

Applications

Note 146 | März 2007

Eppendorf Plate® Deepwell 96 und 384: g-Safe®

Untersuchungen zur Zentrifugationsstabilität von Eppendorf Plate Deepwell

Katrin Käßler-Hanno¹ und Detlef Schwarzwald²

¹Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland; ²Eppendorf Polymere GmbH, Oldenburg, Deutschland

Zusammenfassung

Die Eppendorf Plate Deepwell 96 und 384 sind speziell für die hohen Anforderungen bei der Zentrifugation entwickelt worden und verfügen daher über eine hohe Formstabilität. Die vorliegende Application Note zeigt, dass alle Platten-Formate sowohl in Standard Qualität als auch in DNA- und Protein LoBind Qualität, eine Zentrifugationsstabilität bis zu 6.000 x g aufweisen. Die sterilen Produktvarianten der Eppendorf Plate Deepwell sind bis 5.000 x g zentrifugierbar. Unsere Untersuchungen zeigten außerdem, dass Eppendorf Plate Deepwell 96 und 384 für Zentrifugationen in einem breiten Temperaturbereich in Ausschwingrotoren und auch Trommelrotoren geeignet sind.

Einleitung

Betrachtet man die Entwicklungen im Laboralltag der letzten Jahre, so ist ein deutlicher Trend erkennbar: der Probendurchsatz wird immer größer, die Bearbeitung der Proben nimmt gerade im High-Throughput-Screening der Pharmaindustrie, in den Forschungsbereichen Genomics und Proteomics, aber auch in der routinemäßigen Lebensmittelanalytik zu. Um diesen hohen Probendurchsatz realisieren zu können, ist die Verwendung von Multiwell-Platten notwendig. Einerseits müssen solche Platten automaten-tauglich sein, also bestimmten Standardabmessungen entsprechen (SBS-Standard, Society for Biomolecular Screening). Andererseits sollen sich Schritte der Proben-vorbereitung und -Behandlung sowie der Probenlagerung und des Transportes komfortabel, effizient und sicher durchführen lassen. Um diesem Trend Rechnung zu tragen, hat Eppendorf eine neue Generation von Deepwell-Platten entwickelt, die durch ein einzigartiges Design, eine spezielle Well-Geometrie, hochpräzise Fertigung (SBS-Standard) und höchste Zentrifugationsstabilität dem Anwender genau das bieten.

Viele Probenaufbereitungsmethoden wie das Pelletieren einer Bakterien-Kultur (z. B. 6.000 x g, 0 °C), die Nukleinsäure-Extraktion (z. B. 4.300 x g, 20 °C; 6.000 x g, 4 °C) oder die Plasmid-Isolation (z. B. 2.500 x g, 4 °C) beinhalten Zentrifugationsschritte, die bei Verwendung von Deepwell-Platten, gerade bei höheren g-Zahlen, zum Problem werden können. Bei Einwirkung starker Kräfte, wie sie während der Zentrifugation auftreten können, neigen Platten dazu, sich zu verziehen, zu reißen oder sogar zu platzen. Für den Anwender ist es besonders wichtig, dass die Deepwell-Platten diesen Kräften standhalten. Das heißt, sie dürfen nicht reißen, es dürfen keine Wells platzen und die Platten dürfen sich nicht so stark verformen, dass die weitere Nutzung, z. B. im Liquid Handling Automaten, nicht mehr möglich ist.

In den nachfolgend beschriebenen Versuchen wurde untersucht, welchen Zentrifugalkräften die Eppendorf Plate Deepwell unter Einhaltung definierter Stabilitätskriterien standhalten.

Material und Methoden

Eppendorf Plate Deepwell und Deepwell-Platten anderer Anbieter wurden zentrifugiert und hinsichtlich ihrer Haltbarkeit bezogen auf definierte Stabilitätskriterien beurteilt.

Stabilitätskriterien

- **Haltbarkeit**
Es durften keine geplatzten Wells oder Risse auftreten.
- **Verformungen**
Eingedrückte Wellböden, Stege oder Seitenwände waren nur im Rahmen der SBS-Norm erlaubt. Die Einhaltung der Fußmaße entsprechend SBS-Norm musste gegeben sein.

Verwendete Deepwell-Platten

Eppendorf Plate Deepwell 96/1000 µl
Eppendorf Plate Deepwell 96/2000 µl
Eppendorf Plate Deepwell 96/500 µl
Eppendorf Plate Deepwell 384/200 µl
Entsprechende Deepwell-Platten von Wettbewerbern

Eppendorf Plate Deepwell und Deepwell-Platten anderer Anbieter wurden in den unten aufgeführten Zentrifugen/Rotoren bei 40 °C, 20 °C, 4 °C und 0 °C für 90 Minuten bzw. 10 Minuten bei maximal möglicher Zentrifugalbeschleunigung entsprechend Zentrifuge und Rotor zentrifugiert. Alle Wells der Platten waren bis zum maximal möglichen Arbeitsvolumen mit einer wässrigen Lösung, mit 70 %-igem Ethanol oder DMSO gefüllt.

Die Zentrifugierbarkeit der Materialvarianten Eppendorf Plate Deepwell, DNA LoBind, Protein LoBind und der sterilen Ausführungen wurde ebenfalls wie beschrieben getestet.

Die Platten wurden ohne Unterbrechung über die vorgeschriebene Zeit und bei den jeweiligen Bedingungen in unterschiedlichen Zentrifugen getestet.

Verwendete Zentrifugen und Rotore

Eppendorf 5804 R; Rotor A-2-DWP
Eppendorf 5810 R; Rotor A-4-81-MTP/Flex und A-4-62-MTP/Flex
Eppendorf 5430; Rotor A-2-MTP
Multifuge® 3L; Rotor *6445 und Highplate®
Sigma 4-15; Rotor 11150
Sigma 4K15C; Rotor 09100

Ergebnisse und Diskussion

Die Eppendorf Plate Deepwell 96 und 384 wurden in verschiedenen Zentrifugen mit den zugehörigen Ausschwingrotoren bei deren maximal möglicher Beschleunigung für 90 Minuten bei 40 °C zentrifugiert. Die Wells der Platten waren mit einer wässrigen Lösung gefüllt. Bewertungskriterien für den Nachweis der Zentrifugationsstabilität waren die Haltbarkeit der Platten (keine Risse und geplatzten Wells) und die Einhaltung der SBS-Maße.

Zentrifugation in Eppendorf Zentrifugen

In diesen Versuchen zeigte sich, dass alle Plattenformate in Eppendorf Zentrifugen/Rotoren mit der jeweils maximal zulässigen Geschwindigkeit zentrifugiert werden konnten, ohne dass Risse auftraten oder Wells platzten. Es wurden keine Verformungen außerhalb der SBS-Norm festgestellt (**Tab. 1**). Exemplarisch wurden auch entsprechende Deepwell-Platten von vier anderen Anbietern getestet. Auch diese Platten erwiesen sich bei Zentrifugationsbeschleunigungen, wie sie in Eppendorf Zentrifugen auftreten, als haltbar.

Der Einfluss von Zentrifuge und Rotor

Die Zentrifugationsstabilität ist stark von der Zentrifuge und dem verwendeten Rotor abhängig. In der Multifuge 3L und dem Ausschwingrotor *6445 erwiesen sich bei 3.364 x g alle vier Eppendorf Deepwell-Plattenformate ohne Einschränkung als haltbar und formstabil. Eine der vier geprüften Wettbewerber-Platten war nach der Zentrifugation so stark verformt, dass die Maße außerhalb der SBS-Standards lagen (**Abb. 1**).

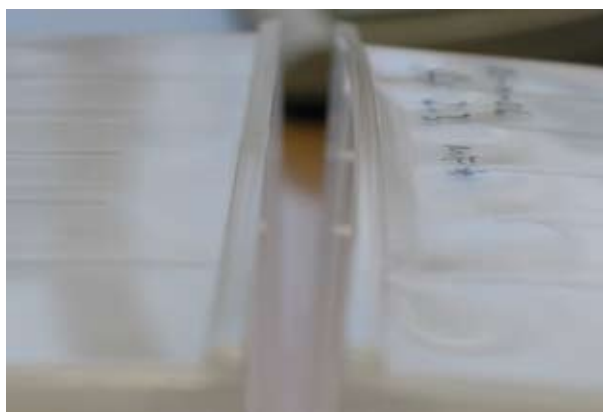


Abbildung 1: Verformung einer Wettbewerber-Platte nach Zentrifugation in der Multifuge 3L Rotor *6445 (ungekühlt) bei 3.364 x g für 90 Minuten. Links: Vor der Zentrifugation; Rechts: Nach der Zentrifugation

Je nach Konstruktion des Rotors wirken die Zentrifugalkräfte unterschiedlich auf die Platten, so dass es zu unterschiedlich starken Verformungen kommen kann. Im Highplate Rotor (5.084 x g) trat schon bei relativ niedriger Belastung eine seitliche Verformung des Fußes aller Platten

auf. Es traten jedoch keine Risse oder geplatzten Wells auf. In der Zentrifuge Sigma 4–15/Rotor 11150 (4.256 x g) dagegen waren Eppendorf Plate Deepwell haltbar und auch formstabil (**Tab. 1**).

Tabelle 1: Ergebnisse der Zentrifugation von Eppendorf Plate Deepwell mit maximal möglicher Beschleunigung, entsprechend Zentrifuge und Rotor, bei 40 °C für 90 Minuten.

- ● = Platten haltbar (keine geplatzten Wells oder Risse) und Verformungen nicht außerhalb der SBS-Standardmaße
- ▲ = Platten haltbar (keine geplatzten Wells oder Risse), aber Verformungen außerhalb der SBS-Standardmaße, n.d. = not determined

40 °C, 90 Minuten	Haltbarkeit/Verformung			
	Eppendorf Plate Deepwell			
	384/200 µl	96/500 µl	96/1000 µl	96/2000 µl
Eppendorf 5804 R Rotor A-2-DWP 2.250 x g	● ●	● ●	● ●	● ●
Eppendorf 5810 R Rotor A-4-81-MTP/Flex 2.916 x g	● ●	● ●	● ●	● ●
Eppendorf 5810 R Rotor A-4-62-MTP 2.750 x g	● ●	● ●	● ●	● ●
Eppendorf 5430 Rotor A-2-MTP 2.204 x g	● ●	● ●	n.d.	n.d.
Multifuge 3L 4x-Ausschwingrotor *6445 3.364 x g	● ●	● ●	● ●	● ●
Multifuge 3L Rotor Highplate 5.084 x g	● ▲	● ▲	● ▲	● ▲
Sigma 4-15 Rotor 11150 4.256 x g	● ●	● ●	● ●	● ●

Der Einfluss der Temperatur

Auch die Zentrifugationstemperatur wirkt sich erheblich auf die Stabilität von Multiwell-Platten aus. Bei niedrigen Temperaturen, z.B. 0 °C oder 4 °C, ist Polypropylen deutlich spröder als bei Raumtemperatur. Das Material ist deshalb brüchiger und reißt leichter. Bei höheren Temperaturen, z. B. 40 °C, ist Polypropylen weicher und biegsamer. Durch Einwirkung von Zentrifugalkräften neigen Polypropylen-Platten daher zu stärkerer Verformung.

Um zu testen, wie sich Eppendorf Plate Deepwell über einen breiten Temperaturbereich verhalten, wurden alle

Platten-Formate bei 0 °C (10 Minuten), 20 °C (90 Minuten) und 40 °C (90 Minuten) in der Sigma Zentrifuge 4K15C/Rotor 09100 mit der maximal möglichen Beschleunigung von 6.189 x g zentrifugiert. Die Ergebnisse zeigen, dass Eppendorf Plate Deepwell in einem breiten Temperaturbereich, sowohl bei niedrigen (0 °C), als auch bei höheren Temperaturen (20 °C; 40 °C), zentrifugiert werden können, ohne dass die Gefahr platzender Wells besteht (**Tab. 2 und 3**). Die Platten der meisten Wettbewerber waren nur bei höheren Temperaturen (20 °C, 40 °C) haltbar (**Tab. 3**).

Tabelle 2: Ergebnisse der Zentrifugation der Eppendorf Plate Deepwell in der Zentrifuge Sigma 4K15C/Rotor 09100 bei verschiedenen Temperaturen: 0 °C für 10 Minuten, 20 °C für 90 Minuten, 40 °C für 90 Minuten.

- = Platten haltbar (keine geplatzten Wells oder Risse)
- ▲ = Platten gerissen oder Wells geplatzt

Sigma 4K15C Rotor 09100 6.189 x g	Haltbarkeit			
	Eppendorf Plate Deepwell			
	384/200 µl	96/500 µl	96/1000 µl	96/2000 µl
0 °C; 10 Minuten 6.189 x g	●	●	●	●
20 °C; 90 Minuten 6.189 x g	●	●	●	●
40 °C; 90 Minuten 6.189 x g	●	●	●	●

Tabelle 3: Wettbewerbsvergleich Zentrifugation von Eppendorf Plate Deepwell 96/2000 µl und 96/1000 µl und entsprechenden Wettbewerber Platten in der Zentrifuge Sigma 4K15C/Rotor 09100 (6.189 x g) bei verschiedenen Temperaturen: 0 °C für 10 Minuten, 20 °C für 90 Minuten, 40 °C für 90 Minuten.

- = Platten haltbar (keine geplatzten Wells oder Risse)
- ▲ = Platten gerissen oder Wells geplatzt

Sigma 4K15C Rotor 09100 6.189 x g	Haltbarkeit		
	0 °C, 10 Minuten	20 °C, 90 Minuten	40 °C, 90 Minuten
Eppendorf Plate Deepwell 96/2000 µl	●	●	●
Wettbewerber A	▲	●	●
Wettbewerber B	●	●	●
Wettbewerber C	▲	●	●
Wettbewerber D	●	●	●
Eppendorf Plate Deepwell 96/1000 µl	●	●	●
Wettbewerber A	▲	●	●
Wettbewerber B	●	●	●
Wettbewerber D	▲	▲	▲

Der Einfluss von Lösungsmitteln

Zentrifugationsschritte in Gegenwart von Lösungsmitteln sind integraler Bestandteil vieler Methoden. Für die Nukleinsäurefällung beispielsweise müssen Deepwell-Platten in Gegenwart von 70 %-igem Ethanol bei 4 °C und 6.000 x g zentrifugierbar sein, ohne dass Wells platzen oder Risse auftreten. Lösungsmittel können aber die Zentrifugationsstabilität von Gefäßen und Platten aus Polypropylen verringern. Um die Haltbarkeit der Eppendorf Plate Deepwell in Gegenwart von häufig benutzten Lösungsmitteln zu testen, wurden alle Platten-Formate mit 70 % Ethanol bzw. 100 % DMSO befüllt und bei 4 °C, 90 Minuten in der Zentrifuge Sigma 4K15C/Rotor 09100 bei 6.185 x g zentrifugiert. Unter den gewählten Bedingungen erwiesen sich alle Eppendorf Plate Deepwell als haltbar: es wurden keine geplatzen Wells oder Risse beobachtet. Die Platten des Wettbewerbers D hingegen hielten der Beanspruchung nicht stand (**Abb. 2**). **Tab. 4** zeigt einen Vergleich der Eppendorf Plate Deepwell mit verschiedenen Wettbewerber-Platten bezüglich ihrer Haltbarkeit.



Abbildung 2: Zersplitterte Wettbewerber-Platte nach Zentrifugation mit 70 %-igem Ethanol (4 °C, 90 Minuten) bei 6.189 x g in Zentrifuge Sigma 4K15C Rotor 09100.

Eppendorf Plate Deepwell LoBind und Steril

Die Protein LoBind und DNA LoBind Platten verhielten sich in ihrer Haltbarkeit genauso wie die Eppendorf Plate Standard Quality und sind bis 6.000 x g zentrifugierbar (Daten nicht gezeigt). Anders dagegen fielen die Tests bei den sterilen Platten aus, die sich bis 5.000 x g (40 °C, 90 Minuten) als zentrifugationsstabil erwiesen (Sigma 4K15C/Rotor 09100) (Daten nicht gezeigt). Eppendorf Plate Deepwell werden durch Bestrahlung sterilisiert. Das Material weist dadurch eine größere Sprödigkeit auf als das Standard Material. Die Zentrifugationsfestigkeit ist daher etwas geringer.

Maximale Zentrifugierbarkeit der Eppendorf Plate Deepwell	
Standard	6.000 x g
Protein LoBind	6.000 x g
DNA LoBind	6.000 x g
Steril	5.000 x g

Tabelle 4: Ergebnisse der Zentrifugation einer 70 %-igen Ethanol-Lösung bei 4 °C für 90 Minuten in der Zentrifuge Sigma 4K15C/Rotor 09100. Getestet wurden Eppendorf Plate Deepwell 96/2000 µl und 96/1000 µl und entsprechende Deepwell-Platten anderer Anbieter.

- = Platten haltbar (keine geplatzen Wells oder Risse)
- ▲ = Platten gerissen oder Wells geplatzt

Sigma 4K15 Rotor 09100 6.189 x g, 4 °C, 90 Minuten, 70 % Ethanol	Haltbarkeit
Eppendorf Plate Deepwell 96/2000 µl	●
Wettbewerber A	●
Wettbewerber B	●
Wettbewerber C	●
Wettbewerber D	▲
Eppendorf Plate Deepwell 96/1000 µl	●
Wettbewerber A	●
Wettbewerber B	●
Wettbewerber D	▲

Bestellinformationen**Eppendorf Plate Deepwell 384/200 µl***

Bezeichnung	Qualität	Farbe**	Verpackung	Bestell-Nr.
Normalpackung	Standard	rot	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 521.129
	Steril	rot	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 522.125
	DNA LoBind (auch für RNA & andere Nukleinsäuren)	rot	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 523.121
	Protein LoBind	rot	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 524.128
Großpackung	Standard	rot	120 Platten (10 Beutel à 12)	0030 525.124
	Steril	rot	120 Platten (10 Beutel à 12)	0030 526.120
	DNA LoBind (auch für RNA & andere Nukleinsäuren)	rot	120 Platten (10 Beutel à 12)	0030 527.127
	Protein LoBind	rot	120 Platten (10 Beutel à 12)	0030 528.123

Eppendorf Plate Deepwell 96/500 µl*

Bezeichnung	Qualität	Farbe**	Verpackung	Bestell-Nr.
Normalpackung	Standard	rot	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 501.128
	Steril	rot	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 502.124
	DNA LoBind (auch für RNA & andere Nukleinsäuren)	rot	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 503.120
	Protein LoBind	rot	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 504.127
Großpackung	Standard	rot	120 Platten (10 Beutel à 12)	0030 505.123
	Steril	rot	120 Platten (10 Beutel à 12)	0030 506.120
	DNA LoBind (auch für RNA & andere Nukleinsäuren)	rot	120 Platten (10 Beutel à 12)	0030 507.126
	Protein LoBind	rot	120 Platten (10 Beutel à 12)	0030 508.122

*Alle Deepwell-Platten sind auf Anfrage mit Barcode erhältlich.

**In fünf Farbcodes erhältlich (weiß, gelb, rot, grün, blau).

Bestellinformationen**Eppendorf Plate Deepwell 96/1000 µl***

Bezeichnung	Qualität	Farbe**	Verpackung	Bestell-Nr.
Normalpackung	Standard	rot	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 501.225
	Steril	rot	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 502.221
	DNA LoBind (auch für RNA & andere Nukleinsäuren)	rot	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 503.228
	Protein LoBind	rot	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 504.224
Großpackung	Standard	rot	80 Platten (10 Beutel à 8)	0030 505.220
	Steril	rot	80 Platten (10 Beutel à 8)	0030 506.227
	DNA LoBind (auch für RNA & andere Nukleinsäuren)	rot	80 Platten (10 Beutel à 8)	0030 507.223
	Protein LoBind	rot	80 Platten (10 Beutel à 8)	0030 508.220

Eppendorf Plate Deepwell 96/2000 µl*

Bezeichnung	Qualität	Farbe**	Verpackung	Bestell-Nr.
Normalpackung	Standard	rot	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 501.322
	Steril	rot	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 502.329
Großpackung	Standard	rot	80 Platten (10 Beutel à 8)	0030 505.328
	Steril	rot	80 Platten (10 Beutel à 8)	0030 506.324

*Alle Deepwell-Platten sind auf Anfrage mit Barcode erhältlich.

**In fünf Farbcodes erhältlich (weiß, gelb, rot, grün, blau).

Trademarks: Multifuge® und Highplate® sind eingetragene Marken der Kendro Laboratory Products GmbH



Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH · Tel. +49 2232 418-0 · Fax +49 2232 418-155 · E-Mail: vertrieb@eppendorf.de · Internet: www.eppendorf.de

Vaudaux-Eppendorf AG · Tel. +41 61 482 1414 · Fax +41 61 482 1419 · E-Mail: vaudaux@vaudaux.ch · Internet: www.eppendorf.com

Eppendorf AG c/o Schott Austria · Tel. +43 1 29017560 · Fax +43 1 290175620 · E-Mail: gilch.p@eppendorf.de · Internet: www.eppendorf.com

Application Support

Tel. +49 1803 666 789 · E-Mail: support@eppendorf.com