


AUTORIN

Dr. Tanja Butt



Produktmanagerin


Retsch®
 Solutions in Milling & Sieving

 Retsch GmbH
 Retsch-Allee 1-5
 42781 Haan

 Telefon: +49 (0)2104/2333-178
 E-Mail: t.butt@retschede

www.retschede

Homogenisierung von zähen biologischen Sekreten oder Gewebeteilen in 5 ml single-use Gefäßen mit der Schwingmühle MM 400

Manchmal kann die Probenvorbereitung und Homogenisierung von biologischem Material ebenso zäh sein wie das Material selbst. So sind z. B. Gefäße wie die beliebten 2 ml single-use Gefäße von Eppendorf häufig nicht ausreichend, um die vollständige Probenmenge aufzunehmen. Das Material muss also aufgeteilt und später vereint werden, was einen zusätzlichen Arbeitsschritt bedeutet und gerade bei Routinearbeiten einen erheblichen zusätzlichen Zeitaufwand ausmacht. Es stehen zwar oft auch größere Mahlbecher, z.B. aus Stahl, zur Verfügung, die das Material vollständig aufnehmen können. Dieser Vorteil wird aber durch den notwendigen Reinigungsaufwand wieder relativiert.

Die Lösung für derartige Problemstellungen bieten die neuen 5 ml single-use Tubes von Eppendorf, denn sie bieten mehr Volumen, müssen aber nach erfolgter Probenvorbereitung keiner aufwändigen Reinigung unterzogen werden. RETSCH bietet für die Schwingmühle MM 400 jetzt einen Adapter an, mit dem bis zu 6 x 5 ml Eppendorf Tubes zeitgleich eingesetzt werden können.

Die Beschaffenheit biologischer Proben kann sehr unterschiedlich sein, z. B. sehr zähes Sputum von Mukoviszidosepatienten oder Gewebeproben von Leber, Lunge oder Tumoren. Am Beispiel dieser Proben wird nachfolgend der Einsatz der MM 400 mit den neuen Adaptern für die 5 ml single-use Tubes zur Homogenisierung erläutert.

Homogenisierung von sehr zähem Sputum

Das von Mukoviszidosepatienten abgehustete Sputum wird üblicherweise für die mikrobiologische Routinediagnostik, aber auch für Fragestellungen in der Forschung, homogenisiert. Die Homogenisierung lässt sich sehr gut in der Schwingmühle MM 400 durchführen, allerdings war bisher die Homogenisierung von mehr als 1 ml Sputum pro Patientenprobe nur unzureichend möglich. Wurde mit 2 ml Eppendorf Tubes gearbeitet, hatte das zwar den Vorteil der minimierten Kontaminationsgefahr, jedoch bestand der Nachteil des begrenzten Probenvolumens. Für die Probenaufbereitung in der Forschung wurde daher das sehr zähe und viskose Sputum in Portionen aufgeteilt und später wieder vereinigt, was bei teilweise infektiösem Material kein geeignetes Vorgehen darstellt. Eine andere Möglichkeit der Verarbeitung ist die Homogenisierung in 5 ml Stahlmahlbechern, wobei das Sputum nicht aufgeteilt werden musste, die Mahlbecher jedoch anschließend einer gründlichen Reinigung unterzogen wurden.



Abb. 1: Der neue Adapter für 5 ml Reaktionsgefäße erleichtert die Aufbereitung biologischer Proben in der Schwingmühle MM 400

Frau Professor Kahl und Frau Deiwick vom Universitätsklinikum Münster untersuchen unter anderem Sputum von Mukoviszidosepatienten, die an chronisch rekurrenden Atemwegsinfektionen leiden. Der Forschungsschwerpunkt der AG Kahl besteht in der Untersuchung der Persistenz und Adaptation des wichtigen humanpathogenen Erregers *Staphylococcus aureus*, der aus den Atemwegen der Mukoviszidosepatienten nachgewiesen wird. Dazu wird das Sputum homogenisiert und für die Routinediagnostik sowie für weitere Fragestellungen wie Mikrobiom-, Proteom- und Metabolomuntersuchungen aliquotiert. Daher muss das Sputum möglichst homogen vorliegen, damit alle Untersuchungen mit vergleichbaren Proben durchgeführt werden können. **Die Homogenisierung erfolgt in Münster mit der Schwingmühle MM 400 und dem Adapter für 5 ml Reaktionsgefäße.** Je nach Viskosität des Sputums werden 500 bis maximal 3000 µl mit 2 - 3 Kugeln aus Zirkondioxid mit 5 mm Durchmesser bei 30 Hz für mindestens 1 min 30 sec bis maximal 2 min 30 sec homogenisiert. Anschließend wird das Sputum für die unterschiedlichen Untersuchungsgänge aufgeteilt. Die Homogenisierung in der MM 400 liefert für die meisten Sputen gute Ergebnisse. Da mittels der 5 ml Reaktionsgefäße das gesamte Probenvolumen in einem Arbeitsgang **homogenisiert wird, bedeutet die neue Größe des Gefäßes eine erfreuliche Erleichterung und Beschleunigung des Arbeitsvorganges, wobei gleichzeitig der Umgang mit dem potentiell infektiösen Material deutlich minimiert wird.**

Homogenisierung von Lebergewebe

Gewebeproben wie Lunge, Leber oder Tumore werden z. B. in der biologischen Grundlagenforschung, Toxikologie, Biomedizin, Pharmakologie, Molekular Diagnostik und vielen weiteren Bereichen routinemäßig homogenisiert und untersucht. Auch hier erlebt der Anwender die gleichen Probleme wie bei der Homogenisierung von zähem Sputum. Die Probenmenge ist oft zu groß für die klassischen 2 ml Reaktionsgefäße, also bleibt nur das Aufteilen und spätere Vereinigen der Probe oder der Griff zu größeren Mahlbechern, die nach Gebrauch gereinigt und dekontaminiert werden müssen. Auch hier sind die neuen 5 ml single-use Gefäße von Eppendorf in Kombination mit der Schwingmühle MM 400 von RETSCH eine ideale Alternative. Bis zu 6 Proben Leber werden auf diese Weise schnell und vollständig homogenisiert.

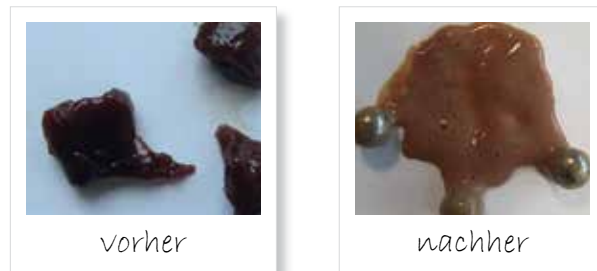


Abb. 2: Leberprobe vor und nach der Homogenisierung in der MM 400

Für die Homogenisierung von Leber wurden verschiedenen Kombinationen von Kugelgröße, Kuganzahl und Probenmenge getestet. Es stellte sich heraus, dass wenige größere Kugeln mit 10 mm Durchmesser einen wesentlich besseren Zerkleinerungseffekt auf die Gewebestruktur ausüben als viele kleinere Kugeln. Zur vollständigen Homogenisierung von 3 - 5 g frischem Lebergewebe lieferte der Einsatz von drei 10 mm Stahlmahlkugeln die besten Ergebnisse. Das Reaktionsgefäß wurde mit einem wässrigen Puffer bis zur maximalen Fülllinie aufgefüllt. Die Probe wurde dann für 5 Minuten bei 30 Hz homogenisiert, so dass keinerlei Geweberückstände mehr zu erkennen waren.

Vielseitig einsetzbar - die Schwingmühle MM 400

Die Schwingmühle MM 400 von RETSCH ist durch umfangreiches Zubehör sehr vielseitig einsetzbar, nicht nur zur Homogenisierung zäher Proben wie Sputum oder Leber. Auch zum **Zellaufschluss mit Glas Beads**, z. B. in single-use Gefäßen wie den konischen 50 ml Zentrifugalröhrchen oder diversen Eppendorf Tubes (maximal 20 Proben gleichzeitig), ist sie bewährt. Natürlich können auch **härtere Materialien in Stahlmahlbechern** oder Mahlbechern aus anderen Werkstoffen vermahlen werden. Die MM 400 ist ein bewährter Alleskönner in der Probenvorbereitung zur Fein- und Feinstzerkleinerung bis 5 µm von sowohl harten, mittelharten, spröden als auch weichen, elastischen oder faserigen Proben wie **z. B. Pflanzen, Tannennadeln, Federn, Knochen, Gewebeproben, Tabletten, Holz, Mineralien oder Chemikalien**. Die Schwingmühle wird außerdem für den Zellaufschluss eingesetzt. Die Mahlbecher sind in 6 unterschiedlichen Werkstoffen erhältlich, mit den Stahlmahlbechern ist auch die **kryogene Zerkleinerung** möglich. Für diese Anwendung bietet RETSCH das Kryokit an, in dem Becher bei -196°C in flüssigen Stickstoff gekühlt und so die Probe innerhalb des Bechers versprödet werden kann.



Abb. 3: Diverses Zubehör, z.B. Adapter für 2 ml Eppendorf-Tubes, Mahlbecher und Mahl kugeln (links), Schwingmühle MM 400 mit Adapter für 8 x 50 ml Falcontubes (rechts)

