

# Информация по применению



## Расщепление клеток по технологии Microfluidizer®

### ВВЕДЕНИЕ

В разработке лекарств следующего поколения используются такие внутриклеточные материалы, как белки, органеллы, ДНК / РНК, ферменты и векторы, связанные с аденоассоциированным вирусом (AAV), которые имеются и / или выращиваются внутри клеток.

Для клеток, которые не выделяют данное внутриклеточное содержимое, жизненно важно лизировать клетку, чтобы высвободить содержимое. Однако среди такого разнообразия доступных методов расщепления клеток не всегда просто найти наиболее подходящий.

Важно достигать высоких скоростей разрыва, но в то же время не изменять естественные свойства внутриклеточных компонентов из-за ненужного повышения температуры или чрезмерных скоростей сдвига, которые будут отрицательно влиять на показатели производительности и активность белка.

К применяемому методу должны выдвигаться минимальные требования обслуживания и мойки, он должен быть простым в использовании и надежным. Он также должен приносить воспроизводимые и, в идеале, масштабируемые результаты. Также желательна гибкость в отношении объемов и типов клеток, подлежащих лизированию.

В данном документе сравниваются некоторые из наиболее часто используемых способов расщепления клеток, с учетом обозначенных критериев, а также приводятся отзывы авторитетных исследователей, которые имели возможность оценить разнообразие различных методик.



Масштабируемый M-110P

|   | Микрофлюидайзер  | Гомогенизатор  | Шаровая мельница   | Френч-пресс  | Соникация  |
|---|--|--|--|--|--|
| <b>Принцип работы</b>                   | Камера взаимодействия с неизменяемой геометрией и насосная система постоянного давления<br><br>Постоянный и сверхточный контроль скорости сдвига | Изменяемая геометрия клапана наряду с менее постоянным профилем давления.<br><br>Меньше контроля подачи энергии / меньше стабильности. | Цилиндрическая вращающаяся оболочка частично заполнена шариками, которые падают на измельчаемый материал.<br><br>Применяемые воздействия - удар и трение | Создание давления и его сброс управляется от ручного клапана<br><br>Скорость поворота клапана человеком определяет приложенную силу сдвига | Используется кавитация для создания сдвига – обычно он намного ниже, чем методы высокого давления<br><br>Увеличение показателей сдвига при более высоких температурах процесса |
| <b>Непрерывность</b>                    | Есть   | Есть   | Нет  | Нет  | Нет  |
| <b>Масштабируемость</b>                 | Есть   | Ограниченная   | Да   | Нет  | Ограниченная   |
| <b>Контроль оптимальной температуры</b> | Есть<br><i>(охлаждающие катушки или теплообменники)</i>  | Есть<br><i>(охлаждающие катушки или теплообменники)</i>  | Нет  | Нет  | Нет  |
| <b>Стерильность</b>                     | Есть   | Непостоянная   | Нет  |  |  |
| <b>Минимальный объем</b>                | 1мл  | 10 мл  | 1 мл   | 1 мл   | < 1мл  |
| <b>Постоянная скорость сдвига</b>       | Есть   | Нет  | Нет  | Нет  | Нет  |

## СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ

По сравнению с другими методами расщепления клеток, процессор Microfluidizer® обладает следующими преимуществами :

- простота использования
- простота очистки
- надежность
- быстрое время работы
- самые низкие требования к показателям давления
- эффективное охлаждение для высокого уровня
- производительности и активности
- стерильность
- повторяемость и масштабируемость
- может использоваться для различных объемов суспензии клеток и большого разнообразия типов клеток
- клиенты сообщают о снижении вязкости и плотности после обработки, что упрощает последующую обработку

## ИСТОРИИ УСПЕШНОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ КЛЕТОК

Приводим слова наших покупателей о технологии расщепления клеток Microfluidics:

### Проф. Томас Шварц, Массачусетский Институт Технологий (MIT) (США)

*“Я высоко оцениваю работу машины Microfluidizer® с точки зрения расщепления клеток. Она надежна, позволяет обрабатывать сотни литров различных клеточных суспензий, проблем с ней практически нет.*

*Мы с коллегами работали с 2-мя конкурирующими брендами подобного оборудования, но сейчас остановились исключительно на Microfluidics. По сравнению с другим производителем, это земля и небо. Выработка сложных, плохо растворимых белков намного выше после расщепления процессором Microfluidizer®.*

*Требования к техобслуживанию также сейчас намного ниже. При использовании конкурентного оборудования техобслуживание было постоянной проблемой, требовалось по несколько сервисных визитов в год. В целом, я рад, что перешел на работу с процессором LM20 Microfluidizer®.”*

### Д-р Свен Хенниг, доцент кафедры структурной химической биологии - зав. институтом рентгеновской кристаллографии, Амстердамский свободный университет, Нидерланды.

*“Раньше мы обрабатывали наши пробы бактерий ультразвуком. Только благодаря Микрофлюидайзеру для нас стало возможно лизировать пробы объемом от нескольких мл до нескольких сотен мл.*

*Кроме того, наши образцы больше не нагреваются во время лизиса клеток.*

*Мы рады, что у нас есть такой простой и эффективный способ расщепления клеток, так что лизис клеток теперь проходит без проблем”.*

### Йоханнес Рафф, доктор наук, Институт радиохимии в Научно-исследовательском институте Россендорф, Германия

Они использовали французский датчик давления, ультразвуковую установку, мельницу со стеклянными шариками и гомогенизаторы для разрушения различных бактериальных клеток, пока коллега не рассказал ему о процессоре для жидкостей с высоким сдвиговым усилием, который был бы гораздо более эффективным и простым в использовании.

Д-р Рафф протестировал процессор Microfluidizer® и сказал: *“Мы можем обрабатывать 200 мл раствора 1:1 непрерывно за 5-10 мин вместо постоянного повторного заполнения камер другого типа оборудования в течение 2-3 часов.*

*Microfluidizer® расщепляет 99% бактериальных клеток за 2-3 подхода против 5-10 подходов с использованием другого оборудования для расщепления клеток”.*

### Джеймс Райт, специалист по белку - Abcam Plc, Великобритания

*“Процессор LM20 Microfluidizer обеспечивает превосходный лизис по сравнению с традиционными методами разрушения клеток с эффективной системой для уменьшения закупорки.*

*Масштабируемость конструкции означает, что воздействие, оказываемое на клетки, не изменяется, если увеличивается объем пробы. Поэтому я могу быть уверен в том, что расширение моих лабораторных процессов не повлияет на качество пробы, время её обработки.*

*Благодаря цифровым элементам управления, можно просто и точно устанавливать давление в системе, по сравнению с альтернативными ручными процессорами, что снижает вероятность ошибок и увеличивает воспроизводимость процесса.*

*Особую ценность представляют процедуры углубленного обучения пользователей, простота эксплуатации и техобслуживания. Я с уверенностью провожу устранение неполадок и профилактические работы, нет необходимости связываться со службой поддержки.*

*Я рекомендую LM20 Microfluidizer в качестве основного оборудования для расщепления клеток”.*

## ИСТОРИИ УСПЕШНОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ КЛЕТОК

Приводим слова наших покупателей о технологии расщепления клеток Microfluidics:

### Д-р Петра Унгерер, начальник лаборатории, Школа биологических и химических наук при Университете Королевы Марии в Лондоне, Великобритания

*"Мы выбрали технологию Microfluidizer в качестве замены гомогенизатора высокого давления от другого производителя, который был ненадежным. С помощью него нам не удалось добиться достаточного лизиса наших жестких дрожжевых клеток даже после очень большого количества проходов..*

*Мы выбрали Микрофлюидайзер LM20 (рис 1) не только из-за его эффективного применения для лизиса клеток различного типа, но также ввиду простоты использования, поскольку этот параметр также важен для большинства регулярных пользователей.*

*Мы также оценили профессиональную техническую поддержку, которая была предоставлена местным представителем. Благодаря этому, мы смогли полностью ознакомиться с возможностями Микрофлюидайзера LM20"*



Рис 1: Технология Микрофлюидайзер LM20

### Д-р. Жульен Хибло, Институт медицинских исследований Общества Макса Планка, Хейдельберг, Германия

*" Микрофлюидайзер® позволяет достичь высоких результатов в производстве активного белка для биохимических и структурно-биологических исследований.*

*Мы используем Microfluidizer® для лизиса бактериальных клеток, мы выбрали его для работы со сложными белками или большими объемами культур. Оборудование простое в использовании и техобслуживании, которое всегда приносит желаемые результаты"*

### Д-р Майкл Чен, сооснователь и директор по работе с клиентами Nuclera

Nuclera - компания, занимающаяся синтетической биологией, разработкой синтеза ДНК следующего поколения и автоматизационной платформы, основанной на инженерных терминальных дезоксинуклеотидилтрансфераз (TdT) для производства библиотеки генов и геномов.

У компании уже есть 3 патента и долгосрочное видение проекта по созданию платформы синтеза ДНК, с помощью которой можно производить геномы по запросу.

Компания выбрала Microfluidizer LM20 (рис 1) для расщепления клеток, а также для высвобождения биомолекул, например белков и ферментов из клетки.

*"В процессе написания диссертации я работал с конкурентной системой для лизиса 100-500 мл E.coli более одного года. Затем я начал использовать машину Microfluidizer, и разница была налицо. Эффективность расщепления была выше, и было меньше проблем с блокировкой прибора в буфере для лизиса. Машина Microfluidizer помогла сделать удобнее обработку лизата E.coli, так что о производстве мне беспокоиться не пришлось"*