

Molekularbiologie 1-5
 Geräte..... 6-8
 Immunologie..... 8-9
 Zellkultur und Laborbedarf 9-11
 Diagnostik 11
 Allgemeine Informationen 12

MOLEKULARBIOLOGIE

PrestoSpin D genomische DNA Kits: Erhöhte Ausbeute und verkürzte Reinigungszeit

Thema: Nukleinsäure-Separation

Autoren: Dr. Claudia Disqué, Helge Mühl, Prof. Dr. Michael Lorenz, *Molzym GmbH & Co.KG, Bremen*

Key Words: DNA-Reinigung, Mini Spin Verfahren, genomische DNA

Abstract: Die Firma **MOLZYM** GmbH & Co.KG hat eine Mini Spin Kit-Serie zur schnellen, einfachen und hocheffizienten DNA-Extraktion und Reinigung entwickelt und auf den Markt gebracht. Die überragenden Eigenschaften dieser Kits - Schnelligkeit, höchste Ausbeuten und hohe Qualität der DNA - beruhen auf einer Kombination aus verbesserten Lysebedingungen und einem neuen Reinigungsverfahren, das sich die zum Patent angemeldete „Cation Complexation Technology“ und neuartige Bindematrizes zunutze macht.

Angeboten werden Kits zur DNA-Reinigung aus Bakteriophagen, Bakterien, Hefen, Pilzen, Pflanzen, Böden, Nahrungsmitteln, Gewebe, Blut und Zellkulturen. Neu ist auch ein Universal-Kit zur Reinigung von genomischer und Plasmid-DNA. Ein besonderes Merkmal der Kits ist, dass ein uniformes DNA-Reinigungsprotokoll für alle Arten oben genannten Probenmaterials verwendet wird. Mit diesem Protokoll können aus Lysaten Gesamt-Nukleinsäuren in nur 10 min, hochmolekulare genomische DNA durch RNase A-Behandlung in 15 min gereinigt werden. Die DNA-Ausbeuten aus z.B. 100 mg bestimmter Gewebearten können 80 µg überschreiten. Damit erreichen die PrestoSpin D Mini Spin Kits den Midi Maßstab von Ausbeuten (>20 µg - 100 µg).

Die Kit-Serie PrestoSpin D besitzt verbesserte Eigenschaften in Bezug auf Schnelligkeit und einfacher Handhabung der Verfahren verbunden mit hoher Ausbeute.

Die gereinigte genomische DNA ist für alle Downstream-Anwendungen geeignet einschließlich PCR und Hybridisierung zur genotypischen Analyse sowie Klonierung. Dabei wurden Verfahren zur effizienten und schnellen Lyse (Tab. 1) mit einer neuen Trenntechnologie zur Reinigung von Nukleinsäuren, „Cation Complexation Technology“ (CCT), verbunden [1].

Tab.1: Lyse verschiedener Materialien und DNA-Isolierungszeiten mit der PrestoSpin D-Mini Spin-Kit-Serie

Material	Maximale Menge	Behandlung	Gesamte DNA-Isolierungszeit **
			(Mitbewerber)
Bakterien*	2 x 10 ¹⁰ Zellen oder 6ml <i>E. coli</i>	Lysozym, dann Lysepuffer	35–65 min (90 min) §
Hefen	2 ml bei OD600 >10	Lyticase, dann Lysepuffer	70 min (150 min) §
Pilze	200 mg	Mörsern, dann Lysepuffer	40 min (50 min) &
Pflanzen	150 mg frisch, 50 mg getrocknet	Proteinase K in Lysepuffer	50 min (55 min) &
Gewebe inkl. Mausschwanz	200 mg bzw. 1 cm	Proteinase K in Lysepuffer	90–180 min (180-280 min) §
Vollblut	200 µl	Proteinase K in Lysepuffer	30 min (30 min) §
Lambda	5 · 10 ¹² Phagen aus 10 ml Lysat	Lysepuffer	70 min (270 min) §
Zellkulturen	10 ⁷ Zellen	Lysepuffer	25 min (30 min) §

* Gram-positiv (z.B. *Bacillus*) und Gram-negativ (z.B. *Escherichia*, *Pseudomonas*)

** Lyse plus Reinigung; 4 parallele Proben

§ Mitbewerber Q

& Mitbewerber M

Die Lyseprotokolle sind darauf abgestimmt, das Probenmaterial vollständig aufzulösen bzw. eine optimale Freisetzung der Nukleinsäuren zu bewirken.

Dies erfolgt entweder durch

- Enzymatische Vorbehandlung mit anschließender Lyse in chaotropem Puffer
- Enzymatischen Verdau in Lysepuffer
- Direkten Einsatz von chaotropen Puffern (Tab.1).

Die chaotropen Puffer verhindern sehr effizient den Abbau der Nukleinsäuren. Abb.1 verdeutlicht dies anhand von verschiedenen Bakterien (DNA-Präparate 1-4, Molzym) durch das Auftreten einer distinkten, hochmolekularen DNA-Bande oberhalb der 23 kb Bande des Markers (M, oberste Bande). Zudem sind in Präparat 3 - durch die extrem hohe DNA-Ausbeute ermöglicht - die in diesem Stamm vorhandenen low copy number-Plasmide deutlich zu erkennen (Abb.1, Pfeile). Als Ergebnis des Reinigungsverfahrens wird genomische DNA mit einer molekularen Größe von >50 kb gewonnen. Im Vergleich dazu wurde mit dem Kit eines Mitbewerbers DNA-Abbau beobachtet, sichtbar an dem „Schmier“ unterhalb der hochmolekularen Bande (Abb.1).

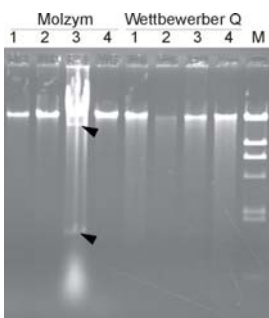


Abb.1: Agarosegel-Elektrophorese von bakterieller DNA, die durch den PrestoSpin D Bug-Kit isoliert wurde (je 1 ml Kultur).

- 1: *Bacillus subtilis*,
- 2: *Escherichia coli*,
- 3: *Pseudomonas stutzeri*,
- 4: *Halomonas sp.*

Als side-by-side Vergleich wurde DNA mit einem Mini Spin-Kit eines Mitbewerbers isoliert. Aufgetragen wurde jeweils 10 µl der Präparate (100 µl Eluat). Pfeile: Plasmid-Banden; M: **MOLZYM** Lambda HindIII DNA-Marker (oberste Bande 23 kb).

Für den DNA-Isolierungsschritt werden die Lysate durch ein Bind-Wash-Elute Reinigungsregime geschickt. Besonderheit der PrestoSpin D-Kits ist, dass für jede Art von Material immer dasselbe DNA-Reinigungsprotokoll verwendet wird. Das Lysat wird mit einem Bindepuffer vermischt, der die Bedingungen für die Adsorption von genomischer DNA an die Matrix einstellt.

Das Bindeprinzip und die Reinigungsprozedur (CCT), unterscheiden sich von der Anionenaustausch-Chromatographie und dem Aussalzeffekt auf Silika- oder Glasfasermembranen. Gemäß CCT bindet DNA über die Komplexierung von multivalenten Kationen wie Mg⁺⁺-Ionen an negativ geladene Oberflächen [1]. Nach nur zwei kurzen Waschschrritten mit einer eingebundenen RNase A-Behandlung auf der Säule wird die DNA in 50 bis 150 µl Elutionspuffer hochkonzentriert und in reiner Form gewonnen.

In Kombination mit CCT werden neue Bindematrizes verwendet, die u.a. aus einer Mischung aus Sand und Tonmineralen, organopolymeren geladenen Faserfiltern oder Diatomeenerde bestehen können.

Ein Vorteil vieler dieser Matrizes ist, dass auch hochviskose Lysate innerhalb eines Zentrifugations-schritts von nur 30 Sekunden leicht passieren, während die Nukleinsäuren binden. Ein weiterer Vorteil ist die extrem hohe Bindekapazität der Matrizes in Verbindung mit CCT (> 80 µg DNA) und die damit resultierende hohe Ausbeute (Tab. 2), die deutlich in den Midi-Bereich der DNA-Mengen-kategorisierung reicht (>20 – 100 µg). Bei solch hohen Ausbeuten ist die DNA-Menge nicht mehr limitierender Faktor für Anwendungen wie Hybridisierungen. Zur Auswahl stehen Spezial-Kits zur Reinigung von genomischer bzw. Plasmid-DNA im Midi-Maßstab als auch ein universeller Kit zur Reinigung von genomischer und Plasmid-DNA.

Tab.2: Typische Ausbeuten genomischer DNA mit der PrestoSpin D-Kitserie (RNase-Behandlung; Elutionsvolumen 100 µl) im Vergleich zum Mitbewerb (Mini Spin-Säulenkits)

Material	Ausbeute (E _{260 nm})		Qualität (E _{260/280 nm})	
	Molzym	Mitbewerber Q	Molzym	Mitbewerber Q
Bakterien (1ml)				
<i>E. coli</i> (Gram-neg.)	18,0 µg	4,1 µg	1,77	1,72
<i>B. subtilis</i> (Gram-pos.)	15,5 µg	14,1 µg	1,86	1,94
Hefen (1ml)				
<i>S. carlsbergensis</i>	9,1 µg	3,3 µg	2,11	2,09
<i>S. boulardii</i>	22,7 µg	2,7 µg	2,08	2,34
Pflanzenblätter (100mg)				
Tomate	8,9 µg	2,9 µg	1,90	1,73
<i>Arabidopsis</i>	10,6 µg	10,3 µg	2,12	2,26
Weizen	33,6 µg	13,6 µg	1,89	1,89
Gewebe (30 mg)				
Mausschwanz (1cm)	48,5 µg	21,6 µg	1,80	1,81
Rattenlunge	21,8 µg	n.b. ^{&}	1,80	n.b. ^{&}
Rattenleber	85,1 µg	12,8 µg	1,81	1,49
Vollblut (100 µl)	2,0 µg	2,4 µg	1,79	1,84
Lambda (6*10¹¹ Phagen)	6,0 µg	4,4 µg[§]	1,77	1,84[§]

[&] n.b. = nicht bestimmbar (gefärbtes Eluat)

[§] Gravitations-Durchflusssäule (Austauscher)

Literatur: (1) Lorenz, M. *Laborwelt* Nr. 4 (2003), 40-41

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Mag. Norbert Wahler
 Tel.: 01/4893961-55
 n.wahler@szabo-scandic.com

Optimum FFPE™ RNA-Isolierungskit

Die optimale Lösung für die Isolierung von RNAs aus Formalin- bzw. Paraformaldehyd fixierten, Paraffin eingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten.

Warum FFPE Gewebeschnitte?

Die Untersuchung von FFPE Gewebeschnitten ist eine weit verbreitete und leicht zugängliche Methode für die klinische Untersuchung von Krankheitsmechanismen. Das archivierte Material stellt eine sehr wertvolle Quelle stabiler RNA für die Analyse von Genexpressionen dar. Zunehmend haben daher durch das Aufkommen der PCR-Technologie (vorwiegend real-time quantitative reverse Transkription, qRT-PCR) FFPE-Schnitte an Bedeutung gewonnen.

Schwierigkeiten bei der RNA-Isolierung

Die Ausbeute an RNA von FFPE-Schnitten kann mitunter große Probleme bereiten. Der Fixationsprozeß verursacht eine Quervernetzung zwischen den Nukleinsäuren und Proteinen. Zusätzlich wird RNA durch Addition von Monomethyl-Gruppen zu den Basen kovalent modifiziert. Schließlich sind die Moleküle daher sehr anfällig gegenüber mechanischen Scherkräften, was die Anwendung für qRT-PCR gefährden kann. Um FFPE-Gewebe als Ausgangsmaterial für die Genexpressionsanalyse nutzbar zu machen, sind Extraktionsmethoden notwendig, welche die RNA aus der quervernetzten Matrix wieder löst.

Optimum FFPE™ RNA-Isolierungskit von **AMBION** bietet eine sehr einfache und schnelle Methode für phenolfreie Isolierung von total RNA aus Formalin bzw. Paraformaldehyd fixiertem, Paraffin eingebettetem Gewebe. Der Kit wurde für die Anwendung von limitiertem Ausgangsmaterial konzipiert; „Micro Filter“ Spinsäulchen erlauben geringe Elutionsvolumina und somit ist der Optimum FFPE™ Kit auch mit LCM (Laser Microdissection) gewonnenen Zellen kompatibel.

- Phenolfreie total RNA-Isolierung aus Formalin bzw. Paraformaldehyd fixierten, Paraffin eingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten
- Konzipiert für geringes Ausgangsmaterial
- Kompatibel mit LCM (Laser Capture Microdissection) gewonnenen Zellen
- Wenige Protokollschritte, um den Verlust an RNA zu minimieren
- Einfaches Hilfsmittel für die Analyse von archivierten Gewebeschnitten

Abb.1 zeigt die qRT-PCR-Ergebnisse aus einem FFPE Schnitt und dem gefrorenen korrespondierenden Schnitt aus menschlicher Niere. Der Unterschied zwischen den beiden Schnitten beträgt ca. 3-4 Ct (threshold cycle number).

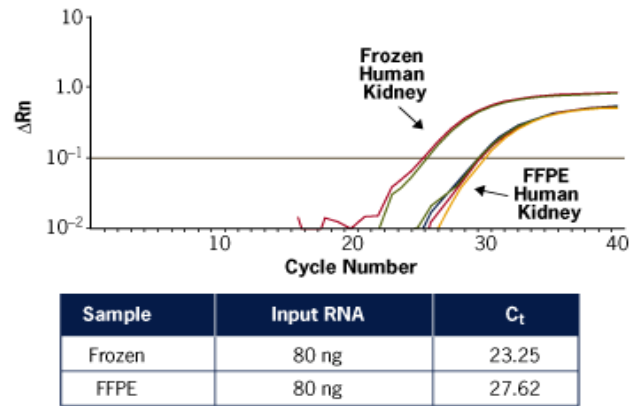
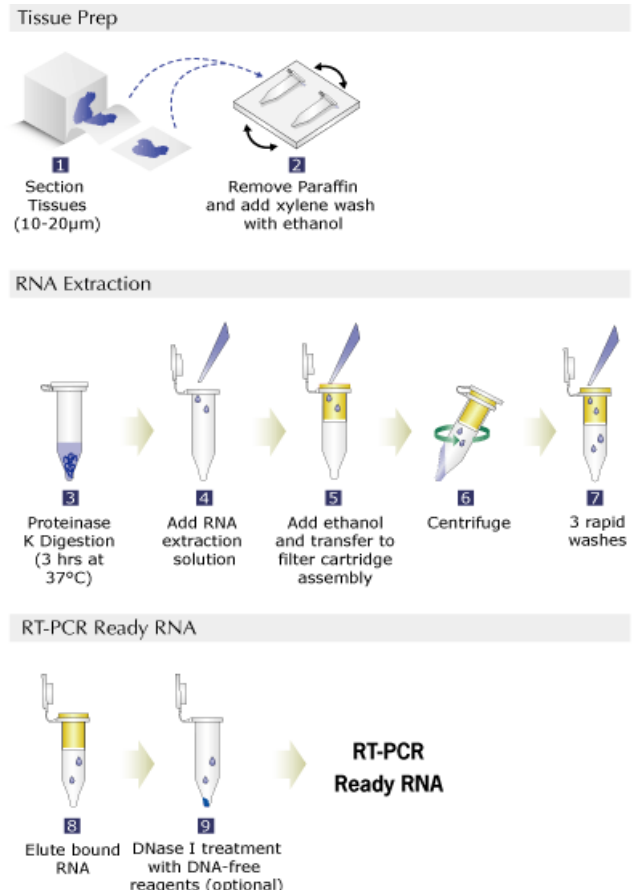


Abb.1: qRT-PCR-Analyse von GAPDH mRNA von gefrorenen und FFPE Nierenschnitten. Die Nierenschnitte wurden in zwei Teile geteilt. Ein Teil wurde gefroren und unter OCT (Optimal Cutting Temperature) aufbewahrt. Der zweite Teil wurde in Formalin für 24 Stunden fixiert und in Paraffin eingebettet. Zwei 10 µm Schnitte wurden für die RNA-Isolierung verwendet. Für den gefrorenen Schnitt wurde RNAqueous Micro Kit (**AMBION**) und für den FFPE-Schnitt Optimum FFPE™ RNA-Isolierungskit verwendet.

Wie funktioniert der Optimum FFPE™ RNA-Isolierungskit?



Auch wenn das Protokoll für den Optimum FFPE™ RNA-Isolierungskit sehr robust ist, gibt es einige unkontrollierbare Faktoren, welche die RNA-Ausbeute und Qualität bei FFPE-Schnitten limitieren.

Nachfolgend sind einige Empfehlungen aufgelistet, die man beachten sollte:

1) Gewebepreparation

Falls möglich sollte das Gewebe innerhalb einer Stunde nach chirurgischer Entnahme fixiert werden.

Optimale Fixationszeit beträgt 12-24 Stunden mit Hilfe von neutral-gepuffertem Formalin oder Paraformaldehyd.

Fixiertes Gewebe sollte vor der Einbettung gründlich dehydriert sein.


2) Gewebart, Größe und Menge, die für die RNA-Isolierung verwendet werden

Die empfohlene Dicke des Gewebes beträgt 10-20 mm.

Die Anzahl der Sektionen wird im Prinzip durch die Gewebart spezifiziert, welche die Zelldichte bestimmt. Die optimale Anzahl an Sektionen wäre 2 x 10 µm bzw. 1 x 20 micron.

Die empfohlene Fläche: 50-300 mm².

Zu viele Sektionen können die Ausbeute minimieren.

Sample	Size	Thickness	A_{230}/A_{280}	Yield
 Human Kidney	20 x 2.5 mm	10 µm	2.1	0.5 - 0.6 µg
	20 x 2.5 mm	20 µm	2.01	1.2 - 1.7 µg

3) Deparaffinierung

Zweifaches Waschen mit Xylen bei Raumtemperatur sollte für eine komplette Deparaffinierung ausreichend sein. Falls gewünscht, kann die Xylen-Behandlung auch bei 37-55°C für bis zu 30 Minuten durchgeführt werden.

Nach dem Ethanol-Waschschritt muss geachtet werden, dass der Alkohol vollständig entfernt wird und die Gewebepellets vor der RNA-Isolierung getrocknet werden.

Falls Reste an Paraffin zurückbleiben, kann Proteinase K ihre volle Wirksamkeit nicht ausüben.

AMBION Produktnummer: AMB47000

Optimum Kit Bestandteile:

- Proteinase K Lösung und Puffer
- Micro Filter Minispinsäulchen
- RNA Elutionslösung
- Waschlösung
- RNase-freie DNase I und Puffer
- DNase Inaktivierungsreagenz

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Mag. Norbert Wahler
Tel.: 01/4893961-55
n.wahler@szabo-scandic.com

siPort™ siRNA Electroporation Buffer

Für Primärzellen und schwer zu transfizierende Zellen ist die Elektroporation zusammen mit einem geeigneten Puffer unter optimierten Bedingungen eine sehr effiziente Methode der Transfektion.

AMBION hat einen neuen Elektroporationspuffer entwickelt, der sehr effizient siRNAs in Zellen schleust und die Zellviabilität intakt lässt.

Eigenschaften:

- Exzellente Zellviabilitäten
- Hervorragende Knockdown Effizienz
- Gleich erfolgreich mit adhärenenten und Suspensionszellen
- Sehr gute Performance in mehreren Primärzelllinien
- Einfach optimierbare Elektroporationsbedingungen für verschiedene Zelltypen

Elektroporation – Eine Alternative zu Lipid basierenden Transfektionsreagenzien

Ein erfolgreiches siRNA Experiment benötigt zuallererst ein geeignetes Transfektionsmittel. Chemische Transfektion, z.B. mit Lipid basierende Reagenzien, wird heutzutage routinemäßig für die Übertragung von siRNAs eingesetzt. Bedauerlicherweise ist der effiziente Einsatz dieser Mittel bei manchen Primärzellen nicht möglich (1).

Alternativ zur chemischen Transfektion besteht die Möglichkeit der Elektroporation, welche mit Hilfe eines elektrischen Felds, das impulsförmig angelegt wird, die Bildung von mikroskopischen Poren bildet. Durch diese Zelllöcher können Moleküle, Ionen und Wasser die Zellmembran durchdringen (2).

Optimierung von Elektroporationsbedingungen

Experimente haben gezeigt, dass folgende Parameter die Elektroporation von siRNAs beeinflussen: elektrische Feldstärke, Impulsstärke und Anzahl der Feldimpulse. Um eine maximale Anzahl an siRNAs in die Zellen zu schleusen, ist in den meisten Fällen Optimierungsarbeit für jede Zelllinie notwendig.

AMBION hat für einige Primärzelllinien und schwer zu transfizierende Zellen die Bedingungen optimiert (Tab. 1). Sowohl Verminderung der Genexpression durch Übertragung von siRNAs als auch hohe Zellviabilitäten können erreicht werden (Abb. 1).

Tab.1: Zellen wurden in 75 µl siRNA Elektroporationspuffer pro Reaktion suspendiert. Elektroporation wurde in einer Standard 1 mm Elektroporationsküvette durchgeführt. Pro Reaktion wurden 75.000 Zellen eingesetzt.

Cell Type	Voltage (Volts)	Pulse Length (microseconds)	Number of Pulses	Time between Pulses (Seconds)
hMSC	700 V	90 µs	2	5 s
HUVEC	250 V	150 µs	1	-
NHDF-neo	900 V	70 µs	2	5 s
PC-12	450 V	200 µs	1	-
RMSC	450 V	200 µs	2	0.1 s
Rat astrocytes	300 V	90 µs	2-3	0.1 s
NHA	400 V	100 µs	2-3	0.1 s
MEF	350 V	150 µs	2	0.1 s
BLMVEC	300 V	140 µs	1-2	0.1 s
BAVSMC	300 V	100 µs	1-2	0.1 s
BAEC	250 V	160 µs	1-2	0.1 s
BAMEC	300 V	200 µs	1	-

Zelllinien:

hMSC	human mesenchymal stem cells
HUVEC	normal human umbilical vein endothelial cells
NHDF-neo	normal human dermal fibroblasts – neonatal
PC-12	rat pheochromocytoma
RMSC	rhesus monkey stem cells
NHA	normal human keratinocytes
MEF	mouse embryo fibroblasts
BLMVEC	bovine lung microvascular endothelial cells
BAVSMC	bovine aortic vascular smooth endothelial cells
BAEC	bovine aortic vascular endothelial cells
BAMEC	bovine adrenal microvascular endothelial cells

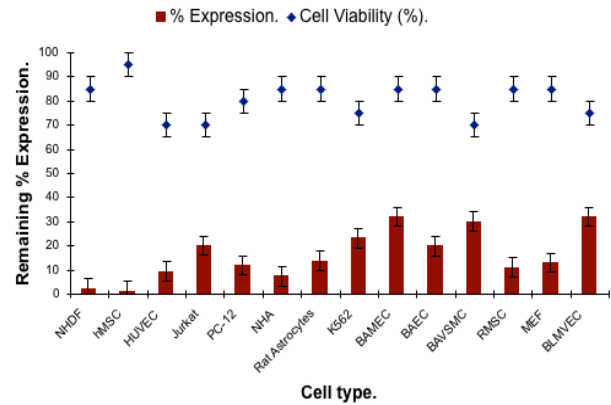


Abb.1: Herabregulierung der GAPDH Genexpression und Zellviabilitäten in verschiedenen Zelllinien

Erfolgreiches „Gene Silencing“ und hohe Zellviabilitäten wurden in 11 Primärzelllinien erreicht:

Humane mesenchymale Stammzellen (hMSC), normale humane Keratinozyten (NHA), normale humane endotheliale Nabelschnurzellen (HUVEC), bovine endotheliale Aortazellen (BAEC), bovine endotheliale Aortazellen der glatten Muskulatur (BAVSMC), bovine adrenale endotheliale mikrovaskuläre Zellen (BAMEC), Mausembryonenfibroblasten (MEF), Rhesusaffen Stammzellen (RMSC), bovine mikrovaskuläre Endothelzellen von Lunge (BLMVEC) und 3 schwer-zu-transfizierende Zelltypen: Jurkat (human acute T-cells), K562 (human erythroleukemia cells) und PC12 (rat pheochromocytoma) Zellen. siRNA zielt auf GAPDH bzw. Zufallssequenz (scrambled sequence), 1,5 µg wurden elektroporiert. 48 Stunden nach Transfektion wurden die Zellen geerntet und Genexpression mittels real-time PCR analysiert.

Literatur:

- Ovcharenko D (2003) Efficient delivery of siRNAs to human primary cells. *Ambion TechNotes 10 (5): 15-16.*
- Jarvis R, King A (2003) Optimizing chemical transfection and electroporation of siRNAs. *Ambion TechNotes 10 (5): 12-15.*

AMBION Produktnummer: AMB8990

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Mag. Norbert Wahler
 Tel.: 01/4893961-55
 n.wahler@szabo-scandic.com

GERÄTE

Synergy™ HT Multi-Detection Reader

Die Anforderungen, die heutzutage an ein Gerät gestellt werden, beschränken sich im Wesentlichen auf die Faktoren „Qualität“, „Preis“ und „einfache Handhabung“. In Reaktion darauf wurde von **BIO-TEK** ein neues Gerät entwickelt, das Fluoreszenz-, Absorptions- und Lumineszenzmessungen in einem Gerät ohne Einschränkung der Performance vereint. Zusätzlich sind in Punkto Sensitivität keine Abstriche gemacht worden.

Im Gegensatz zu anderen erhältlichen Geräten verwendet Synergy™ HT zwei optische Systeme. Mit Hilfe einer langlebigen Xenon Blitzlampe wird die Absorption durch Wahl der entsprechenden Wellenlänge mittels Monochromator (200-999 nm) gemessen. Für das Erreichen von hohen Nachweisgrenzen steht bei der Fluoreszenzmessung eine Tungsten Halogenlampe zur Verfügung.

Bei der Fluorometrie werden anders als bei Absorptionsmessungen Fluoreszenzfilter eingesetzt, welche aufgrund der besseren Lichtdurchlässigkeit im Vergleich zu Monochromatoren die Sensitivität erhöhen. Die Verwendung von Filtern mit unterschiedlichen Bandbreiten kann optimal auf die Anregungs- und Emissionswellenlänge abgestimmt werden und ist vor allem dann wichtig, wenn mit kleinen Stoke´s Shifts gearbeitet wird.



Eigenschaften des Synergy™ HT

- Top/Bottom Messungen über KC4-Software steuerbar.
- Leichte Zugänglichkeit der Filter bzw. Lampe über die Frontklappe
- Extinktionsmeßbereich bis 4 OD. Durch Umschaltung von 8 auf 64 Blitze (Xenon-Lampe) ergibt sich eine verbesserte Präzision bei Proben mit Extinktionen über 2 OD.
- Lumineszenzmessungen - Detektionsgrenze: Luciferase 0,1 pg/well, ATP 100 amol/well
- Großer linearer Fluoreszenz-Messbereich durch leistungsstarken Photomultiplier (PMT)

- Alle gängigen Plattenformate (6-384-Well Platten) lesbar. PCR-Tubes messbar.
- Automatische Einstellung der Top Probe für minimalen Abstand zur Probe.
- Area Scanning: misst die Verteilung in einem Well
- Bio-Cell Quarzküvetten: mit Adapterplatte können 8 Stück gemessen werden (1 cm Pathlength).
- Time Resolved Fluoreszenz optional
- Optional Fluoreszenz-Kalibrationsplatte

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

DI Danut Laes
Tel.: 01/4893961-43
d.laes@szabo-scandic.com

Ultrasensitives Luminometer

Vom einfachen Absorptionsreader für den Routinebetrieb bis hin zum hochempfindlichen Multifunktionsreader für anspruchsvolle Messergebnisse bietet **BIO-TEK** eine große Palette von Mikrotiterplatten Geräten an.

Neu in der **BIO-TEK** Produktpalette ist Clarity™. Dieses Luminometer ist zur Zeit der sensitivste, auf dem Markt erhältliche Lumineszenz Mikrotiterplatten Reader. Clarity™ vereint ergonomisches Design und einfache Datenauswertung mittels KC4-Software.

Höchste Sensitivitätsansprüche werden durch „Ultrafast Photon Counting“ und durch eine qualitativ hochwertige Optik erreicht. Für die Injektion ermöglicht das neuartige Design den Einsatz von Einwegspitzen (Abb.2). Das Totvolumen für Reagenzien beträgt bei diesem Gerät weniger als 500 µl und hilft somit, teure Chemikalien zu sparen.

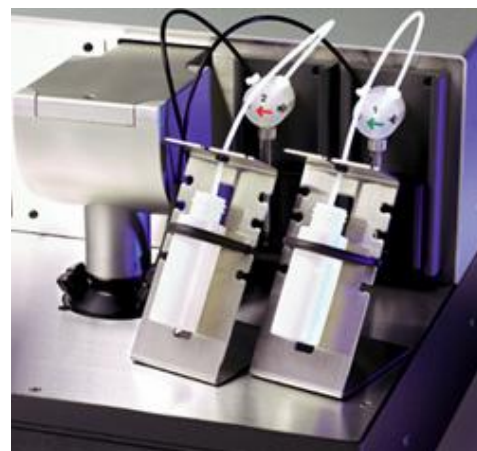


Abb.1: Edeltahlausfertigung ermöglicht einfache Dekontamination der Oberfläche. Maximal vier Injektoren können an das Gerät angeschlossen werden.



Abb.2: Für den Injektor können Einwegspitzen verwendet werden.

Typische Anwendungen für Clarity™ wären Reporter Gene Assays (Luziferase und Dual Luziferase Assays), ATP Assays (Zellproliferation, zyto-toxische Messungen), DNA Assays, Reactive Oxygen Species (ROS) Assays und Chemolumineszenz Immunoassays.

Einige Vorteile des Clarity™ zusammengefasst:

- *Einweg-Spitzen: einfache Instandhaltung, spart Zeit und garantiert gute Performance mit genauen Messergebnissen.*
- *Ultra-Fast Photon Counting: Detektionsgrenze 10 amol ATP*
- *Optional KC4™ Auswertesoftware: durch dieses Softwarepaket entfällt die Notwendigkeit, die Messergebnisse für Datenauswertung in Excel™ zu exportieren. 21 CFR Part 11 compliance wird durch die KC4 Signature™ Software gewährleistet.*
- *Injektion erfolgt nahe dem Photomultiplier. Die technische Ausfertigung ermöglicht ein Totvolumen weniger als 500 µl und spart somit teure Reagenzien. Eine Kolbenpumpe sorgt für die Dispersion der Reagenzien. Das Volumen beträgt 10-150 µl (1 µl Inkremente möglich).*
- *Kontaminationen können auf der Edeltahloberfläche leicht gereinigt werden.*
- *Clarity™ wurde von Promega auf Einsetzbarkeit des Dual-Luciferase® Gene Reporter Kit zertifiziert.*

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

DI Danut Laes
Tel.: 01/4893961-43
d.laes@szabo-scandic.com

Precision XS™

Die Automatisierung von Routine-Pipettierschritten und High-Through-Put Anwendungen benötigt einerseits das Vorhandensein einer 1-Kanal als auch einer Multi-Kanal Pipette.

Als Antwort auf diese Anforderungen hat **BIO-TEK** die Linie Precision 2000 weiterentwickelt und Precision XS™ erstmals auf der vergangenen Analytica 2004 präsentiert. Precision XS™ vereint eine 1-Kanal- und 8-Kanal-Pipettierstation in einem Gerät. Diese Kombination erlaubt nun das Pipettieren von Flüssigkeiten „von“ und „in“ einzelne Reagenzgefäße. Karbonfaserstippen der 1-Kanalpipette können den Flüssigkeitsstand überprüfen und sind damit in der Lage, aus ungleichmäßig gefüllten Probengefäßen Reagenzien zu pipettieren.

Die neu überarbeitete Software bietet dem Anwender vollständige Kontrolle über sein Experiment. Die integrierte Simulationsfunktion hilft, teure Reagenzien zu sparen, indem Fehler im Programmablauf noch vor dem eigentlichen Einsatz rechtzeitig entdeckt und gegebenenfalls korrigiert werden können.

Für größere Volumina, die in Reagenzbehälter pipettiert werden sollen, bietet der Precision™ XS eine autoklavierbare (100% kompatibel mit DMSO) Dispensiervorrichtung. Für diesen Zweck kann sowohl die Einkanalpipette als auch ein 8-Kanal Dispense Manifold eingesetzt werden.

HTP-Anwendungen werden durch die Einsetzbarkeit des Bio-Stack™ Systems, das bis zu 30 Mikrotiterplatten prozessieren kann, ebenfalls in bester Performance verwirklicht.

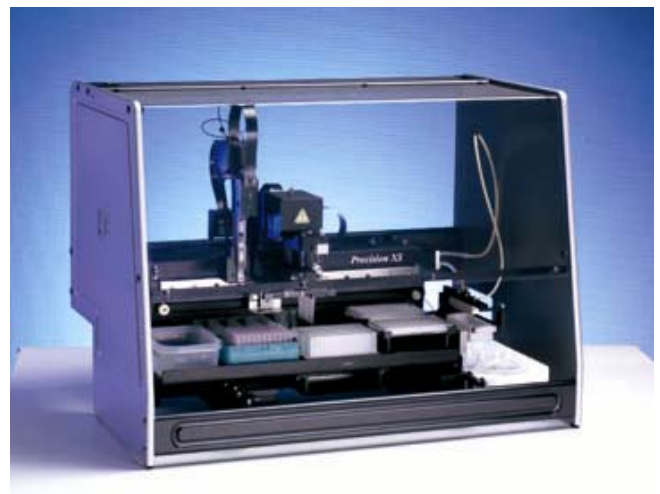


Abb.1: Precision XS™ Microplate Sample Processor, abgedeckt mit einer Aerosol-Schutzhaube.

4 Technologien in einem Gerät:

1) 1-Kanal-Pipette

- Vielzahl an Probengefäßen einsetzbar
- Individuelles Pipettieren
- Liquid Level Sensor

2) 8-Kanal-Pipette

- Standard 9 mm Abstand
- Spitzen mehrerer Hersteller verwendbar
- Mischfunktionen mit einstellbaren Zyklen und Volumina

3) Dispensierung von Bulk-Reagenzien

- Autoklavierbarer Flüssigkeitsschlauch für Zellkulturanwendungen
- Rasches Dispensieren
- Zu 100% mit DMSO kompatibel

4) Dispensierung mittels 1-Kanal-Pipette

- Verwendung von Nicht-Standard Reagenzgefäßen
- Mikroprozessorgesteuerte Kolbenpumpe
- Präzision: 3% CV bei 10 µl Volumen

Applikationen:

- Probenverarbeitung
- Hit Picking
- Transfer von Reagenzgefäß zu Mikrotiterplatte
- Dispensierung von Bulkreagenzien
- Verdünnungsreihen
- Zugabe von Reagenzien
- Replikation von Platten

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

DI Danut Laes
Tel.: 01/4893961-43
d.laes@szabo-scandic.com

IMMUNOLOGIE

Neue Kits von LINCO RESEARCH

Mouse Resistin ELISA Kit:

Mouse Resistin gehört zu der Gruppe der Adipokine und ist in Type 2 Diabetes involviert. Eine Korrelation zwischen Gewichtszunahme und einer Konzentrationserhöhung von Resistin konnte bei vielen Mäusearten beobachtet werden. Dieser Kit ermöglicht eine nicht-radioaktive Quantifizierung von Maus Resistin in Serum, Plasma und Gewebekultur. Die Sensitivität liegt bei 0,78 ng/ml.

LINCO Produktnummer: LICEZMR-96K

Ghrelin (Total) RIA Kit:

Ghrelin, ein neu entdecktes Hormon wird primär im Magen freigesetzt und stimuliert die Abgabe von Wachstumshormonen. Ghrelin ist an der Regulation des Hungergefühls beteiligt und beeinflusst somit die Gewichtsinstabilität über eine lange Periode. Dieser Kit erfasst sowohl die octanoylierte aber auch nicht octanoylierte Form von Ghrelin in Plasma von Mensch und Ratte.

LINCO Produktnummer: LICGHRT-89HK

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an:

Dr. Farzaneh Adhami
Tel. 01/489 3961-30
f.adhami@szabo-scandic.com

Lagerabverkauf von Antikörpern (SANTA CRUZ Biotechnology)

Artikelnummer	Artikel Bezeichnung <i>Ablaufdatum</i>	Listenpreis In EUR	Reduziert um %
SACSC-184	Anti AP-2 ALPHA (C-18) 09/2004	299,29	75%
SACSC-2132	Jurkat Nuclear Extract 10/2004	225,-	75%
SACSC-12324	Anti SEC62 (N-15) 11/2004	299,29	50%
SACSC-508	Anti P-TYR (PY20) 11/2004	325,07	50%
SACSC-20290 X	Anti GLI-2 (N-20) 12/2004	307,84	50%
SACSC-8101 P	Anti LAMP-2 (N-17) P 12/2004	77,10	50%

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Ulrike Gschrey
Tel.: 01/4893961-36
u.gschrey@szabo-scandic.com

Neue ELISA- und Enzymaktivitätsbestimmungskits von STRESSGEN

Signaltransduktion: Nicht-radioaktive Bestimmung der Aktivität von Kinasen

Produkt	Beschreibung / Anwendung
STGEKS-390A Protein Kinase A (PKA) Activity Assay Kit (Nicht-radioaktiv)	Primärfaktor bei cAMP Haushalt und vielen zellulären Prozessen wie Zellwachstum, DNA Replikation und Zellteilung. <u>Anwendung:</u> Analyse der PKA Aktivität in 4,5 Stunden; cAMP abhängige Prozesse
STGEKS-400A Protein Kinase B (PKB) Activity Assay Kit (Nicht-radioaktiv)	Mediator in zellulären Prozessen reguliert durch PI 3-Kinase. Spielt große Rolle bei: Zellvermehrung, Inhibierung der Apoptose, vermutlich involviert in Insulinregulierung. <u>Anwendung:</u> Analyse der PKB (PKB α , β , γ) Aktivität in 4,5 Stunden; Krebsforschung, Diabetes
STGEKS-420A Protein Kinase C (PKC) Activity Assay Kit (Nicht-radioaktiv)	Mediator in vielen zellulären Prozessen wie Zellvermehrung, Zelldifferenzierung. <u>Anwendung:</u> Analyse der PKC Aktivität in 4,5 Stunden; Aufklärung von zellulären Prozessen
STGEKS-430A Serum and Glucocorticoid-inducible Kinases (SGKs) Activity Assay Kit (Nicht-radioaktiv)	Wichtiger Faktor bei der Aktivierung von interzellulären K ⁺ , Na ⁺ und Cl ⁻ Ionen Austausch. <u>Anwendung:</u> Analyse der PKC Aktivität in 4,5 Stunden; Neurologie

Oxidativer Stress: Detektion/Quantifizierung von Häm-Oxygenase (Human, Ratte)

Produkt	Beschreibung / Anwendung
STGEKS-800 (Human) STGEKS-810 (Rat) HO-1 ELISA Kit	Oxidiert Häm-Gruppen zu physiologischen Regulatoren, wie Kohlenmonoxid und Antioxidanten wie Biliverdin <u>Anwendung:</u> Detektion und Quantifizierung von HO-1 Protein in Zelllysate und Gewebeextrakt innerhalb von 3 Stunden; Biomarker für toxikologische Studien

Heat Shock Proteins

Produkt	Beschreibung / Anwendung
STGEKS-600 Hsp60 ELISA Kit	Als Chaperone beteiligt in der Faltung von mitochondrialen Proteinen <u>Anwendung:</u> Detektion und Quantifizierung von Hsp60 in Zelllysate, Gewebeextrakt und Serum (Human, Maus, Ratte) innerhalb von 3 Stunden; Indikator für kardiovaskuläre Krankheiten, Eierstock- und Vaginalkarzinom
STGEKS-500 Hsp27 ELISA Kit	Als Chaperone involviert in Schutzmechanismen der Zelle bei Stresssituationen <u>Anwendung:</u> Detektion und Quantifizierung von phosphoryliertem und nicht phosphoryliertem Hsp27 in Zelllysate und Gewebeextrakt (Human) innerhalb von 3 Stunden

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an:

Dr. Farzaneh Adhami
 Tel. 01/489 3961-30
 f.adhami@szabo-scandic.com

ZELLKULTUR UND LABORBEDARF

Epoxid beschichtete Slides von CORNING

Die neuen **CORNING** Epoxid beschichteten Slides komplettieren die **CORNING** Produktschiene im Bereich Microarray und Slides. Diese neue Oberfläche bietet optimale Bedingungen für eine kovalente Bindung von kurzen Oligos (ca. 30 Nukleotide). Ein optimales Ergebnis wird in Verbindung mit der neuen **CORNING** Epoxid Spotting Lösung erzielt, die auch mit dem Pronto!™ Universal Hybridization Kit zur Anwendung kommt.



Welche Vorteile können Sie erwarten?

- Hohe DNA-Bindungs Kapazität für kurze Oligonucleotide
- Bindung von (un-)modifizierten kurzen Oligos (~30-mers)
- Interslide CV unter 10%
- Sensitivität: bis zu 1 pg Target in 5 µg Gesamt-RNA
- Sehr hohe Spezifität

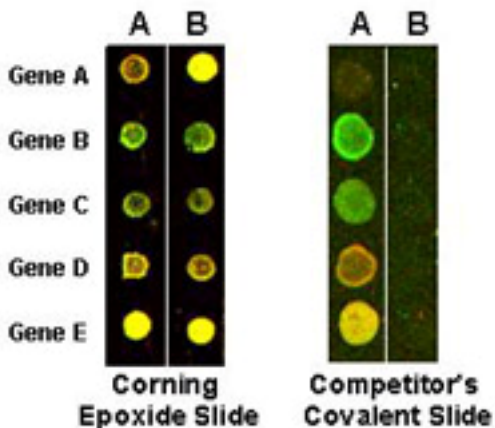


Abb.1: Oligonukleotide (~ 30-mers) wurden auf Epoxid-Slides von **CORNING** und auf die eines Mitbewerbers entsprechend den vorgeschriebenen Protokollen gespottet. Die Oligos waren entweder am 5'Ende C6-amino-modifiziert (A-Spalten) oder nicht-modifiziert (B-Spalten). Das Cy5/Cy3 Verhältnis korrelierte sehr stark zwischen modifizierten und nicht-modifizierten Oligos auf den **CORNING** Epoxid-Slides, das Produkt des Mitbewerbers zeigte hingegen die zwingende Notwendigkeit einer Amino-Modifikation.

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

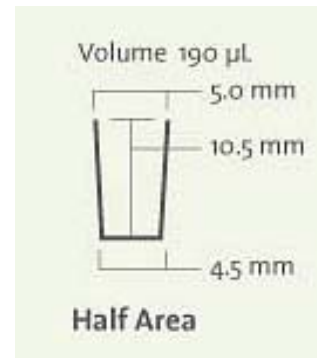
Dr. Andreas Bergmann
Tel.: 01/489 3961-40
a.bergmann@szabo-scandic.com

Corning Stripwell™ Low Volume Mikrotiterplatte

Die Firma **CORNING** präsentiert als erster Hersteller von Plastik Verbrauchsmaterialien eine low volume Version der 96-well 1x8 Stripwell™ Mikrotiterplatte.

Dieses neue Produkt wurde aufgrund der Nachfrage seitens der Kunden entwickelt. Einer der besonderen Vorteile bei der Verwendung mit diagnostischen Kits ist die Möglichkeit durch die modifizierte Geometrie des Wells, die Gesamtkosten zu reduzieren. Diese Einsparungen gründen sich auf eine Reduktion der benötigten Menge an Reagenzien und Antikörpern.

CORNING Stripwell™ Low Volume Mikrotiterplatten werden in erster Linie in *in-vitro* diagnostischen Testkits verwendet, welche eine große Anzahl von immundiagnostischen und DNA-basierenden Assays inkludierten.



Dieses Produkt wird mit einem Streifenrahmen ausgeliefert, der mit 12 Stück 1x8 Well Streifen vorgefüllt ist. Die jeweilige Position der einzelnen Wells entspricht der einer Standardplatte, somit ist die Verwendung in herkömmlichen Geräten wie Washer und Reader gewährleistet. Das Gesamtvolumen eines einzelnen Wells beträgt 190 µl, was ungefähr der Hälfte eines Standardwells entspricht.

Die **CORNING** Stripwell™ Low Volume Mikrotiterplatte ist in drei Farbvarianten erhältlich (klar, schwarz und weiß), alle Farben sind mit mittlerer oder hoher Bindungskapazität lieferbar. Die klaren Strips werden am häufigsten verwendet und kommen für Assays in Frage, welche auf Kolorimetrie, also Absorbanz Messungen basieren. Die weißen Strips sind für Lumineszenz, die schwarzen für Fluoreszenzmessungen gedacht.



Die mittlere Bindungskapazität entspricht ca. 250 ng IgG/cm², die hohe Bindungskapazität ca. 500 ng IgG/cm².

Kat. Nr.	Farbe	Bindungs-kapazität	Well Volumen	Qty/ Pk	Qty/ Cs
COR2480	Klar	Mittel	190 µL	25	100
COR2481	Klar	Hoch	190 µL	25	100
COR2482	Schwarz	Mittel	190 µL	25	100
COR2483	Schwarz	Hoch	190 µL	25	100
COR2484	Weiss	Mittel	190 µL	25	100
COR2485	Weiss	Hoch	190 µL	25	100

Hauptvorteile:

- *Optimiertes Verhältnis von Oberfläche und Volumen*
- *Kostensparnis bei Antikörpern und Reagenzien*
- *Weniger Antikörper und Reagentien bringen dasselbe gute Ergebnis*
- *Mehr Tests mit der gleichen Menge an Probe*
- *Format kompatibel mit bestehenden 96-well Readern, Dispenser und Washern*

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Dr. Andreas Bergmann
Tel.: 01/489 3961-40
a.bergmann@szabo-scandic.com

DIAGNOSTIK

Serie „Autoimmundiagnostik“

Thema dieser Ausgabe:

„LKM und AMA M2“

Zu den autoimmunen Lebererkrankungen zählt man unter anderem die autoimmunen Verlaufsformen der chronisch aktiven Hepatitis Typ 1-3.

Der zweiten Verlaufsform der autoimmunen chronisch aktiven Hepatitis wurde in der Vergangenheit aufgrund ihrer besonderen klinischen Bedeutung – 83% der Erkrankten entwickelten eine Leberzirrhose – Beachtung geschenkt. Sie betrifft vorzugsweise Mädchen und junge Frauen und zeichnet sich häufig durch einen fulminanten Beginn und einer hohen Entzündungsaktivität aus.

Serologisch ist diese Erkrankung durch eine Hypergammaglobulinämie und durch Autoantikörper gegen LKM-1 charakterisiert. Als Targetantigen dieser LKM-1 (Liver Kindey Mikrosomes) bezeichneten Autoantikörper wurde das Cytochrom P450 2D6, ein Enzym der P450 Familie, identifiziert. LKM-1 Antikörper reagieren mit den Mikrosomen auf der Leber und auf der Niere und sind auf Organschnitten (Ratte oder Maus) als feingranuläre zytoplasmatische Fluoreszenz erkennbar. Man kann sie jedoch auch mit Hilfe eines ELISAs oder eines Blots nachweisen. LKM-1 können jedoch auch in ca. 7% der Patienten mit einer chronischen Hepatitis C und sehr selten bei einer Halothan induzierten Hepatitis beobachtet werden.

Es konnte gezeigt werden, dass die immundominante Region des Proteins ein Abschnitt von 33 Aminosäuren ist. Für die idiopathische autoimmune Hepatitis Typ 2 gilt, dass die meisten LKM-1 positiven Sera lineare Epitope erkennen, die sich in dieser Region befinden.

AMA M2 (Anti-Mitochondriale Antikörper) sind gegen Proteine der äußeren und der inneren Mitochondrien gerichtet. Die den AMAs zugrunde liegenden Autoantigene sind in verschiedenen Geweben (Leber, Niere, Magen, Herz) in unterschiedlichen Konzentrationen vorhanden.

Bisher unterscheidet man neun verschiedene AMA-Subtypen, wobei deren exakte Spezifität nicht in allen Fällen bekannt ist. Die als sehr spezifisch für die primäre biliäre Zirrhose (PBC) geltenden AMA M2 sind gegen den α -Ketosäure-Dehydrogenase-Komplex gerichtet.

AMA M2 sind bei 90% der Patienten mit einer PBC nachweisbar. Sie können mittels indirekter Immunfluoreszenz auf Organschnitten (Ratte oder Maus), mit Hilfe eines ELISAs oder eines Blots nachgewiesen werden.

SZABO-SCANDIC kann Ihnen neben den Organschnitten auch ELISA oder Blots zum Nachweis der LKM Antikörper und der AMA M2 Antikörper anbieten.

Das Thema der nächsten Ausgabe unseres Newsletters aus der Serie „Autoimmundiagnostik“:

„Prothrombin“

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Dr. Eva Wanzenböck
01/4893961-32 oder 0676/4893932
e.wanzenböck@szabo-scandic.com

BIO-TEK AKTUELL - GERÄTEABVERKAUF

Edles *Silber* folgt dezentem *Schwarz*. Ab sofort werden bei **BIO-TEK** alle Geräte mit silbernen Gehäusen in gewohnter Qualität produziert. Aus diesem Grund haben wir uns entschlossen, Geräte aus der Produktserie günstig zu verkaufen. Folgende Geräte bieten wir an:

Gerät	Listenpreis (EUR)	Rabatt
Microplate Washer ELx405R™ Komplettsystem	10.400,-	25%
Auto Strip Washer ELx50/8™	4.900,-	25%
Microplate Reagent Dispenser μFill™-AF 1000A	8.400,-	25%
Mircoplate Reader ELx808IU™ mit KC Junior Software (340, 405, 450, 490 und 630nm Filter)	8.000,-	25%

Für ALLE Geräte gilt:

1 Jahr Garantie, 2 Jahre mit Wartungsvertrag.

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

DI Danut Laes
Tel.: 01/4893961-43
d.laes@szabo-scandic.com

CORNING KATALOG

SZABO-SCANDIC: Eigener CORNING Katalog

Da Sie als unser Kunde gewohnt sind, immer bestens von uns informiert zu werden, haben wir uns entschlossen, einen eigenen **CORNING** Katalog mit einer detaillierten Gesamtübersicht aller **CORNING** Artikel zu produzieren. Diesem Katalog liegen die jeweiligen Selection Guides des Herstellers zu Grunde. Dies bedeutet für Sie eine Übersicht, die über den vom Hersteller zur Verfügung gestellten Katalog weit hinausgeht. Sie werden deutlich mehr als ein Produktlisting erhalten, da Sie unser **CORNING** Katalog zusätzlich mit allen verfügbaren produkt-spezifischen Informationen versorgt. Sie werden also topp aktuell und bestmöglich informiert.

Wir planen diesen Katalog nach seiner Fertigstellung im Sommer an alle unseren aktiven **CORNING** Kunden zu versenden.

Selbstverständlich können Sie auch Ihr eigenes Exemplar bei uns anfordern. Bitte kontaktieren Sie uns.

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Dr. Andreas Bergmann
Tel.: 01/489 3961-40
a.bergmann@szabo-scandic.com

VERANSTALTUNGEN

20.-22. September 2004
Innsbruck

Gemeinsame Jahrestagung 2004
ÖGBM, ÖGGGT, ÖGBT, ANGT

WOHLVERDIENTER RUHESTAND

Nach 17 Jahren Firmenzugehörigkeit ist es nun soweit: Unsere **Frau Mag. pharm. Christiane Reich-Rohrwig** tritt in den wohlverdienten Ruhestand. Christiane Reich Rohrwig ist den meisten von Ihnen wahrscheinlich gut bekannt als die Mitarbeiterin bei **SZABO-SCANDIC**, die es immer wieder geschafft hat, auch die schwierigsten „Spezial-Anfragen“ in den Bereichen diagnostische Reagenzien und Forschungsreagenzien für unsere Kunden zu bewältigen.

Wir wünschen Frau Mag. Reich-Rohrwig für Ihren neuen Lebensabschnitt, für den sie schon viele Pläne geschmiedet hat, alles Gute!

UNSER SERVICE GIBT ES WEITERHIN!

Wir freuen uns sehr, Ihnen jetzt schon einen kompetenten neuen Ansprechpartner vorstellen zu dürfen: **Herr Roland Kainersdorfer**, der bereits in den vergangenen Jahren einige Erfahrung in den Bereichen Sachbearbeitung Diagnostik bzw. Import ausgefallener Reagenzien sammeln konnte, hat bereits die Agenden von Frau Mag. Reich-Rohrwig übernommen. Zukünftig wird Ihnen Herr Kainersdorfer weiterhin das gewohnte Service bieten und sich verstärkt um den Bereich der „Spezialbesorgungen“ kümmern.

Herrn Kainersdorfer erreichen Sie unter:
Tel.: 01 / 489 3961 – 28 oder
r.kainersdorfer@szabo-scandic.com