

## Fit für die Zellkultur: Erweitern Sie Ihr Know-how

- > Datendigitalisierung für effizientere Forschung
- > Weniger Arbeitsschritte durch smarte Probenseparation
- > Nachhaltig: Pipetten mit ACT® Label

### Application Notes

Standardisiertes Auftauen von Stammzellen mit Hilfe des Eppendorf ThermoMixer® C · Herstellung rekombinanter humaner Phosphoserinphosphatase · etc.





# Herzlich willkommen

zur neusten Ausgabe der Eppendorf BioNews mit einem bunten Mix an Beiträgen zu Produkten und Anwendungen.

In unserem Leitartikel auf Seite 4–5 erfahren Sie, wie Sie mit Eppendorf Ihr Zellkultur-Know-how erweitern können. Verschiedene Weiterbildungsformate richten sich gleichermaßen an Anfänger und Fortgeschrittene. Ob Live-Schulungswebinare, White Papers, Videotutorials oder Online-Artikel – tauchen Sie ein in unseren stetig wachsenden Pool an Expertenwissen! Am besten, Sie abonnieren gleich unseren „Inside Cell Culture Newsletter“, mit dem wir Sie monatlich über wertvolle Inhalte informieren.

Weiterbildung liegt uns generell sehr am Herzen. Im Eppendorf Lab Channel bieten wir Ihnen Live- und On-Demand-Webinare sowie Demonstrationen von Produkten und Applikationen zu vielfältigen Themen. Die Anmeldung ist kostenlos und unkompliziert (S. 13).

Die Probenseparation ist eine der häufigsten und zeitaufwändigsten Anwendungen im Labor. Unsere Zentrifuge CR30NX, eine Hochgeschwindigkeitszentrifuge, kann in Verbindung mit innovativen Gefäßen wie der dreieckigen 1,5-Liter-Zentrifugenflasche die Probenverarbeitungszeit um bis zu 32% reduzieren. Mehr dazu auf Seite 8 und in der Application Note 1–2.

Die Dokumentation von Experimenten und Prozessen ist entscheidend für reproduzierbare Ergebnisse und damit auch für die Effizienz und den Erfolg Ihres Labors. Auf den Seiten 6 und 7 erhalten Sie Tipps und weiterführende Links zum Thema Datendigitalisierung und smarte Probenidentifizierung.

Da Nachhaltigkeit eines unserer Kernthemen ist, freuen wir uns besonders, dass – als erste Laborpipetten überhaupt – die Eppendorf Research® plus Einkanalpipetten mit variablem Volumen von der Non-Profit-Organisation „My Green Lab®“ mit dem „ACT®“ Environmental Impact Factor Label zertifiziert wurden (S. 9).

Last but not least lockt wieder unser beliebtes Preisrätsel. Der Hauptgewinn ist eine elektronische Eppendorf Xplorer® plus 8-Kanal-Pipette. Viel Spaß beim Rätseln!

Ihr Eppendorf BioNews-Team

## Impressum

### Herausgeber

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

### Redaktionsteam

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

### Gestaltung

Holger Paulsen Grafik-Design, Hamburg

### Druck

MOD Offsetdruck GmbH, Dassow

### Bildnachweis

Alle Bilder Eppendorf SE. Ausnahme:  
S. 14, Neil Grant für MRC Laboratory of  
Molecular Biology, Cambridge, Groß-  
britannien

### Kontakt

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

### Vertrieb Schweiz

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

### Vertrieb Österreich

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

### Hinweise

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 fast ausschließlich eine Form genutzt, die alle Geschlechter einbezieht.

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

© Copyright Eppendorf SE, Juli 2022.  
Klimaneutral gedruckt in Deutschland.



<b>IM BLICKPUNKT</b>
<b>LABORPRAXIS</b>
<b>INNOVATION</b>
<b>NAHAUFNAHME</b>
<b>NEWS/TIPPS</b>
<b>SERVICE</b>

Fit für die Zellkultur: Erweitern Sie Ihr Know-how	4–5
Wie Digitalisierung Ihre Forschungsarbeit effizienter macht	6
Identifizieren Sie Ihre Proben: Eppendorf SafeCode-System	7
Erhöhen Sie die Reproduzierbarkeit Ihres Zellkultur-Bioprozesses	10–11
Weniger Arbeitsschritte durch smarte Probenseparation	8
Smartes Kabelmanagement	11
Inside Cell Culture Newsletter	5
Nachhaltig: Pipetten mit ACT® Label	9
Schon einmal elektronisch pipettiert?	9
Stem Cell Community Day 2021: hybrid und anders – ein Rückblick	12
Ihr Online-Weg zu mehr Expertenwissen	13
Wieder live dabei	13
Thi Hoang Duong Nguyen erhält Eppendorf Award 2022	14
Markenhinweise	14
Preisrätsel: Elektronische Pipette zu gewinnen	15

## Eppendorf BioNews Application Notes

	<p><b>NATASCHA WEISS, VINCENT DUFÉY, SILVIA TEJERINA VARGAS, AURÉLIE TACHENY</b></p> <p><b>Herstellung rekombinanter humaner Phosphoserinphosphatase mit dem Innova® S44i-Schüttler und dem Zentrifugen Harvesting Bundle</b></p> <p style="text-align: right;">1–2</p>
	<p><b>RAFAL GRZESKOWIAK, SANDRINE HAMELS, BLANDINE VANBELLINGHEN</b></p> <p><b>Schnelles und sicheres Probenhandling mit Eppendorf Conical Tubes SnapTec® 50</b></p> <p style="text-align: right;">3–4</p>
	<p><b>TACHENY A, VARGAS S, HOET J-F, VANBELLINGHEN B, HARTMANN I</b></p> <p><b>Standardisiertes Auftauen von Stammzellen mit Hilfe des Eppendorf ThermoMixer® C</b></p> <p style="text-align: right;">5–6</p>
	<p><b>JORGE L. ESCOBAR IVIRICO UND MA SHA</b></p> <p><b>Produktion von Stammzell-Exosomen mit Hilfe des SciVario® twin Bioreaktor-Steuerungssystems</b></p> <p style="text-align: right;">7–8</p>



CHRISTIAN HABERLANDT & JESSICA WAGENER, EPPENDORF SE

# Fit für die Zellkultur: Erweitern Sie Ihr Know-how

Zuverlässige, leistungsfähige Geräte tragen massiv zum Erfolg eines modernen Labors bei. Für nutzbare und reproduzierbare Versuchsergebnisse reicht es jedoch nicht aus, die richtigen Werkzeuge zu besitzen. Ein Werkzeug kann immer nur so gut sein wie die Fähigkeiten seines Anwenders! Als erfahrener Hersteller bietet Eppendorf daher Anfängern und Fortgeschrittenen in der Zellkultur einen kontinuierlich wachsenden Pool an Expertenwissen. In diversen Formaten und gemeinsam mit starken Partnern im Bereich Zellkultur wie Promega®.



## Die Basics müssen sitzen

Das nötige Wissen und die erforderlichen handwerklichen Fertigkeiten werden besonders in dem Bereich Zellkultur oft von erfahrenen Kolleginnen und Kollegen an Anfänger weitergegeben. Dieser Prozess ist ein wichtiger und seit langem bewährter Weg des Wissenstransfers, um neue aufstrebende Wissenschaftler im Labor schnell einzuarbeiten. Schließlich sollen experimentelle Daten zügig und möglichst selbständig generiert oder neue Methoden etabliert werden. Nach einer Weile kehrt – oder besser: schleicht sich – Routine im Labor ein und damit verbunden gern eine gewisse Nachlässigkeit beim Handling von Zellen. Schnell dreht

sich alles nur noch um die Generierung von Daten, und die Interpretation experimenteller Ergebnisse wird zum Kern der Arbeit.



## „Das haben wir schon immer so gemacht“

Im Gegensatz dazu tritt die Verbesserung von Techniken, besonders um Kontaminationen zu vermeiden oder die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen zu erhöhen, zunehmend in den Hintergrund. Schnell hört sich manch einer beim Einarbeiten von Labor-Neulingen selbst sagen: „Das haben wir schon immer so gemacht.“ Publikationen der letzten Jahre machen jedoch deutlich, dass es insbesondere hinsichtlich der unzureichenden Reproduzierbarkeit experimenteller Daten dringenden Handlungsbedarf gibt. Hier hilft es, für einen Moment innezuhalten und vermeintlich Bewährtes zu hinterfragen,

um Prozesse zu verbessern. Genau hier setzen die in diesem Artikel vorgestellten Formate für Anfänger und Experten in der Zellkultur an.

### Schulungswebinare mit live Q&A-Runde

Eppendorf veranstaltet regelmäßig Schulungs- und Troubleshooting-Webinare – live und mit Teilnehmenden aus aller Welt. Darunter finden sich Webinare mit Zellkulturthemen, z. B. zur Vermeidung von Kontaminationen, zur Erhöhung der Reproduzierbarkeit zellbasierter Assays (in Kooperation mit Promega) oder zum korrekten Einsatz verschiedener Pipettier-techniken und -geräte. Ins Webinar eingebunden sind anonyme Teilnehmerumfragen zu bestimmten Themen. Die Umfrageergebnisse ermöglichen den Teilnehmern einen guten Blick auf die Position des eigenen Labors. Am Ende jedes Webinars stehen unsere Zellkulturexpertinnen und -experten live für die Beantwortung von Fragen zur Verfügung. Unser monatlicher Newsletter „Inside Cell Culture“ (s. Box rechts) hält Sie über alle Zellkultur-Events auf dem Laufenden.

Mehr zu Webinaren unter  
<https://eppendorf.group/utrwhz>



### White Papers zu Zellkulturthemen

Eine Reihe von White Papers in englischer Sprache beleuchtet diverse Zellkulturthemen, liefert Tipps für die tägliche Arbeit oder kann als Ratgeber für den Kauf von Laborgeräten dienen. Hier eine kleine Auswahl inkl. Downloadlinks:

- > Cell Thawing Protocol Standardization – Guide for More Reproducible Cryopreservation Results  
<https://eppendorf.group/25cz08>
- > CAR T-Cell Research – Current Clinical Challenges & Outlook  
<https://eppendorf.group/w4ritk>
- > CO<sub>2</sub> Incubators – Making the Best Choice for Your Lab  
<https://eppendorf.group/iwfxsr>
- > CO<sub>2</sub> Incubator Maintenance – Guide for Set-up and Care  
<https://eppendorf.group/t9kdif>

> CO<sub>2</sub> Incubators with Segmented Doors: Benefits and Buying Considerations  
<https://eppendorf.group/s62cfg>

> CO<sub>2</sub> Incubator with Copper Interior: How Effective is Copper-Enriched Stainless Steel, and for Which Internal Parts May Copper Be Recommended?  
<https://eppendorf.group/yxkdla>

### Videoserie „Do’s/Don’ts“ in der Zellkultur

Das Arbeiten in der Zellkultur erfordert nicht nur das nötige Wissen, sondern auch handwerkliche Fähigkeiten. Diese basieren auf komplexen Handlungsabläufen, die nur schwer in Form von Texten und statischen Bildern vermittelbar sind – oft sagt ein Video mehr als tausend Worte!



Ein Video sagt mehr als tausend Worte

Unsere YouTube™ Videos finden Sie auf  
<https://eppendorf.group/x9xnrs>



### Online-Artikel zur Zellkultur

Wissen Sie, wie das Aussäen von Zellen durch Luftblasen, die Pipettier-technik oder die Zelldichte beeinflusst wird? Warum werden Fibroblasten häufig in der Zellkultur eingesetzt? Enthält der menschliche Körper wirklich mehr Bakterien als körpereigene Zellen? Und was ist zu tun, wenn man eine Kontamination im Labor hat? Zu diesen und vielen anderen Fragen rund um die Zellkultur erscheinen auf der Webseite von Eppendorf regelmäßig neue Artikel.

Entdecken Sie unsere Online-Artikelserie unter  
[www.eppendorf.com/cell-culture-articles](http://www.eppendorf.com/cell-culture-articles)

## Tipp

# Inside Cell Culture Newsletter

Sie arbeiten in der Zellkultur und wollen kein Schulungswebinar, kein interessantes White Paper und keine Zellkultur-Produktneuheit von Eppendorf mehr verpassen?

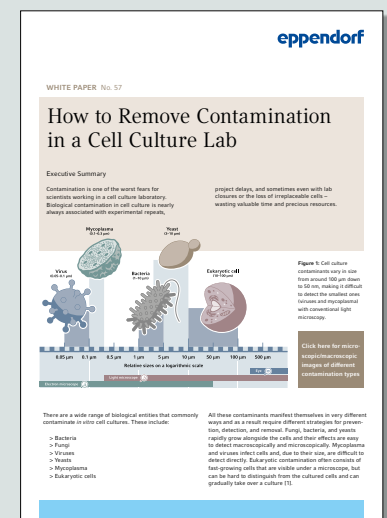
### Jeden Monat neu: Inside Cell Culture

Mit unserem monatlichen Inside Cell Culture Newsletter erhalten Sie von uns Wissenswertes rund um die Themen Kontaminationsprävention, Zellkultur-techniken und Troubleshooting sowie:

- > Tipps und Tricks, um die tägliche Arbeit zu erleichtern
- > Videos, Downloads, Poster und mehr
- > Materialien für Schulungen
- > Infos zu kommenden Events und Trainings

### Jetzt gratis abonnieren

Als Dankeschön erhalten Sie unser White Paper zum Thema „How to Remove Contamination in a Cell Culture Lab“. Erweitern Sie damit Ihren persönlichen Erste-Hilfe-Kasten für die Zellkultur!



Jetzt Newsletter abonnieren unter  
[www.eppendorf.com/icc](http://www.eppendorf.com/icc)

ANN-CLAIRE FOETSCH, EPPENDORF SE

# Wie Datendigitalisierung Ihre Forschungsarbeit effizienter macht

Wer im Labor ist nicht dauernd mit der zeitaufwändigen Dokumentation von Laborverfahren konfrontiert? Der Umgang mit handgeschriebenen Protokollen, die lose in einem Laborbuch aufbewahrt werden, gefährdet die Reproduzierbarkeit. Die vollständige Rückverfolgbarkeit der durchgeführten Protokolle sowie eine lückenlose Dokumentation der Laborabläufe sind für eine effiziente und produktive Laborumgebung von entscheidender Bedeutung.

Es gibt kaum Dinge, die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler mehr frustrieren, als ein scheinbar perfektes Experiment durchzuführen und dann zu erleben, dass Kollegen oder andere Forschungsgruppen keine ähnlichen Ergebnisse erzielen.

Die Frage der Reproduzierbarkeit von Daten hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Angesichts der Besorgnis über eine mögliche „Reproduzierbarkeitskrise“ [1] und deren Auswirkungen auf die Qualität und Integrität von Forschungsergebnissen wurden seitens der Forschung sowie der Industrie konzertierte Anstrengungen unternommen, um diese Herausforderungen gemeinsam anzugehen und Wege zur Verbesserung der Reproduzierbarkeit zu finden.

## Wiederholbarkeit vs. Reproduzierbarkeit

Während die Wiederholbarkeit von Daten die Fähigkeit ist, in einem Experiment jedes Mal die gleichen Ergebnisse zu erzielen (natürlich innerhalb der Grenzen eines angemessenen Standardfehlers), bezieht sich die Reproduzierbarkeit der Daten darauf, ob andere Wissenschaftler, die möglicherweise auf der anderen Seite des Erdballs arbeiten, das Experiment wiederholen und ähnliche Ergebnisse erzielen können [2].

## Datendigitalisierung im papierlosen Labor

Schon heute speichern mehr und mehr Wissenschaftler ihre experimentellen Daten in einem elektronischen Labornotizbuch (ELN) oder Labor-Informationsmanagement-System (LIMS) statt in einem klassischen papierbasierten Laborbuch. Die Umstellung auf das digitale Format allein löst jedoch die „Reproduzierbarkeitskrise“ nicht. Denn Versuchsplanung und Datenverwaltung sind wichtige Bestandteile einer guten wissenschaftlichen Arbeit. Hierzu gehört auch der Umgang mit Daten und wie wir dokumentieren. Es geht um die Frage, ob die vollständige Digitalisierung von Experimenten dazu beitragen kann, Probleme bei der Reproduzierbarkeit nachhaltig zu lösen. Interne Studien haben gezeigt, dass ein strukturierter, übersichtlicher und geführter Datenansatz dazu beitragen kann, die Nachvollziehbarkeit von Protokollen zu erhöhen und es Wissenschaftlern zu ermöglichen,

Prozesse zu optimieren. Wir bei Eppendorf möchten gerne weitere Erkenntnisse teilen und neue Konzepte zur Datendigitalisierung gemeinsam mit Wissenschaftlern gestalten.

Sind Sie interessiert, an dieser Vision mitzuarbeiten? Dann kontaktieren Sie uns unter [visionize.news@eppendorf.com](mailto:visionize.news@eppendorf.com)

Hier erfahren Sie mehr:

- > [www.eppendorf.com/experiment-management](http://www.eppendorf.com/experiment-management)
- > Webinar „Research Documentation in the Digital Age“ im Eppendorf Lab Channel (s. auch Seite 13)  
<https://event.eppendorf.com/labchannel/pastevents>
- > Tutorial Video „Digitalize your protocols and workflows“  
<https://eppendorf.group/ch4swf>



Unser Tutorial Video „Digitalize your protocols and workflows“ zeigt Ihnen Schritt für Schritt, wie Sie Ihre Protokolle und Workflows digitalisieren

## Literatur

- [1] Nature – <https://www.nature.com/articles/533452a>  
 [2] CURE – <https://cure.web.unc.edu/defining-reproducibility/>

JAN-HENDRIK BEBERMEIER, EPPENDORF SE

# Identifizieren Sie Ihre Proben: Eppendorf SafeCode-System

Die Dokumentation von Experimenten und Prozessen wird immer wichtiger. Sie ist ein entscheidender Faktor für zuverlässige Ergebnisse und somit den Erfolg Ihres Labors. Für eine zweifelsfreie Probenidentifizierung und Prozessverfolgung müssen Proben vor allem eindeutig beschriftet sein. Hierüber herrscht in allen Labors völlige Einigkeit, aber in der Realität trifft man immer wieder auf Gefäße mit sehr unterschiedlicher Kennzeichnungsqualität. Ein klarer Fall für das SafeCode-System!

Erinnern Sie sich noch an das letzte Mal, als Sie 20 verschiedene Röhrchen manuell beschriftet haben? Die ersten Gefäße sahen noch ganz gelungen aus, aber irgendwann ließ das Zusammenspiel Ihrer Handschrift, des Stifts und der glatten Oberfläche des Röhrchens deutlich nach. Sie konnten Ihr Kunstwerk zwar noch lesen, aber eben auch nur Sie.

Der „Nerd“ im Nachbarlabor hingegen druckte alle Etiketten auf Papier, schnitt sie mit einer Schere aus und klebte sie mit durchsichtigem Klebeband auf die Gefäße. Das sah perfekt aus, dauerte aber ewig.

## Geht das nicht anders – und besser?

Eine verlässliche Beschriftung Ihrer hochwertigen Proben ist entscheidend für eine sichere Identifizierung und letztlich für zuverlässige Ergebnisse. Unleserliche Proben sind ein Problem der Vergangenheit. Barcodes ermöglichen eine schnelle und eindeutige Probenidentifizierung.



Einlesen des Datamatrix-Code mittels Barcode-Scanner

Eppendorf bietet Ihnen voretikettierte Standard-Verbrauchsmaterialien für den sofortigen Einsatz: Ihre Proben werden digital.

## Das SafeCode-System

Das SafeCode-System für Eppendorf-Verbrauchsmaterialien basiert auf einer mehrstufigen Codierung zur sicheren Probenidentifizierung. Der vordefinierte 2D-Datamatrix-Code wird durch eine uncodierte Version derselben Informationen ergänzt.

Mit einem Barcode-Scanner wird der Datamatrix-Code gelesen, die zugehörige ID übertragen und schließlich in Ihrem digitalen Laborbuch, z. B. in der eLabNext-Software, gespeichert. Alle gespeicherten Daten werden mit der Proben-ID und Ihrer Probenbeschreibung kombiniert. SafeCode ist für eine Reihe von Kryolagerungsgefäßen sowie für Röhrchen mit 5 mL, 15 mL und 50 mL erhältlich.



SafeCode-Gefäßfamilie

## Und die Dokumentation?

Für Zertifizierungs- und Dokumentationszwecke müssen immer mehr Anwender alle Informationen speichern. Für Röhrchen mit SafeCode stellen wir in einem „DataPort“ online die Informationen zur Verfügung, die für Ihre Prozessdokumentation relevant sind. Anhand des individuellen Codes des Röhrchens können Sie hier

- > die Chargennummer
- > die Bestellnummer
- > Zertifikate
- > Zeichnungen

abrufen. Diese Informationen können manuell in lokale Datenbanken exportiert oder automatisch in die Probenverwaltungssoftware, z.B. Eppendorf eLabNext, übertragen werden.

Mehr zum SafeCode-System unter <https://eppendorf.group/qji64c>



Mehr zu eLabNext unter <https://www.elabnext.com/eppendorf>





MARC-MANUEL HAHN, EPPENDORF SE

# Weniger Arbeitsschritte durch smarte Probenseparation

Die Probenseparation ist eine der häufigsten und zeitaufwändigsten Anwendungen im Labor. Die Handhabung der Proben verschlingt viel Zeit mit Arbeitsschritten wie dem Befüllen, Ausbalancieren, Entfernen und Reinigen von Zentrifugengefäßen. Intelligente, skalierbare Lösungen können Ihnen helfen, repetitive Arbeitsschritte zu minimieren und Zeit einzusparen – bei höchster Sicherheit und Zuverlässigkeit für den Anwender.

## Zellernte: eine besondere Herausforderung

Wenn Sie mit Säugetier- oder Bakterienkulturen arbeiten, kennen Sie die Herausforderungen beim Abernten großer Chargenvolumina, um z.B. Plasmide oder rekombinante Proteine zu isolieren. Hierbei kann – je nach Experiment – das Volumen von einigen Millilitern bis zu mehreren Litern Kultur stark variieren.

## Intelligentes Design, weniger Arbeitsschritte

Mit den neuen Hochgeschwindigkeitsmodellen Centrifuge CR22N und Centrifuge CR30NX hat Eppendorf eine 1,5-Liter-Flasche eingeführt. Ihr smartes dreieckiges Design ermöglicht ein effizientes Pelletieren, ohne dass dabei ein minimales Füllvolumen eingehalten werden muss, wie es bei herkömmlichen Zentrifugenflaschen der Fall ist. Darüber hinaus trägt das maximale Füllvolumen von 1,5 L dazu bei, die Anzahl der Arbeitsschritte vor allem bei größeren Chargen zu reduzieren. Dadurch können bis zu 32 % Zeit für die Probenverarbeitung eingespart werden.



Ein Beispiel für smartes Design: die 1,5-L-Flasche

Bei noch größeren Volumina können statt Flaschen Durchflussrotoren verwendet werden.

Für die weitere Aufbereitung der isolierten Probe, z.B. Nukleinsäuren, Proteine, Proteinkomplexe, Vesikel und Viren, werden häufig Ultrazentrifugen eingesetzt. Um Anwender auch in der Ultrazentrifugation zu unterstützen, haben wir kürzlich unser Zentrifugenportfolio erweitert und bieten jetzt auch Zentrifugationslösungen für ein noch breiteres Anwendungsspektrum mit Geschwindigkeiten bis zu 150.000 rpm (1.050.000 x g) an. Diese Zentrifugen bieten höchste Qualität mit optimaler Leistung und überzeugendem Bedienkomfort. Die intuitive Bedienung, die hohe Toleranz für Unwucht und das innovative Rotor Life Management erlauben auch weniger erfahrenen Anwendern den schnellen, sicheren Umgang mit den Geräten.

## Eine ganzheitliche Lösung

Natürlich wird Ihr Arbeitsalltag nicht nur durch die Auftrennung der Proben bestimmt. Auch vorgelagerte Arbeitsschritte, z.B. die Zellanzucht in Schüttlern, Inkubatoren und/oder Fermentern, sind immens wichtig. Die Wahl der richtigen Ausrüstung kann in jedem Fall die tägliche Routine deutlich erleichtern. Die Application Note auf den nächsten Seiten zeigt Ihnen unsere ganzheitliche Lösung anhand eines Beispiels von der bakteriellen Zellkultur bis hin zum funktionalen Protein.

Mehr Informationen auf <https://eppendorf.group/s0mj2j>

oder in unserem White Paper „Unique 4 x 1.5 L Capacity Rotor for High-Speed Centrifuges CR22N and CR30NX“

Gratis Download unter <https://eppendorf.group/2qs98e>





# Herstellung rekombinanter humaner Phosphoserinphosphatase mit dem Innova® S44i-Schüttler und dem Zentrifugen Harvesting Bundle 4x1.5 L

NATASCHA WEISS, EPPENDORF SE, HAMBURG

VINCENT DUFEY, SILVIA TEJERINA VARGAS, AURÉLIE TACHENY, EPPENDORF APPLICATION TECHNOLOGIES, S.A., NAMUR, BELGIEN

## Einleitung

Die Herstellung rekombinanter Proteine durch gentechnisch veränderte Organismen ist eine grundlegende biotechnologische Technik. Ziel ist es, eine hohe Ausbeute an funktionalem Protein zu erzielen, wozu Zellen in großem Maßstab – bei gutem Zellwachstum und hervorragender Proteinexpression – kultiviert werden müssen. Dafür wird ein robuster Schüttler benötigt, in dem Kulturen mit hoher Umdrehungszahl im Litermaßstab geschüttelt werden können. Zur Ernte der Zellen, zur Klärung des Zelllysats und (falls erforderlich) zur Konzentration der Proteinlösung wird die Zentrifugation eingesetzt. Die Ernte einer Kultur von mehreren Litern ist zeitaufwändig, da für jedes einzelne Gefäß zahlreiche manuelle Schritte erforderlich sind [1]. Für nachfolgende Zentrifugationsschritte ist zusätzliche Ausstattung notwendig.

In dieser Application Note werden die Produktion eines rekombinanten Proteins anhand eines Arbeitsablaufs für die Kultivierung und Ernte von Bakterien sowie die Aufreinigung der Proteine dargestellt. Dabei soll demonstriert werden, dass eine hohe Ausbeute an funktionellem Protein durch den Einsatz des Innova S44i und einer Hochgeschwindigkeitszentrifuge (als Systemlösung mit Harvesting Bundle und High-Speed Pelleting Kit) erzielt werden kann.

## Material und Methoden

### Material

**Expressionssystem:** *E. coli* BL21 (DE3) transformiert mit dem Plasmid pET28a (mit dem Gen, was für das His-Tag Protein der humanen Phosphoserinphosphatase [hPSP] kodiert).

**Kultursystem:** Innova S44i

**Zentrifugationssystem:** Harvesting Bundle (Centrifuge CR30NX inkl. 6-L-Rotor R9A2 und 4 x 1,5-L-Dreiecksflaschen) und High-Speed Pelleting Kit (Rotor R19A2 mit konischen 50-mL-Gefäßen). Alternativ kann auch die Zentrifuge CR22N verwendet werden.

### Methoden

**Bakterienvermehrung und Induktion:** Zu 50 mL Medium in einer 250-mL-Flasche wurden 50 µL *E. coli* (mit pET28a) in Glycerin hinzugefügt. Die Kultur wurde über Nacht im Innova S44i (300 rpm, 37°C) bis zu einer OD<sub>600</sub> von 15–25 inkubiert. Jeweils 5 mL der Starterkultur wurden in drei 2,5-L-Flaschen gegeben, die mit 1 L Medium befüllt waren. Sie wurden im S44i (250 rpm, 37°C) bis zu einer OD<sub>600</sub> von ca. 2 (~4–5 h) inkubiert. Nach Zugabe von 10 mL IPTG wurde die Inkubation für 3 h fortgesetzt. Anschließend wurde die Suspension in zwei 1,5-L-Dreiecksflaschen überführt und in der Centrifuge CR30NX mit dem Rotor R9A2 (4.000 rpm, 30 min, 4°C)

zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen.

**Lyse:** Pro Gramm Bakterienpellet wurden 20 mL Lysepuffer zugegeben und resuspendiert. Nach 30 min Rühren wurde die Suspension mit Ultraschall behandelt. Das Lysat wurde in 50-mL-konischen Gefäßen durch Zentrifugation (Rotor R19A2, 12.500 rpm, 1 h, 4°C) geklärt. Der Überstand wurde entnommen und durch einen 0,2-µm-Filter filtriert.

**Aufreinigung durch Affinitätschromatographie:** Das geklärte Lysat (400 mL) wurde auf eine gewaschene und äquilibrierte HisTrap™ FF-Säule aufgetragen. Nach dem Waschen wurde Elutionspuffer mit 20 % Imidazol verwendet, um die ersten 10 Fraktionen zu gewinnen. Weitere 10 Fraktionen wurden unter Verwendung von Elutionspuffer mit 100 % Imidazol erhalten.

**Analyse:** Die Menge an Gesamtprotein wurde für alle Proteinfraktionen über die Absorption bei 280 nm bestimmt. Proben wurden mittels SDS-PAGE aufgetrennt und mit Coomassie®-Blau angefärbt. Zusätzlich wurde die Enzymaktivität mit einem Malachitgrün-Phosphat-Assay gemessen.

## Ergebnisse und Diskussion

Zur Entfernung von Verunreinigungen wurde der Elutionspuffer mit 20 % Imidazol eingesetzt. Die Elution mit 100 % Imidazol Puffer wurde verwendet, um das gereinigte Protein zu gewinnen. Die relevanten Fraktionen wurden über eine Absorptionsmessung bei 280 nm bestimmt.

Die Ergebnisse der Absorptionsmessung zeigen, dass durch den Puffer mit 100 % Imidazol ein großer Anteil an Proteinen gelöst wird mit dem höchsten Anteil in Fraktion 12 (Abb. 1).

Durch die Auftrennung mittels SDS-PAGE sollte bestimmt werden, ob und in welcher Menge das Zielprotein hPSP in den Fraktionen vorkommt. Die Funktionalität wurde über die Bestimmung der Enzymaktivität mit dem Malachitgrün-Phosphat-Assay überprüft.

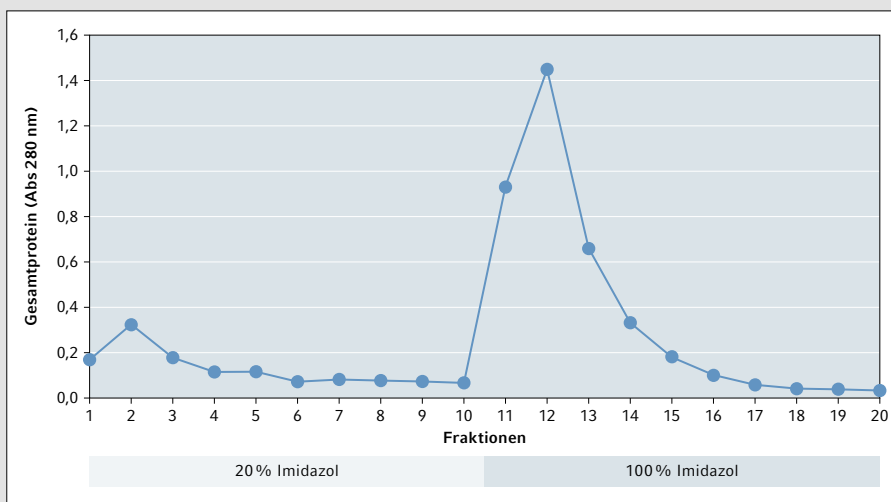


Abb. 1: Absorption der eluierten Fraktionen bei 280 nm

## Herstellung rekombinanter humaner Phosphoserinphosphatase mit dem Innova® S44i-Schüttler und dem Zentrifugen Harvesting Bundle 4x1.5 L

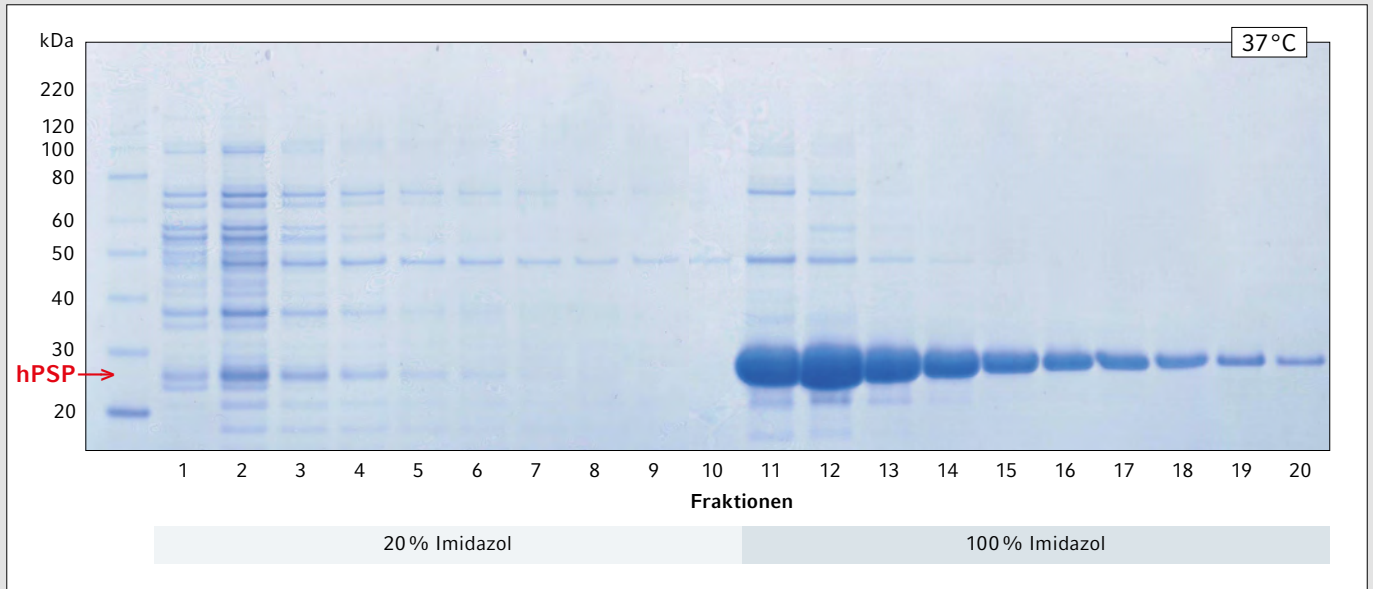


Abb. 2: Elutionsprofil aller Proteine im mit Coomassie-Blau gefärbten SDS-Page

Das mit Coomassie-Blau gefärbte SDS-Gel bestätigt, dass eine große Menge Protein ab Fraktion 11 herausgelöst wurde (Abb. 2).

Die Position der größten Bande weist darauf hin, dass es sich um das Zielprotein hPSP handelt, welches eine Größe von 25 kDa aufweist.

Das Ergebnis des Assays zeigt, dass eine große Menge an funktionellem Protein herausgelöst wurde, mit einem Maximum in Fraktion 12. Das korreliert mit dem Ergebnis der Absorptionsmessung (Abb. 3).

Die Ergebnisse belegen, dass der Innova S44i und die Zentrifuge CR30NX mit dem entsprechenden Zubehör erfolgreich für die Produktion und Aufreinigung eines rekombinanten Proteins eingesetzt werden können. Neben einer hohen Ausbeute und der nachgewiesenen Funktionalität des Produkts konnten die Prozessschritte effizient durchgeführt werden.

Der S44i ermöglicht durch sein robustes Design und seine hohe Gefäßkapazität die Kultivierung von Mikroorganismen bei hohen Geschwindigkeiten und schwerer Beladung [2]. Das Harvesting Bundle der Hochgeschwindigkeitszentrifuge, bestehend aus dem 4x1,5 L Rotor und den dazugehörigen 1,5-L-Dreiecksflaschen, stellt ein abgestimmtes System für die Ernte von Zellen dar. Das innovative

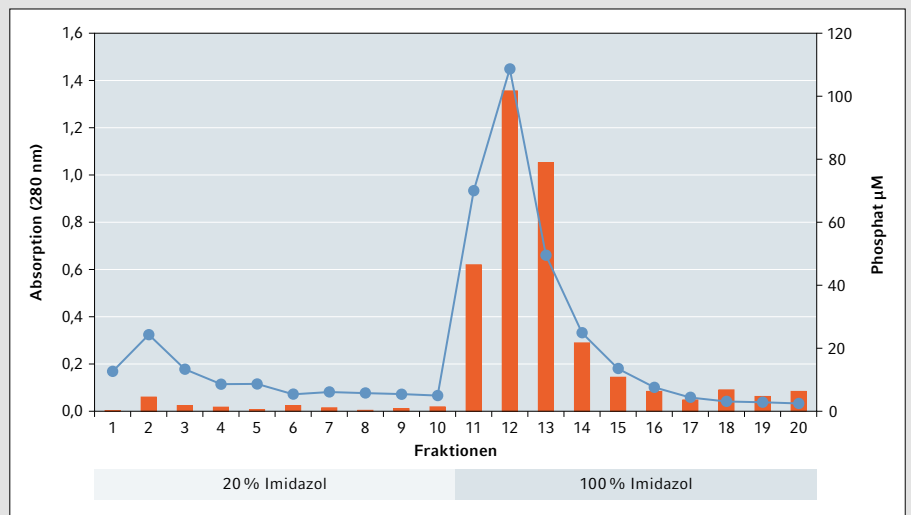


Abb. 3: Diagramm der Absorptionsmessung bei 280 nm (blaue Punkte/Linie) und der Enzymaktivität (orangefarbene Balken) der Fraktionen

Format der Flaschen vereinfacht die Handhabung, und die Verarbeitung von 1,5 L Kulturvolumen pro Flasche spart bei jedem Arbeitsschritt Zeit (bis zu 32 % der Prozesszeit im Vergleich zur Bearbeitung von 6 Flaschen mit je 1 L Volumen [1]). Zusätzlich wird nur noch der High-Speed Pelleting Kit für konische Gefäße benötigt, um alle Zentrifugationsschritte für die Herstellung eines rekombinanten Proteins von der Ernte bis zur Konzentration abzudecken.

\*Download der kompletten Application Note 451 unter <https://eppendorf.group/s0c8t8>

### Literatur

- [1] Tacheny A. *Eppendorf White Paper* No. 64 <https://eppendorf.group/0xu3ne>  
 [2] Hartmann I., Jarvis J. *Eppendorf White Paper* No. 47 <https://eppendorf.group/u9vk3w>

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

# Schnelles und sicheres Probenhandling mit Eppendorf Conical Tubes SnapTec® 50

RAFAL GRZESKOWIAK, EPPENDORF SE, HAMBURG

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

## Zusammenfassung

Herkömmliche 50 mL konische Gefäße mit Schraubdeckel sind mit einem deutlichen Handlingnachteil behaftet: Sie setzen eine komplexe beidhändige Bedienung voraus und neigen dabei zu Verwechslungen und Kontaminationen der Deckel. Die Alternative ist SnapTec 50 mit einfacher Einhandbedienung und gleich hoher Sicherheit wie bei regulären Schraubdeckeln.

Hier zeigen wir, dass Eppendorf Conical Tubes SnapTec 50 im Vergleich zu standardmäßigen Schraubdeckelgefäßen einen deutlichen Vorteil bieten, indem sie die Bearbeitungszeit um nahezu 40% reduzieren, das Kontaminationsrisiko minimieren und den Komfort für den Anwender erhöhen. Somit sind Eppendorf Conical Tubes SnapTec 50 ideale Gefäße für ein breites Spektrum anspruchsvoller Laboranwendungen, bei denen Sicherheit und ein schnelles, komfortables Handling im Vordergrund stehen.



## Einleitung

Herkömmliche 50 mL konische Gefäße mit Schraubdeckel zählen zu den am weitesten verbreiteten Gefäßformaten. Sie werden in einer Vielzahl verschiedener Workflows in den Bereichen Molekularbiologie, Mikrobiologie und Biochemie eingesetzt. Zu den üblichen Anwendungen gehören Handling, Lagerung und Transport von Proben und Reagenzien, sowie Zentrifugation, Mischen, Inkubation und Zellkultur. Innerhalb dieses breiten Anwendungsspektrums müssen konische Gefäße in der Regel Bedingungen standhalten, die als extrem einge-

stuft werden: Temperaturen zwischen -86°C und 100°C, hohe Zentrifugalkräfte (im Bereich um 20.000 x g), aggressive Chemikalien oder Lösungen und vieles mehr.

Obwohl sie eine gute Sicherheit bieten, bergen Schraubdeckel bei konischen Gefäßen einen wesentlichen Nachteil: Sie setzen eine komplexe beidhändige Handhabung voraus und neigen dazu, verwechselt oder kontaminiert zu werden. Eppendorf bietet mit SnapTec eine optimierte Alternative: einen Schnappdeckel mit der von kleineren Formaten bekannten einfachen Einhandbedienung, welcher die gleiche Sicherheit und Integrität wie ein regulärer Schraubdeckel bietet.

In dieser Application Note wurden Bearbeitungszeiten in einem standardmäßigen Zellkultur-Workflow untersucht, um sowohl die Geschwindigkeit als auch den Komfort beim Einsatz von SnapTec unter anwendungsrelevanten Bedingungen zu bestimmen.

Die Ergebnisse zeigen, dass Eppendorf Conical Tubes SnapTec 50 im Vergleich zu einem herkömmlichen Schraubdeckelgefäß deutliche Vorteile bieten. Die Bearbeitungszeit konnte um nahezu 40% reduziert werden, bei geringerem Kontaminationsrisiko und höherem Bedienkomfort.



Somit sind Eppendorf Conical Tubes SnapTec 50 ideal für ein breites Spektrum anspruchsvoller Laboranwendungen, bei denen es um die Sicherheit und Integrität der Probe geht sowie um eine schnelle, komfortable Bedienung.

## Material und Methoden

28 Gefäße eines jeden Deckeltyps (Eppendorf Conical Tubes SnapTec 50 und Eppendorf Conical Tubes 50 mL mit Schraubdeckeln) wurden in einem standardmäßigen Zellkulturverfahren eingesetzt: Passagieren und Aussaat von Zellen.

Die Zentrifugationsschritte wurden mit Hilfe der Eppendorf Centrifuge 5810 R mit Ausschwingrotor S-4-104 durchgeführt. Ermittelt wurden die Bearbeitungszeit, welche für jeden Schritt benötigt wurde, sowie die Bedienerfreundlichkeit des Cell Handling-Verfahrens.

## Ergebnisse und Diskussion

Während sie gute Sicherheit bieten, haben Schraubdeckel bei konischen Gefäßen einen signifikanten Nachteil: Sie setzen eine komplexe und zeitraubende beidhändige Bedienung voraus und bergen das Risiko, verwechselt oder kontaminiert zu werden.

Die Alternative ist Eppendorf SnapTec – ein Schnappdeckel mit müheloser Einhandbedienung. Diese garantiert eine deutliche Zeitersparnis, minimiert das Kontaminationsrisiko und erhöht zugleich den Bedienkomfort – insbesondere bei anspruchsvollen und kontaminationsanfälligen Anwendungen wie z.B. Zellkultur. Im Vergleich zu standardmäßigen konischen Schraubdeckelgefäßen (Eppendorf Conical Tubes 50 mL) ermöglichen Conical Tubes SnapTec 50 eine deutliche Reduzierung von 36% der Bearbeitungszeit für herkömmliche Zellkulturverfahren (Abb. 1, Tabelle 1), größtenteils bedingt durch häufiges Öffnen und Schließen des Deckels im Laufe des Prozesses. Ebenfalls wurde das Kontaminationsrisiko minimiert, bei gleichzeitig erhöhtem Bedienkomfort (Daten nicht gezeigt; persönliche Erfahrung des Test-Anwenders).

## Fazit

Für diese Application Note wurde das Probenhandling in einem typischen Zellkultur-Workflow untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die Eppendorf Conical Tubes SnapTec 50 im Vergleich

## Schnelles und sicheres Probenhandling mit Eppendorf Conical Tubes SnapTec® 50

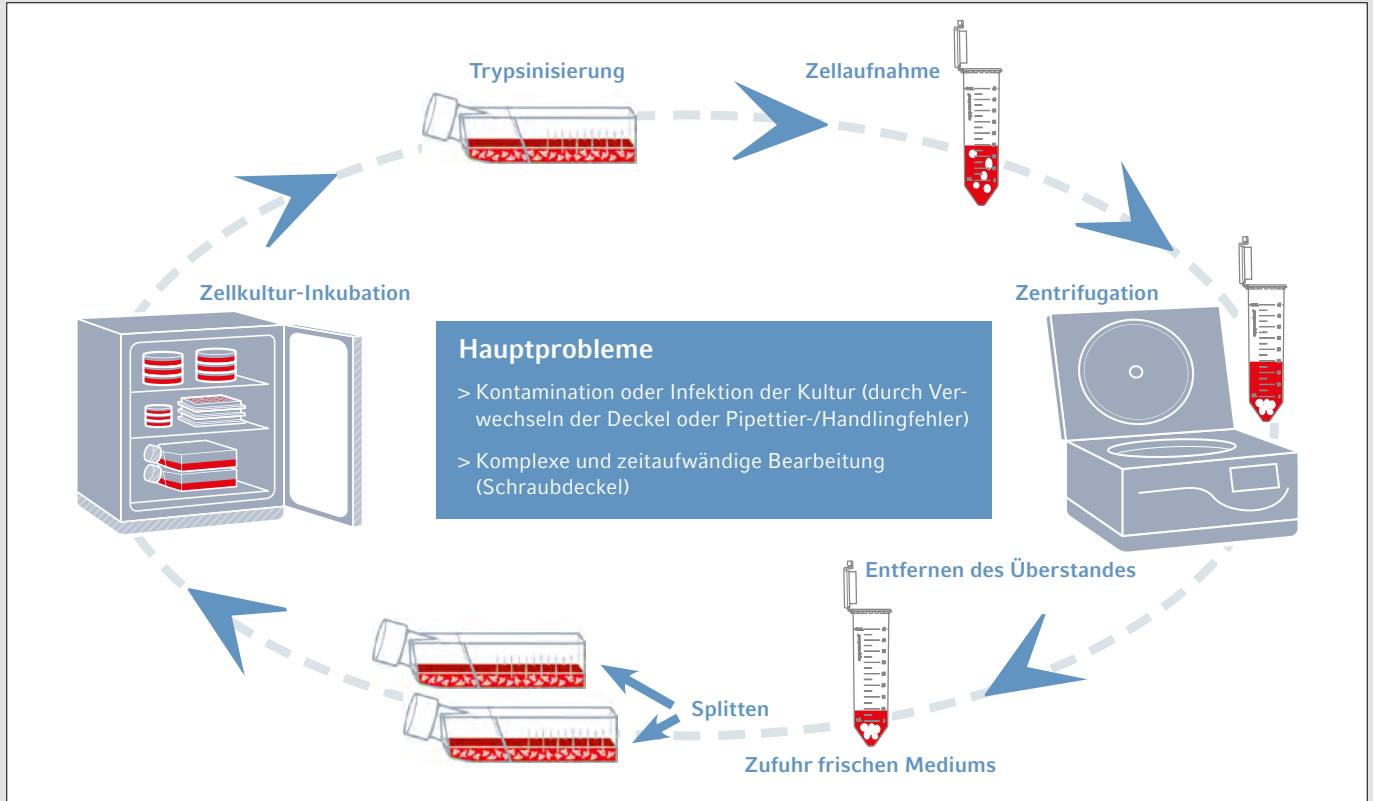


Abb. 1: Exemplarischer Zellkultur-Workflow, der in dieser Application Note eingesetzt wurde, um die Bearbeitungs-geschwindigkeit zu beurteilen. Gezeigt sind die wesentlichen Workflow-Schritte.

Beschreibung der Arbeitsschritte	Bearbeitungszeit (s) für 28 Gefäße	
	Schraubdeckel	SnapTec® 50
Beschriftung der Gefäße	60	30
Öffnen der Gefäße	60	40
Transfer der Zellsuspension in die Gefäße	na*	na*
Schließen der Gefäße	60	40
Einführen der Gefäße in die Zentrifuge	na*	na*
Zentrifugation bei 1.000 rpm für 5 min	na*	na*
Entnahme der Gefäße aus der Zentrifuge	na*	na*
Öffnen der Gefäße	60	40
Entnahme des Überstandes, Resuspendieren der Zell-Pellets in Kulturmedium, Entnahme eines Aliquots für die Zellzählung	na*	na*
Schließen der Gefäße	60	40
Zählen der Zellen	na*	na*
Öffnen der Gefäße	60	40
Transfer einer definierten Zellmenge in Zellkultur-Verbrauchsartikel	na*	na*
<b>Gesamtbearbeitungszeit (s)</b>	<b>360</b>	<b>230</b>
<b>Unterschied (%)</b>	<b>36%</b>	

\*identischer Schritt/Zeit für beide Gefäßtypen (Schnapp- und Schraubdeckel)

Tabelle 1: Bearbeitungszeit für ein standardmäßiges Zellkulturverfahren mit Hilfe von Eppendorf Conical Tubes 50 mL mit Schraubdeckel und Eppendorf Conical Tubes SnapTec 50

zu herkömmlichen konischen Gefäßen mit Schraubdeckel einen deutlichen Vorteil bieten, indem sie die Bearbeitungszeit um nahezu 40% reduzieren sowie das Kontaminationsrisiko minimieren und den Bedienkomfort für den Anwender deutlich verbessern.

Somit sind die Eppendorf Conical Tubes SnapTec 50 die idealen Gefäße für ein breites Spektrum an anspruchsvollen Laboranwendungen, bei denen Sicherheit, Integrität der Proben sowie schnelle und komfortable Handhabung gefragt sind.

Weitere Informationen unter <https://eppendorf.group/48zrkt>



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



# Standardisiertes Auftauen von Stammzellen mit Hilfe des Eppendorf ThermoMixer® C

AURÉLIE TACHENY, SILVIA TEJERINA VARGAS, JEAN-FRANÇOIS HOET, BLANDINE VANBELLINGHEN,  
 EPPENDORF APPLICATION TECHNOLOGIES, S.A., NAMUR, BELGIEN  
 INES HARTMANN, EPPENDORF SE, HAMBURG

## Einleitung

Das Auftauen von Stammzellen durch Eintauchen des Kryogefäßes in ein Wasserbad ist nach wie vor die gängigste Methode, obwohl dieser Prozess oft nicht standardisiert ist und ein Kontaminationsrisiko birgt. Der Eppendorf ThermoMixer C bietet in Kombination mit dem „SmartBlock cryo thaw“ ein Programm zum automatisierten Auftauen von Zellen. Er ermöglicht bequeme und reproduzierbare Auftauprozesse in 1,8–2 mL Kryogefäßen, optimiert für ein Füllvolumen von 1 mL. Da die Methode wasserfrei ist, wird das Kontaminationsrisiko während des Auftauvorganges auf ein Minimum reduziert. Wir zeigen hier, dass diese Methode gut zum Auftauen sensibler Stammzellen geeignet ist. Wir vergleichen die Ergebnisse des Auftauens von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSCs) und humanen mesenchymalen Knochenmarkstammzellen (hMSC-BM) im herkömmlichen Wasserbad oder im ThermoMixer C mit SmartBlock cryo thaw. Analysiert wurden die Parameter Zellmorphologie und Vitalität sowie die Beibehaltung der jeweiligen Differenzierungseffizienzen.

## Material und Methoden

hiPSCs und hMSC-BM wurden in 2 mL Kryogefäßen in flüssigem Stickstoff eingefroren. hiPSCs wurden in 1 mL mFreSR™ Kryokonservierungslösung (Stem Cell Technologies, 05854) und hMSC-BM wurden in 1 mL Mesenchymal Stem Cell Basal Medium (Lonza # PT3238), versetzt mit 20 % FBS und 10 % DMSO, eingefroren. Um die Auftauleistungen vergleichen zu können, wurden die Zellen im Eppendorf ThermoMixer C mit dem SmartBlock cryo thaw „Thawing cells“-Programm (voreingestellte Auftauzeit: 3 min) und parallel durch klassische Immersion im Wasserbad aufgetaut. Die Tests wurden in dreifacher Ausfertigung durchgeführt.

Die aufgetauten hiPSCs wurden auf einer mit Matrigel beschichteten Oberfläche in einem feeder layer-freien adaptierten Kulturmedium (Essential 8® Flex Medium Kit, A2858501, Thermo Fisher Scientific®), versetzt mit RevitaCell (Thermo Fisher Scientific, A2644501), nach Herstellerangaben kultiviert und 24 h sowie 72 h nach dem Auftauen hinsichtlich Zellmorphologie sowie spontaner Differenzierung und Zellwachstum analysiert. Immunanfärbung wurde mit Hilfe des Pluripotent Stem Cell 4-Marker Immunocytochemistry Kit (A24881, Thermo Fisher Scientific) durchgeführt, um die Beibehaltung der Pluripotenz über vier aufeinanderfolgende Passagen zu bestätigen.

Aufgetaute hMSCs wurden in einem serumfreien adaptierten Kulturmedium (MSCGM™ Mesenchymal Stem Cell Growth Medium Bulletkit™, PT-3001, Lonza) nach Anleitung des Herstellers kultiviert und 24 h und 48 h nach dem Auftauen hinsichtlich Zellmorphologie und Vitalität überprüft. Sowohl osteogene als auch adipogene Differenzierungen wurden nach einer nachfolgenden Passage mit Hilfe des OsteoMax-XFTM Kit (Human) (SCM121, Merck Millipore®) und des

hMSC Adipogenic Differentiation Bulletkit (PT-3004, Lonza) induziert. Entsprechende Differenzierungseffizienzen wurden durch Alizarinrot und Oil Red O bestimmt. Für weitere Details verweisen wir auf die vollständige Application Note 452\*.

## Ergebnisse und Diskussion

Die im Wasserbad bzw. im Eppendorf ThermoMixer C aufgetauten hiPSCs zeigten 24 h nach dem Auftauen die typische und erwartete Morphologie von hiPSCs mit flachen, dicht gepackten Kolonien mit gut definierten Grenzen. Keinerlei Abnormalitäten hinsichtlich Form oder Dichte waren erkennbar. 72 h nach dem Auftauen bildeten die Zellen einen konfluenten Monolayer (Abbildungen in Application Note 452). Die 72 h nach dem Auftauen bestimmte Lebendzellzahl bestätigte die mikroskopischen Beobachtungen. Die im Eppendorf ThermoMixer C aufgetauten hiPSCs zeigten die gleiche Proliferation wie die im Wasserbad aufgetauten Zellen (Abbildungen in Application Note 452).

Die Zellen wurden bis zur Passage vier passagiert, und unter keinen Bedingungen wurden spontane Differenzierung oder spontane Ablösung beobachtet. Die Immunanfärbung nach vier aufeinanderfolgenden Passagen bestätigte die Beibehaltung der Pluripotenz der im Eppendorf ThermoMixer C aufgetauten Zellen (Abbildungen in Application Note 452) sowie der im Wasserbad aufgetauten Zellen (Daten nicht gezeigt).

Die hMSC-BM zeigten ihre charakteristische und erwartete Morphologie nach dem Auftauen mit Hilfe beider Methoden (Abb. 1).

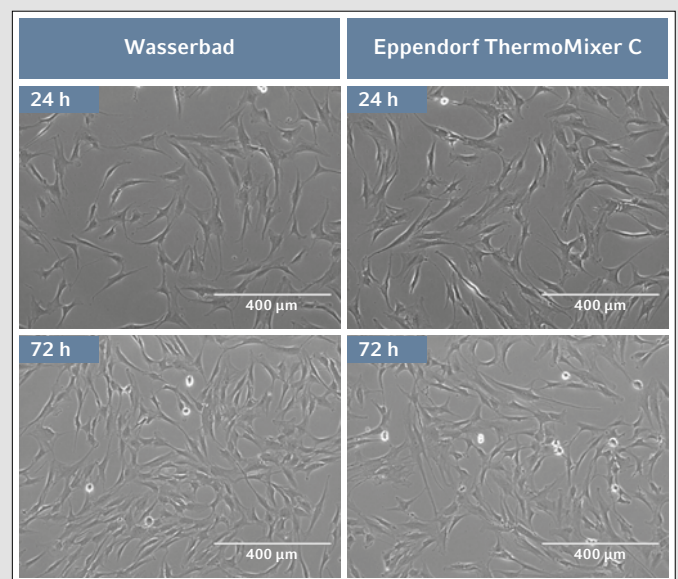


Abb. 1: 24 h bzw. 48 h nach dem Auftauen mit Hilfe beider Auftaumethoden zeigen hMSC-BM die charakteristische und erwartete Morphologie sowie Konfluenzen

Es waren keinerlei Abnormalitäten bezüglich der Form oder Dichte erkennbar.

## Standardisiertes Auftauen von Stammzellen mit Hilfe des Eppendorf ThermoMixer® C

Unter keinen Bedingungen konnten spontane Differenzierung oder spontane Ablösung beobachtet werden. Die 48 h nach dem Auftauen bestimmte Lebendzellzahl bestätigte die mikroskopischen Beobachtungen (Abb. 2).

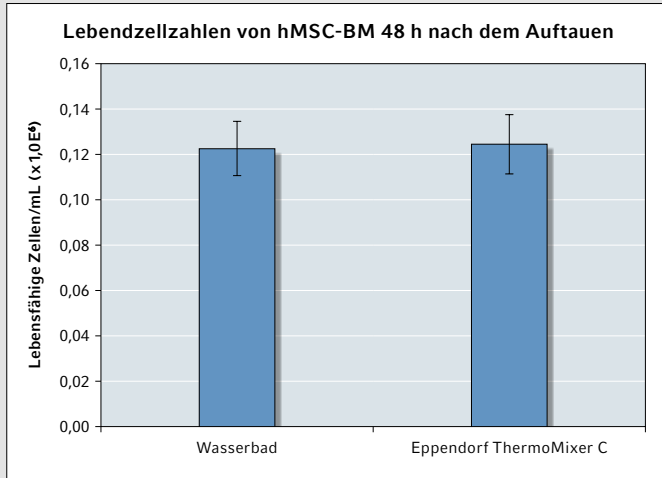


Abb. 2: Lebendzellzahlen von hMSC-BM 48 h nach dem Auftauen. Die Ergebnisse repräsentieren den Mittelwert aus zwei Gefäßen (n=2)

Die mit Hilfe des Eppendorf ThermoMixer C aufgetauten Zellen zeigten die gleiche Proliferationsrate wie die im Wasserbad aufgetauten Zellen.

Um diese Fähigkeit zur multilinearen Differenzierung zu bestätigen, wurden zwei Linien – die osteogenen und die adipogenen Wege – induziert, und die Differenzierungsfähigkeit wurde mittels Immunanfärbung bestätigt (Abb. 3 und 4). Das Differenzierungspotential der mit dem Eppendorf ThermoMixer C und den im Wasserbad aufgetauten Zellen ist aus qualitativer Sicht vergleichbar.

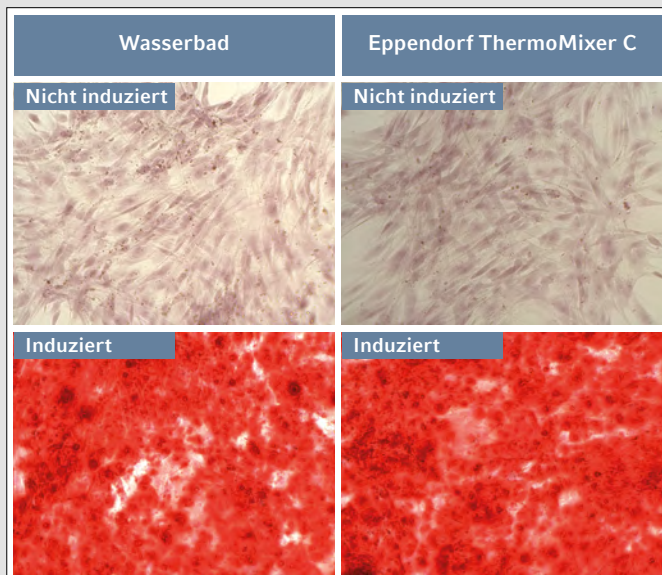


Abb. 3: Alizarinrot-Anfärbung von hMSC-BM 15 Tage nach der osteogenen Induktion. Die mit beiden Methoden aufgetauten Zellen zeigen ein hohes Differenzierungsniveau im Gegensatz zu nicht-induzierten Zellen, wie durch die intensive Alizarinrot-Anfärbung zu erkennen ist (Vergrößerung 200x)

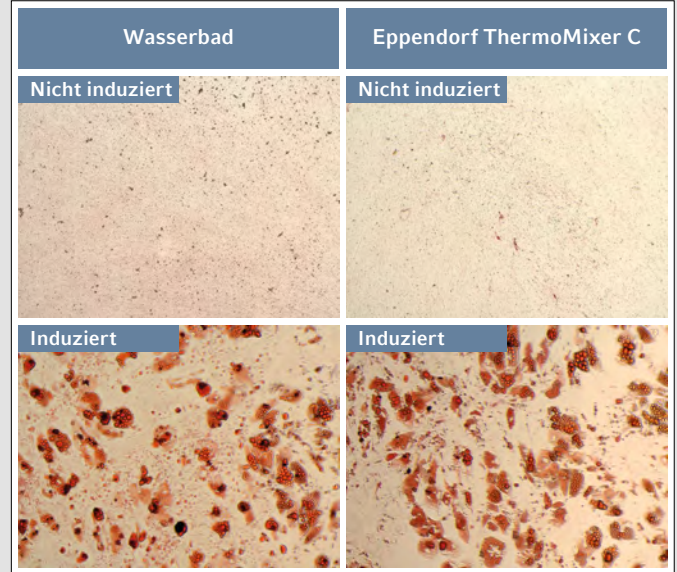


Abb. 4: Oil Red O-Anfärbung von hMSC-BM 17 Tage nach der adipogenen Induktion. Die mit beiden Methoden aufgetauten Zellen zeigen ein hohes Differenzierungsniveau im Gegensatz zu nicht-induzierten Zellen, wie durch die Anreicherung von mit Oil Red O angefärbten Fetttröpfchen zu erkennen ist (Vergrößerung 200x)

### Fazit

Beide Stammzelltypen zeigten ähnlich schnelle Erholungszeiten, Zellvitalität und Wachstumsmuster, unabhängig davon, ob sie im Eppendorf ThermoMixer C oder im Wasserbad aufgetaut wurden. Zusätzlich konnten wir zeigen, dass die Pluripotenz für hiPSCs bzw. die Multipotenz für hMSCs durch keine der beiden Auftaumethoden beeinträchtigt wird.

Die Untersuchungen der Zellen zeigen eindeutig, dass der Eppendorf ThermoMixer C mit SmartBlock cryo thaw gut zum automatisierten Auftauen empfindlicher Stammzellen geeignet ist. Er bietet reproduzierbare Auftauvorgänge und kann mehrere Gefäße parallel auftauen. Das voreingestellte Programm vereinfacht die Bedienung, und das Gerät kann dank seiner geringen Stellfläche und des austauschbaren SmartBlock-Systems flexibel in Arbeitsabläufe integriert werden. Das mit einer Immersion im Wasserbad assoziierte Kontaminationsrisiko wird somit eliminiert, da diese Methode ohne Wasser arbeitet. Der ThermoMixer C mit dem SmartBlock cryo thaw ermöglicht somit eine attraktive Optimierung im Umgang mit Stammzellen.

\*Download der Application Note 452 unter <https://eppendorf.group/7duluh>



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

# Produktion von Stammzell-Exosomen mit Hilfe des SciVario® twin Bioreaktor-Steuerungssystems

JORGE L. ESCOBAR IVIRICO UND MA SHA, EPPENDORF, INC., ENFIELD, CT, USA  
 KONTAKT: BIOPROCESS-EXPERTS@EPPENDORF.COM

## Zusammenfassung

Mesenchymale Stammzellen (MSCs) stellen vielversprechende Werkzeuge für neue Anwendungen in der Zelltherapie dar. Allerdings sind sie mit Limitierungen behaftet wie z.B. Problemen hinsichtlich adäquater Zellortung und geringen Überlebensraten der Zellen im Zielgewebe.

Aus MSCs abgeleitete Exosomen spielen eine Rolle innerhalb der parakrinen Funktionen von MSCs in Bezug auf Zell-Zell-Kommunikation und Geweberekonstruktion. Sie stellen eine Alternative für die Erneuerung von Gewebe und Organen dar, wobei sie die mit der Stammzelltherapie assoziierten Limitationen umgehen. Die Massenproduktion von Exosomen ist der notwendige nächste Schritt für ihren Einsatz in der medizinischen Forschung. In dieser Studie benutzten wir ein SciVario twin Bioreaktor-Steuerungssystem, ausgestattet mit BioBLU® 1c Single-Use Bioreactors, für die Exosomenproduktion im großen Maßstab und konnten die Eignung des Systems zur Produktion von aus MSCs abgeleiteten Exosomen in einem kontrollierten Umfeld nachweisen.

## Material und Methoden

Wir setzten aus iPSCs abgeleitete MSCs ein (ATCC®, ACS-7010).

Eine detaillierte Beschreibung von Material und Methoden finden Sie in der Eppendorf Application Note 435\*. Produktion und Analyse der Exosomen umfassten die folgenden Arbeitsschritte:

### 1. Zellkultur

1.1. Zunächst wurden die Zellen in T-75 Flaschen und sodann in T-175 Flaschen in einem CellXpert® C170i Inkubator (Eppendorf) expandiert.

1.2. Um die zur Inokulation des Bioreaktors benötigte Zellzahl zu erreichen, wurden die Zellen weiter in Multilayer-Zellkulturflaschen expandiert.

1.3. Die Zellen wurden aus den Multilayer-Zellkulturflaschen abgeerntet und sodann auf kollagenbeschichtete Microcarrier ausgesät (Pall Corporation), die sich in einer Glasflasche befanden.

1.4. Nach der Inkubation wurden die Microcarrier in einen mit Medium befüllten BioBLU 1c Single-Use Bioreactor überführt.

1.5. Die Zellen wurden im Bioreaktor für 14 Tage kultiviert. Ab dem 5. Tag wurde ein Teil des Mediums alle zwei Tage oder täglich erneuert. Die Prozessparameter aus zwei Experimenten sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

### 2. Ernte und Analyse der Exosomen

2.1. An den Tagen 5, 8, 11 und 14 der Kultur ernteten wir 50 mL der Kultur, welche aus iPSCs abgeleitete MSCs auf Microcarrier enthielt, und tauschten das Medium gegen Medium aus, dessen fötales Kälberserum keine Exosomen enthielt.

2.2. Wir kultivierten die Microcarrier mit aus iPSCs abgeleiteten MSCs über einen Zeitraum von 48 h bei 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> und 50 rpm in einem New Brunswick S41i CO<sub>2</sub> Inkubationsschüttler.

2.3. Sodann wurde der Überstand entfernt, und die Exosomen wurden mit Hilfe eines ExoQuick-TC PLUS Kits (System Bioscience, EQPL10TC-1) isoliert und aufgereinigt.

2.4. Die Tetraspanin-haltigen Exosomen wurden durch ein ExoELISA-ULTRA CD63 Kit (System Bioscience, EXEL-ULTRA-CD63-1) quantifiziert.

### 3. Zellanalyse

Während des ersten Experiments wurde täglich bzw. im zweiten Experiment jeden zweiten Tag eine Probe aus dem Bioreaktor entnommen, um die Zelldichte und die Konzentrationen von Glucose, Ammoniak und Laktat zu bestimmen.

## Ergebnisse und Diskussion

Nach der initialen Expansion der Zellen in T-Flaschen wurde deren Stammzellkapazität mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Die Zellen waren sowohl CD90- als auch CD29-positiv (typische MSC-Marker) und negativ für hämatopoetische Marker wie z. B. CD34 und CD11b.

Nachfolgend etablierten wir die optimalen Zellkulturbedingungen. In unserem ersten Experiment setzten wir 17 g/L Microcarrier als Träger für die Zellen ein, gemeinsam mit DMEM/F12 als Zellkulturmedium. Der Bioreaktor wurde mit einer anfänglichen Zelldichte von 5 x 10<sup>3</sup> Zellen/cm<sup>2</sup> (3 x 10<sup>4</sup> Zellen/mL) angeimpft. Nach der anfänglichen Zell-expansion schwankte die Zellzahl, insbesondere nach jedem Entnahmetag.

Parameter	Erstes Experiment	Zweites Experiment
	Einstellungen	
Startvolumen	700 mL	
Endvolumen	1 L	
Initiale Schüttelgeschwindigkeit	80 rpm (0,62 tip speed)	
Temperatur	37 °C	
Inokulationsdichte	3 x 10 <sup>4</sup> Zellen/mL	10,4 x 10 <sup>4</sup> Zellen/mL
Zellkulturmedium	DMEM/F12-Medium	ATCC-Komplettmedium
DO Sollwert	40% (P = 0,1; I = 0,001)	
pH Sollwert	7,2 (Totzone = 0,1), Kaskade zu CO <sub>2</sub> (Säure) Kaskade zu 0,45 M Natriumbicarbonat (Base)	7,6 (Totzone = 0,1), Kaskade zu CO <sub>2</sub> (Säure) Kaskade zu 0,45 M Natriumbicarbonat (Base)
Overlay N <sub>2</sub> Gasfluss	0,20 SLPM	0,25 SLPM
Begasungsrate	0,1 SLPH – 30 SLPH	
Begasungskaskade	O <sub>2</sub> % auf 30% des Controller Output auf 21% und bei 100% Controller Output auf 21%. Den Fluss auf 0% Controller Output einstellen, auf 0,5 SLPH, und bei 100% Controller Output auf 30 SLPH.	

Tabelle 1: Prozessparameter und Einstellungen des ersten und zweiten Experiments



## Produktion von Stammzell-Exosomen mit Hilfe des SciVario® twin Bioreaktor-Steuerungssystems

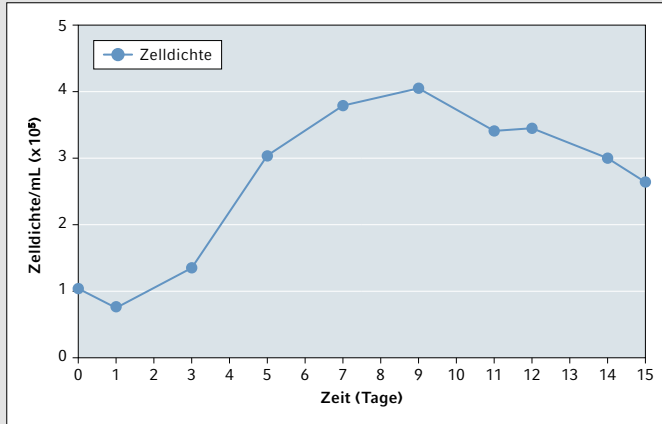


Abb. 1: Wachstumsprofil von aus iPSCs abgeleiteten MSCs in BioBLU 1c Single-Use Bioreactors mit ATCC-Komplettmedium

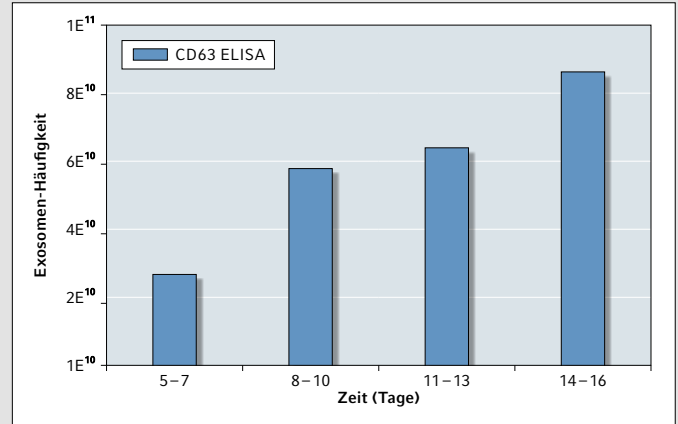


Abb. 2: Exosomen-Menge, sezerniert von aus iPSCs abgeleiteten MSCs in jeder Probenentnahme-Periode

Insgesamt stieg die Zellzahl am 15. Tag der Kultur auf das Vierfache der anfänglichen Zelldichte an, wohingegen die endgültige Dichte gering ausfiel. Wir führten dieses Verhalten auf die geringe Inokulationsdichte sowie den Einsatz von DMEM/F12-Zellkulturmedium zurück, dessen Zusammensetzung möglicherweise nicht optimal für die Expansion von aus iPSCs abgeleiteten MSCs geeignet ist.

Um die Ausbeute der Exosomen-Produktion zu erhöhen, wurden in einem zweiten Experiment die Kulturbedingungen gegenüber dem ersten Experiment verändert. Wir setzten ATCC-Komplettmedium ein und erhöhten die Inokulations-Zelldichte auf  $17 \times 10^3$  Zellen/cm<sup>2</sup> ( $10,4 \times 10^4$  Zellen/mL), wobei die Konzentration der Microcarrier bei 17 g/L gehalten wurde. Wir beobachteten eine anfängliche Lag-Phase 24 h nach der Inokulation, gefolgt von einem steten Anstieg des Zellwachstums zwischen den Tagen 1 und 9 der Kultur. Nachdem am 9. Tag die stationäre Phase erreicht wurde, nahm die Zelldichte bis zum 15. Tag ab (Abb. 1).

Am Tag 9 wurde eine maximale Zelldichte von  $4,1 \times 10^5$  Zellen/mL erreicht. Allerdings wurden im späteren Verlauf erhebliche Microcarrier-Aggregationen beobachtet. Aus diesem Grund haben wir die Zellzählungen in den späteren Stadien ausschließlich auf den freischwebenden Microcarriern vorgenommen, so dass die tatsächliche durchschnittliche Zellexpansion innerhalb des Gefäßes zweifelsohne höher war.

Wir bestimmten den Glucoseverbrauch und die Produktion von Laktat und NH<sub>3</sub> wobei wir die Konzentrationen von Laktat und NH<sub>3</sub> während des gesamten Laufes unter 1,2 g/L bzw. 1,2 mmol/L hielten. Da das Glucosoniveau im ATCC-Komplettmedium wesentlich niedriger war als im DMEM/F12-Medium, war der Zusatz von Glucose am 11. Tag des zweiten Experimentes vonnöten (s. Application Note 435\*).

Wir setzten einen direkten „Enzyme-Linked Immunosorbent Assay“ (ELISA) ein, um die Menge an Exosomen im Kulturmedium zu quantifizieren. Die Anzahl der aus iPSCs abgeleiteten MSC-Exosomen stieg vom 5. Tag ( $2,6 \times 10^{10}$ ) bis zum 16. Tag ( $8,6 \times 10^{10}$ ) konstant an. Zusätzlich fanden wir eine direkte Korrelation zwischen Zelldichte und sezernierten Exosomen bis zum Tag 9, während die Abnahme der Zelldichte im Bioreaktor keinerlei Auswirkungen auf die Sezernierung von Exosomen nach dem Stagnationsstadium hatte (Abb. 2).



### Fazit

Wir waren in der Lage, die Durchführbarkeit einer Produktion von MSC-abgeleiteten Exosomen mit Hilfe des SciVario twin Bioreaktor-Steuerungssystems und BioBLU 1c Single-Use Bioreactors erfolgreich zu etablieren. Diese Experimente stellen vorläufige Studien dar; sie wurden noch nicht optimiert, um das maximale Exosom-Produktionsniveau zu ermitteln.

Dennoch können unsere Beobachtungen als Richtlinie für weitere Optimierungen von Protokollen zur Isolierung, Aufreinigung und Maßstabsvergrößerung der Produktion von MSC-abgeleiteten Exosomen dienen.

\*Download der Application Note 435 unter <https://eppendorf.group/s5rrs9>



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



SIMON PLATE, EPPENDORF SE

# Nachhaltig: Pipetten mit ACT® Label

**Nachhaltigkeit ist eines unserer Kernthemen für die Zukunft. Hierzu zählt auch ein umsichtiger Umgang mit Ressourcen im Lebenszyklus unserer Produkte. Vor diesem Hintergrund wurden – als erste Laborpipetten überhaupt – die Eppendorf Research® plus Einkanalpipetten mit variablem Volumen von der Non-Profit-Organisation „My Green Lab®“ mit dem „ACT“ Environmental Impact Factor Label zertifiziert.**

Durch die Bewertung von Verantwortlichkeit, Konsistenz und Transparenz (Accountability, Consistency, and Transparency – ACT) in den Bereichen Herstellung, Energie- und Wasserverbrauch, Verpackung und Entsorgung erleichtert das ACT-Label die Auswahl nachhaltigerer Produkte. ACT-gekennzeichnete Produkte werden von der Sustainability Management & Strategy Collaborative (SMSC), einer Beratungsfirma im Bereich Nachhaltigkeit, unabhängig geprüft und von My Green Lab veröffentlicht.

## Nachhaltig hergestellt, hoch ergonomisch und langlebig

Research plus-Pipetten werden in einer modernen Produktionsanlage hergestellt, die zu 100 % mit erneuerbaren Energien betrieben wird. In der Zusammenarbeit mit Teile-Lieferanten finden Mehrwegverpackungssysteme Anwendung, und der Anteil an recyceltem Material in den Pipetten-Verpackungen wird kontinuierlich erhöht. Mit innovativen Merkmalen wie gefederten Konen für eine einfache Spitzenaufnahme und einem

ergonomischen, leichten Design unterstützen die Research plus-Pipetten gesunde Arbeitsbedingungen im Labor. Bei regelmäßiger Reinigung und Inspektion können sie Wissenschaftlern für Jahre dienen.

## Bald auch als 6-Pack erhältlich

Die erste Pipette, die je mit einem ACT-Label ausgezeichnet wurde, ist bald auch als 6-Pack zu einem attraktiven Vorzugspreis erhältlich. Das perfekte Set mit allen gängigen Einkanal-Volumenvarianten, passenden Spitzen und einem praktischen Pipettenkarussell, um alle Pipetten ordentlich organisiert, platzsparend und vor Verunreinigungen geschützt stets zur Hand zu haben.

Mehr Informationen unter <https://eppendorf.group/mq7bk7>



Eppendorf Research plus: bald auch im 6-Pack mit Pipettenkarussell und passenden Pipettenspitzen erhältlich



## News

# Schon einmal elektronisch pipettiert?

Elektronische Pipetten bieten gegenüber ihren mechanischen Geschwistern eine ganze Reihe an Vorteilen:

- > bessere Ergonomie, da fast keine Bedienkräfte erforderlich sind
- > höhere Präzision und Reproduzierbarkeit
- > mehr Effizienz durch verschiedene Betriebsarten. So können Sie z. B. mit nur einem Instrument pipettieren und dispensieren.



Die elektronischen Pipetten Eppendorf Xplorer® und Xplorer plus sind einfach und ermüdungsarm zu bedienen, liefern genaue Ergebnisse und lassen Ihnen stets die volle Kontrolle über den Pipettiervorgang.

Mit einem zusätzlichen WiFi-Modul lassen sich Xplorer-Pipetten zudem über den VisioNize® pipette manager vernetzen. Das externe Bedienfeld des VisioNize pipette manager ermöglicht noch schnelleres Arbeiten und bietet Ad-hoc-Voreinstellungen für viele Flüssigkeitsarten sowie Funktionen zur Pipetten-Verwaltung und Dokumentation von Arbeitsschritten.

Mehr Informationen zum elektronischen Pipettieren mit Eppendorf finden Sie auf unserer neuen Website

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

*Tipp:* Lösen Sie unser Preisrätsel auf Seite 15 und gewinnen Sie mit etwas Glück den Hauptpreis – eine Eppendorf Xplorer plus 8-Kanal-Pipette.

ULRIKE RASCHE, EPPENDORF SE BIOPROCESS CENTER, JÜLICH

# Erhöhen Sie die Reproduzierbarkeit Ihres Zellkultur-Bioprozesses

Reproduzierbares Wachstum der Zellen und zuverlässige Bildung des gewünschten Produktes – die Idealvorstellung aller Bioprocessingenieurere! Denn je schlechter die Reproduzierbarkeit, desto höher das Risiko, Batches verwerfen und Bioprozessläufe wiederholen zu müssen; und das kostet Zeit, Ressourcen und Nerven. Wir haben bei unseren Bioprozessspezialisten aus dem Eppendorf Applikationslabor nachgehört, welche Faktoren zu uneinheitlichen Ergebnissen beitragen können und von ihnen wertvolle Tipps erhalten, mit denen sich die Reproduzierbarkeit von Zellkultur-Bioprozessen erhöhen lässt.

## Tipp 1: Unter gleichen Bedingungen starten

Ein Bioprozess beginnt nicht erst im Bioreaktor. Die Zellen, mit denen inokuliert wird, haben eine Geschichte: Üblicherweise wurden sie aufgetaut, im Schüttelkolben schrittweise vermehrt und dann in den Reaktor überführt. Für reproduzierbare Ergebnisse ist es entscheidend, die Zellen während dieses gesamten Workflows in einem optimalen Zustand zu halten, um so eine gleichbleibende Qualität des Inokulums zu erreichen. Dabei hilft es, in der Anfangsphase der Prozessentwicklung ein standardisiertes Protokoll zur Handhabung der Zellen zu entwickeln. Einige relevante Faktoren sind in Abbildung 1 zusammengefasst. Die Etablierung gleicher Kulturbedingungen mit engen Parametern kann die Reproduzierbarkeit zwischen den einzelnen Durchläufen erheblich erhöhen.

## Tipp 2: Sensoren richtig nutzen

Reproduzierbare Ergebnisse setzen reproduzierbare Bedingungen im Bioreaktor voraus. Dies erfordert zuverlässige Sensordaten und dies wiederum eine präzise Kalibration der Sensoren. Schauen wir uns die Konzentration des Gelöstsauerstoffs (DO) als Beispiel an. Polarisationszeit und Kalibrierungsdauer des DO-Sensors können je nach Anwender sehr unterschiedlich ausfallen, was spätere Messergebnisse beeinflussen kann. Hilfe bietet die Verwendung von speziellen Softwarefunktionen.

Beispiel: Die Funktion *Auto Calibrate* der BioFlo® 320 und BioFlo 720 Bioreaktor-Steuerungssysteme polarisiert und kalibriert die DO-Sensoren automatisch und liefert so jedes Mal zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse.

Gelöstsauerstoff, Temperatur und pH werden in Bioprozessen routinemäßig in Echtzeit gemessen. Die Einbindung weiterer Sensortypen in die Bioprozesssteuerung erlaubt, Informationen über den Zustand der Zellen oder die Konzentration von

Nährstoffen und Nebenprodukten zu gewinnen und Rückkopplungsschleifen zu implementieren. So lässt sich zum Beispiel die Fütterung der Kulturen auf der Grundlage der Glucosekonzentration im Medium automatisieren und die Nährstoffverfügbarkeit einheitlicher gestalten.

Zusammengefasst: Reproduzierbare Bedingungen im Bioreaktor tragen zum reproduzierbaren Verhalten der Zellen bei, was eine solide Grundlage für eine optimale Prozessleistung bildet.


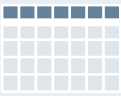

	<p><b>Überwachen Sie Ihre Kultur im Schüttelkolben</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Notieren Sie Daten Ihrer Kultur, einschließlich Zelldichte und Metabolitkonzentrationen</li> <li>&gt; Erstellen Sie eine Wachstumskurve und vergleichen Sie mit früheren Experimenten, um zu sehen, wann die Kurven sich treffen</li> <li>&gt; So lassen sich Ausreißer leicht aufspüren</li> </ul>
	<p><b>Optimieren Sie den Zeitplan zur Zellpassagierung</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Zu häufiges Passagieren kann Zellstress bewirken</li> <li>&gt; Zu seltenes Passagieren kann zur Verarmung an Nährstoffen und zur Anhäufung toxischer Nebenprodukte führen</li> </ul>
<p><b>Säure ●</b> <b>● Base</b></p>	<p><b>Gleichen Sie vor dem Animpfen den pH-Wert von Schüttelkolbenkultur und Medium im Bioreaktor an</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Nehmen Sie eine Probe und messen den pH offline oder messen Sie online mit einem In-Flask-Monitoring System</li> <li>&gt; Wenn der pH-Wert der Kultur im Kolben und des Mediums im Bioreaktor annähernd gleich sind: Prima</li> <li>&gt; Wenn nicht: Passen sie den pH-Sollwert im Bioreaktor an, damit die Zellen in ihrer neuen Umgebung keinen pH-Schock erleben</li> </ul>
	<p><b>Halten Sie die Kolbenkultur in ihrer optimalen Umgebung</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Begrenzen Sie die Zeit außerhalb des Schüttlers so weit wie möglich, da sich Temperatur und pH-Wert des Mediums außerhalb des CO<sub>2</sub>-Inkubators drastisch ändern können</li> <li>&gt; Bereiten Sie alles, was für die Passage der Zellen benötigt wird, im Voraus in der Sterilbank vor</li> <li>&gt; Wenn nicht: Passen sie den pH-Sollwert im Bioreaktor an, damit die Zellen in ihrer neuen Umgebung keinen pH-Schock erleben</li> </ul>

Abb. 1: Tipps für ein hochqualitatives Inokulum



### Tipp 3: Das richtige Bioprozess-Equipment

In Zellkultur-Bioprozessen bedeutet Reproduzierbarkeit sowohl gleiches Verhalten von Replikaten als auch vergleichbares Prozessverhalten in verschiedenen Maßstäben. Das Bioprozess-Equipment kann in beiden Fällen helfen. Im kleinen Maßstab während der Prozessentwicklung ermöglichen parallele Systeme den gleichzeitigen Einsatz mehrerer Bioreaktoren unter identischen Bedingungen. So können Medium und Inokulum aus denselben Chargen verwendet werden und so die Reproduzierbarkeit zwischen den Läufen erhöht werden. Das DASbox® Mini Bioreactor System, um ein Beispiel zu nennen, erlaubt die parallele Kontrolle von bis zu 24 Gefäßen. Den Scale-up vom kleinen bis zum Pilotproduktionsmaßstab erleichtert die Verwendung einer Familie von Bioreaktoren mit konstanten Merkmalen. Relevant sind unter anderem die Geometrie der Gefäße, Material und Ausstattung.

#### Erste Schritte zur Fehlersuche

Wenn Sie feststellen, dass Zellwachstum und Produktausbeute Ihres Bioprozesses von Tag zu Tag schwanken, ist es Zeit, sich auf Fehlersuche zu begeben. Es macht Sinn, sich zunächst auf die offensichtlichsten und zugänglichsten Punkte zu konzentrieren. Ein mögliches technisches Problem ist, dass die Sensoren oder die Gasverbindungen nicht richtig angeschlossen sind.

Ein möglicher nächster Schritt ist die Analyse der Bioprozessdaten, wie die Zufuhr von Gasen und Flüssigkeiten für DO- und pH-Regelung, die Zufuhr von Fütterungsmedien und die verschiedenen Sensordaten. Helfen kann eine Bioprozesssoftware, die tiefe und detaillierte Einblicke in die Leistung des Bioreaktors bietet. Idealerweise vergleichen Sie Prozessdaten mit historischen Läufen, selbst wenn ein neues Prozessdesign evaluiert wird.

Auch Änderungen im Arbeitsablauf können Ergebnisse verändern: Habe ich zum Beispiel mein Medium in den Kühlschrank gestellt, während ich es vorher bei Raumtemperatur gelagert habe?

Eine letzte Überlegung: Wird das System regelmäßig gewartet? Mit zunehmendem Alter verschlechtern sich Sensoren und Aktoren, was zu Abweichungen führt. Dieser Effekt kann durch regelmäßige Kalibrierungen und Justierungen minimiert werden.

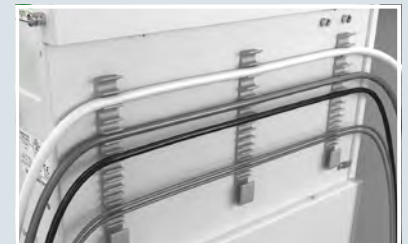
Fazit: Es gibt viele Fehlerquellen; es ist wichtig, die richtigen Werkzeuge zur Hand zu haben, um über genügend hochwertige Daten zu verfügen, um die Ursache festzustellen.

Lesen Sie unser ebook „Increasing the Reproducibility of Cell Culture Bioprocesses“, um mehr zu erfahren: <https://eppendorf.group/pelubk>

### Nahaufnahme

## Smartes Kabelmanagement

Nervt Sie der Kabelsalat an Ihrem Bioreaktor-Steuerungssystem? Dann werden Sie die in Nahaufnahme gezeigte Kabelführung des SciVario® twin Bioreaktor-Steuerungssystems lieben.



Die Kabelklemmen ermöglichen die einfache und sichere Führung von Kabeln und Schläuchen unterschiedlicher Durchmesser. Sensorkabel und Schläuche für Flüssigkeits- und Gasaustausch lassen sich auf diese Weise ordentlich und sauber arrangieren. Sie gewinnen nicht nur freien Platz auf der Laborbank neben dem Steuerungssystem, auch Staubansammlungen unter den Kabeln auf der Laborbank sind Vergangenheit.

Überhaupt war die Bedienfreundlichkeit ein maßgeblicher Treiber bei der Entwicklung des unten gezeigten SciVario twin Bioreaktor-Steuerungssystems. Erfahren Sie unter <https://eppendorf.group/dit7fg>, was seine Bioprozesskontroll-Software



und -Hardware so außerordentlich anwendungsfreundlich macht.



DAVID SOLBACH, EPPENDORF SE BIOPROCESS CENTER, JÜLICH

# Stem Cell Community Day 2021: hybrid und anders – ein Rückblick

Der von Eppendorf seit 2017 veranstaltete Stem Cell Community Day (SCCD), kurz „Stammzelltag“, bringt Forscherinnen und Forscher aus Wissenschaft und Industrie zusammen, um aktuelle Fortschritte und neuste Technologien im Bereich der Stammzellforschung zu diskutieren. Mit einem besonderen Schwerpunkt auf der Kultivierung von Stammzellen in Bioreaktoren ist der Stammzelltag seit nunmehr fünf Jahren der Ort für Wissens- und Erfahrungsaustausch. Lesen Sie hier, welche Herausforderungen wir – coronabedingt – in 2021 zu meistern hatten.

## „Building a Stem Cell Community“

Eppendorf veranstaltet unter diesem Motto seit 2017 den Stem Cell Community Day. Anfangs jährlich ausgerichtet, findet die Veranstaltung seit 2019 im 2-Jahres-Rhythmus statt. Im Fokus jedes Stammzelltages steht der Wissensaustausch zwischen Forschern aus Wissenschaft und Industrie. Im Schnitt treffen sich 150 Teilnehmende aus verschiedenen Ländern, um an Workshops teilzunehmen oder Fachvorträgen zu folgen. Um einen direkten Wissensaustausch zu fördern, ist ein zentraler Teil des Stammzelltages die Posterausstellung, bei der junge Wissenschaftler ihre Forschungsarbeit präsentieren. Für das beste Poster verleiht die Jury ein Preisgeld in Höhe von 1.000,00 Euro.

## Hybrid und noch internationaler

Die andauernde Corona-Pandemie stellte uns bei der Organisation des für Novem-

ber 2021 in Köln geplanten Stammzelltages vor große Herausforderungen. Auf der einen Seite wollten wir ein attraktives Event mit persönlicher Teilnahme bei größtmöglicher Sicherheit gestalten; auf der anderen Seite mussten wir bei der Anzahl der Teilnehmenden Abstriche machen, um genau diese Sicherheit gewährleisten zu können. So entschieden wir uns, den SCCD 2021 als Hybrid-Veranstaltung durchzuführen. Unser Event-Team leistete ganze Arbeit und fand nicht nur eine coole Event-Location, an der die geltenden Corona-Schutzmaßnahmen problemlos eingehalten werden konnten, sondern auch eine Agentur, die uns bei der technischen Umsetzung des hybriden Konzepts kompetent unterstützte.

Auch wenn die Herausforderung groß war, hat sich der Aufwand gelohnt. Das sehr positive Feedback, das wir bekommen haben, hat unsere Entscheidung bestätigt.

Das hybride Format hat dem SCCD einen deutlichen Push zu mehr Internationalität beschert. Da die ersten Stammzelltage in verschiedenen europäischen Städten stattfanden, kamen auch die Teilnehmer meist aus Europa.

Dank des hybriden Events konnten wir nicht nur Teilnehmer aus aller Welt begrüßen, sondern auch internationale Sprecher gewinnen, um ihre Arbeit zu präsentieren und Problemlösungen mit der internationalen Community zu diskutieren.

## SCCD 2023: quo vadis?

Den nächsten Stammzelltag organisiert Eppendorf in 2023. Wir freuen uns über Vorschläge, wo er stattfinden soll.

Senden Sie uns einfach eine Mail an [stemcellday@eppendorf.de](mailto:stemcellday@eppendorf.de)

[www.stemcellday.de](http://www.stemcellday.de)





EILEEN DUVE, EPPENDORF SE

# Ihr Online-Weg zu mehr Expertenwissen

**Hand aufs Herz: Wie viele Kanäle nutzen Sie, um Ihr berufliches Wissen zu erweitern? Heutzutage scheint es ein Kinderspiel zu sein, im Internet zu Themen rund um das Labor zu recherchieren. Nicht nur Google® und Wikipedia®, auch Sprachdienste wie Alexa® stehen 24/7 bereit, uns Informationen zu liefern. Doch oft genug läuft man dabei Gefahr, sich zu verzetteln oder ablenken zu lassen.**



Projektmanager Marketing Matthew Jurkiewicz (links) und Steve Dey, Head of Regional Segment Marketing, Eppendorf UK, bei der Weltpremiere unserer Webinarserie zum Thema Digitalisierung

## Eppendorf Lab Channel: Experts. Knowledge. Live.

Unter diesem Motto hat Eppendorf 2021 eine virtuelle Plattform für Wissenstransfer und Austausch geschaffen. Nach kostenfreier, unkomplizierter Registrierung können Lab Channel-User vielfältigen Videocontent abrufen sowie Tipps und Tricks für die Laborarbeit erhalten. Auf dem Eppendorf Lab Channel bieten wir Ihnen Live- und On-Demand-Webinare sowie Demonstrationen von Produkten und Applikationen. Präsentiert von Eppendorf-Experten und wechselnden Gastrednern, die ihre wissenschaftlichen Themen und Produkte bis ins kleinste Detail kennen und sich auf den interaktiven

Wissensaustausch mit Ihnen freuen – per Chat- und Umfragefunktion. Stellen Sie Ihre Fragen, geben Sie Denkanstöße oder nutzen Sie den Eppendorf Lab Channel zum Networking.

### Wachsende Themenvielfalt

In unseren Webinaren und Demos behandeln wir eine Vielfalt an Themen, z.B. Digitalisierung, Zellkultur, Pipettieren, PCR und Zentrifugation. Und das ist erst der Anfang!

Haben wir Ihr Interesse geweckt? Auf [www.eppendorf.com/labchannel](http://www.eppendorf.com/labchannel) finden Sie alle geplanten Webinare und Demos und Aufzeichnungen vergangener Events. Wir freuen uns auf Sie!

## Tipp

### Wieder live dabei

Nach 2-jähriger coronabedingter Messeabstinenz freut sich das Eppendorf Live Marketing Team darauf, Sie endlich wieder vor Ort zu begrüßen. Mit einem neuen Messekonzept, bei dessen Weiterentwicklung nicht nur eine angenehme Atmosphäre für gute Gespräche und spannende Produktpräsentation im Fokus stand, sondern auch der so wichtige Wissenstransfer untereinander.

Erweitern Sie Ihr Wissen mit interessanten Seminaren, Führungen und Talks direkt auf dem Eppendorf-Messestand. Für die Vorträge können sich interessierte Besucherinnen und Besucher im Vorwege am Empfang anmelden. Da die Platzanzahl begrenzt ist, gilt die Regel: First come, first serve!

Gut zu wissen: Die Vorträge werden über den Eppendorf Lab Channel (s. Artikel links) gestreamt und dort On Demand zur Verfügung gestellt.

### Willkommen auf der **ACHEMA<sup>2022</sup>**

Vom 22. – 26. August heißt das Eppendorf Messteam die Besucher der ACHEMA<sup>2022</sup> in Frankfurt am Main willkommen. Auf der weltweit führenden Leitmesse der Prozessindustrie laden wir ein zu guten Gesprächen und regem Austausch mit unseren Experten.

Besuchen Sie den Eppendorf-Messestand in Halle 4.1. Hier informieren wir Sie gerne über Bioprozesstechnik und unsere Workflows.

Wir freuen uns auf Ihren Besuch:

**Halle 4.1, Stand B35**

Für Ihre gesundheitliche Sicherheit sorgen wir mit einem noch über die empfohlenen Maßnahmen der Messegesellschaft hinausgehenden eigenen Hygienekonzept.

Besuchen Sie unsere Website und registrieren Sie sich für ein kostenfreies Ticket unter [www.eppendorf.com/achema](http://www.eppendorf.com/achema)

CORDULA RICHTER, EPPENDORF SE

# Thi Hoang Duong Nguyen erhält Eppendorf Award 2022



Die unabhängige Jury unter Vorsitz von Prof. Reinhard Jahn wählte Dr. Thi Hoang Duong Nguyen vom MRC Laboratory of Molecular Biology in Cambridge, Großbritannien, zur 27. Gewinnerin des *Eppendorf Award for Young European Investigators* 2022.

Thi Hoang Duong Nguyen, Jahrgang 1987, erhält die mit 20.000 Euro dotierte Auszeichnung für ihre bahnbrechenden Arbeiten über die Struktur und Funktion zweier RNA-Protein-Komplexe, die für alle höheren Organismen wesentlich sind: Spliceosom und Telomerase.

„Thi Hoang Duong Nguyens Arbeit lieferte grundlegende Erkenntnisse über die Struktur und Funktion dieser Komplexe und wird sich nachhaltig auf das Verständnis der RNA-Verarbeitung und der Genomstabilität auswirken“, so die Jury.

Thi Hoang Duong Nguyen: „Ich fühle mich sehr geehrt, den Eppendorf Award 2022 zu erhalten. Ich bin meinem Labor, früheren und jetzigen Kollegen, Mentoren, Mitarbeitern und meiner Familie sehr dankbar, ohne die dies nicht möglich gewesen wäre. Mit dem Preis wird unser Beitrag zur Aufklärung der molekularen Mechanismen wichtiger Prozesse durch die Visualisierung der dreidimensionalen Strukturen der beteiligten biologischen Moleküle gewürdigt.“

Unsere derzeitige Forschung konzentriert sich auf zelluläre Wege, die die für die Erhaltung der genomischen Information wichtigen Chromosomenkappen aufrechterhalten. Ein Versagen dieser Wege führt zu zahlreichen menschlichen Krankheiten. Wir hoffen, dass die aus unserer Arbeit gewonnenen Erkenntnisse therapeutische Entwicklungen zur Behandlung dieser Krankheiten erleichtern werden.“

Die Preisverleihung fand am 5. Juli 2022 im Advanced Training Center des European Molecular Biology Laboratory (EMBL) in Heidelberg statt.

Informationen zu Bewerbungsmodalitäten, Auswahlkriterien und bisherigen Preisträgern finden Sie auf [www.eppendorf.com/award](http://www.eppendorf.com/award)

## Eppendorf & Science Prize for Neurobiology 2022

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

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

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

### Markenhinweise

Achema® is a registered trademark of Dechema Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie e.V., Germany. ACT® and My Green Lab® are registered trademarks of My Green Lab, Corp., USA. Alexa® and Amazon® are registered trademarks of Amazon Technologies, Inc., USA. ATCC® is a registered trademark of the American Type Culture Collection, USA. Coomassie® is a registered trademark of ICI Ltd. Essential 8® is a registered trademark of Fujifilm Cellular Dynamics International, Inc., USA. Google® is a registered trademark of Google, Inc., USA. Merck Millipore® is a registered trademark of Merck KGaA, Germany. Promega® is a registered trademark of Promega Corporation, USA. Thermo Fisher Scientific® is a registered trademark of Thermo Fisher Scientific, Inc., USA. Wikipedia® is a registered trademark of Wikimedia Foundation Inc., USA. BulletKit™ and MSCGM™ are trademarks of Lonza Group Ltd., USA. Cytiva™ is a trademark of Life Sciences IP Holdings Corporation, USA. HisTrap™ is a trademark of Global Life Sciences Solutions USA LLC. mFreSR™ is a trademark of STEMCELL Technologies Canada Inc. YouTube™ is a trademark of Google, Inc., USA.

Eppendorf®, the Eppendorf Brand Design, BioBLU®, CellXpert®, Eppendorf Research®, Eppendorf ThermoMixer®, Eppendorf Xplorer®, epPoints®, Move It®, SciVario®, SnapTec®, and VisioNize® are registered trademarks of Eppendorf SE, Germany. BioFlo® and Innova® are registered trademarks of Eppendorf, Inc., USA. DASbox® and DASGIP® are registered trademarks of DASGIP Information and Process Technology GmbH, Germany. eLabNext is a brand of Bio-ITech BV, part of Eppendorf group.

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

# Elektronische Pipette zu gewinnen

Die Lösung des Preisrätsels aus BioNews Nr. 55 lautete „VISIONIZE LAB SUITE“. Der Hauptgewinn, eine Eppendorf Research® plus Move It® Mehrkanal-Pipette, ging an Ute V., Österreich.

## 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 2022**.

1		2	3		4	5	6		7	8		
		9		10					11			
	12					13				14		
15					16				17	18		19
	20						21	22				
23								24				
			25	26						27	28	
29	30	31		32				33	34			
35					36	37			38			39
40			41		42			43			44	
45			46				47	48		49		
		50			51	52						
	53								54			

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

Unter allen richtigen Einsendungen verlosen wir wieder attraktive Preise für Ihr Labor. Die Gewinner werden schriftlich benachrichtigt. Eine Barauszahlung ist nicht möglich. Der Rechtsweg ist ausgeschlossen. Eppendorf-Mitarbeitende und deren Angehörige dürfen nicht teilnehmen. Der Gewinner des ersten Preises wird in Ausgabe 59 veröffentlicht.

## 1. Preis:

1 Eppendorf Xplorer® plus 8-Kanal-Pipette

## 2. bis 5. Preis:

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

## 6. bis 10. Preis:

je 500 Bonus epPoints®

(Registrierung bei epPoints erforderlich)

### WAAGERECHT

- Sitte, Brauch
- Magazin, Ansammlung oder auch Londoner Fußballclub
- Hiervon gibt's keine „B“-Version
- Umfasst Hardware, Software und Peripherie (Abk.)
- Schiffsanlegestelle
- Tiergarten
- Heimat der Lakers (Abk.)
- Kopfbedeckung mit Sonnenblende (Kurzform)
- Erforderlich für Start und Landung
- Laut und heftig, meist teuer
- Legendärer Comic-Hund
- Zustimmung (Abk.)
- Anzahl der "Freunde" in einem Fußballteam
- Entwickelte eine Methode zur DNA-Sequenzierung
- Wäre Charlie Italiener gewesen, hätte er so viele Engel gehabt

- „CRISPR-associated“ (Abk.)
- Nicht out
- Fließt nur in eine Richtung (Abk.)
- Wahrscheinlich nicht immer leicht, so zu sein
- Vervollständigt Motion, T.I.P.S., Points und Services
- Schwarz-weiß, frisst Fisch, Säugetiere, Vögel
- Biblischer Urvater
- Enzym im Kälbermagen
- Seoul ist die Hauptstadt (ISO-Kürzel)
- Zwischen RE und IR
- Extinktion einer Lösung (Abk.)
- Ende einer Funkmeldung
- Gefährliche Tropfen (Abk.)
- In NYC sind sie gelb (Sing.)
- Auch: der „weiße Sport“
- Schwarz-weiß, frisst Bambus

### SENKRECHT

- Kuala Lumpur ist die Hauptstadt (ISO-Kürzel)
- Einheit der Druckauflösung
- Caenorhabditis ... wie?
- Pyrenäen-Fürstentum (ISO-Kürzel)
- Männlicher persischer Vorname
- Haltestellen
- Zwischen CO und CU
- Für seine Komponisten berühmter Alpenstaat (ISO-Kürzel)
- Dritthäufigstes Gas in der Erdatmosphäre (chem. Symbol)
- Bündel, Set
- Textliche Beschreibung von Arbeitsvorgängen (Abk.)
- Zwischen Südengland und Nordfrankreich
- Römischer Sonnengott
- Fabriketage, Künstlerwohnung
- Druckkörper alter Schreibmaschinen
- Geht in Spezialthemen auf
- Lernende Systeme häufen es an (Engl.)
- Musikrichtung
- Durcheinander, Gewinn
- Acquired immune deficiency syndrome (Abk.)
- Wellnessoase
- Binär nichts als Nullen und Einsen
- Hier zahlt man mit Balboa (ISO-Kürzel)
- Konzerthalle, Wettkampfstätte
- Apollo-Reiseziel (Engl.)
- Karton, Packung, Behälter
- Sehr wichtige Person
- Große Nachfrage, starker Andrang
- Nairobi ist die Hauptstadt (ISO-Kürzel)
- Leichtmetall z.B. in Implantaten (chem. Symbol)
- Erfolgreicher Schlag in 53 waagrecht

## Lösungshinweis für das Gewinnspiel BioNews Nr. 57:

N A E

Einsendeschluss für das Gewinnspiel: **31. Oktober 2022**. Online teilnehmen unter

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

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



# CUSTOM, QUALITY CONTENT FOR THE GLOBAL SCIENTIFIC COMMUNITY

AA01 024 510 - DE

Booklets

Podcasts

Webinars

Posters

Advertorials

Meetings

Infographics



**Science** |  AAAS

**Custom Publishing**



[science.org/custom-publishing](https://science.org/custom-publishing)