



mAb Scale-up: effizient und kostengünstig

- > Eppendorf Tubes® BioBased für mehr Nachhaltigkeit
- > Centrifuge 5427 R: jetzt mit natürlichem Kühlmittel
- > So frischen Sie Ihr Pipettier-Wissen auf

Application Notes

Isolierung und Anreicherung von Golgi-Körpern aus Reiskeimlingen · Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) des humanen Apolipoprotein L1 Gens · etc.





Vielen Dank,

dass Sie sich Zeit nehmen für die neue Ausgabe der Eppendorf BioNews. Mit unserem Themenmix möchten wir Ihnen – so wie Sie es seit 30 Jahren von der BioNews kennen – nützliche Impulse für Ihren Laboralltag geben. Mit Informationen zu Workflows, Produkten und Initiativen sowie zum Thema Nachhaltigkeit bei Eppendorf.

Unser Leitartikel zeigt auf, worauf es bei der Entwicklung eines robusten, effizienten und kostengünstigen mAb-Forschungs- und Entwicklungsprozesses ankommt (S. 4–5). Auf Seite 7 erfahren Sie mehr über Eppendorf twin.tec® Trace PCR Plates, unsere neuesten und fortschrittlichsten PCR-Platten. „Vorhang auf für die akademische Forschung“ heißt es auf Seite 9, auf der wir unsere aktuelle Initiative „Your Work Matters“ präsentieren.

Einmal mehr geht es um das Thema Nachhaltigkeit: Wir präsentieren die neue Zentrifuge 5427 R mit natürlichem Kühlmittel (S. 8) sowie unsere Eppendorf Tubes® BioBased (S. 6), deren Ausgangsmaterial aus erneuerbaren, wiederverwendeten Rohstoffen stammt. Eppendorf verfolgt vier konkrete Nachhaltigkeitsziele: Klimawandel, Natürliche Ressourcen, Social Compliance und Soziales Wohlergehen. Mehr dazu auf S. 10 (inkl. Download-Möglichkeit).

„Es hat wirklich Spaß gemacht, das Kreuzworträtsel mit meinem Labor zu lösen – eine tolle Gelegenheit zur Teambildung!“, schreibt uns ein Leser aus Kanada. Nutzen auch Sie die Möglichkeit, gemeinsam im Team zu rätseln; der Hauptgewinn ist auch dieses Mal eine wertvolle elektronische Eppendorf Xplorer® plus 8-Kanal-Pipette.

Viel Spaß!

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
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 links: Kirsten Petersen; S. 14 rechts:
Saverio Truglia

Kontakt

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

Vertrieb Schweiz

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

Vertrieb Österreich

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

Hinweise

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, Januar 2023.





IM BLICKPUNKT	Effizient und kostengünstig – Scale-up monoklonaler Antikörper	4–5
	Vorhang auf für die akademische Forschung: „Your Work Matters“	9
	Ist auch Ihr Labor zukunftssicher?	11
LABORPRAxis	So frischen Sie Ihr Pipettier-Wissen auf	13
	2 nd Generation Feedstock – 1 st Class Consumables	6
INNOVATION	twin.tec „Trace“: die nächste Generation	7
	GIFs – jetzt auch von Eppendorf	5
NEWS/TIPPS	Differenzierung durch Einzigartigkeit	7
	Centrifuge 5427 R: jetzt mit natürlichem Kühlmittel	8
	Nachhaltigkeitsbericht 2021: jetzt downloaden	10
	Wo Life Sciences auf Lifestyle treffen	12
	Auch Rockstars brauchen eine Auszeit	12
	Eppendorf Lab Channel: schon hereingeschaut?	13
	Eppendorf-Preisträger auf Stippvisite in Hamburg	14
	Markenhinweise	14
	Preisrätsel: Elektronische Mehrkanal-Pipette zu gewinnen	15
	SERVICE	

Eppendorf BioNews Application Notes

<p>KAZUSATO OIKAWA, SHUICHI KANI, MARK HÜNKEN Isolierung und Anreicherung von Golgi-Körpern aus Reis-Keimlingen mit Hilfe der Dichtegradienten-Ultrazentrifugation</p>	1–2
<p>HUBERT SCHWARZ, YE ZHANG, VERONIQUE CHOTTEAU Integration eines ATF-Gerätes in das DASbox® Mini Bioreactor System für die Kultivierung von Zellen in Perfusion im kleinen Maßstab</p>	3–4
<p>HOLGER HEINE, THOMAS USCHKUREIT, KERSTIN ISERMANN Optimierte Isolierung mononukleärer Zellen mittels softwaregesteuerter Beschleunigungs- und Bremsrampen in der Centrifuge 5702-Familie</p>	5–6
<p>NINA EGELER, STEFFEN RIETHMÜLLER, ARORA PHANG Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) des humanen Apolipoprotein L1 Gens</p>	7–8

DAVID SOLBACH, EPPENDORF SE BIOPROCESS CENTER, JÜLICH

Effizient und kostengünstig – Scale-up monoklonaler Antikörper

Durch die COVID-19-Pandemie beflügelt, sind Therapeutika zur Behandlung plötzlich auftretender Viruserkrankungen mehr denn je gefragt. Die Produkte müssen rechtzeitig verfügbar sein, wobei gleichzeitig gewährleistet sein muss, dass die Herstellung kosteneffizient und unter sicheren Bedingungen erfolgt. Monoklonale Antikörper (mAb) stellen in Ergänzung zu Impfstoffen und antiviralen Medikamenten vielversprechende Kandidaten dar. Die hohe Nachfrage mit wettbewerbsfähigen Produkten zu decken, birgt jedoch einige Hürden und Risiken. Wie können Hersteller diese Herausforderungen meistern?



Um einen zügigen Markteintritt durchzuführen und sich vom Wettbewerb zu differenzieren, gilt das Credo „Time is Money“. Die frühen Phasen der Zelllinienentwicklung und des Upscalings sind hier kritische Schlüsselfaktoren.

Eine frühzeitige Prozesscharakterisierung ist die Grundvoraussetzung für die Etablierung eines robusten, effizienten und kostengünstigen Workflows. Die Entwicklung zuverlässiger und stabiler Prozesse ist für reproduzierbares Zellwachstum, eine konsistent hohe Vitalität der Zellen und maximale Ausbeute entscheidend.

Höchste Effizienz mit möglichst wenig manuellen Arbeitsschritten ist das Gebot.

Single-Use-Technologien und Prozessintensivierung helfen, diese Ziele zu erreichen. Kontinuierliche Herstellungsstrategien ermöglichen hohe Ausbeuten und können im Vergleich zu klassischen Batch- und Fed-Batch-Verfahren zur Kostensenkung beitragen. Für eine schnelle Markteinführung und zur Minimierung von Markteintrittsrisiken und Lieferkettenengpässen ist ein reproduzierbarer Transfer vom Labormaßstab auf große Volumina von elementarer Bedeutung.

Prozessentwicklung – Maximierung von Ausbeute und Prozessstabilität

Ziel und gleichzeitig Herausforderung ist immer die Maximierung der Ausbeute, die wiederum von der Vitalität und der Produktivität der Zellen abhängt. Jede Zelllinie und sogar jeder Klon verhält sich anders. Um stabile Zellwachstumsprofile und Antikörper-Erträge beim Upscaling auf Produktionsmaßstab zu gewährleisten, bedarf es daher einer Strategie, die auf einem detaillierten Prozessverständnis und optimalen Bioreaktorbedingungen basiert.

Die Optimierung des Mediums, ein verbessertes Expressionssystem oder die Analyse der Stoffwechselwege können die Produktivität steigern. Mithilfe präziserer Geräte wie Pumpen, Sensoren und Begasungsmodulen können stabile und konsistente Prozessabläufe etabliert werden. Eine geeignete Instrumentierung ermöglicht die Überwachung der Stoffwechselwege, die Bewertung von Produktivitätsauswirkungen, wie beispielsweise die Verknappung von Kohlenstoffquellen, und die Optimierung der Bedingungen im Bioreaktor.

Durch die Integration analytischer Geräte und Sensoren in parallele Systeme sind diese besonders gut geeignet, verschiedene Einstellungen, Parameter und Zelllinien gleichzeitig in einem frühen Stadium des Prozesses zu testen. Die parallele Steuerung von Bioreaktoren und die simultane Überwachung aller Prozessparameter beschleunigen die Charakterisierung des Prozesses und erhöhen somit die Zeit- und Kosteneffizienz. Die softwaregestützte Prozesssteuerung mit sensorgesteuerten Regelkreisen ermöglicht die Automatisierung des Prozesses, reduziert manuelle Arbeitsschritte sowie das Risiko menschlicher Fehler und erhöht damit die Sicherheit, Reproduzierbarkeit und Effizienz.

Scale-up – Zellwachstumsprofile und Antikörper-Ausbeuten aufrechterhalten

Eine der größten Herausforderungen in der mAb-Produktion ist das Skalieren von Zellkulturen. Die Überprüfung der Reaktorbedingungen fördert effektives Zellwachstum und die Produktion adäquater Produktmengen.

Essenziell für eine effiziente Durchmischung und Stoffaustausch in verschiedenen Bioreaktorgrößen ist eine optimale Gefäßgeometrie, basierend auf dem Verhältnis von Rührer- zu Gefäßdurchmesser. Etablierte Scale-up-Strategien ermöglichen einen reproduzierbaren Transfer von kleinen Prozessmaßstab auf größere Volumina. Die Berechnungen sind jedoch komplex und erfordern das Wissen und die Erfahrung von Experten.

Softwaregesteuerte Berechnungen wichtiger Prozessparameter sparen Zeit, erleichtern das Setup des Prozesses erheblich und verringern so das Risiko von Fehlern.

In Kombination mit Open-Concept-Controllern können ähnliche Zellwachstumsprofile in einer Vielzahl von Bioreaktoren herstellerunabhängig vom Labor- bis zum Produktionsmaßstab erzeugt werden.

Gerätemanagement – Störungen und Ausfälle vermeiden

Wenn bei der Auswahl von Geräten an der falschen Stelle gespart wird, kann dies erhebliche negative Auswirkungen auf den Prozess haben. Im schlimmsten Fall kommt es zu Chargenausfällen, die zu Lieferengpässen bei z.B. wichtigen Medikamenten führen können.

Die Systeme sollten daher Industriestandards unterstützen, Einblicke in den Gerätestatus gewähren und Erinnerungen senden, sobald eine Wartung erforderlich ist. Branchen mit einer großen Anzahl installierter Geräte werden davon besonders profitieren. Digitale Sensoren, die Informationen über ihre Lebensdauer liefern, ermöglichen so den Austausch bereits vor dem Ende der Lebensdauer. Dies kann zu erheblichen Kosteneinsparungen führen, da Prozesse zuverlässiger laufen.

Die Lieferanten von Messgeräten sollten alle Daten über die Eignung der Geräte für den spezifischen Prozess zur Verfügung stellen. Da sie mit den Herausforderungen vertraut sind, können sie fachkundige Unterstützung auf der Grundlage eines gemeinsamen Verständnisses bieten.

Fazit

Die Entwicklung eines robusten, effizienten und kostengünstigen mAb-Forschungs- und Entwicklungsprozesses ist mit vielen Hürden und Risiken verbunden. Mithilfe einer optimalen und zuverlässigen Ausrüstung werden Prozessentwicklung und -optimierung im Labor-, Pilot- und Produktionsmaßstab zum Erfolg führen.

Mehr Informationen unter



News

GIFs – jetzt auch von Eppendorf

GIFs – wer kennt sie nicht, diese kurzen animierten Bildfolgen, die emotionale, ikonische oder lustige Momente darstellen. Mit GIFs kann man seine Stimmung ausdrücken oder Kommentare aufpeppen, ob in Videochats oder in den gängigen Social Media-Apps.

Das Eppendorf Online-Team war kreativ und produktiv und hat eine Reihe von verschiedenen animierten und realen GIFs erstellt – unter besonderer Mitwirkung von freiwilligen Akteurinnen und Akteuren aus dem Kollegenkreis, die sich bei den Dreharbeiten zu den Animationen so richtig ins Zeug gelegt haben. Man sieht, dass sie Spaß dabei hatten!

Die Verwendung der bewegten Bildchen ist denkbar simpel. Einfach in der GIF-Bibliothek Ihrer App das Stichwort **#Eppendorf** eintippen oder <https://giphy.com/eppendorf/> besuchen. Und schon geht's los.



Viel Vergnügen bei der Nutzung unserer GIFs!

BRIGITTE KLOSE, EPPENDORF SE

2nd Generation Feedstock – 1st Class Consumables

Stellen Sie sich vor, Ihr Laborgefäß ließe sich aus erneuerbaren Rohstoffen, Abfällen und Rückständen aus der Pflanzenölindustrie herstellen. Würden Sie an die Qualität des Produkts glauben? Würden Sie sich auf die Reinheit und Zuverlässigkeit des Gefäßes verlassen und ihm Ihre wertvollen Proben anvertrauen, so wie Sie es mit Ihrem bisherigen Tube aus fossilen Rohstoffen getan haben? Wenn Sie neugierig geworden sind, dann lesen Sie weiter.



Kunststoffgefäße auf Basis fossiler Rohstoffe haben seit geraumer Zeit die Glasgefäße im Labor ersetzt und sind unersetzlich geworden. In Hinblick auf Nachhaltigkeit stellt dies eine große Herausforderung dar, sowohl für Labore als auch für Hersteller. Wir haben uns daher zum Ziel gesetzt, hochwertige Kunststoffprodukte für das Labor nachhaltiger zu produzieren und dabei erneuerbare Rohstoffe der zweiten Generation einzusetzen.

Vom gebrauchten Speiseöl zu hochwertigen Laborverbrauchsprodukten

Bei der Auswahl alternativer, nachhaltigerer Materialien entschieden sich unsere Kunststoffexperten für ein biobasiertes Polymer, das aus erneuerbaren, wiederverwendeten Rohstoffen, wie z.B. Altspeseöl, hergestellt wird. Die hieraus erzeugten Eppendorf Tubes® BioBased sind eine neue Generation von Gefäßen, mit denen wir Ihnen helfen, Ihre Nachhaltigkeitsziele zu erreichen.

Biobasiertes Polymer – was ist das genau?

Bei dem von Eppendorf gewählten biobasierten Polymer werden fossile Rohstoffe eingespart, indem sie durch nachhaltige Rohstoffe ersetzt werden, die aus Abfällen und Reststoffen von Speiseöl hergestellt werden (auch „erneuerbare Rohstoffe der

2. Generation“ genannt). Die Rohstoffe sind bis zu den ersten Ölsammelstellen rückverfolgbar. Die Fertigung dieses Polymers ist mit dem Nachhaltigkeitszertifikat „ISCC PLUS“ zertifiziert.

Mit einer ISCC PLUS-Zertifizierung stellen Unternehmen sicher, dass die gesamte Lieferkette vom Anbau bis zum fertigen Endprodukt auditiert wurde. ISCC unterstützt den Übergang zu einer Kreislaufwirtschaft und Bioökonomie und bringt viele Vorteile mit sich, wie z. B. Rückverfolgbarkeit in der gesamten Lieferkette, Nachweis der Identität von Rohstoffen, klare von Dritten geprüfte Informationen und Stärkung des Verbrauchervertrauens durch ein unabhängiges Zertifizierungssystem.

Keine Kompromisse

Eppendorf Tubes BioBased weisen keine Qualitäts- und Leistungsunterschiede zu fossilbasierten Eppendorf Tubes auf. Alle Qualitätsgarantien, die wir mit unseren produkt- und chargenspezifischen Zertifikaten geben, gelten ebenso für Eppendorf Tubes BioBased. Der Wechsel zu Eppendorf Tubes BioBased stellt kein Risiko für Ihre Proben und Ihre Versuchsergebnisse dar.

Mehr Informationen:

www.eppendorf.com/BioBased

TIM SCHOMMARTZ, EPPENDORF SE

twin.tec „Trace“: die nächste Generation

Eppendorf twin.tec® PCR Plates sind ein etabliertes Plattenformat im Labor. Ihre dünnwandigen Polypropylen-Wells und robusten Polycarbonat-Rahmen sorgen für eine optimale Wärmeleitung und hohe Formstabilität. Diese verleiht twin.tec PCR Plates extreme Haltbarkeit beim Inkubieren und Zentrifugieren sowie bei der Verwendung in automatisierten Prozessen.

NEU: „Trace“ – für noch bessere Nachverfolgbarkeit

Eppendorf twin.tec Trace PCR Plates sind unsere neusten und fortschrittlichsten PCR-Platten. Ein aufregend neues Design und innovative Features sorgen für großartige Performance.

Die lasergravierte Losnummer und das Verfallsdatum auf jeder einzelnen Platte ermöglichen eine bessere Nachverfolgbarkeit in Ihren Laborprozessen und machen die neuen Platten zu einer ausgezeichneten Wahl für alle regulierten Arbeitsabläufe. Durch das innovative optische Führungsraster und die bewährte OptiTrack®-Matrix ist eine schnelle Orientierung auf der Platte möglich, wodurch manuelles und halbautomatisches Pipetieren und Dispensieren vereinfacht wird. Erhöhte Ränder der Wells ermöglichen eine hocheffiziente Versiegelung und minimieren damit das Risiko von Kreuzkontaminationen.



Und es wird noch bunter

Sind die bekannten twin.tec PCR Plates schon farbenfroh, sorgen die neuen Farben der twin.tec Trace Plates – Kristallblau und Fuchsia – für noch mehr Abwechslung im Labor und verbessern zusätzlich die Lesbarkeit und den Kontrast der Beschriftung.

Die hervorragende Reproduzierbarkeit und weitere Spezifikationen entsprechen denen der bekannten twin.tec PCR Plates. Damit sind die twin.tec Trace Plates exzellent geeignet für Hochdurchsatz-Anwendungen, automatisierte Workflows und standardisierte Prozesse.

twin.tec Trace PCR Plates sind auch mit Barcode erhältlich; sie sind chargengeprüft und zertifiziert frei von DNA, DNase, RNase und PCR-Inhibitoren (PCR clean).

Mehr Informationen unter <https://www.eppendorf.com/plates>



News

Differenzierung durch Einzigartigkeit

Arbeiten Sie mit DNA, Proteinen oder lichtempfindlichen Proben? Holen Sie jetzt das Beste aus Ihren Anwendungen heraus mit den neuen Eppendorf Conical Tubes 25 mL DNA LoBind® und Protein LoBind oder Eppendorf Conical Tubes 25 mL Amber. Erhältlich entweder mit Schraubverschluss oder mit unserem patentierten* SnapTec® Verschluss.



Reaktionsgefäße mit DNA-LoBind- oder Protein-LoBind-Oberfläche eignen sich ideal für Anwendungen, bei denen die Konzentrationen eher gering sind und die Probenrückgewinnung für die Testergebnisse entscheidend ist.



Das Handling von Proben in nicht-transparenten langen Gefäßformaten ist eine häufige Kontaminationsquelle. Die bernsteinfarbenen 25-mL-Tubes kombinieren einen wirksamen Schutz vor energiereichem Licht im niedrigen Wellenlängenbereich mit einem hohen Maß an Transparenz.

www.eppendorf.com/25mL



*US Patent 8,540,948

NICOLE SEELIGMÜLLER, EPPENDORF SE

Centrifuge 5427 R: jetzt mit natürlichem Kühlmittel

Die globale Erwärmung und ihre Folgen sind eine der größten Herausforderungen unserer Zeit. Fluorkohlenwasserstoffe, die bis vor kurzem in Kühlsystemen wie Klimaanlage, aber auch in Laborzentrifugen oder -gefriergeräten verwendet wurden, können aufgrund ihrer chemischen Struktur bei Freiwerden zur globalen Erwärmung beitragen. Um unseren Planeten für zukünftige Generationen zu schützen, ist es daher wichtig, auch im Laborumfeld auf umweltfreundlichere „grüne“ Kühlmittel – Kohlenwasserstoffe – umzusteigen.

Natürliche Kühlmittel haben ein ähnlich niedriges Treibhauspotential (GWP – Global Warming Potential) wie CO₂ (<3), während konventionelle Kühlmittel, wie z.B. das in Kühlzentrifugen eingesetzte R134a, ein GWP von 1.430 aufweisen und somit bei Freiwerden einen ungleich größeren Einfluss auf die Erderwärmung haben als ein natürliches Kühlmittel.

Um auch in der Laborumgebung einen Beitrag zum Umweltschutz zu leisten, bietet Eppendorf ab jetzt die neue Centrifuge 5427 R mit Kohlenwasserstoffkühlung an. Sie ist damit die erste Zentrifuge in unserem Portfolio, die mit einem natürlichen Kühlmittel arbeitet. Zum Schutz Ihrer Proben – und der Erde.

Global Warming Potential (GWP)

Vielleicht fragen Sie sich jetzt gerade: Was ist denn das GWP genau? Das GWP ist der Index für den (relativen) Beitrag einer festgelegten Masse einer chemischen Verbindung zum Treibhauseffekt – d.h. der durchschnittlichen Auswirkung auf die Erwärmung der Erdatmosphäre im Vergleich zur selben Masse CO₂ (in 100 Jahren).

Das bedeutet, dass 1 kg R134a mit einem GWP von 1.430 bei Freisetzung 1.430-mal so viel zur Erderwärmung beiträgt wie 1 kg CO₂.

Unter dem Begriff „natürliche“ bzw. „grüne“ Kühlmittel versteht man sogenannte Kohlenwasserstoffe, die mit einem extrem niedrigen GWP punkten. Die im Laborgerätebereich am häufigsten als Kühlmittel eingesetzten Substanzen sind Propan (R290), wie z.B. in der Centrifuge 5427 R, und Ethan (R170).

Niedriges GWP – hohe Performance

Die neue Centrifuge 5427 R überzeugt nicht nur durch ihre zuverlässige Propan-Kühlung. Mit ihrer kompakten Standfläche und dem doppelreihigen Rotor FA-45-48-11 für bis zu 48 x 1,5/2 mL Gefäße ist sie vor allem für Labore mit einem hohen Probenaufkommen die optimale Lösung. Aber auch für Bereiche, in denen viele Anwender sich das Gerät teilen, ist sie durch ihre große Rotorauswahl eine gute Wahl: Insgesamt neun Festwinkel- und Ausschwingrotoren decken eine große Bandbreite an Applikationen im Bereich der Molekular- und Zellbiologie ab.



Isolierung und Anreicherung von Golgi-Körpern aus Reis-Keimlingen mit Hilfe der Dichtegradienten-Ultrazentrifugation

KAZUSATO OIKAWA, LAB FOR BIOMATERIAL CHEMISTRY, KYOTO, JAPAN
 SHUICHI KANI, EPPENDORF HIMAC TECHNOLOGIES, TOKYO, JAPAN
 MARK HÜNKEN, EPPENDORF SE, HAMBURG

Einleitung

Der Golgi-Apparat eukaryotischer Zellen wurde zum ersten Mal vor 120 Jahren von Camillo Golgi beschrieben. Fortschritte in der (Elektronen-) Mikroskopie zeigten dessen komplexe Struktur auf, während weiterführende biochemische Analysen die verschiedenen Funktionen dieses Organells innerhalb der Zelle offenbarten [1].

In Zellen höherer Organismen ist der Golgi-Apparat für die Synthese komplexer Polysaccharide verantwortlich sowie für die Verarbeitung und Verteilung von Proteinen auf andere Organellen als Teil des Sekretionsweges [2].

Ein Beispiel eines solchen Proteins ist die α -Amylase, eine Glykosidase, welche für die Hydrolyse von Stärkemolekülen in Pflanzen verantwortlich ist. Es wurde gezeigt, dass die α -Amylase durch die Ribosomen am Endoplasmatischen Retikulum (ER) synthetisiert und innerhalb des ER-Lumens glykosyliert wird. Nachfolgend wird die α -Amylase sodann zum Zwecke der Oligosaccharid-Modifikation zum Golgi-Apparat transportiert [3]. Da der Golgi-Apparat jedoch mit anderen Membransystemen, wie z.B. dem Endoplasmatischen Retikulum (ER) [1], eine komplexe Struktur bildet, ist es besonders schwierig, bestimmte Teile dieses Organells zu isolieren. In der Praxis sind Golgi-Membranfraktionen häufig mit Teilen anderer verbundener Membransysteme, wie z.B. der Vakuole, kontaminiert [1]. Die Dichtegradientenzentrifugation stellt eine der am besten etablierten Methoden zur Anreicherung von spezifischen Membranen dar [1].

In dieser Application Note beschreiben wir eine Methode, welche eine Abfolge aus differenziellem Pelletieren und Dichtegradientenzentrifugation zum Erhalt von Fraktionen der Golgi-Membran aus Reis-Keimlingen einsetzt. Die angewandte Technik erlaubt die Ernte von hochgradig reinen Extrakten von hoher Qualität zum Zwecke der nachfolgenden Analyse, wie z.B. der Massenspektrometrie.

Material und Methoden

Eingesetzte Materialien

Centrifuge CP80NX (Eppendorf) mit den Ausschwingrotoren P32ST für 40 mL PET-Gefäße und P40ST für 13 mL PET-Gefäße.

Erster Schritt

Mikrosomen-Aufreinigungsprozess durch den Einsatz der Rotoren P32ST (40 mL PET-Gefäß) und P40ST (13 mL PET-Gefäß).

1. Den aufgereinigten Reis-Extrakt bei $15.000 \times g$ für 30 min bei 4°C in 40 mL PET-Gefäßen in einem Ausschwingrotor zentrifugieren und das Pellet verwerfen.
2. Den Überstand von 11 mL in ein 13 mL PET-Gefäß auf 1 mL 15%iger Sucrose-Lösung über einem Kissen von 1 mL 50%iger Sucrose laden.

3. Bei $100.000 \times g$ für 3 h bei 4°C zentrifugieren und sodann die auf dem 50%-Sucrose-Kissen eingeschlossene Mikrosomen-Fraktion abernten.

Zweiter Schritt

Golgi-Aufreinigungsprozess aus der Mikrosomen-Fraktion mit Hilfe des Rotors P40ST (13 mL PET-Gefäß).

1. Die gewonnene Fraktion mit Hilfe eines 60%igen Sucrose-Puffers und eines Refraktometers auf eine 42%ige Sucrose-Dichte einstellen. Auf diese Lösung 1–2 mL eines weiteren diskontinuierlichen Sucrose-Gradienten, bestehend aus jeweils 1 mL 26%-, 30%-, 34%- und 38%-Sucrose-Schichten, laden. Vorsichtig mit Wasser auf 13 mL auffüllen.
2. Bei $100.000 \times g$ für 3 h bei 4°C zentrifugieren und sodann sofort die Golgi-Fraktion (1) entnehmen, welche als Grenzphase zwischen der 34%- und der 38%-Sucrose-Schicht schwimmt.
3. Die gewonnene Golgi-Fraktion wiederum auf 42% Sucrose-Dichte einstellen und 1–2 mL auf den zweiten diskontinuierlichen Sucrose-Gradienten, bestehend aus jeweils 1 mL 26%-, 30%-, 34%- und 38%-Sucrose-Schichten, laden. Vorsichtig auf 13 mL auffüllen.
4. Bei $100.000 \times g$ für 3 h bei 4°C zentrifugieren und sodann sofort die Golgi-Fraktion (2) entnehmen, welche als Grenzphase zwischen der 34%- und der 38%-Sucrose-Schicht schwimmt.

Sämtliche Sucrose-Konzentrationen beruhen auf w/w.

Ergebnisse und Diskussion

Der Einsatz der diskontinuierlichen Dichtegradientenzentrifugation stellt eine Standardmethode zur Isolierung bzw. zur Anreicherung von subzellulären Komponenten dar. In den meisten Fällen werden die unterschiedlichen Sedimentationskoeffizienten oder spezifische Dichten herangezogen, um eine Separation zu erzielen. Die Charakteristika bezüglich dieser Parameter bei Anwendungen der Isolation von Organellen werden zum Großteil durch die Zusammensetzung der entsprechenden Membranen definiert. Eine deutliche Separation stellt häufig eine Herausforderung dar, insbesondere für Golgi-Körper, welche eng mit anderen Membransystemen verbunden sind [1]. Aus diesem Grund sind hochgradig aufgereinigte Golgi-Membranen für die Analyse und Untersuchung z.B. des Golgi-Proteoms [2] oder spezifischer Proteine innerhalb des Organells unabdingbar. Hier beschreiben wir eine effektive Methode, welche zwei verschiedene Ausschwingrotoren in Kombination mit sukzessiven diskontinuierlichen Sucrose-Gradienten-Dichtezentrifugationsschritten einsetzt, zum Erhalt von hochqualitativen Isolaten von Golgi-Körpern. Nach der Entfernung der Zelltrümmer im ersten Zentrifugationsschritt wird der Überstand auf einen ersten diskontinuierlichen Sucrose-Gradienten geladen (Abb. 1).

Isolierung und Anreicherung von Golgi-Körpern aus Reis-Keimlingen mit Hilfe der Dichtegradienten-Ultrazentrifugation

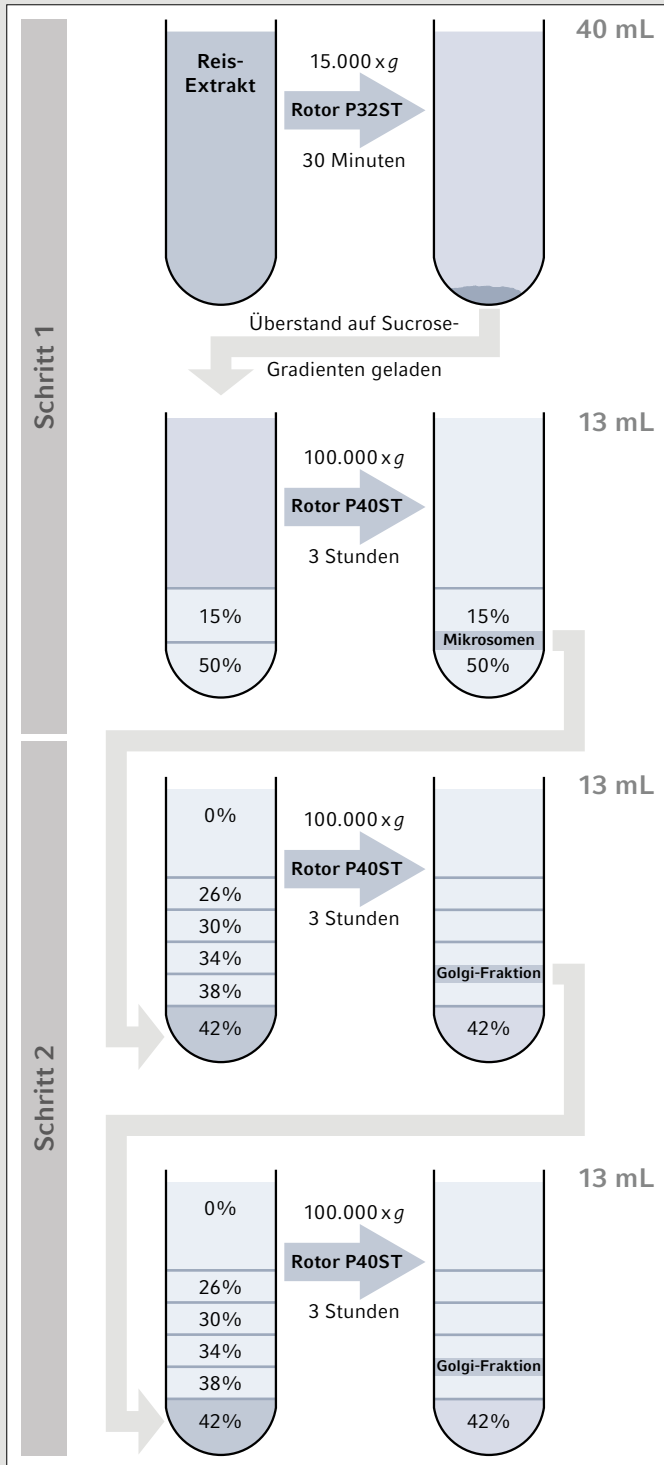


Abb. 1: Isolierung von Golgi-Körpern durch eine Folge von Zentrifugationsschritten mit diskontinuierlichen Sucrose-Gradienten

Zwischen den 15%- und 50%-Sucrose-Phasen sammelt sich eine Fraktion aus Mikrosomen an. Diese Fraktion wird zur weiteren Aufreinigung durch zwei Schritte eines diskontinuierlichen Sucrose-Gradienten eingesetzt. Hierbei sammeln sich die Golgi-Körper zwischen den 34% und 38%-Sucrose-Phasen des Gradienten an (Abb. 2).

Asakura *et al.* [4] konnten zeigen, dass die Reinheit der Golgi-Körper-Fraktion signifikant durch den zweiten Aufreinigungsschritt verbessert wird.

Die Qualität der Golgi-Fraktion kann durch die Anwesenheit verschiedener Marker-Enzyme, wie z.B. durch die UGPase (Uridindiphosphat-Glucose-Pyrophosphorylase: Zytosol) oder die RbcL (die große Untereinheit der Ribulosebisphosphat-Carboxylase: Plastid) mit Hilfe einer Immunoblot-Analyse überprüft werden [2].

Fazit

Die Kombination der beiden Rotoren P32ST und P40ST ist ideal zur Golgi-Isolierung. Diese Methode ermöglicht den Übergang von hohem (40 mL) zu niedrigerem Volumen (13 mL) bei hervorragender Leistung. Die besondere lange und schlanke Form der 13 mL PET-Gefäße sorgt für eine größere Trennungsdistanz, was die Reinheit der Golgi-Fraktion erhöht. Zusätzlich erleichtern die von oben beladbaren Rotor-Einsätze die schonende Handhabung der Sucrose-Gradienten und minimieren gleichzeitig das Risiko eines unbeabsichtigten Vermischens.

Download der kompletten Application Note 444:



Literatur

- [1] Parsons H.T. *et al.* (2012): The Current State of the Golgi Proteomes, *Proteomic Applications in Biology*, Dr. Joshua Heazlewood (Ed.).
- [2] Oikawa K. *et al.* (2018), *Methods in Molecular Biology*, Chapter 6, 91-105.
- [3] Kitajima A. *et al.* (2009). *The Plant Cell*, Vol. 21: 2844-2858.
- [4] Asakura T. *et al.* (2006): *Plant Biotechnology* 23, 475-485.

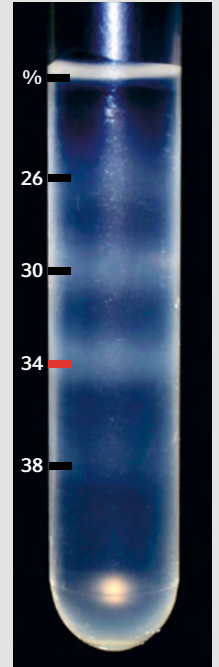


Abb. 2: Subfraktion des Golgi-Apparates aus Reis nach mehrfachen Schritten diskontinuierlicher Sucrose-Gradientenzentrifugation. Die Golgi-Fraktion zwischen der 34% und der 38%-Sucrose-Lösung ist in Rot angezeigt

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.

Integration eines ATF-Gerätes in das DASbox® Mini Bioreactor System für die Kultivierung von Zellen in Perfusion im kleinen Maßstab

HUBERT SCHWARZ, YE ZHANG, VERONIQUE CHOTTEAU;

SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES IN CHEMISTRY, BIOTECHNOLOGY AND HEALTH (CBH), DEPARTMENT OF INDUSTRIAL BIOTECHNOLOGY, CELL TECHNOLOGY GROUP (CETEG), ROYAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY (KTH), STOCKHOLM, SCHWEDEN

KONTAKT: BIOPROCESS-EXPERTS@EPPENDORF.COM

Einleitung

Perfusions-Bioprozesse stellen einen eleganten Ansatz zur Erhöhung der Zelldichte sowie Verlängerung der Prozesslaufzeit dar, verglichen mit Batch- oder Fed-Batch-Bioprozessen. Im Rahmen der Perfusion wird dem Bioreaktor kontinuierlich frisches Medium zugeführt, und verbrauchtes Medium wird entfernt, während die Zellen innerhalb des Bioreaktors verbleiben. Diese Konfiguration erlaubt die Zuführung von Nährstoffen sowie den Abtransport von Nebenprodukten – die Basis für gute Wachstumsbedingungen.

Während der Prozessentwicklung sind Perfusionsysteme im kleinen Maßstab erwünscht, um Ressourcen zu sparen und Kosten zu reduzieren, insbesondere wenn es um Kulturmedien geht, da diese im Rahmen des Zellkultur-Bioprozesses die größten Kostentreiber darstellen.

Zu diesem Zeitpunkt sind kleinformatige Modelle von Perfusionsprozessen, welche sich der Tangentialflussfiltration bedienen, nicht gut etabliert. Diese Application Note beschreibt den Aufbau eines Perfusions-Bioprozesssystems im kleinen Maßstab von 250 mL. Das System eignete sich zur längerfristigen Kultivierung von CHO- und HEK 293-Zellen und vereinfachte das Erreichen von hohen Zelldichten.

Material und Methoden

Sie finden ausführliche Informationen zu Kulturmedien, Prozessaufbau und Steuerung in der Application Note 457 [1].

Bioreaktor-System

DASbox Mini Bioreactor System, ausgestattet mit Bioreaktoren aus Glas (Abb. 1).



Abb. 1: DASbox Mini Bioreactor System

Zelllinien

- > IgG-produzierende CHO-Zelllinie
- > HEK 293-Zelllinie, welche rekombinantes humanes Erythropoietin (rhEPO) produziert

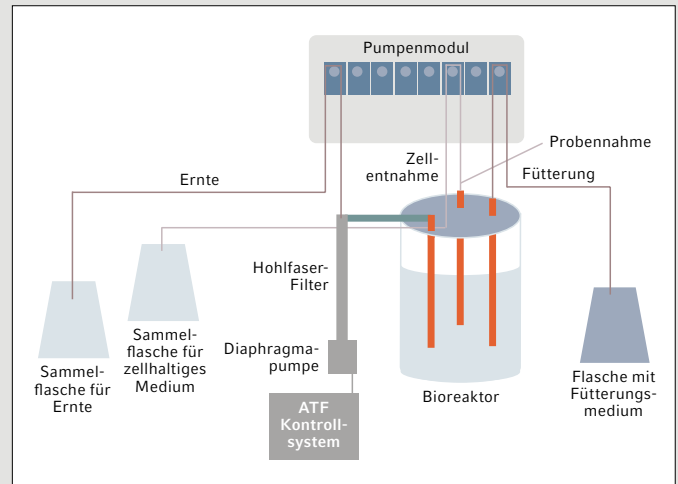


Abb. 2: Aufbau des Perfusionsystems. Siehe Application Note 457 [1] für weitere Details.

Perfusionsprozess

Der Aufbau des Perfusionsprozesses ist in Abb. 2 dargestellt. Zum Rückhalt der Zellen wurde eine Xampler® CFP-2-E-3MA Hohlfaser-Mikrofiltrationskartusche (Cytiva) eingesetzt. Um diese im ATF*-Modus (*Alternating tangential flow filtration) zu verwenden, wurde der Hohlfaser-Filter mit einem XCell® ATF 2 System (Repligen®) verbunden. Der Bioreaktor wurde mit Röhrcchen versehen, um Kulturmedium und Zellbrühe mit Hilfe von Dosierleitungen und den systemeigenen Pumpen in den Bioreaktor hinzuzufügen beziehungsweise abzuführen. Die Fütterungsstrategie in allen Perfusionsläufen zielte darauf ab, die Konzentration von Laktat unter 20 mM und die Konzentration von Ammonium unter 4 mM zu halten.

Optimierung des Sauerstofftransfers in den Bioreaktor

Es wurden verschiedene Rührer-Konfigurationen und Begasungsstrategien getestet. Der Sauerstofftransfer in den Bioreaktor bei einer jeden Konfiguration wurde durch die Bestimmung der volumetrischen Sauerstofftransferkoeffizienten (k_{La}) beurteilt. Weitere Details sind in der Application Note 457 [1] einzusehen.

Ergebnisse

Einführende Experimente wurden mit CHO-Zellen durchgeführt. Basierend auf diesen ersten Ergebnissen wurde der Perfusionsprozess sodann für HEK 293-Zellen adaptiert.

CHO-Perfusionsprozess

Die Bioreaktoren wurden mit einem am unteren Ende der Impeller-Welle montierten Marine-Impeller ausgestattet. Der Bioreaktor wurde mit 5×10^6 Zellen/mL angeimpft und einen Tag im Batch-Modus kultiviert, bevor in den Perfusionsmodus umgeschaltet wurde. Innerhalb von 8 Tagen stieg die Zelldichte auf 80×10^6 Zellen/mL an, bei einer Viabilität von rund 90 %.

Integration eines ATF-Gerätes in das DASbox® Mini Bioreactor System für die Kultivierung von Zellen in Perfusion im kleinen Maßstab

Während des gesamten Prozesses lag der IgG-Siebkoefizient (das Verhältnis von Produktkonzentration in der Ernte zu Produktkonzentration innerhalb des Bioreaktors) zwischen 91 % und 99 %.

Beim Überschreiten einer Zelldichte von 80×10^6 Zellen verschlechterte sich die Prozesssteuerung. Der Bedarf der hochgradig dichten Zellkultur an gelöstem Sauerstoff (DO) konnte nicht erfüllt werden, was dazu führte, dass der DO unter den Sollwert von 40 % fiel. Es wurde sehr schnell gerührt, und es wurde eine hohe Gasflussrate von bis zu 0,07 VVM in den Bioreaktor eingeblasen, mit dem Ziel, den DO-Sollwert zu kontrollieren. Dies führte jedoch zu exzessiver Schaumbildung. Die Viabilität blieb dennoch hoch, was darauf hinwies, dass die CHO-Zellen die suboptimalen Prozessbedingungen tolerierten.

HEK 293-Perfusionsprozess

In einem ersten Schritt wurde der oben für die Kultivierung von CHO-Zellen beschriebene Aufbau für die Kultivierung von rhEPO-produzierenden HEK 293-Zellen getestet. Im Gegensatz zu CHO-Zellen tolerierten diese Zellen die ungünstigen oben beschriebenen Prozessbedingungen, welche bei hohen Zelldichten auftraten, nicht. Daher musste der Sauerstofftransfer in den Bioreaktor optimiert werden. Basierend auf vorläufigen Experimenten [1] wurde eine Konfiguration mit einem Rushton-Impeller an die Interphase zwischen Gasphase und Flüssigkeit installiert, und ein Marine-Impeller wurde für den Einsatz am unteren Ende der Impeller-Welle ausgewählt.

Die Bioreaktoren wurden mit 1×10^6 Zellen pro mL angeimpft. Um den Tag 8 wurde eine Zelldichte von 20×10^6 Zellen/mL mit einer Viabilität von etwa 90 % erreicht. Die Zelldichte wurde über einen Zeitraum von 14 Tagen aufrechterhalten, indem dem Bioreaktor zellhaltiges Medium entnommen wurde (cell bleeding).

Nachfolgend wurde die Zelldichte schrittweise durch Unterbrechung der Zellentnahme auf bis zu 80×10^6 Zellen/mL angehoben, bei einer Viabilität von rund 95 %. Der Prozess wurde über den Zeitraum von einer Woche bei diesen Werten stabil gehalten (Abb. 3). Somit wurde durch die Optimierung des Sauerstofftransfers eine Zelldichte erhalten, die mit vorherigen Läufen mit CHO-Zellen vergleichbar war.

Die Konzentration von rhEPO wurde zu verschiedenen Zeitpunkten quantifiziert und die volumetrische Produktivität errechnet. Diese stieg linear mit der Zelldichte an, von etwa 129 mg/L/Tag bei Zelldichten von 15 bis 25×10^6 Zellen/mL bis ungefähr 392 mg/L/Tag bei Dichten von 70 bis 80×10^6 Zellen/mL.

Fazit

Zelldichten von bis zu 80×10^6 Zellen/mL wurden bei einer Viabilität von > 90 % gehalten, was zeigt, dass hohe Zelldichten im kleinen Maßstab erzielt werden konnten, obwohl der Bioreaktor im Verhältnis zum eingesetzten ATF-System ein wenig zu klein war.

Der beschriebene Perfusionsaufbau eignete sich gut zur Prozessoptimierung im kleinen Maßstab. Diese Application Note beschreibt nur einen Teil der Prozessoptimierung, und zwar den Sauerstofftransfer in den Bioreaktor. Bei der Optimierung eines Perfusionsprozesses müssen weitere Parameter berücksichtigt werden. Es wurden mehrere Experimente durchgeführt, um zu analysieren, wie die Temperatur, die Zusammensetzung des Fütterungsmediums und die Perfusionsrate die Prozessproduktivität sowie den Zellstoffwechsel beeinflussten [2]. Diese Erkenntnisse zeigen das Potenzial des hier vorgestellten kleinformatigen Perfusions-Bioprozesssystems zum Screenen von Prozessparametern, parallel und im Kleinformat, bei gleichzeitiger Zeit- und Kostenersparnis auf.

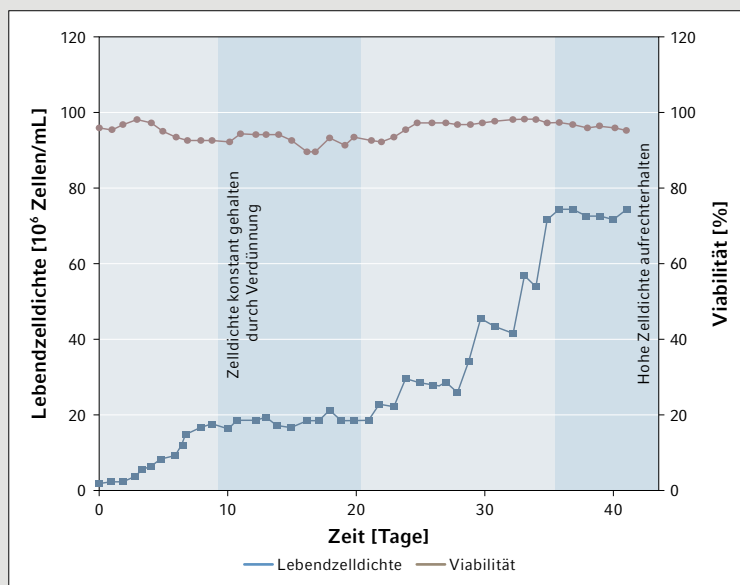


Abb. 3: Bioprozess der HEK 293-Zellen im Perfusionsmodus

Literatur

[1] Schwarz, *et al.* Integration of an ATF Device with a DASbox Mini Bioreactor System for Cell Culture Perfusion at Small Scale. *Eppendorf Application Note 457*. 2022. Download unter



[2] Schwarz, *et al.* Small-scale bioreactor supports high density HEK293 cell perfusion culture for the production of recombinant Erythropoietin. *J. Biotechnol.* 309 44–52. 2020. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168165619309538>

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.

Optimierte Isolierung mononukleärer Zellen mittels softwaregesteuerter Beschleunigungs- und Bremsrampen in der Centrifuge 5702-Familie

HOLGER HEINE, FORSCHUNGSZENTRUM BORSTEL, BORSTEL
 THOMAS USCHKUREIT UND KERSTIN ISERMANN, EPPENDORF SE, HAMBURG

Einleitung

Eine schnelle Probenaufbereitung ist in jedem Labor von großer Bedeutung. Da Zentrifugen in fast allen Workflows der Molekular-, Zell- und Mikrobiologie eingesetzt werden, können sie erheblich zur Optimierung von Arbeitsprozessen beitragen. Die kontinuierliche Adaption von Zentrifugen an die anwendungsbezogenen Bedürfnisse der Kunden ist dabei essentiell. Dies schließt Verbesserungen sowohl der Software als auch der Eigenschaften von Hardware mit ein. Die Implementierung einer „Timer“ Funktion sowie die kürzlich eingeführten Vacutainer® Becher für die Centrifuge 5702-Familie stellen zwei Beispiele dar. Diese Application Note befasst sich mit der Entwicklung einer „Soft Funktion“ für die Centrifuge 5702-Familie und zeigt, wie ein Gerät durch die Zusammenarbeit zwischen akademischer Forschung und einem industriellen Entwicklungsteam an die Anforderungen einer Standardanwendung angepasst wurde.

Mit den Modellen 5702/R/RH bietet Eppendorf zuverlässige Zentrifugen für Anwendungen, welche Zentrifugalkräfte bis maximal 3.000 x g erfordern. Ursprünglich sind diese Zentrifugen mit kurzen Beschleunigungs- und Bremszeiten entwickelt worden, um eine Zeitersparnis in Routine-Workflows zu ermöglichen. Allerdings können diese hohen Bremskräfte bei sensiblen Anwendungen, wie z.B. der Dichtegradientenzentrifugation, von Nachteil sein. Um eine erfolgreiche Durchführung solcher Anwendungen auch in den Centrifuge 5702-Modellen zu ermöglichen, wurde besonderes Augenmerk auf die Entwicklung einer zusätzlichen Beschleunigungs- und Bremsrampe, die zugleich sanft und doch schnell ist, gelegt.

Zahlreiche Forschungsanwendungen sind von lebensfähigen und funktional intakten Zellen abhängig. Die Isolierung von humanen mononukleären Zellen (MNCs) mit Hilfe der Dichtegradientenzentrifugation ist hierfür eine Standardmethode und wurde aus diesem Grund als Protokoll für unsere Zwecke ausgewählt.

Diese Separationsmethode beruht auf den Dichteigenschaften von Ficoll® [1]. Während die Erythrozyten, bedingt durch ihre hohe Dichte, die Ficoll-Phase durchwandern und ein Sediment bilden, sammeln sich die Lymphozyten, Thrombozyten und Monozyten an der Plasmagradientsphase und können angereichert und direkt in nachfolgenden Experimenten eingesetzt werden.

Während der Entwicklungsphase wurden verschiedene Software-Varianten für die Centrifuge 5702 im Hinblick auf ihre Eignung für diese Anwendung untersucht.

Material und Methoden

Die neuen Software-Varianten wurden in einer Centrifuge 5702 getestet. Da das größere Benchtop-Modell Centrifuge 5810 mit Ausschwingrotor A-4-44 und entsprechenden Adaptern für 50 mL konische Gefäße bei dieser Anwendung nachweislich gute Ergebnisse liefert, wurde dieses Gerät als Referenzmodell eingesetzt. Die Centrifuge 5810 verfügt über zehn Beschleunigungs- und Bremsrampen, wobei für diese Studie die niedrigste Stufe (0) ausgewählt wurde.

Die Isolation von humanen mononukleären Zellen wurde in 50 mL konischen Gefäßen mit Hilfe einer Biocoll Separationslösung durchgeführt. Um die Qualität der Separation in diesem Experiment zu bewerten, wurde zunächst optisch kontrolliert, ob eine definierte Interphase mit klar abgegrenzten Phasenübergängen sichtbar war. Nachfolgend wurde die Anzahl der Zellen pro Phase gezählt, um den Separationsprozess im Hinblick auf Quantität zu verifizieren.

1. 10 mL Biocoll Separationslösung (enthält Ficoll® 400, GE Healthcare) werden bei Raumtemperatur in ein 50 mL konisches Gefäß pipettiert.
2. Humanes Blut wird 1:2 mit HBSS (Hanks balanced salt solution, Invitrogen®) verdünnt.
3. Die Ficoll-Phase wird mit 35 mL verdünntem Blut überschichtet. Hierbei ist dringend zu beachten, dass Blut und Biocoll nicht vermischt werden.

4. Zentrifugation für 30 min bei 440 x g mit ein- bzw. ausgeschalteter Soft Funktion (Centrifuge 5702, Rotor A-4-38, Adapter 5702 734.004 für konische 50 mL Reaktionsgefäße).
5. Optische Analyse der entstandenen Gradienten mit Hilfe einer Digitalkamera.
6. Sodann den Überstand aus HBSS/Thrombozyten/Blutplasma vorsichtig bis auf ca. 1 cm oberhalb des MNC-Ringes abpipettieren.
7. Die MNCs werden mit Hilfe einer 10 mL Pipette sorgfältig in ein frisches 50 mL Gefäß überführt. Alle Schritte werden auf Eis durchgeführt, und es werden nicht mehr als 20 mL pro Gefäß bearbeitet.
8. Die abgenommenen MNCs werden mit HBSS auf 50 mL aufgefüllt. Das Gemisch wird gründlich geschüttelt und anschließend bei eingeschalteter Bremsfunktion zentrifugiert (10 min bei 440 x g).
9. Nach Abpipettieren des Überstandes wird das Pellet in 1 mL HBSS resuspendiert und Schritt 8 (Zentrifugation) wird wiederholt.
10. Abschließend wird der Überstand abgenommen und die Zellen werden in 5 mL Kulturmedium resuspendiert. Die Zellen werden gezählt (Neubauer Zählkammer) und deren Größe bestimmt. Zu diesem Zweck werden 50 µL der Zellsuspension mit 10 mL Zählflüssigkeit (Isoton II, Beckmann Coulter) vermischt und in einem Coulter Channelyzer 256 (Beckmann Coulter) analysiert.

Ergebnisse und Diskussion

Die Qualität der Phasentrennung wurde optisch ausgewertet und dokumentiert. Im Anschluss wurde dieses Ergebnis in Hinblick auf Quantität, d.h. durch Bestimmung der Zellzahl, verifiziert.

Es wurde darauf geachtet, dass jede originäre Probe für mindestens vier Gradienten eingesetzt werden konnte: zwei in der Centrifuge 5702 und zwei im Referenzmodell Centrifuge 5810.

Optimierte Isolierung mononukleärer Zellen mittels softwaregesteuerter Beschleunigungs- und Bremsrampen in der Zentrifuge 5702

Zuerst wurde die Zentrifuge 5702 für alle nötigen Zentrifugationsschritte mit eingeschalteter Bremsfunktion verwendet. Trotz vorsichtiger Überschichtung des Ficoll mit der Blut-Medium-Mischung (s. Material und Methoden) war eine Isolierung der mononukleären Zellen nicht möglich, da kein MNC-Ring detektiert werden konnte. Im nachfolgenden Schritt wurde eine Soft Funktion eingesetzt, welche eine leicht verlangsamte Beschleunigung sowie ein ungebremstes Auslaufen des Rotors ermöglichte.

Die optische Kontrolle zeigte, dass sich ein deutlicher Gradient gebildet hatte (Abb. 1a). Ein Vergleich mit den in der Zentrifuge 5810 erhaltenen Ergebnissen zeigte, dass der in der Referenzzentrifuge gebildete Gradient deutlich ausgeprägter war (Foto nicht gezeigt). Dieser optische Eindruck wurde durch die Zellausbeute, zusammengefasst in Tabelle 1, bestätigt.

Eine signifikante Verbesserung der Zentrifugationsergebnisse mit der Zentrifuge 5702 wurde durch den Einsatz eines weiterentwickelten Software-Programms (Variante II) erzielt. Diese Variante ermöglicht eine sanfte Beschleunigung sowie sanftes, elektronisch gesteuertes Bremsen. Ein Vergleich der beiden Software-Varianten zeigt, dass der Ring aus mononukleären Zellen nach Auftrennung in der Zentrifuge mit der verbesserten Variante II wesentlich deutlicher ausgeprägt ist (Abb. 1 b), und dass die resultierende Zellausbeute höher ausfällt (Tabelle 1) als mit der ersten Variante I.

In einem dritten Schritt wurde die Software weiter optimiert, um die Bremszeit so kurz wie möglich zu gestalten, ohne die erfolgreiche Phasenseparation zu beeinträchtigen. Mit dieser Variante III sind sowohl die Gradientenformation (Abb. 1c) als auch die Zellausbeute mit der Variante II vergleichbar.

Zusätzlich ermöglicht sie jedoch deutlich kürzere Bremszeiten (ca. 60 s verglichen mit ca. 180 s der Variante II). Auf diese Weise war es möglich, eine optimierte Software zu entwickeln und zu implementieren, welche eine maximale Ausbeute an lebensfähigen MNCs bei gleichzeitiger Reduzierung der für das Abbremsen des Rotors benötigten Zeit erlaubt.

Download der kompletten Application Note 464:



Literatur

[1] Böyum, A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand.J.Lab.Clin.Invest* 1968; 21:77-89.

Zentrifuge	Centrifuge 5702 Software I	Centrifuge 5702 Software I	Centrifuge 5702 Software II	Centrifuge 5810 (Referenz)
Programm für Ficoll-Gradienten				
rpm; rcf	1.700 rpm; 440 x g	1.700 rpm; 440 x g	1.700 rpm; 440 x g	1.600 rpm; 440 x g
Zeit (gesamt)	30 min	30 min	30 min	30 min
Bremse, Beschleunigung	Max.	Soft Funktion	Soft Funktion	Min. (Rampe 0/0)
Waschprogramm				
rpm; rcf	1.700 rpm; 440 x g	1.700 rpm; 440 x g	1.700 rpm; 440 x g	1.600 rpm; 440 x g
Zeit (gesamt)	10 min	10 min	10 min	10 min
Bremse, Beschleunigung	Max.	Max.	Max.	Max. (Rampe 9/9)
Anzahl MNCs	Nicht detektierbar	152 Millionen	168 Millionen	172 Millionen

Tabelle 1: Beschreibung und Ergebnisse der Experimente zur Bestimmung der optimalen Soft Funktion

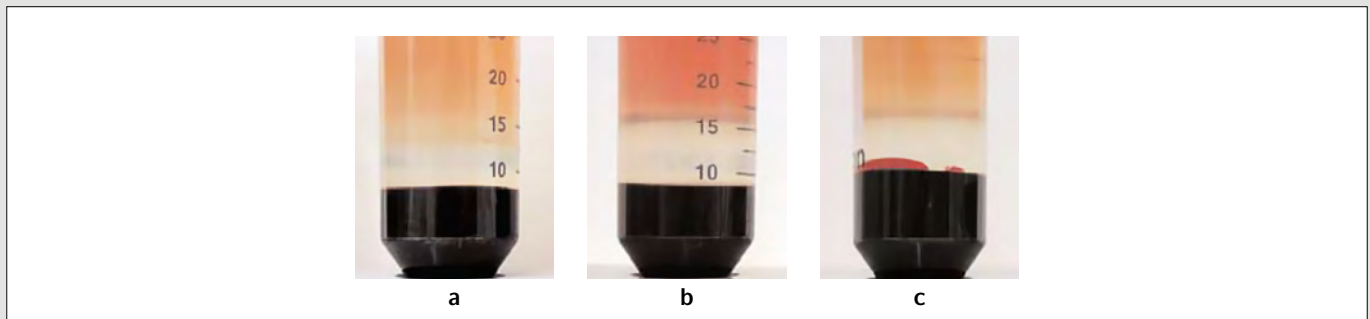


Abb. 1a-c: Vergleich der Gradientenformation in der Zentrifuge 5702 mit eingeschalteter Soft Funktion, Software-Variante I (a); Software-Variante II (b); Software-Variante III (c)

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.

Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) des humanen Apolipoprotein L1 Gens

NINA EGELER, STEFFEN RIETHMÜLLER, ARORA PHANG, EPPENDORF SE, HAMBURG

Zusammenfassung

Die Corona-Pandemie bewirkte einen Silberstreifen am Horizont der Molekularbiologie: Sie führte zu Verbesserungen bei zahlreichen Methoden, insbesondere bei dem Nachweis von Nukleinsäuren. Die „Loop-Mediated Isothermal Amplification“ (LAMP) ist zu einer beliebten Detektionsmethode herangereift, da sie einfach und schnell durchzuführen ist. Mit dem WarmStart® Colorimetric LAMP 2X Master Mix (New England Biolabs®) konnte das humane Apolipoprotein L1 Gen (*ApoL1*) in nur 30 min mit Hilfe des Eppendorf ThermoMixer® C und des Eppendorf ThermoTop® detektiert werden. Darüber hinaus konnte durch Verlängerung der Inkubationszeit auf 45 min auch die mit 0,1 ng sehr geringe Menge an Template-DNA problemlos nachgewiesen werden.

Einleitung

Die Amplifikation von Nukleinsäuren stellt ein weitverbreitetes Werkzeug zur Detektion verschiedener Organismen und Pathogene dar. Neben den allgemein eingesetzten PCR-basierten Methoden bietet die isothermale Amplifikation eine Alternative zum Nachweis von Nukleinsäuren. Vor Kurzem, bedingt durch die Corona-Pandemie, stieg das Interesse an der isothermalen Amplifikation rasant an. Einige Methoden der isothermalen Amplifikation sind bereits als PoC-NAT-Tests (Point-of-Care Nukleinsäureamplifikationstechnik) für das Coronavirus im Einsatz. Eine dieser Methoden ist die Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP). LAMP wurde im Jahr 2000 von Notomi *et al.* entwickelt [1].

Während dieser Reaktion entsteht durch die Primer-Hybridisierung eine hantelförmige DNA-Schleife. Die Amplifikation wird von Polymerasen mit Strangverdrängungsaktivität durchgeführt. Dies eliminiert die Notwendigkeit eines zusätzlichen Denaturierungsschritts und führt zu einer kontinuierlichen Amplifikation der DNA unter isothermen Bedingungen. Durch den Zusatz von Reverser Transkriptase zu dem Assay kann LAMP ebenfalls zum Nachweis von RNA eingesetzt werden.

Erfolgreiche LAMP-Reaktionen können zeitgleich mittels Trübungsmessung oder mit Hilfe von kolorimetrischen Farbstoffen beobachtet werden, ohne einen zusätzlichen zeitaufwändigen Schritt wie z.B. die Gelelektrophorese heranziehen zu müssen. In dieser Application Note stellen wir den Nachweis des humanen *ApoL1* Gens mit Hilfe von zwei verschiedenen Polymerasen dar sowie die nachfolgende Untersuchung der Sensitivität.

Material und Methoden

Bereiche vom *ApoL1* Gen wurden in 0,1 mL Eppendorf PCR Tube Strips aus humaner genomischer DNA (Promega®) amplifiziert. Siehe vollständige Application Note 454 für ausführliche Informationen*.

Beurteilung der Sensitivität

Um zu beobachten, wie schnell geringere Mengen an Template-DNA detektiert werden können, wurde die Template-DNA ver-

dünnt, und die Farbe des kolorimetrischen Farbstoffes wurde zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht. Die eingesetzten Proben enthielten den WarmStart Colorimetric LAMP 2X Master Mix mit 0,001 ng, 0,01 ng, 0,1 ng, 1 ng, 10 ng, 50 ng oder 100 ng Template-DNA. Die Proben wurden bei 65°C auf dem Eppendorf ThermoMixer C mit dem ThermoTop für bis zu 60 min inkubiert (s. vollständige Application Note 454).

Beurteilung der LAMP-Methode

Um die LAMP-Methode zu bewerten, wurde ein zweites Experiment mit Hilfe eines anderen Reaktionskits (Isothermal Master Mix, OptiGene) ohne kolorimetrischen Farbstoff durchgeführt. Die LAMP-Reaktionen, welche den Master Mix und 50 ng der Template-DNA enthielten, wurden bei 65°C auf dem Eppendorf ThermoMixer C mit ThermoTop für 45 min inkubiert. Zusätzlich wurde zum Vergleich mit Hilfe des Mastercycler® X50a eine PCR durchgeführt (s. vollständige Application Note 454).

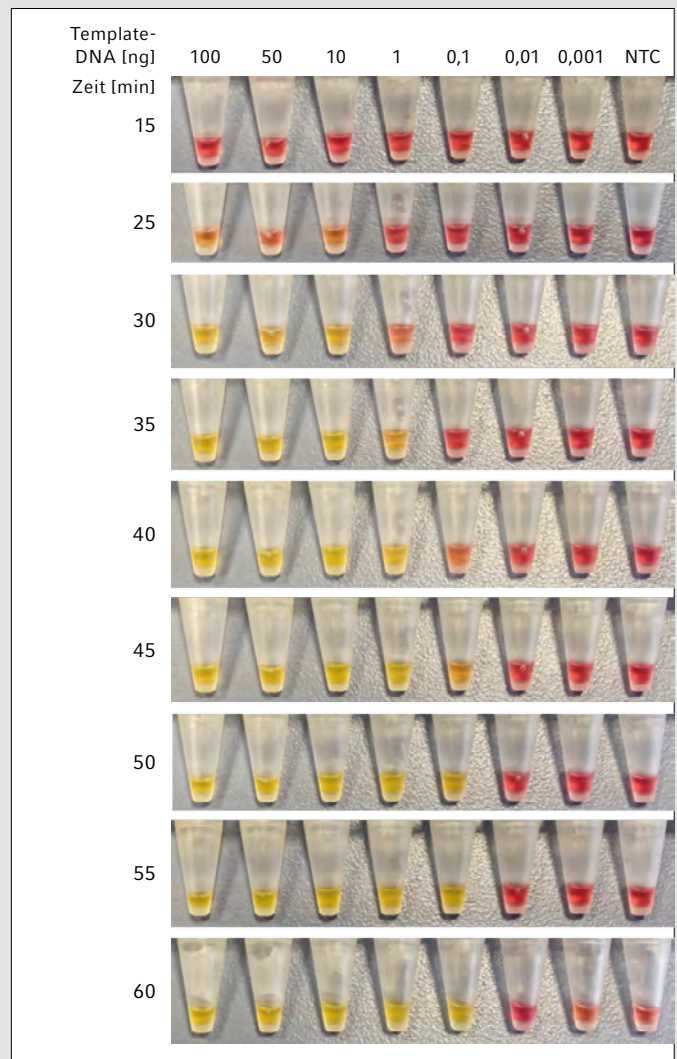


Abb. 1: LAMP-Reaktionen mit Verdünnungen der Template-DNA nach verschiedenen Inkubationszeiten

Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) des humanen Apolipoprotein L1 Gens

Ergebnisse und Diskussion

Beurteilung der Sensitivität

Der in dem WarmStart Colorimetric LAMP 2X Master Mix enthaltene kolorimetrische Farbstoff erlaubte eine unmittelbare Identifizierung der amplifizierten DNA während der Inkubation der LAMP-Reaktion. Dies ermöglichte wiederum eine qualitative Beurteilung der Sensitivität des LAMP-Assays. Wie erwartet benötigte die Reaktion mit geringerer Menge an Template-DNA länger für den Farbumschlag (Abb. 1).

Die Proben mit 100 ng, 50 ng und 10 ng Template-DNA zeigten einen Farbumschlag nach 25 min. Nach 30 min waren diese Reaktionen vollständig gelb, was auf eine Detektion des *ApoL1* Gens hinwies.

Unter den getesteten Bedingungen zeigte dieses Protokoll eine Sensitivitätsgrenze von 0,1 ng Template-DNA (siehe gelbe Färbung nach 45 min). Der Zeitraum für eine gültige Bewertung wurde auf 60 min festgelegt. Also dem Zeitpunkt, an welchem die Kontrolle ohne Template (No Template Control; NTC) begann, einen Farbumschlag zu zeigen und somit signalisierte, dass dieser Assay bei weiterer Inkubation nicht mehr verlässlich war.

Beurteilung der LAMP-Methode

Um einzuschätzen, inwieweit sich die LAMP-Methode als DNA-Nachweis eignet, wurde die Amplifikation des *ApoL1* Gens mit Hilfe eines weiteren Reaktionskits ohne kolorimetrischen Farbstoff wiederholt. Die Ergebnisse, Bearbeitungszeiten und Kosten wurden mit der PCR-Methode verglichen, um die entsprechenden Vor- und Nachteile zu analysieren.

Der Nachweis des *ApoL1* Gens konnte mit Hilfe des Isothermal Master Mix erfolgreich durchgeführt werden, was an dem charakteristischen Schmier auf dem Gel (Abb. 2A) zu erkennen ist. Die Reaktion dauerte 45 min. Im Vergleich dazu benötigte die PCR-Methode zum Erhalt einer positiven DNA-Amplifikation des ~200 bp Amplicons (Abb. 2B) 105 min. Fast-PCR-Reagenzien und ein optimiertes PCR-Protokoll können die Gesamtlaufzeit weiterhin verkürzen. Allerdings ist ein optimiertes LAMP-Kit, vorgemischt mit einem preisgünstigen kolorimetrischen Farbstoff (z.B. Hydroxynaphtholblau), wahrscheinlich preiswerter und mit Sicherheit schneller, da keine zusätzlichen Gerätschaften benötigt werden und ebenfalls der Schritt der Gelelektrophorese eingespart wird.

Fazit

Es konnte gezeigt werden, dass sich die LAMP-Methode zur Detektion von DNA eignet, da das *ApoL1* Gen nach 30 min detektiert werden konnte. Zusätzlich weist diese Methode eine hohe Sensitivität von bis zu 0,1 ng Template-DNA auf sowie eine schnelle Reaktionszeit. Außerdem kann die Endpunkt-Visualisierung der LAMP-Reaktionen mit Hilfe einfacher kolorimetrischer Detektion durchgeführt werden. Somit ist der zusätzliche Schritt einer Gelelektrophorese überflüssig, was dem Anwender diesen Schritt und die damit einhergehende Zeit, im Vergleich mit der Endpunkt-PCR, erspart.

Zusammengefasst stellt die LAMP-Methode eine schnelle und einfache Alternative zur Detektion von Nukleinsäuren dar, welche sowohl auf einem Thermocycler als auch auf einem Eppendorf ThermoMixer C durchgeführt werden kann.

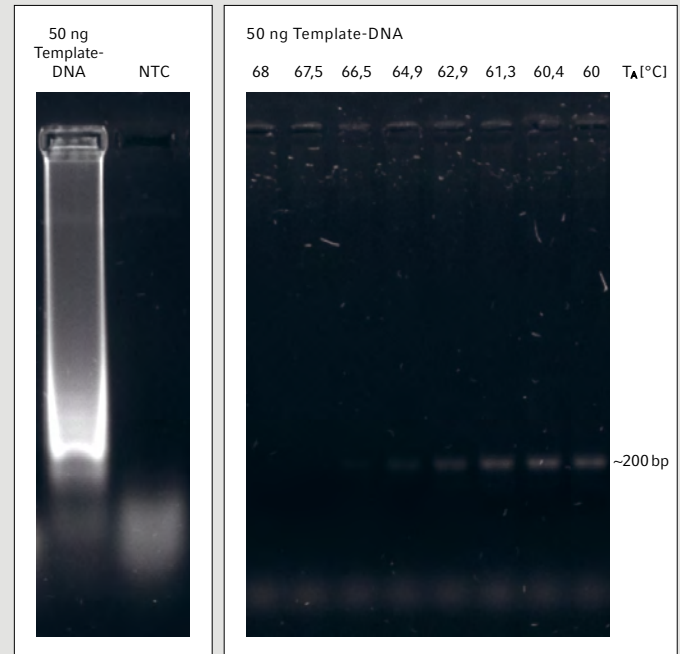


Abb. 2: (A) Ergebnisse der bei 65°C und mit Hilfe des Isothermal Master Mix ohne kolorimetrischen Farbstoff durchgeführten LAMP-Reaktion. Die Probe mit 50 ng Template-DNA sowie die NTC wurden auf ein 1,5% Agarosegel aufgetragen. (B) Die PCR mit 50 ng Template-DNA zeigt die erfolgreiche Amplifikation bei ca. 60–65°C Anlagerungs-Temperatur (T_A)

*Die vollständige Application Note 454 hier herunterladen:



Literatur

[1] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N & Hase T (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28 (12).

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.

HANAË KÖNIG, EPPENDORF SE

Vorhang auf für die akademische Forschung: „Your Work Matters“

In unserer aktuellen Initiative „Your Work Matters“ bieten wir Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern aus der akademischen Forschung nicht nur die Möglichkeit, sich und ihre Projekte zu präsentieren. Unsere Experten geben hier auch Tipps zu Themen wie Effizienzsteigerung oder Zeitersparnis und vermitteln technologisches Hintergrundwissen. Ein Forum lädt zum Meinungs austausch zu Laborfragen ein, und auch für Unterhaltung und Spaß ist gesorgt!



Jeder, der in der akademischen Forschung arbeitet, leidet unter ähnlichen Bedingungen: Auf Studium oder langwierige Ausbildung folgen lange Arbeitszeiten, Wochenendarbeit und geringe Entlohnung, verbunden mit viel Frust und häufig geringer Wertschätzung der Arbeit. Die eigene Arbeit und die Forschungsergebnisse der Arbeitsgruppe zu präsentieren, unterliegt langwierigen Review-Prozessen in einem steten Kampf um gute Journals. Bewerbungen, um auf Konferenzen zu sprechen und das eigene Poster präsentieren zu dürfen, beschränken sich auf die rein wissenschaftlichen Ergebnisse – doch wo ist der Mensch dahinter und das, was ihn antreibt?

Your Project Matters

Eine Plattform, auf der man sich, seine Arbeitsgruppe und die eigene Forschung frei, offen und persönlich präsentieren kann, fehlte bislang. Mit „Your Project Matters“ geben wir akademischer Wissenschaft jetzt Ihr Gesicht und Ihre Stimme und zeigen Ihre Forschung im Rahmen eines Interviews. Dazu möchten wir von Ihnen wissen, was Sie dazu bewegt hat, in die Wissenschaft zu gehen und bei Ihrem Thema am Ball zu bleiben. Wie motivieren Sie sich, Ihre Mitarbeitenden und Kolleginnen und Kollegen, immer weiterzumachen, in der Hoffnung, die

Lebensbedingungen der Menschen und auch der Tiere zu verbessern, Neues zu entdecken und die Welt für die Zukunft zu rüsten?

Möchten auch Sie Ihre Geschichte erzählen? Dann bewerben Sie sich jetzt!



Austausch und Vernetzung

Zusätzlich können Sie in einem Forum Ihre Meinung zu Fragen rund um den Laboralltag abgeben und erfahren, was andere (angehende) Forschende beschäftigt. Manchmal fehlt nur ein kleines Puzzleteil zum großen Ganzen. Wir sind jedenfalls überzeugt, dass die Vernetzung in einer offenen Forschungswelt essentiell ist, um Synergien global zu nutzen. Nur Hand in Hand können wir gemeinsam die Zukunft gestalten!

Das Laborleben effizienter und leichter gestalten

Forschungsgelder einzutreiben, um Ressourcen aufzustocken oder Konferenzteilnahmen zu ermöglichen, erfordert das Schreiben vieler Anträge. Doch woher die Zeit nehmen? Unsere Experten unterstützen Sie bei der effizienteren Nutzung des vorhandenen Equipments, bei der Optimierung von Experimenten oder der Auswahl des passenden Geräts für eine möglichst breite Anwendung. Unsere Videos, Webinare und Fachartikel sollen Ihnen das Laborleben leichter machen und den Weg aufzeigen zu mehr Zeitersparnis, mehr Effizienz und weniger Frust aufgrund von Rückschlägen bei Versuchen.

Erfahren Sie mehr unter www.eppendorf.com/academia

Nachhaltigkeitsbericht 2021: jetzt downloaden

„Die Lebensbedingungen der Menschen verbessern“ – diesen Vorsatz formulierten die Gründer von Eppendorf, Dr. Heinrich Netheler und Dr. Hans Hinz, schon 1970 als zukunftsweisende Leitlinie für unser Unternehmen. Um die Ziele unserer Firmengründer zu erfüllen, hat sich seither einiges getan. Und so berichten wir rund 50 Jahre später im ersten Nachhaltigkeitsbericht der Eppendorf Gruppe transparent darüber, was wir heute tun, um diesen Auftrag zu erfüllen.

Die Herstellung von Produkten jeglicher Art, auch solcher, wie wir sie produzieren, nimmt Einfluss auf die Umwelt und das Klima unserer Erde. Eppendorf hat sich zum Ziel gesetzt, die CO₂-Emissionen so weit wie möglich zu senken. Dies mündet in unserem selbstgesteckten und ehrgeizigen Ziel, hier bis 2028 neutral zu werden. Die in weltweit nahezu allen Fertigungsstandorten bereits vollzogene Umstellung auf 100% erneuerbaren Strom aus externen Quellen war ein wichtiger Schritt hierzu.

Unsere Nachhaltigkeitsaktivitäten sind eingebettet in vier strategische Leitthemen: „Klimawandel“, „Natürliche Ressourcen“, „Social Compliance“ und „Soziales Wohlergehen“. Auf dieser Basis möchten wir als Eppendorf im Ressourcenschutz eine branchenweite Führungsrolle übernehmen. Als weiteren Schritt

haben wir 2022 den „United Nations Global Compact“ (UNGC) unterzeichnet, wodurch wir uns als Teil dieses globalen Netzwerks verpflichten, auf der Grundlage der zehn Prinzipien des UNGC zu Menschenrechten, Arbeitsnormen, Umwelt & Klima und Korruptionsprävention verantwortungsvoll zu handeln.

Dass wir bei Eppendorf das Potenzial dazu haben, Dinge zum Besseren zu verändern, verdanken wir vor allem unseren fast 5.000 Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, die weltweit mit Engagement, Flexibilität, Lern- und Leistungsbereitschaft für die Eppendorf Gruppe tätig sind. Im Sinne unserer Kunden ist es uns wichtig, weiterhin all unser Wirken nachhaltig zu gestalten. Bleiben Sie neugierig und erwarten Sie auch in der Zukunft viel von uns. Wir werden Sie nicht enttäuschen!

The infographic features a light blue background with a white winding path that connects four key sustainability areas. Each area is represented by a set of icons and a text label: 'Climate Change' (with icons of a factory, trees, and a bar chart), 'Natural Resources' (with icons of water waves, a target, and a tree), 'Social Compliance' (with icons of a globe, a person with a lightbulb, and a sun), and 'Social Well-Being' (with icons of hands, a recycling symbol, and a tree). The Eppendorf logo is positioned in the top right corner of the infographic.

Eppendorf
Nachhaltigkeitsbericht 2021

Mehr Informationen zur Nachhaltigkeit bei Eppendorf:
www.eppendorf.com/sustainability

Nachhaltigkeitsbericht 2021:
jetzt herunterladen



ANN-CLAIRE FOETSCH, ELABNEXT EPPENDORF GROUP, NIEDERLANDE

Ist auch Ihr Labor zukunftssicher?

Die Verlockung, ein neues Tool zur Digitalisierung von Labordaten auszuprobieren, ist groß und mag kurzfristig auch von Erfolg gekrönt sein. Vieles geht schneller von der Hand, manch tägliche Arbeit lässt sich besser meistern. Um Prozesse und neue Arbeitsweisen jedoch langfristig erfolgreich zu etablieren, ist eine ganzheitliche Integration zu empfehlen. Es geht um nichts weniger als die Zukunftssicherung Ihres Labors, um erhöhte Probensicherheit und gesteigerte Effizienz.



Neben der Option zur Geräteüberwachung und Alarmbenachrichtigung lassen sich mit der VisioNize Lab Suite auch die täglichen Laboraufgaben planen, zuweisen und deren Ausführung dokumentieren. www.eppendorf.com/visionize

Die Vermeidung von Daten- und Probenverlust sowie gesteigerte Effizienz sind wichtige Kriterien bei der Einrichtung eines neuen Labors. Welche Instrumente werden für die tägliche Laborarbeit benötigt und welche technischen Spezifikationen sind relevant? Lassen sich die Laborgeräte in ein Gesamtsystem zur Überwachung einbinden? Wie sieht es mit der Dokumentation aus? Herausfordernde Fragen, denen sich auch **Kilian Guse**, PhD, CEO und Mitbegründer von GeneQuine Biotherapeutics, gestellt hat.

Im Fokus: Probensicherheit und Datenintegrität

Der Zugang zu Daten ist dank der zunehmenden Digitalisierung viel einfacher geworden. Biotechnologische Labore wie GeneQuine Biotherapeutics streben dabei nicht nur nach Probensicherheit, sondern auch nach Lösungen, die einen

flexiblen Datenzugriff ermöglichen und den kontinuierlichen Laborbetrieb sicherstellen.

Geringste Temperaturveränderungen können die Probenqualität beeinträchtigen. Neuste IoT*-Plattformen (*Internet of Things) mit der Möglichkeit zur Fernüberwachung von Geräten und Alarmbenachrichtigung sorgen nicht nur für mehr Probensicherheit – sie erhalten auch das Vertrauen in die Labordaten aufrecht und sichern einen reibungslosen Laborbetrieb.

Für Kilian Guse war einer der wichtigsten Aspekte bei der Laborgeräteanschaffung die Vernetzbarkeit und das Auslesen der Log-Daten. Dank des IoT-Ansatzes und der Konnektivität lassen sich heutzutage Laborgeräte unabhängig vom jeweiligen Hersteller vernetzen. Auf diese Weise können Temperaturschwankungen bei

Tiefkühlschränken oder Zellinkubatoren getrackt werden, und Geräteparameter können automatisch langfristig in einer Labor-Management-Plattform dokumentiert werden, z.B. mit der VisioNize® Lab Suite von Eppendorf.

So wird das Labor zukunftssicher

Guses Labor nutzt aktuell zur Fernüberwachung und -benachrichtigung die VisioNize Lab Suite. Die Konnektivität mit den unterschiedlichsten Eppendorf-Geräten macht sein Labor so zukunftssicher wie möglich. Auch Fremdgeräte können mittels Temperatursensoren an die Lab Suite angeschlossen werden.

„Wir müssen in der Lage sein, die Temperatur und andere Parameter unserer sensiblen Proben während der Langzeitlagerung zu überwachen und zu dokumentieren. VisioNize Lab Suite macht dies auf bequeme Art und Weise möglich“, so Kilian Guse.

YouTube™ Video mit **Kilian Guse** zum Einsatz der VisioNize Lab Suite bei GeneQuine:



EVELYN MÖBIUS, EPPENDORF SE

Wo Life Sciences auf Lifestyle treffen

Seit Ersterscheinen im Jahr 2016 widmet sich das Eppendorf Wissensmagazin „Off the Bench“ nicht nur vielseitigen Themen aus der weiten Welt der Wissenschaft und Forschung, sondern stellt auch die Menschen dahinter, ihre Geschichten und Perspektiven vor.

Was gibt es Neues und Überraschendes aus der Wissenschaft? Welche aktuellen Herausforderungen gilt es für die Gesellschaft zu bewältigen? Und wie kann jeder persönlich seine eigene Resilienz stärken, um den Alltag besser zu meistern?

Das Wissensmagazin „Off the Bench“ richtet sich gleichermaßen an Forschende sowie an ein wissenschaftsinteressiertes Publikum. Mit journalistisch-wissenschaftlicher Tiefe werden die fünf Rubriken in dem zweimal pro Jahr erscheinenden Magazin konzipiert.

Das „Dossier“ widmet sich aktuell relevanten Themen, z.B. Diversität und Inklusion oder dem seelischen Gleichgewicht.



Neuigkeiten aus der Welt der Forschung und interessante Erkenntnisse der Life Sciences finden sich unter „Inspiring Science“ und „Exploring Life“.

Für jeden Beitrag werden Expertinnen und Experten zu Rate gezogen, um der anspruchsvollen internationalen Leserschaft gerecht zu werden. Dazu gehört in jeder Ausgabe auch der Exkurs in eine weltweite Stadt – Unternehmungs- und Restauranttipps inklusive.

In „Kluge Köpfe“ werden spannende Interviews mit Persönlichkeiten aus Wissenschaft und Forschung geführt. Eppendorf selbst informiert in „Inside Eppendorf“ über Innovationen, neue Produkte und Services sowie Aktuelles aus dem Unternehmen.

Sie möchten mehr erfahren? Lesen Sie die „Off the Bench“ online, laden Sie das PDF herunter oder abonnieren Sie das gedruckte Magazin kostenfrei. Auf die nächste Ausgabe dürfen Sie sich im April 2023 freuen.

Mehr unter www.eppendorf.com/otb

Und hier geht es zur Ausgabe 02|22:



News

Auch Rockstars brauchen eine Auszeit



Arbeiten Sie in einem regulierten Umfeld? Oder sind Ihre Ergebnisse ausschlaggebend für kritische Entscheidungen? Dann sollten Sie darüber nachdenken, Ihre Pipetten regelmäßig zu warten. Schließlich sind dies die „Rockstars“ in Ihrem Labor und verdienen regelmäßige Auszeiten in einem ISO 17025 akkreditierten „Laborresort“.

Die Kalibrierung Ihrer Pipetten in einem ISO 17025 akkreditierten Kalibrierlabor beschert Ihnen stressfreie Audits und Vertrauen in Ihre Ergebnisse. Zu den Kriterien der ISO 17025 gehören eine Rückverfolgbarkeitskette für Messgeräte, Messunsicherheitswerte und anerkannte Qualitätsstandards. Die Serviceprozesse wurden umfassend von einer Regulierungsbehörde auditiert und die Messgeräte von einem weiteren akkreditierten Kalibrierlabor zertifiziert.

Wozu warten? Gönnen Sie Ihrer Pipette eine Auszeit in einem akkreditierten Laborresort.

Mehr dazu in unserem Online-Artikel!



SIMON PLATE, EPPENDORF SE

So frischen Sie Ihr Pipettier-Wissen auf

Pipetten gehören zu den Basis-Instrumenten im Labor und werden für eine Vielzahl von Anwendungen eingesetzt. Um stets das Beste aus Ihren Experimenten herauszuholen und reproduzierbare Ergebnisse sicherzustellen, sind die korrekte Auswahl und effiziente Verwendung Ihrer Pipettier-Systeme sowie die richtige Pflege entscheidend.



Pipetten werden im Labor für eine Vielzahl von Anwendungen eingesetzt. Umso wichtiger ist es, sein Wissen stets auf dem aktuellen Stand zu halten

Sind Sie Anfänger und möchten zum Pipettier-Profi werden? Oder wollen Sie Ihre Kenntnisse auffrischen?

Unsere Webinar-Serie „Pipetting Master Class“ zeigt ausführlich

- > wie Sie das geeignete Pipettier-System auswählen
- > wann und warum eine elektronische Pipette oder ein Pipettier-Roboter für Ihre Anwendung das Richtige sein könnte
- > wie Sie mit schwierigen Flüssigkeiten umgehen
- > was Sie bei der Wartung Ihres Pipettensets beachten sollten.

Unsere Liquid-Handling-Expertinnen und -Experten beleuchten jedes dieser Themen in separaten Episoden und geben praktische Tipps für Ihre tägliche Laborarbeit.



Die Webinare können Sie „on demand“, also ganz flexibel, zu einem Zeitpunkt Ihrer Wahl im Eppendorf Lab Channel anschauen.

Kurz und kompakt: unsere Videos

Für alle mit weniger Zeit stellen wir eine neue Video-Reihe mit Basiswissen zum Pipettieren und Dispensieren im Eppendorf YouTube™ Kanal bereit. Hier können Sie Ihr Wissen rund um das Liquid Handling im Labor mit 2–5 Minuten langen Videos auf den neusten Stand bringen.



News

Eppendorf Lab Channel: schon hereingeschaut?

Der Eppendorf Lab Channel ist eine virtuelle Plattform, auf der sich registrierte Teilnehmerinnen und Teilnehmer kostenlos Live- und On-Demand-Webinare sowie neue Produkt- und Anwendungsdemonstrationen ansehen können. Werfen Sie einen Blick über die Schultern der Eppendorf-Expertinnen und -Experten und lassen Sie sich von den Details und Einblicken in die Laborwelt inspirieren.

Stellen Sie Fragen und interagieren Sie mit unseren Experten, um neue Erfahrungen aus nächster Nähe zu sammeln. Möglich wird dies über die Chatfunktion während der Live-Streams. Unsere Referenten beantworten Ihre Fragen direkt im Live-Stream oder nach der jeweiligen Präsentation.

Der Eppendorf Lab Channel hält Ihr Wissen auf dem neusten Stand

Das Webinarangebot ist vielfältig. Es umfasst Themen wie Mikroinjektion, Zellkultur und PCR sowie Digitalisierung und Liquid Handling – als Einzelveranstaltung oder als mehrteilige Webinarserie.

Haben wir Ihr Interesse geweckt? Dann registrieren Sie sich jetzt unkompliziert und kostenlos auf www.eppendorf.com/labchannel



CORDULA RICHTER UND CAROLYN TAUBERT, EPPENDORF SE

Eppendorf-Preisträger auf Stippvisite in Hamburg



Kelly Nguyen, Christopher Zimmerman, Randall Platt

Es ist eine schöne Tradition, die Gewinner der Eppendorf-Forschungspreise nach Hamburg einzuladen. Diese Besuche waren seit 2020 auf Grund von COVID-19 nicht möglich, so dass wir im Sommer 2022 gleich drei Preisträger bei uns begrüßen konnten.

Christopher Zimmerman, USA, (*Eppendorf & Science Prize for Neurobiology 2020*), Randall Platt, Schweiz, (*Eppendorf Award for Young European Investigators 2020*) und Kelly Nguyen, Großbritannien, (*Eppendorf Award for Young European Investigators 2022*) erfuhren im Stammhaus in Hamburg und am Produktionsstandort für Verbrauchsartikel in Oldenburg Wissenswertes über die Geschichte unseres Unternehmens, die Herstellung unserer Produkte und die Menschen bei Eppendorf.

Wie in den Jahren davor gaben die drei Wissenschaftler interessierten Eppendorferinnen und Eppendorfern einen Einblick in ihre jeweiligen Forschungsgebiete. Zum Abschied erhielten die Gäste eine mit ihrem Namen gravierte Pipette, die sie bei ihren zukünftigen Arbeiten im Labor begleiten wird.

www.eppendorf.com/prize
www.eppendorf.com/award

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



<https://sites.northwestern.edu/kennedylab/ann/>

Ann Kennedy erhält Eppendorf & Science Prize 2022

Wir beglückwünschen Ann Kennedy, Ph.D., Assistant Professor an der Northwestern University, Chicago, USA, zum Gewinn des *Eppendorf & Science Prize for Neurobiology 2022*.

Wir reagieren unterschiedlich auf unsere Umwelt, je nach Gefühlen wie Hunger, Wachsamkeit oder Angst. Wie verfolgt das Gehirn diese Signale, und wie beeinflussen sie unsere Entscheidungen? In ihrem Labor arbeitet Ann Kennedy mit Experimentalforschern zusammen, um die Aktivität der hypothalamischen Neuronen zu beschreiben, die an der Kontrolle überlebenswichtiger Verhaltensweisen wie Aggression, Angst und Fortpflanzung beteiligt sind. Während die Neuronen in einigen Hypothalamuskernen eindeutig auf bestimmte Verhaltensweisen reagieren, zeigen andere Regionen nur eine schwache Korrelation mit den Handlungen der Tiere. Zusammen mit anderen Forschenden konnte Dr. Kennedy zeigen, dass ein Hypothalamuskern, der für Abwehrverhalten verantwortlich ist, eine anhaltende Aktivität aufweist, die den auslösenden Reiz lange überdauert. Diese Aktivität war erforderlich, um die Tiere in einem defensiven Motivationszustand zu halten. Sie zeigte weiter, wie die komplexen Reaktionen einzelner Neuronen auf Populationsebene zu einem niedrigdimensionalen Signal führten, dessen Intensität mit dem Grad der aggressiven Motivation der Tiere zunahm. Ihre Arbeit hilft uns zu verstehen, wie sich aus der Aktivität unseres Gehirns Motivationen und Emotionen ergeben.

Markenhinweise

Amazon® is a registered trademark of Amazon Technologies, Inc., USA. Ficol® is a registered trademark of GE Healthcare Bio-Sciences AB, Sweden. Invitrogen® is a registered trademark of Life Technologies Corporation, USA. New England Biolabs® and WarmStart® are registered trademarks of New England Biolabs, Inc., USA. Promega® is a registered trademark of Promega Corporation, USA. Repligen® and Xcell® are registered trademarks of Repligen Corp., USA. Vacutainer® is a registered trademark of Becton, Dickinson & Company, USA. Xampler® is a registered trademark of Cytiva Sweden AB, Sweden. YouTube™ is a trademark of Google, Inc., USA

Eppendorf®, the Eppendorf Brand Design, Eppendorf Research®, Eppendorf ThermoMixer®, Eppendorf ThermoTop®, Eppendorf Tubes®, Eppendorf twin.tec®, Eppendorf Xplorer®, epPoints®, LoBind®, Mastercycler®, Move It®, OptiTrack®, SnapTec®, and VisioNize® are registered trademarks of Eppendorf SE, Germany. DASbox® and DASGIP® are registered trademarks of DASGIP Information and Process Technology GmbH, Germany. Himac® is a registered trademark of Eppendorf Himac Technologies Co.

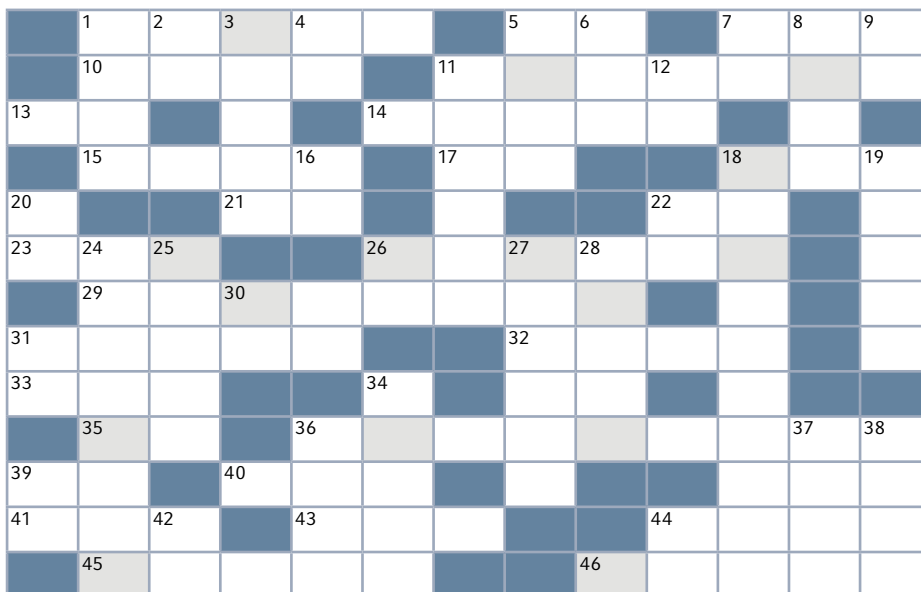
U.S. Design Patents are listed on <https://corporate.eppendorf.com/en/trademarks-patents>

Elektronische Pipette zu gewinnen

„ELABJOURNAL“ lautete die Lösung des Preisrätsels aus der BioNews Nr. 56. Der Hauptgewinn, eine Eppendorf Research® plus Move It® Mehrkanal-Pipette, ging an Christelle N., Luxemburg.

Viel Glück bei unserem neuen Rätsel!

Bringen Sie alle Buchstaben in den grau hinterlegten Feldern in die korrekte Reihenfolge und schicken Sie uns die richtige Antwort bis zum **30. Juni 2023**.



WAAGERECHT

- 1 Weiblicher Vorname
- 5 Längster Fluss Italiens
- 7 Gegenteil von contra
- 10 Vorname (männl./weibl.)
- 11 In Hotel oder großen Wohngebäuden tätig
- 13 Heimat der Lakers (Abk.)
- 14 Dieser Apparat zählt zu den Organellen eukaryotischer Zellen
- 15 Queen, sehr glamourös
- 17 Zwischen Wolfram und Osmium (chem. Symbol)
- 18 Legendäres deutsches Hard Rock- und Metal-Festival seit 1990 (Abk.)
- 21 Gegenteil von Yes
- 22 Mogadishu ist die Hauptstadt (ISO-Kürzel)
- 23 Nomen ... omen
- 26 Vervollständigt einen Eppendorf-Cycler
- 29 Analysiert Kriminalfälle

- 31 Gen Z-Slang für Streich, Scherz
- 32 Oper von Verdi
- 33 Namensbestandteil von Eppendorf PCR-Platten
- 35 Abu Dhabi ist die Hauptstadt (ISO-Kürzel)
- 36 Hier werden die Nobelpreise für Medizin, Physik u.a. verliehen
- 39 Weltweit größter Inselstaat in Südostasien (ISO-Kürzel)
- 40 Heimat des Zuckerhuts
- 41 Nicht ganz so trocken wie brut (franz. Begriff)
- 43 Einheit der Beleuchtungsstärke
- 44 Of ... and Men (Novelle von John Steinbeck)
- 45 Führt diverse Tätigkeiten automatisiert aus (engl. Begriff)
- 46 Segel- oder motorengetriebenes Boot

SENKRECHT

- 1 Chemisches Element mit dem Symbol Pb (engl. Begriff)
- 2 Element mit der Ordnungszahl 33 (chem. Symbol)
- 3 Städtisch
- 4 Radioaktives Erdalkalimetall (chem. Symbol)
- 5 Beste Startposition
- 6 Generische Top Level Domain, ursprünglich für Organisationen (chem. Symbol)
- 7 Mathematische Konstante
- 8 Stadt des Glückspiels
- 9 Das ist französisches Gold, oder? (fragt der Engländer)
- 11 In Gebäuden oder im Web zu finden
- 12 Leichtmetall, verwendet z.B. in Prothesen und Implantaten (chem. Symbol)
- 16 Asiatisches strategisches Brettspiel
- 18 Arbeitssüchtig
- 19 Diese Tubes schützen die Probe vor Licht
- 20 In Leuchtreklame verwendetes Edelgas (chem. Symbol)
- 22 Heimat Astrid Lindgrens (ISO-Kürzel)
- 24 Überträgt Krankheitserreger
- 25 Die nächste twin.tec-Generation
- 26 US-Bundesstaat an den Großen Seen (US-Postkürzel)
- 27 Das S in SAR
- 28 Kunstgriff, Manöver, Kniff
- 30 Engl. Präposition
- 31 Lissabon ist die Hauptstadt (ISO-Kürzel)
- 34 Dunkles, starkes Bier
- 36 Großer Speicher für z.B. Getreide
- 37 Schottisches Gewässer
- 38 ... and greet
- 39 Die Landeswährung heißt ISK (ISO-Länderkürzel)
- 42 Übergangsmetall mit Ordnungszahl 27 (chem. Symbol)
- 44 Sehr kurz für Mutter

Online teilnehmen unter www.eppendorf.com/bn-service oder die Lösung per E-Mail an 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 60 veröffentlicht.

1. Preis:

1 Eppendorf Xplorer® plus 8-Kanal-Pipette Ihrer Wahl

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)

Lösungshinweis für das Gewinnspiel BioNews Nr. 58:

R R A R

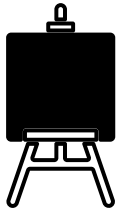
Einsendeschluss für das Gewinnspiel: **30. Juni 2023**. Online teilnehmen unter

www.eppendorf.com/bn-service oder die Lösung per E-Mail an bionews@eppendorf.de senden.

Informationen über die Verwendung Ihrer persönlichen Daten finden Sie unter www.eppendorf.com/gdpr

QUALITY CONTENT FOR THE GLOBAL SCIENTIFIC COMMUNITY

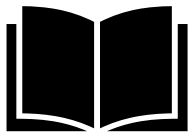
Multiple ways to stay informed on issues related to your research



Posters



Podcasts



Sponsored Collection Booklets



Advertorials



Webinars



Science
AAAS



Scan the code and start exploring the latest advances in science and technology innovation!

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