

Désintégration cellulaire

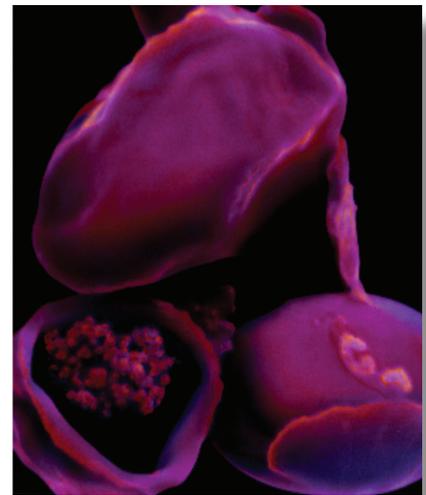
De la désintégration douce des cellules mammifères cultivées pour l'isolement de virus, à la difficile désintégration des levures et autres champignons, Microfluidics propose des technologies pour répondre aux besoins variables et ambitieux de la désintégration cellulaire. Les processeurs microfluidiseurs permettent une désintégration cellulaire extrêmement efficace (souvent > à 99 % de désintégration pour E. coli en un seul passage), avec récupération élevée de la teneur en protéines. L'intégrité protéinique est optimisée par l'élévation de la température basse du processeur microfluidiseur, couplée à un refroidissement très efficace, de submersion de la chambre d'interaction et en plaçant un échangeur de chaleur immédiatement en aval de la chambre d'interaction. Ces fonctionnalités permettent aux chercheurs d'utiliser la pression la plus basse possible pour atteindre les taux de désintégration cibles tout en évitant la dénaturation des protéines.

Les avantages de la technologie microfluidiseur

- Récupération plus élevée de la teneur en protéines.
- Traitement des échantillons à vitesse de cisaillement constante et contrôlée.
- Garantie d'évolutivité de la chambre d'interaction pour les volumes de production.
- Aucune contamination – sans solution aqueuse et traitement à faible taux d'usure.
- Volume des échantillons à partir de 1 ml avec LV1 exclusif.

Avantages du traitement en continu par rapport à traitement par lots

- Optimisation du contrôle de température.
- La durée de séjour dans les zones de haute température est réduite au minimum (< 1 seconde). Les traitements de lot, tels que la sonication et le brouillage par billes soumettent les cellules à une énergie localisée élevée qui ne peut pas être facilement retirée.
- Le traitement en continu à pression constante assure que toutes les cellules reçoivent la même quantité d'énergie. Avec la sonication, les cellules à proximité de la sonde reçoivent exponentiellement plus d'énergie que les cellules le plus loin de la sonde.
- Avec les systèmes de traitement par lots, il y a peu de contrôle de l'uniformité de l'énergie pour chaque cellule.

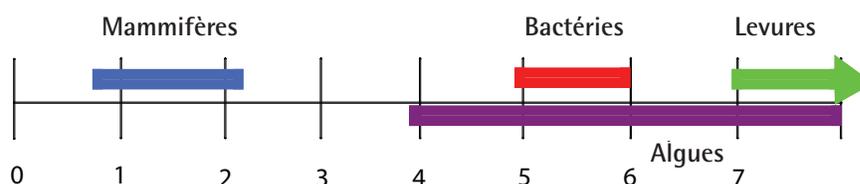


Les applications représentatives de la désintégration de cellules :

- | | |
|------------------|-------------------------|
| -Levures | -Champignons |
| -E. Coli | -Penicillium |
| -Moisissures | -Cellules méningocoques |
| -Algues | -Bactéries |
| -Tissu mammifère | -Cellules d'insectes |

Taux de cisaillement

Taux de cisaillement ($s^{-1} \times 10^6$)



Comparaison des méthodes mécaniques pour la désintégration cellulaire

Témoignages

« ...L'activité enzymatique spécifique obtenue est la plus élevée (avec le processeur microfluidiseur) probablement grâce à la facilité de refroidissement. »

J. Geciova, et al Milchwissenschaft
57 (9/10) 2002

« Initialement, nous avons travaillé avec une presse French et un homogénéisateur Gaulin, mais ils nous ont posé des problèmes de contamination et de nettoyage de matériel. Après une démonstration, ici, dans notre laboratoire, des caractéristiques de performance et de stérilisation [du processeur microfluidiseur] nous avons été convaincus et en avons acheté un immédiatement. »

Stephen Cameron
Directeur de l'assurance qualité
Microtek International
Victoria, Colombie-Britannique

« L'avantage du processeur microfluidiseur, c'est qu'il nous permet de casser E. coli rapidement, avec un impact minimal sur les parties internes de la cellule. »

Gabrielle Heilek-Snyder, Ph. D.
Tularik, Inc.
San Francisco, CA

« 98,18% de récupération sporocyste et 84,04% d'oocystes fissurés à l'aide de la chambre de 125 microns à 4 000 psi. »

Methods of Releasing Sporocysts from Oocysts Using Controlled Shear Forces – J.E. Hutchins, et al, 2008

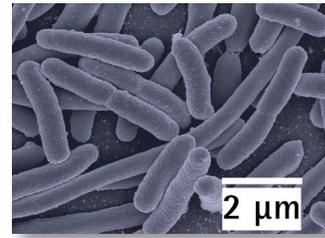
	Microfluidiseur	Homogénéisateur	Appareil de bain sonique	Bille de broyage
En continu	Oui	Oui	Non	Non
Évolutif	Oui	Limité	Non	Oui
Contrôle optimal de la température	Oui	Oui	Non	Non
Sans contamination	Oui	Oui	Oui	Non
Volume min	1ml	10 ml	1ml	1 ml
Vitesse de cisaillement constante	Oui	Non	Non	Non
Potentiel de vitesse de cisaillement	Le plus élevé	Élevé	Élevé	Moyen

Résultats du Centre technologique

Désintégration cellulaire			
Description de l'échantillon	Données du processeur microfluidiseur		Résultats et commentaires
	Pression (psi)	# Passes	
			Microns (µm)
tissu de la membrane cellulaire	15,000	0	18.109
		1	10.584
		5	0.954
		10	0.855
		20	0.732
		40	0.655
cellules E. coli	23,000	0	0.978
		1	0.538
Cellule méningique passée (0,4%) dans un tampon	1,000	1	Refroidissement utilisé pour maintenir la température de 10°C. Désintégration complète réalisée en un seul passage.
Cellules mammifères	2,000	1	Désintégration complète des cellules et séparation facile du parasite au sein de la cellule en 1 passage.
E. coli (10%) dans un tampon	6,000	3	Niveau atteint de 90% de désintégration. Résultats mis à l'échelle linéaire du laboratoire à la production.
		1	Niveau atteint de 90% de désintégration.
		3	Niveau atteint de 95% de désintégration.
Penicillium urticae	13,000	1	40% en plus d'activité réalisable par rapport au traitement conventionnel homogénéisateur pour l'alcool m-hydroxybenzyl et 100 à 200% d'activité en plus pour l'acide salicylique-méthyle 6.
Cellules arthropodes sanguines	5,000	3	Refroidissement utilisé. Une sphère de 10 microns, tout au long de la matrice gélatineuse, sans aucun fragment cellulaire visible.
	15,000	1	Comme ci-dessus mais n'a nécessité qu'1 seul passage par traitement continu.
Levure de boulanger	2,000	10	Refroidissement utilisé. Niveau atteint de désintégration des cellules de levure de 95%.
Levure de bière (10%) dans l'eau	10,000	1-10	Refroidissement utilisé pour maintenir la température au-dessous de 5°C. Désintégration de 63% à 10 passages.
	20,000	1-10	Désintégration de 98% à 10 passages. Rendement de l'enzyme significativement meilleure que celui atteint avec d'autres techniques de traitement, y compris la presse French.
M. lysodeiktuis (1%) dans l'eau déminéralisée	25,000	25	Refroidissement utilisé. Environ 50% de désintégration, résultat supérieur à d'autres techniques mécaniques.

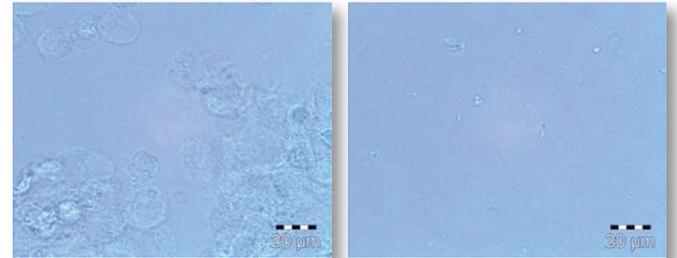
Cellules bactériennes

- Cellules les plus couramment utilisées pour la production de protéines simples
 - Taux de croissance très élevés
 - Peu/pas de
- Requièrent des taux de cisaillement moyens à élevés
- Habituellement ne requièrent que 1 seul passage sur un processeur microfluidiseur pour atteindre > 99% de rendement de désintégration



Cellules mammifères

- Effectué pour le Centre de thérapie génique de la NC State University pour libérer des vecteurs viraux des cellules embryonnaires renales humaines
 - Les cellules traitées avec le processeur microfluidiseur avec 1 passage ont atteint un niveau élevé de protéines
- Conditions du procédé: 1 passage 535 bar (5000 psi)
- Chambre: H30Z (200 microns)
- Taux de cisaillement: $1.40 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$



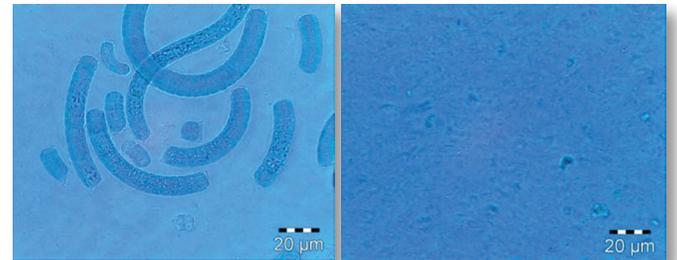
Avant

Après - 1 passage

Cellules d'algues

Comme l'approvisionnement en combustibles fossiles diminue, le besoin de sources d'énergie renouvelables augmente. Les biocarburants à base de cellules d'algues sont attrayants car ils se développent rapidement et peuvent directement convertir le CO₂ en huiles de chaîne plus longues qui peuvent être facilement converties en biodiesels. Les cellules doivent être désintégrées pour accéder à l'huile, et parce qu'il existe une grande variété de cellules d'algues qui nécessitent des vitesses de cisaillement différentes pour atteindre la désintégration, les processeurs microfluidiseurs offrent la flexibilité et l'efficacité nécessaire à ce travail.

- Conditions du procédé : 1 passage 690 bar (10,000 psi)
- Chambre : H10Z (100 microns)
- Taux de cisaillement: $4.14 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$

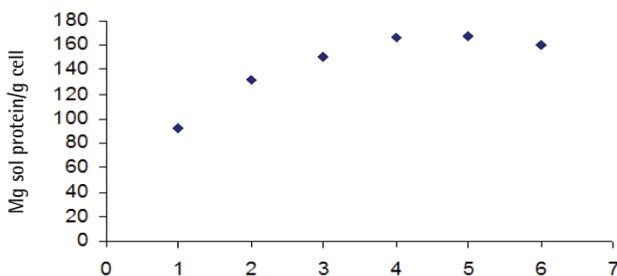


Avant

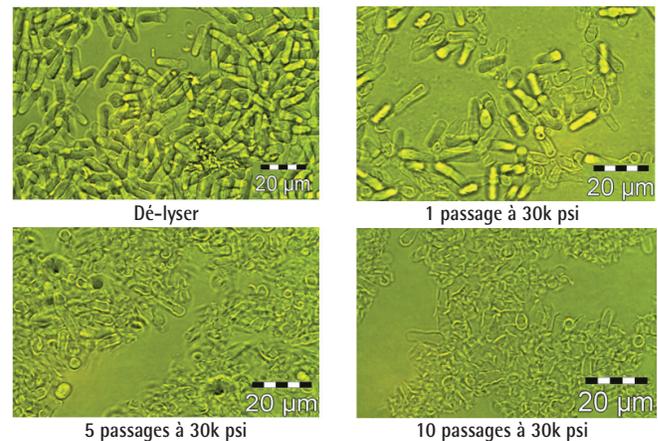
Après - 1 passage

Cellules de levure

- La récupération maximale des protéines solubles est atteinte au bout de 5 passages
- Les passages supplémentaires semblent entraîner un accroissement de protéines dénaturées par rapport à la lyse
- Conditions du procédé: 2070 bar (30,000 psi)
- Chambre: G10Z (87 microns)
- Taux de cisaillement par passage: $6.94 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$



S. Pombe



Dé-lyser

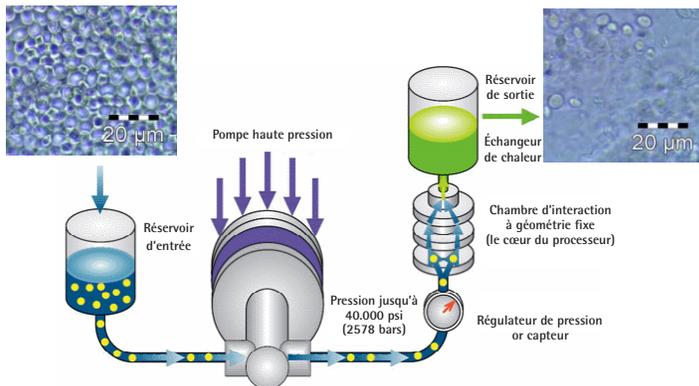
1 passage à 30k psi

5 passages à 30k psi

10 passages à 30k psi

Comment fonctionnent les processeurs microfluidiseurs

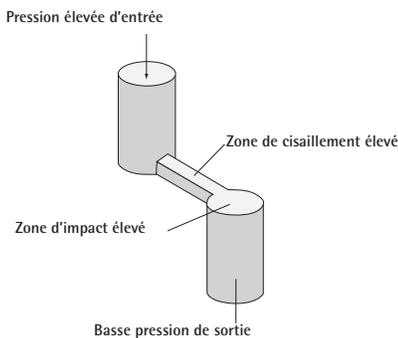
La pompe d'intensification fait passer le produit par des microcanaux à géométrie fixe précisément définis au sein de la chambre d'interaction. Ainsi, le flux de produit accélère et atteint des vitesses élevées, créant les vitesses de cisaillement dans le flux de produit qui sont à des ordres de grandeur supérieurs à tout autre moyen classique conventionnel. La totalité du produit est soumise aux mêmes conditions de traitement, produisant un rendement élevé de désintégration cellulaire.



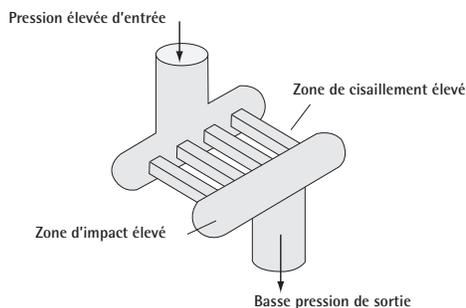
Garantie

Contrairement aux autres méthodes mécaniques de désintégration cellulaire, Microfluidics garantit la transposition à plus grande échelle, en utilisant des chambres d'interaction à fentes multiples en association avec un système de pompage à pression constante. Cela accélère le passage du laboratoire à l'échelle de production tout en assurant que le flux de produit est exposé à une vitesse de cisaillement et des conditions de transformation uniformes.

Chambre « Z » à fente unique



Chambre « Z » à fentes multiples



Laissez-nous vous aider à améliorer votre produit

Depuis plus de vingt ans, les clients et les ingénieurs experts se sont réunis au sein du Centre Technologique Microfluidics pour aider à déterminer les conditions du procédé idéal et configurer la chambre d'interaction pour atteindre les objectifs du produit. De E. coli à la levure, les processeurs microfluidiseurs à vitesse de cisaillement fluide élevée fournissent des solutions évolutives pour la désintégration de cellules à des centaines d'entreprises dans le domaine des biotechnologies et à des universités dans le monde entier.

Exemples de brevets

Appliqué pour et/ou récompensé

5,721,120 - Méthode de désintégration de cellules cultivées à l'aide d'un dispositif créant des jets de courants

6,455,287 - Désintégration mécanique des cellules bactériennes pour la récupération de plasmide

5,914,390 - Méthodes pour accroître les rendements de protéines recombinantes

6,120,732 - Inactivation microbienne par étranglement à haute pression

0049829 - Concentration et lyse de cellules infectées par des adénovirus en une seule opération

0191899 - Méthode de désintégration de cellules qui présentent un manque de tissu de membrane cellulaire

0233348 - Méthode d'isolement des protéines des cellules de production

0003602 - Méthode d'extraction de protéines d'une cellule



Microfluidics
30 Ossipee Road • Newton, MA 02464
02464 Tél: 617-969-5452 • 800-370-5452 • Fax: 617-965-1213
Courriel: mixinginfo@idexcorp.com



IDEX Material Processing Technologies
Bramley Drive, Vale Park West, Evesham, Worcestershire, WR11 1JH, UK
WR11 1JH, UK Tél: (+44) (0) 1386 769 007 • Fax: (+44) (0) 870 1911116
Courriel: mixinginfo@idexcorp.com • www.microfluidicscorp.com

© 2010 par Microfluidics. Tous droits réservés. Imprimé aux U.S.A. sur un papier certifié recyclé FSC en utilisant des encres végétales. 6/10 IH 1K