



«Лизируется более 90% клеток, метод РМ 100 гораздо более эффективен по сравнению с методом лизиса, осуществляемого в жидкой среде.»

Д-р Силия Плиссон-Частанг, LBME

Планетарная шаровая мельница  
PM 100

[www.retsch.ru/pm100](http://www.retsch.ru/pm100)

#### ПАРАМЕТРЫ

##### PM 100

Применение: тонкое измельчение, смешивание, гомогенизация, коллоидное измельчение, механическое легирование

Материал: мягкий, твердый, хрупкий, волокнистый - сухой или мокрый  
Исходный размер частиц\*: <10 мм

Конечная тонкость\*: < 1 мкм, для коллоидного измельчения < 0,1 мкм

\*в зависимости от материала и конфигурации оборудования

## Криогенное разрушение дрожжевых клеток по Протоколу Роута



### Университет Рокфеллера

Университет Рокфеллера был основан в 1901 году Джоном Д. Рокфеллером старшим как Рокфеллеровский Институт для медицинских исследований. Первый институт в США, деятельность которого была направлена на использование биомедицинских исследований для выявления причин заболеваний, сейчас является ведущим биомедицинским исследовательским центром в мире. Его учеными был внесен неоценимый вклад в медицину и биологию.

[www.rockefeller.edu](http://www.rockefeller.edu)



Лаборатория Майкла Роута в Рокфеллеровском Институте в Нью-Йорке впервые обратилась в компанию RETSCH в 2006 чтобы обсудить возможность использования планетарной шаровой мельницы РМ 100 для криогенного измельчения клеток в дрожжевых гранулах. Целью их эксперимента было изучение конструкции комплексов ядерных пор на стенках дрожжевых клеток. Решение использовать планетарную шаровую мельницу для этих экспериментов было основано на том, что с её помощью можно получить очень тонкий помол, что является важнейшей предпосылкой для глубокого анализа дрожжевых клеток. Частицы, имеющие размеры на субмикронном уровне способствуют большему выходу при последующей очистке белков.

Так как планетарная шаровая мельница не была разработана для криогенного измельчения, в Лаборатория Роута разработали специальный протокол для достижения высокого выхода (~90%) лизированных дрожжевых клеток. Протокол «Криогенное разрушение дрожжевых клеток (RETSCH PM 100)», разработанный в марте 2007 года, представлен на сайте лаборатории. В дополнение к протоколу сотрудники лаборатории также сняли видео, которое визуальное демонстрирует процесс ([www.retsch.com/rout-protocol](http://www.retsch.com/rout-protocol)).

На сегодняшний день Лаборатория Роута продолжает использовать планетарную шаровую мельницу для криогенного измельчения клеток дрожжей в рамках указанных исследований, а также для других исследований института. В результате этого сотрудничества компанией RETSCH было установлено 10 планетарных шаровых мельниц РМ100 в различных институтах США для использования их в рамках протокола Роута.

# Криогенное Разрушение дрожжей

Лизирование замороженных дрожжевых клеток с использованием планетарной шаровой мельницы РМ 100

- 1.) Всегда надевайте термозащитные перчатки.
- 2.) Наполните прямоугольную емкость на 1/4 жидким азотом.
- 3.) Предохладение. Погрузите в жидкий азот стальной размольный стакан, крышку, шары, контейнер с образцом.
- 4.) Предохладение закончено, когда жидкий азот перестает кипеть.
- 5.) Когда всё охлаждено засыпьте материал в стакан.
  - 20 мл - 50 мл: стакан 125 мл
  - 20 мл и менее: стакан 50 мл
- 6.) Взвесьте стакан с материалом и отрегулируйте противовес на машине.
- 7.) Если используете стакан 125 мл, требуется 7-11 20мм шаров.
  - 50 мл пробирка: 7-9 шаров
  - < 50 мл материала: 9-11 шаров
  - < 25 мл материала: 11 шаров
  - < 15 мл материала: используйте стакан 50 мл и 3 шара
- 8.) Убедитесь что в стакане не осталось жидкого азота чтобы избежать взрывоопасной ситуации
- 9.) Измельчение проходит в 8 циклов, каждый со следующими установками:
  - 400 об/мин
  - 3 мин
  - 1 мин реверсивное движение без пауз между режимами.(ВАЖНО: Вы ДОЛЖНЫ слышать движение шаров внутри стакана! Если шума нет, варьируйте количество шаров пока не услышите шум.)  
При использовании стакана 50 мл используйте следующие настройки:
  - 500 об/мин
  - 3 мин
  - 1 мин реверсивное движение без пауз между режимами.(ВАЖНО: Вы ДОЛЖНЫ слышать движение шаров внутри стакана! Если шума нет, варьируйте количество шаров пока не услышите шум.)
- 10.) Между всеми циклами стакан должен охлаждаться в жидком азоте. НЕ СНИМАЙТЕ КРЫШКУ (может привести к потере клеток)! Для охлаждения крышки полейте стакан жидким азотом. Не погружайте стакан в азот целиком, во избежание попадания жидкого азота в стакан, что также приведёт к потере клеток.
- 11.) По завершении 8 циклов извлеките образец шпательем. Если порошок налип на стенки, повторите один цикл на скорости 350 об/мин, 2 мин, 1 мин реверс, без паузы.
- 12.) Шары и стаканы можно очистить теплой водой и чистящим средством.
- 13.) Обычно при такой процедуре разрушается ~90% клеток. Хранить клетки можно при -80 °С.

## Генетические исследования во Франции

Не только в США планетарная шаровая мельница РМ 100 используется для криогенного разрушения клеток. В Университете Тулузы во Франции расположена **Лаборатория Эукариотической Молекулярной Биологии (LBME)**, которая также пользуется протоколом Роута и получает успешные результаты.

Исследования LBME сфокусированы на генетическом контроле проявления эукариотического генома в нормальном и патологическом контексте. Это фундаментальный научно-исследовательский проект: его цель состоит в том, чтобы понять молекулярные основы заболеваний, таких как, например, рак груди. Их исследования опираются на несколько моделей систем, от одноклеточных до целых организмов, от дрожжевых клеток до млекопитающих, включая первичные и трансформированные клеточные линии.



Д-р Селия Плиссон-Частанг с мельницей РМ 100

**Д-р Селия Плиссон-Частанг** из LBME работает на мельнице РМ 100 со 125 мл стаканами из нержавеющей стали и использует 7-11 размольных шаров диаметром 20 мм из того же материала для разрушения клеток. Следующий шаг - хроматографическая очистка частиц белка и после этого функциональный и структурный анализ с помощью электронного микроскопа и анализа изображений. **С помощью РМ 100 разрушается прим. 90 % клеток.**

Д-р Селия Плиссон-Частанг оценивает преимущества этого метода: «Мельница RETSCH РМ 100 позволяет обработать до 25 г образца за один этап. С учетом разрушения более 90% клеток, этот метод более эффективен по сравнению с протоколами лизирования в жидкой среде. Клетки обрабатываются при температурах от -80 °С при измельчении до -196 °С при охлаждении. Это предотвращает разрушение интересных нас рибонуклеопротеидных частиц выделяющимися ферментами, такими как протеазы и нуклеазы.»

## Криомельница RETSCH Cryomill

также отлично подходит для криогенного разрушения клеток

