eppendorf Standardgarantie des jeweiligen Geräts abgeschlossen werden und ist für ein Jahr im Anschluß an die Standardgarantiezeit gültig.

Garantieverlängerung plus

Im Falle einer notwendigen Reparatur sind Verschleißteile, Arbeits- und Reisekosten enthalten. Darüber hinaus sind ein vollständiger vorbeugender Wartungsservice und ein jährliches Software-Update (falls zutreffend) enthalten. Auf zusätzliche Services (z.B. IQ/OQ) wird im Rahmen desselben Servicevertrags ein Rabatt von 10 % gewährt. Garantieverlängerung plus kann jederzeit abgeschlossen werden.

Wenn Sie mehr über unsere Serviceverträge zu Wartungen, verlängerten Garantien und zusätzlichen Dienstleistungen erfahren möchten, besuchen Sie



<http://eppendorf.global/kni>

JAN-HENDRIK BEBERMEIER, EPPENDORF AG

Dokumentieren Sie den Weg Ihrer Proben?

Um die Probenidentifizierung und die Prozessverfolgung im Labor so einfach wie möglich zu gestalten, wird eine deutliche Probenbeschriftung und eine Dokumentation aller Schritte empfohlen. Darüber besteht in allen Labors völlige Einigkeit. In der Realität finden Sie Probengefäße auf der Werkbank, im Kühlschrank, in der Tiefkühltruhe, in der Sicherheitswerkbank und an anderen Orten – mit einer sehr diversen Kennzeichnungsqualität. Die Dokumentation von Prozessen und Experimenten wird eher als zeitraubende Pflicht denn als Schlüssel für die Zukunft gesehen.



Erinnern Sie sich an all die zeitaufwändigen Dokumentations-schritte Ihrer Arbeit im Laborbuch? Thermopapier muss kopiert werden, alle Probenmessdaten müssen manuell in Ihr Buch übertragen werden, Kommentare zu den verwendeten Geräten und den dazugehörigen Programmen müssen notiert werden – diese Liste lässt sich beliebig fortsetzen.

Und selbst wenn alles sicher in Ihrem Laborbuch dokumentiert wurde, kennen Sie vielleicht diese Situation: Drei Monate später fragen Sie sich, ob diese Zahl im Laborbuch ursprünglich eine „2“ oder doch eher eine „7“ war? Oder das Audit erfordert ein spezielles Zertifikat über bestimmte Verbrauchsartikel. Normalerweise befindet sich dieses Dokument in einem der drei großen Ordner im Büro. Dort ist es jedoch nicht ...

Es muss doch bequemere Wege zur Dokumentation geben

Eine intelligente Kennzeichnung Ihrer hochwertigen Proben ist entscheidend für eine sichere Identifizierung und letztlich für zuverlässige Ergebnisse. Unlesbare Proben sollten ein Problem der Vergangenheit sein. Barcodes ermöglichen eine schnelle und eindeutige Probenidentifizierung. Eppendorf bietet Ihnen vorbeschriftete Gefäße zur sofortigen Verwendung an. Ihre Proben werden mittels Barcodes identifiziert und digital dokumentiert.

Das SafeCode™-System

Mit Hilfe eines Scanners wird der Datamatrix-Code des Gefäßes ausgelesen, die ID übertragen und schließlich in Ihrem digitalen Laborbuch, der eLABJournal® Software, gespeichert.

Auf Grundlage der ID zieht eLABJournal automatisch Dokumente aus dem Eppendorf-Dataport: z.B. Zertifikate, technische Zeichnungen, Chargennummer, Produktname und Bestellnummer. Alle Daten werden zusammen mit der ID und Ihrer Probenbeschreibung gespeichert.

Wenn eine Lagerung bei -80°C erforderlich ist, erkennt eLABJournal freie Plätze im Freezer und schlägt Ihnen eine freie Position vor. Nach der Einlagerung ist Ihre Probe unter der Kontrolle Ihres CryoCube® F740hi Freezers.



-80°C -Lagerung im CryoCube F740hi Freezer

Entspannen Sie sich mit VisioNize®

Als Wissenschaftler ist Ihnen die Probensicherheit immens wichtig. Mit VisioNize sind Sie mit Ihren Proben während der Lagerung ständig verbunden, selbst wenn Sie nicht im Labor sind. Sollte mit dem Ultratiefkühlgerät etwas nicht in Ordnung sein, erhalten Sie sofort eine Benachrichtigung auf Ihr Mobilgerät. Loggen Sie sich einfach in VisioNize ein, um die Überwachungsdiagramme und Daten des Freezers in Echtzeit zu überprüfen. So können Sie sich vergewissern, ob es sich um einen Fehlalarm oder um einen echten Alarm handelt.

Kontrolliertes und dokumentiertes Auftauen von Proben

Das Protokoll basiert z.B. auf einem speziellen Aliquot einer Ihrer eingefrorenen Proben. Dank der Probenverwaltung von eLABJournal wissen Sie genau, wo sich Ihre Probe innerhalb des Gefrierschranks befindet. Die Öffnungszeit des Freezers wird hierdurch auf ein Minimum reduziert. Nicht nur alle anderen eingefrorenen Proben profitieren davon, sondern auch Ihre Stromrechnung, da sich der Freezer nicht wie bei einem langen Öffnen aufwärmt und wieder abkühlen muss.

Die Probe wird digital aus dem Bestand von eLABJournal ausgebucht, dies wird dokumentiert per ID, Datum und Uhrzeit. Nach dem physischen Ausbuchen Ihres CryoStorage Vials aus

dem Freezer kann die Probe im Eppendorf ThermoMixer® unter kontrollierten Bedingungen aufgetaut werden.

Der spezielle Eppendorf SmartBlock™ für Cryovials sorgt durch passende Formgebung für die exakte Temperierung der Proben. Der integrierte Temperatursensor überprüft laufend die Temperatur des ThermoBlocks und tauscht Daten mit dem Steuerzentrum des ThermoMixers aus, wo die eingestellten Soll-Werte gespeichert werden. Jede Abweichung wird sofort korrigiert. Am Ende des Auftauprozesses liefert das Gerät ein Signal.



Kontrolliertes Auftauen im Eppendorf ThermoMixer

Basierend auf der ID des CryoStorage Vials können Sie mit der Dokumentation des nächsten Arbeitsschrittes beginnen: Im eLABJournal ergänzen Sie die Informationen über das Auftauen (Zeit und Temperatur).

Basierend auf Ihrem Protokoll müssen Sie nun z.B. 25 μL von der gerade aufgetauten Probe in ein neues Gefäß übertragen. Nach Entnahme der genauen Menge lagern Sie die ursprüngliche Probe wieder bei -80°C ein. Die ursprüngliche Probe wird wieder digital erfasst und das entnommene Probenvolumen von 25 μL elektronisch im eLABJournal dokumentiert.

Die Beschriftung des neuen Röhrchens erfolgt mit der integrierten Barcode-Etikettenfunktion von eLabJournal. Erstellen Sie Ihr spezielles Etikett und setzen Sie die Reise Ihrer Probe entlang des Protokolls fort.

Wenn auch Sie die Dokumentation in Ihrem Labor verbessern möchten: Auf <http://eppendorf.global/kpY> erfahren Sie mehr über das SafeCode-System.

Tipp: Profitieren Sie von Ihrem kostenlosen persönlichen 30-Tage-Test von eLABJournal: www.elabjournal.com/eppendorf

CAROLYN TAUBERT, EPPENDORF AG

Flexibel lernen: kostenfreie Webinare

Möchten Sie Ihr Laborwissen auf bequeme Art und Weise erweitern? Interessieren Sie sich für neueste wissenschaftliche Entwicklungen und aktuelle Methoden? Dann sind Eppendorfs kostenfreie Webinare genau das Richtige für Sie. Lernen Sie von unseren Experten, wie Sie Ihren Laboralltag besser bewältigen können.

Sie wollen das Experiment eines Kollegen reproduzieren oder einen Versuch, über den kürzlich in einer Veröffentlichung berichtet wurde? Im Webinar **Improve Your Reproducibility** lernen Sie, wie Sie durch den Einbau Guter Zellkulturpraxis („GCCP“) in Ihre tägliche Routine die Genauigkeit Ihrer Experimente steigern können.

Im Webinar **Better Safe than Sorry!** geht es um wichtige Sicherheits- und Wartungsaspekte für Zentrifugen. In **Protect Your Cells with Proper Pipetting** lernen Sie, wie Sie bereits durch die Auswahl des richtigen Pipettierwerkzeugs Kontaminationen reduzieren können.

Wenn der Umgang mit viskosen Flüssigkeiten Sie vor Herausforderungen stellt, erhalten Sie im Webinar **Handling of Viscous Liquids** nützliche Tipps und Tricks von unseren erfahrenen Liquid

Handling Applikationsspezialisten. Sie lernen sogar, wie man Honig pipettiert! Auch zu automatisiertem Liquid Handling bieten wir Webinare, z.B. **NGS Made Easy** und **Switching from Manual to Automated NGS Library Preparation**. Selbstverständlich sind ebenfalls die Eppendorf **Bioprozess-Spezialisten** mit Webinaren vertreten. Und auch zur Arbeitsplatzoptimierung gibt es ein Webinar, um Stress und körperliche Belastungen im Laboralltag zu reduzieren.

Entdecken Sie die Vielzahl und Vielfalt von Eppendorf-Webinaren, die wir Ihnen live oder zur Teilnahme „on demand“ aufgezeichnet anbieten. Im Anschluss an jedes Live-Webinar beantworten unsere Referenten Ihre Fragen live oder – falls die Zeit nicht reicht – per E-Mail.

Mehr Informationen erhalten Sie unter www.eppendorf.com/webinars



Eppendorf Webinar-Referenten im Gespräch: Tim Schommartz, Katja Bäsler, Ulrike Gast, Christian Haberlandt, Nadine Mellies (von links nach rechts)

Sie möchten kein Webinar verpassen? Dann abonnieren Sie unseren Newsletter: www.eppendorf.com/newsletter

Tipp

Online-Shopping bei Eppendorf

Sie kaufen privat online ein, warum nicht auch für Ihr Labor?

Auf www.eppendorf.com finden Sie umfassende Informationen über unsere Produkte, Serviceangebote, aktuelle Online-Promotions und vieles mehr.



Ihre Vorteile beim Online-Einkauf*

- > Rund um die Uhr verfügbar
- > Kaufen Sie direkt beim Hersteller
- > Lösen Sie bequem Ihr persönliches Eppendorf-Angebot ein
- > Profitieren Sie von unseren besonderen Online-Angeboten

Besondere Funktionen*

- > Zugang zu Ihren kundenspezifischen Preisen
- > Sparen Sie Zeit durch Quick Orders und Sammelbestellungen
- > Schnelle Überprüfung des Lagerbestandes



eppendorf.com/eshop

*Online-Shop und -Funktionen nicht in allen Ländern verfügbar.

HAFID OUAZZANI, EPPENDORF AG

Erfolgsfaktor Produktdesign

Das Design eines Produktes ist nicht auf das äußere Erscheinungsbild beschränkt. Es umfasst ebenso die Funktionalität, die Herstellungsqualität und die Bedienerfreundlichkeit. Beim Blick auf die heute angesagtesten Produkte wird klar, was sie gemeinsam haben: eine überzeugende Kombination von äußeren und inneren Werten oder – kurz gesagt: ein großartiges Design.



Kundenzentrierung, Beratungsexpertise, Innovation – wohlklingende Marketing-schlagwörter, die rasch an Glanz verlieren, wenn ein Produkt die Kundenerwartungen nicht erfüllt. Um ein überzeugendes Kundenerlebnis zu schaffen, müssen unsere Entwickler und Designer Ihre Bedürfnisse nachvollziehen und die Erkenntnisse in durchdachte, einzigartige Produktlösungen übersetzen. Produktdesigner versuchen dabei stets Form und Funktion so zu verbinden, dass wahrhaft wünschenswerte Produkte entstehen. Idealerweise begeistert das Endprodukt durch leichte Handhabung, intuitive Bedienung, hohe Qualität und Langlebigkeit sowie – als i-Tüpfelchen – durch ein markantes Äußeres.

Produkt-Designpreise geben Herstellern die Bestätigung externer Profis, dass sie ihre Anwender gut verstanden und ein positives Kundenerlebnis erschaffen haben.

Wir nehmen gern an Design-Wettbewerben teil, denn auf diese Weise kommt unsere Fähigkeit, Ihnen kontinuierlich gutes Produktdesign zu bieten, regelmäßig auf den Prüfstand.

Eppendorf hat für seine Produkte schon viele renommierte Designpreise gewonnen, z. B. für das neue Pipettenhaltesystem, die Eppendorf Research® plus Pipette, die Centrifuge 5920 R und den Mastercycler® X50. Unser letztes Produkt, das für sein außergewöhnliches Design und das Kundenerlebnis bereits mehrfach ausgezeichnet wurde, ist der CellXpert® 170i, eine neue Familie von Eppendorf CO₂ Inkubatoren. Solche Auszeichnungen erfüllen uns mit Stolz. Sie signalisieren uns, dass wir bei unseren Anstrengungen, Ihnen Lösungen für beste Arbeitsergebnisse und Zielerreichung zu bieten, auf dem richtigen Weg sind.

Tipp

Relaunch der Eppendorf App

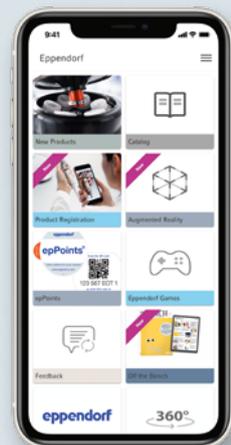
Die Eppendorf App erscheint in neuem Glanz – mit neuester Technik und noch besserer Benutzerfreundlichkeit. Blättern Sie im Produktkatalog, um so das passende Produkt für Ihre Anwendung zu finden. Nutzen Sie mehrere Möglichkeiten, um sich über Produkte zu informieren oder diese zu vergleichen. Dank der verbesserten Augmented Reality-Funktion* können Produkte jetzt noch leichter virtuell in Ihrem Labor platziert werden. Betrachten Sie das Innenleben unserer Produkte oder tauschen Sie nach Belieben Zubehör aus. Erleben Sie die Vielfalt von Eppendorf im Maßstab 1:1.

Weitere Highlights

- > Erleben Sie unsere Magazine online
- > Registrieren Sie Ihre Eppendorf-Geräte, einfach und bequem
- > Scannen Sie Ihre epPoints® ein
- > Berechnen Sie die Menge Rohöl/PP, die Sie durch Verwendung von epT.I.P.S.® Mehrweg-Boxen oder ep Dualfilter T.I.P.S.® Einweg-Racks in neuem Design einsparen können (s. auch Seite 6–7).

Hier geht es zur Eppendorf App:

<http://eppendorf.global/klb>



Gern können Sie uns Feedback geben, per E-Mail an app@eppendorf.com oder per Feedback-Button in der App.

*Die AR-Funktion unterstützt Apple®-Produkte nach 2016, derzeit nicht für Android™-Geräte verfügbar.

CAROLYN TAUBERT UND BERRIT HOFF, EPPENDORF AG

Eppendorf-Preisträger 2019/2020: Lauren Orefice & Randall Platt



**eppendorf
& Science**
PRIZE FOR
NEURO
BIOLOGY

Die amerikanische Wissenschaftlerin Lauren Orefice, Ph. D. (Massachusetts General Hospital und Harvard Medical School, USA) erhielt den mit 25.000 US\$ dotierten *Eppendorf & Science Prize for Neurobiology 2019*.

Lauren Orefice bekam den Preis für ihre Arbeit an den Ursachen und potentiellen Therapien für Autismus-Spektrum-Störungen (ASS). Sie stellte fest, dass periphere somatosensorische Neuronen – Neuronen außerhalb des Gehirns, die den Tastsinn steuern – die Schlüsselbereiche sind, in denen mit Autismus assoziierte Genmutationen einen entscheidenden Einfluss haben.

Sie zeigte, wie eine gestörte Funktion der peripheren somatosensorischen Neuronen Überreaktionen auf Berührungen verursacht und wie diese Überreaktion während der Entwicklung bei Mäusen zu einer veränderten Gehirnfunktion und einigen mit Autismus assoziierten Verhaltensweisen beiträgt.

Die Arbeit von Lauren Orefice verändert unsere Vorstellungen über die Ursachen von ASS und bietet eine überraschende Korrektur der weitverbreiteten Ansicht, die ASS ausschließlich mit der Gehirnfunktion verbindet. Sie zeigt periphere somatosensorische Neuronen als möglichen neuen Therapieansatz zur Verbesserung einiger durch ASS bedingten Symptome auf.

www.eppendorf.com/prize



Der mit € 20.000 dotierte *Eppendorf Award for Young European Investigators 2020* ging an Prof. Dr. Randall J. Platt, Assistant Professor of Biological Engineering, ETH Zürich, Schweiz. Er erhielt den Preis für die Entwicklung einer Methode, mit der Verläufe von Genexpressionen mithilfe eines CRISPR-Cas Systems aufgezeichnet werden.

Hierbei werden kleine Stücke RNA als Reaktion auf geänderte Umweltbedingungen in das Genom eines nicht-pathogenen Bakteriums eingefügt. Dieses System ermöglicht Fortschritte bei der künftigen Entwicklung eines Darmmikrobioms (normale Darmflora), das Erlebnisse des Wirtsorganismus aufzeichnen kann. Hierin liegt das Potential für einen diagnostischen Einsatz mit der Aussicht auf individualisierte, präzise Eingriffe bei Menschen und Tieren.

www.eppendorf.com/award

Aufgrund der sich dynamisch verändernden COVID-19 Krisenlage wurde die ursprünglich für den 25. Juni 2020 (im Rahmen der Young European Investigators Conference) geplante Preisverleihung am EMBL Advanced Training Centre in Heidelberg auf den 24. Juni 2021 verschoben.

www.eppendorf.com/award/25years

Markenhinweise

Amazon® is a registered trademark of Amazon Technologies, Inc., USA. Apple® is a registered trademark of Apple, Inc., USA. Sigma-Aldrich® is a registered trademark of Merck KGaA, Germany. VWR® is a registered trademark of VWR International, LLC, USA. Android™ is a trademark of Google, Inc., USA. Fluoroskan Ascent™ is a trademark of ThermoFisher Scientific, Inc., USA. REDExtract-N-Amp™ and PCR ReadyMix™ are trademarks of Merck KGaA, Germany.

Eppendorf®, the Eppendorf Brand Design, CellXpert®, CryoCube®, eLabJournal®, ep Dualfilter T.I.P.S.®, Eppendorf LoBind®, Eppendorf Reference®, Eppendorf Research®, Eppendorf ThermoMixer®, Eppendorf twin.tec®, Eppendorf Xplorer®, epPoints®, the epServices® logo, epT.I.P.S.®, Mastercycler®, Move It®, and VisioNize® are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany. BioFlo® and Innova® are registered trademarks of Eppendorf, Inc., USA. Eppendorf SmartBlock™, New Brunswick™, and SmartExtender™ are trademarks of Eppendorf AG, Germany. DASGIP® is a registered trademark of DASGIP Information and Process Technology GmbH, 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 Jubiläums-Preisrätsels aus BioNews Nr. 51 lautete „Inside Cell Culture“. Die drei Hauptgewinne, je eine Eppendorf Research® plus, gingen an Wooi K. (Malaysia), Mike S. (Australien) und Steven F. (Belgien).

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 **31. Oktober 2020**.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11				12	13		14		15
	16			17	18		19		20
	21			22			23		
24			25	26			27	28	
			29			30		31	
32	33	34			35		36		37
38									
					39		40		41
		43	44		45			46	
47	48					49		50	
51							52		53
		54				55			

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 für Ihr Labor. 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 55 veröffentlicht.

1. bis 3. Preis:

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 400 Bonus epPoints®

(Registrierung bei epPoints erforderlich)

WAAGERECHT

- Verbrauchsartikel im Liquid Handling (Pl.)
- Every breath you take, every ... you make
- Diese Stimme ist nicht zu sehen
- Auf Märkten und Messen zu finden
- Inselgruppe in der Karibik (ISO-Länderkürzel)
- In Barcelona geborener Maler
- Da gibt's Kaiserschmarrnen (ISO-Länderkürzel)
- Von Russland durch die Beringsee getrennt
- Französisches Gold, oder?
- Französischer männl. Artikel
- Schlank, dünn (Engl.)
- Gegenüber liegt SSO
- May the ... be with you
- Metall in orthopädischen Implantaten (chem. Symbol)
- Fortgeschritten und zwar auf Englisch

- Geschäft, Kaufhaus (Engl.)
- Mathematische Konstante
- Berühmt für sein „yabba dabba doo“ (Vorname)
- Hilfsmittel zur Authentifizierung im Netz
- Original Equipment Manufacturer (Abk.)
- Entspannungsoase mit Dampfbad und mehr
- Ich mache mich nicht zurecht, ich ... mich
- Per Ritterschlag hierzu befördert
- Frauennamen altgriechischen Ursprungs
- Pflanzenfressendes Säugetier in tropischen Wäldern
- Verliebt in Rosalind
- Französischer Maler
- Kleines nordisches Königreich (ISO-Länderkürzel)
- Schmuckstück

SENKRECHT

- Das Musical „Cats“ beruht auf seinem Buch (Vorname, Abk.)
- Vorsilbe mit Bezug zu südeuropäischem Land
- Ergänzt Brown oder Noster
- Hier liegt Dakar (ISO-Länderkürzel)
- Form eines legendären Büros
- Sorgt für beste Connections im Labor
- Diese Beschallung kommt von vorne
- Das zweite F in FF
- Atomare Masseneinheit, benannt nach John D. (Abk.)
- Sehr kurz für Mutter
- In Südafrika eingeschlossenes Königreich (ISO-Länderkürzel)
- 1,60934 hiervon sind eine Meile (Abk.)
- Nahezu, beinahe
- Handle with ...
- Paradiesischer Garten
- In England nicht rechts

- Amerikanische Nachrichtenagentur (Abk.)
- American, French oder Caesar?
- Mission: Impossible Dauerdarsteller (Vorname)
- Zentrale Taste auf der Fernbedienung
- ... State of Mind von Jay-Z und Alicia
- Weiß man, wo in Florida diese Serie spielte?
- Erweiterte Realitätswahrnehmung (Abk.)
- Zu spät, das Haus ist ... (z.B. in England)
- Beliebtes Holz für Möbel und Yachten
- Erhellt Lampen und Displays
- ... favor!
- Medizinischer Parameter, gemessen in bpm (Abk.)
- Lebte in Neverland (Nachname)
- So duzt man in Spanien, Italien oder Frankreich

Lösungshinweis für das Gewinnspiel BioNews Nr. 53:

V C R I R M

Einsendeschluss für das Gewinnspiel: **31. Oktober 2020**. Online teilnehmen unter www.eppendorf.com/bn-service oder das Lösungswort per E-Mail an bionews@eppendorf.de senden! Informationen über die Verwendung Ihrer persönlichen Daten finden Sie unter www.eppendorf.com/gdpr

Publish your research in Science Partner Journals

The Science Partner Journal (SPJ) program established by the **American Association for the Advancement of Science (AAAS)**, the non-profit publisher of the *Science* family of journals, features high-quality, online-only, and editorially independent Open Access publications produced in collaboration with international research institutions, foundations, funders and societies. Our peer-reviewed journals provides an international platform for academic exchange, collaboration, and technological advancements; and are committed to publishing groundbreaking, innovative, and high-impact research from around the world.

Submit your research today! Learn more at spj.sciencemag.org

