



– Ampha X30 –

Impedanz-basiertes Durchflusszytometer für die Echtzeit-Zellanalyse in der Bioprozessierung

Produktinformation



Wiederverwendbarer Chip

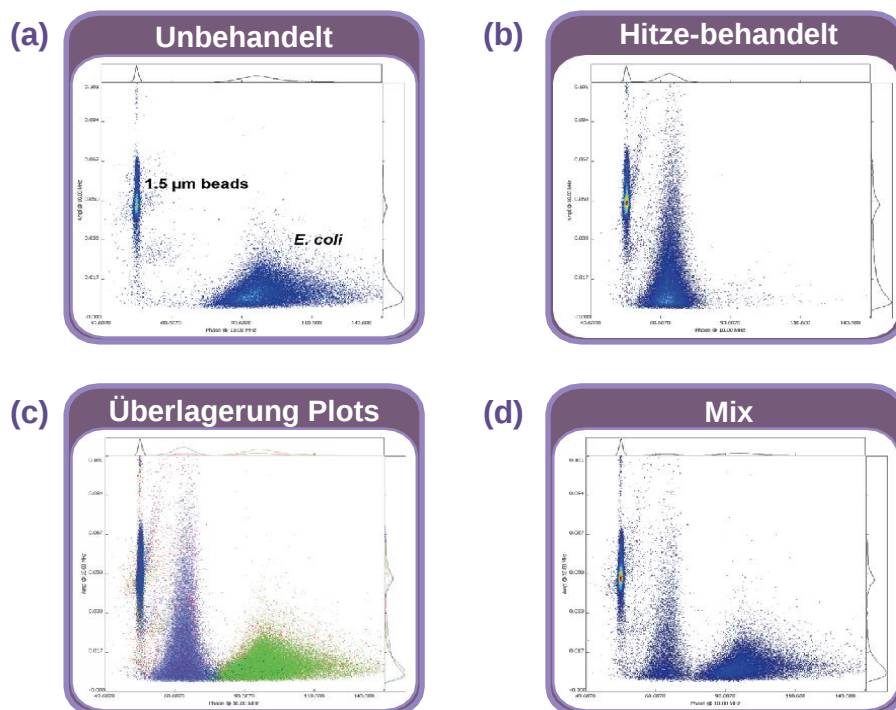
- ▶ **Markierungsfreie Analyse**
Keine Färbung, Inkubation oder Kalibrierung erforderlich!
- ▶ Analyse **aller Zelltypen** von Bakterien bis zu großen Pflanzenzellen.
- ▶ Schnelles und präzises **Zählen und Bewerten von Bakterien** mit Viabilitätsmessung in nur wenigen Minuten!
- ▶ Überwachung von **Apoptose ganz ohne Färbung**.
- ▶ Direkte Messung des **metabolischen Zustands** und der Produktionsqualität.
- ▶ Geeignet für **trübe, opake oder autofluoreszierende** Probenlösungen.
- ▶ Einfache Wartung und **geringe Betriebskosten** pro Messung.
- ▶ **Wiederverwendbarer Chip bis zu 1.000 Messungen**, mit verschiedenen Kanaldurchmessern für unterschiedliche Zelltypen.

Ampha X30: Schnell, flexibel, nicht-invasiv

Präzise und schnelle Bestimmung der Bakterienanzahl und -vitalität

Eine genaue Quantifizierung von Bakterien und die Beurteilung ihrer Viabilität ist in vielen Bereichen von entscheidender Bedeutung. Dennoch ist die Bestimmung der Anzahl und Lebensfähigkeit aufgrund der mikroskopischen Größe von Bakterien und ihrer biologischen Diversität nach wie vor eine große Herausforderung. Herkömmliche Methoden wie das Zählen von Kolonien sind oft zeitaufwändig und können möglicherweise nicht alle lebensfähigen Zellen nachweisen. Fortgeschrittene Techniken wie die klassische Durchflusszytometrie oder molekulare Assays bieten zwar eine höhere Präzision, erfordern jedoch in der Regel spezielle, und oft auch teure, Geräte und Fachkenntnisse.

Die Technologie von Amphasys ermöglicht eine präzise Zählung von Bakterien und die Bewertung ihrer Viabilität innerhalb einer Minute. Dafür sind weder Kalibrierung noch Inkubationszeiten notwendig. Ein echter Gewinn, nicht nur für die Antibiotikaforschung!



Die Abbildungen zeigen Messungen einer Übernachtskultur von *E. coli* in LB-Medium. Zu jeder Probe wurden 1,5 µm große Beads als Referenz hinzugefügt. Alle Messungen wurden mit dem firmeneigenen Puffer von **Amphasys** durchgeführt.

Die **unbehandelte Probe (a)** enthält ausschließlich lebensfähige *E. coli*-Zellen. Im Gegensatz dazu besteht die Probe, die bei 99 °C für 30 Minuten **hitzebehandelt (b)** wurde, ausschließlich aus abgetöteten Zellen.

Werden unbehandelte und hitzebehandelte Proben im Verhältnis **1:1 gemischt (d)**, zeigt die Messung deutlich zwei getrennte Bakterienpopulationen, die den lebenden bzw. toten Zellen entsprechen. Diese Trennung ist ebenfalls erkennbar, wenn die **Streudiagramme (c)** der einzelnen Proben überlagert werden.

Die **Zellzahl und Lebensfähigkeit** werden **gleichzeitig und in Echtzeit** erfasst, **ganz ohne Kalibrierung**.

Hefefermentation

Viabilität allein reicht nicht aus

Ein gemessener Viabilitätswert von 75 % liefert keine Aussage darüber, ob Hefezellen metabolisch aktiv oder reproduktiv sind. Die Viabilität bestätigt lediglich das Überleben der Zellen, nicht jedoch ihren funktionellen Zustand.

Für eine fundierte Beurteilung des Zellstatus sind zeitaufgelöste Messungen sowie Aktivitäts- oder Metabolismusmarker erforderlich. Mit dem Ampha X30 System lassen sich solche Daten zuverlässig und effizient generieren. Ein ideales System für Anwendungen in der Biotechnologie, Färmentationstechnologie und für Brauereien.

Abbildung 1

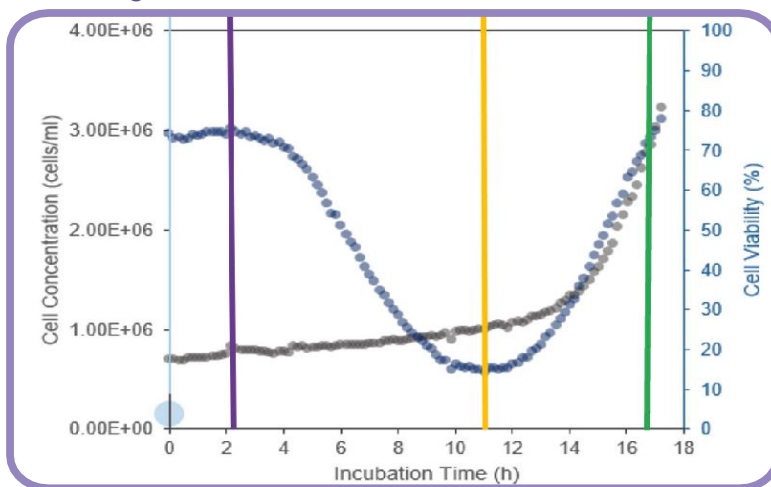


Abbildung 2a

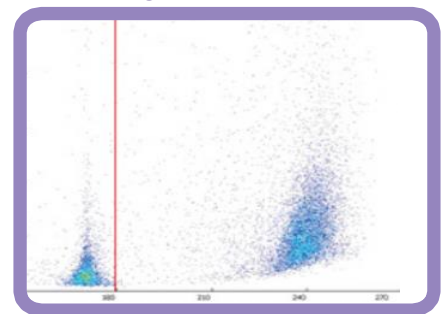


Abbildung 2b

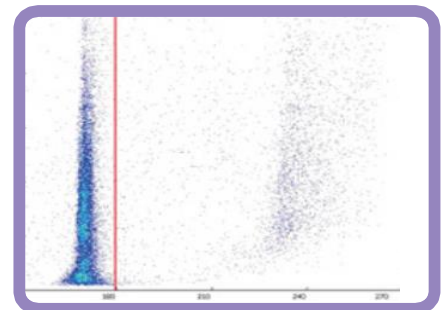


Abbildung 2c

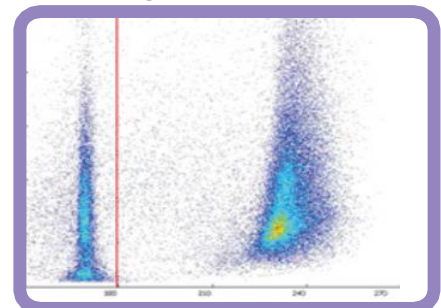


Abbildung 1 zeigt eine zeitaufgelöste Messung der Hefezellkonzentration und -viabilität über einen Zeitraum von 17 Stunden in einem Online-Setup und veranschaulicht das Verhalten der Hefekultur. Die **grauen Punkte** stellen die Zellkonzentration während der **Lag- und frühen exponentiellen Phase** dar, während die **blauen Punkte** die Entwicklung der **Zellviabilität** abbilden.

Abbildungen 2a–c zeigen die entsprechenden Streudiagramme der Impedanz-Durchflusszytometrie nach 2,5, 11 und 16,5 Stunden. Die **rote Linie** trennt die **abgestorbenen Zellen** (links) von den **lebendigen Zellen** (rechts). Nach 2,5 h befinden sich die Hefezellen mit einer Viabilität von ca. 75 % noch überwiegend im dormanten Zustand (**2a**). Nach 11 h hat der Anteil an toten Zellen deutlich zugenommen (**2b**). Nach 16,5 h nimmt die Zahl der lebendigen Zellen stark zu, die Population befindet sich in der exponentiellen Wachstumsphase (**2c**).

Während ein klassischer Biomassensensor das Wachstum lediglich über die Zellkonzentration erfasst, liefert das Impedanz-Durchflusszytometer **Ampha X30 von Amphasys** zusätzliche Informationen zur Zellviabilität. Es ermöglicht fundierte Einblicke in den Zellzustand und die Dynamik, was entscheidend für die **Entwicklung, Optimierung und Überwachung** von Bioprozessen in Forschung und Industrie ist.

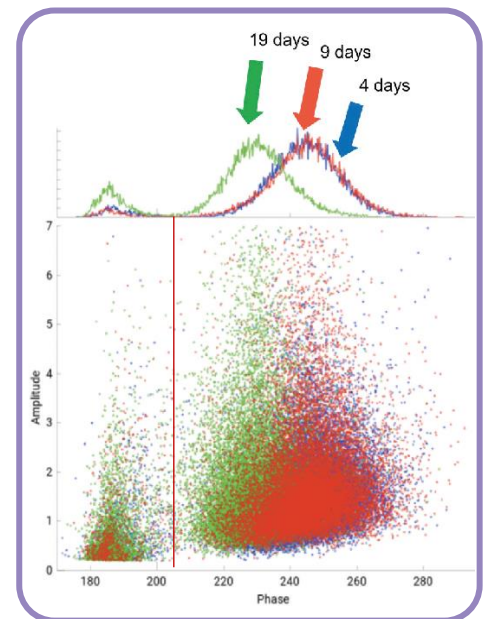
Überwachung des Zellmetabolismus

Wissen Sie wirklich, wie es Ihren Zellen geht?

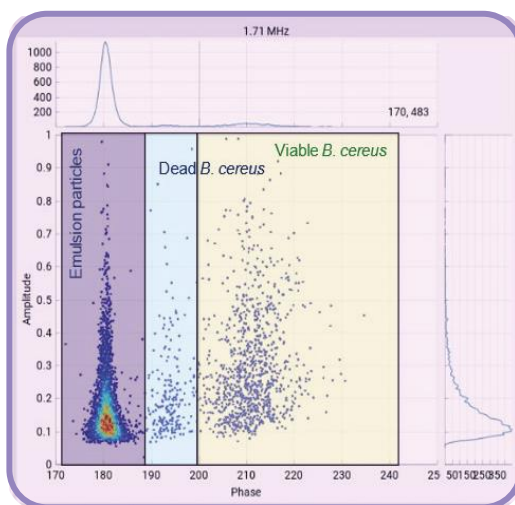
Zahlreiche zelluläre Prozesse benötigen ein großes Maß an Energie und Nährstoffen, ob Proliferation, Aufrechterhalt der Homöostase, Proteinbiosynthese oder Zellbewegung. Unter Nährstoffmangel stellen Zellen nicht nur ihren Stoffwechsel um, auch die Membranintegrität verändert sich. Mit dem **Ampha X30 können Membranveränderungen erfasst**, und damit auch Rückschlüsse auf den Zustand der Zellen in Langzeitkulturen getroffen werden.

Die rechte Abbildung zeigt die Entwicklung adhärenter CHO-Zellen über 19 Tage anhand von drei überlagerten Streudiagrammen: **Tag 4 (blau)**, **Tag 9 (rot)** und **Tag 19 (grün)**. Eine **rote vertikale Linie** trennt **tote Zellen (links)** von **viablen Zellen (rechts)**.

- **Tag 4 & 9:** Die Zellen sind metabolisch aktiv und der Lebendzellanteil ist groß. Die Histogramme der blauen und roten Kurve überlappen vollständig, ein Zeichen für gesunde Zellkulturbedingungen.
- **Tag 19:** Die grüne Zellpopulation verschiebt sich deutlich nach links in Richtung der toten Zellen, die Zellen zeigen **abnehmende Viabilität durch Nährstoffmangel**.



Zellanalyse in schwierigen Medien



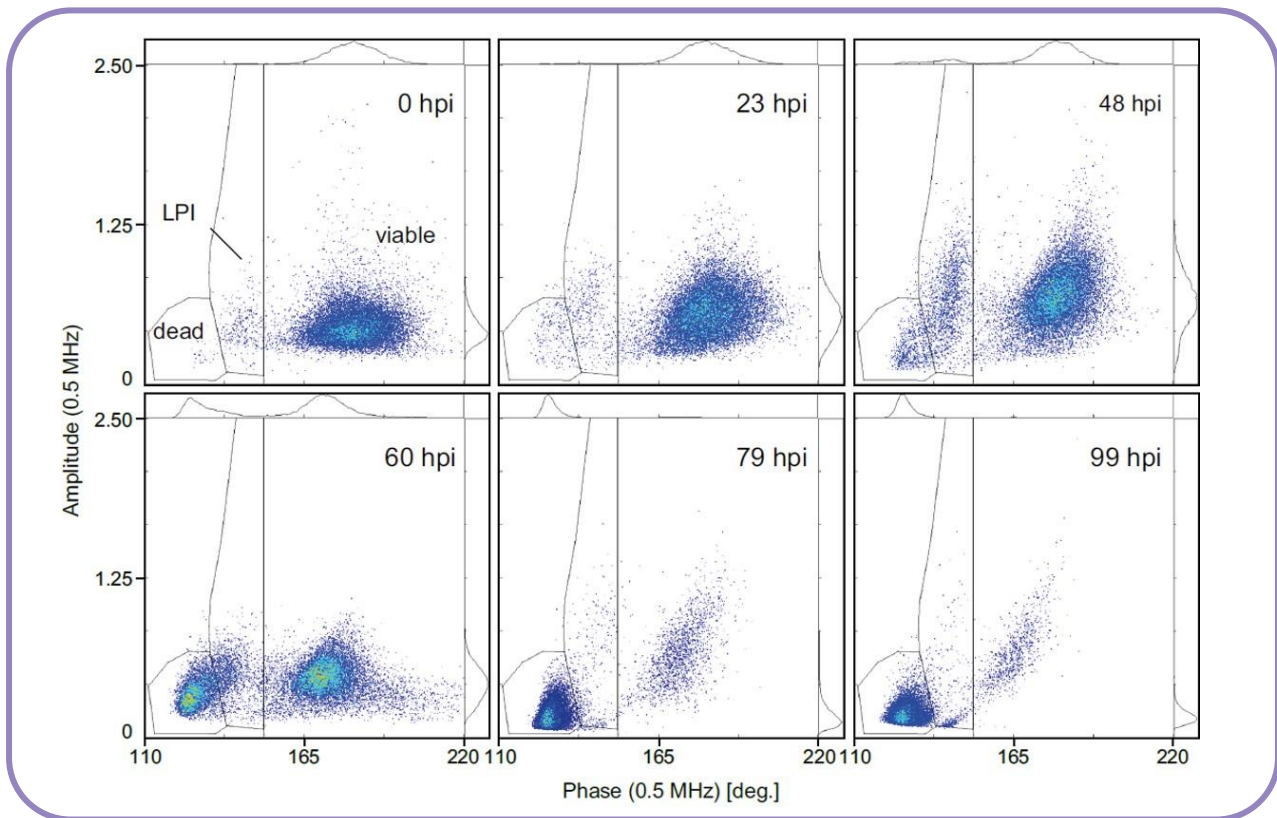
Trübe, opake oder fluoreszierende Medien stellen für optische Detektionssysteme eine Herausforderung dar. Die **Impedanz-Durchflusszytometrie basiert auf elektrischer Detektion und ist unempfindlich gegenüber Trübung und Autofluoreszenz**. So wird die Analyse auch in schwierigen Medien wie Milch, Polymeremulsionen oder autofluoreszierenden Mikroalgenkulturen möglich.

Die Abbildung links zeigt die Analyse einer wässrigen Polymeremulsion, kontaminiert mit *Bacillus cereus*. Im Streudiagramm sind die Polymerpartikel (links) klar von abgestorbenen und viablen Bakterienzellen (rechts) getrennt erkennbar.

Alle Zell- und Partikelpopulationen werden durch das Ampha X30 automatisch präzise quantifiziert.

Proteinexpression in Insektenzelllinien

Metabolische Aktivität und Prozesssteuerung: Die Impedanz-Durchflusszytometrie ermöglicht die Detektion der Proteinexpression in Zellen und hilft dabei, den optimalen Zeitpunkt für die Ernte im Bioprozess zu bestimmen.

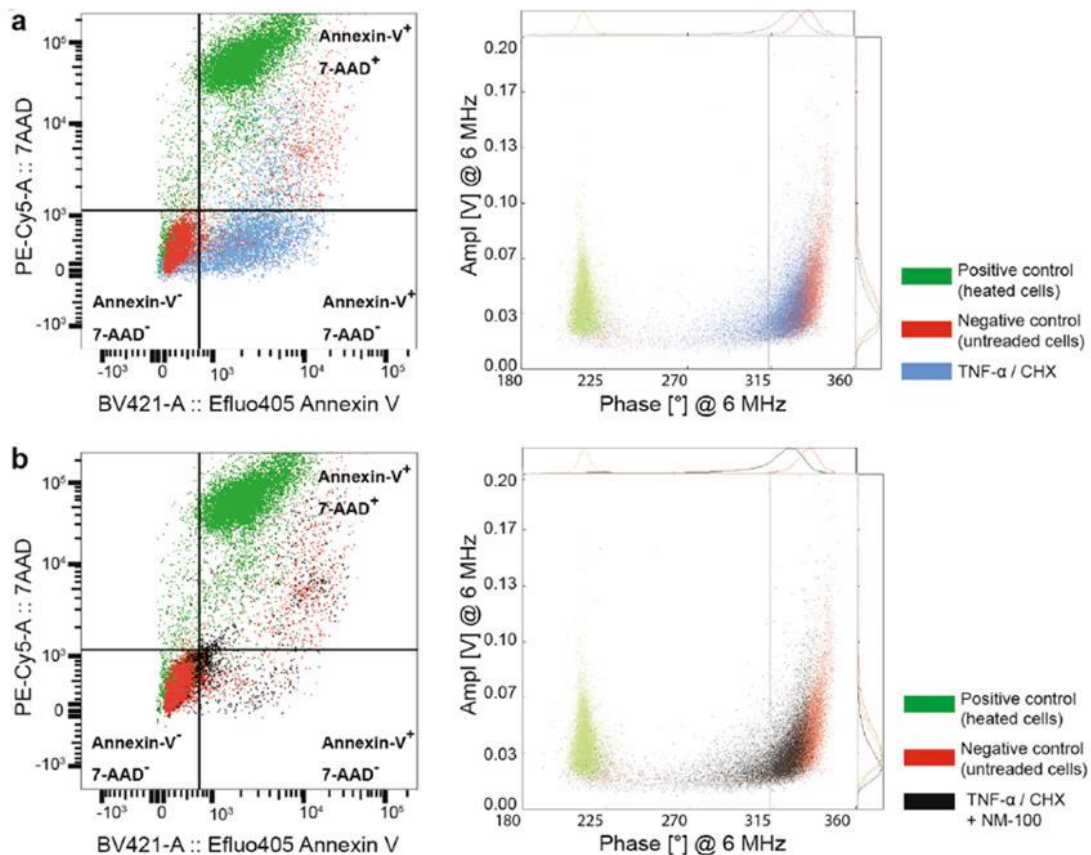


Die obigen Streudiagramme zeigen die Proteinexpression in Sf9-Zellen über die Zeit nach einer Baculovirus-Infektion.

- **Lebendzellpopulation:** In den ersten 48 Stunden nach der Infektion verschiebt sich die Lebendzellpopulation im Streudiagramm von unten nach oben rechts, was auf eine Zellgrößenzunahme durch die Virusbelastung hinweist. In späteren Phasen verschwindet diese Population nahezu vollständig, was auf umfangreiches Zellsterben hindeutet.
- **Tote Zellen:** Die Anzahl toter Zellen steigt kontinuierlich an, mit einem deutlichen Anstieg ab etwa 60 Stunden nach der Infektion.
- **LPI-Population (späte Infektionsphase):** Zwischen 48 und 60 Stunden nach der Infektion entsteht eine dritte Population, die Zellen in der späten Infektionsphase repräsentiert. Die Zunahme dieser Population korreliert mit einer steigenden Proteinproduktion. Nach 79 Stunden verschwindet diese Population, was auf vollständige Zellyse und die Freisetzung des rekombinanten Proteins in das Überstandmedium hinweist.

Die Technologie von Amphasys ermöglicht ein Echtzeit-Monitoring der zellulären Stoffwechselaktivität und bietet somit ein effektives Werkzeug zur Steuerung und Optimierung von Bioprozessen.

Überwachung der Nanotoxizität



Die obige Vergleichsstudie verdeutlicht den **Nutzen der markierungsfreien Zellanalyse**, insbesondere in Situationen, in denen Nanopartikel die Anlagerung von Markern an die Zellmembran behindern. Die Abbildung vergleicht die konventionelle Durchflusszytometrie (links) mit der Impedanz-Durchflusszytometrie (rechts) unter Verwendung von U937-Zellen (menschliche Lymphomzellen), die mit TNF/CHX behandelt wurden, um Apoptose auszulösen (a). Weitere Proben wurden zudem mit TiO₂-Nanopartikeln versetzt (b).

- **Ohne Nanopartikel (a):** Lebende (rot), tote (grün) und apoptotische (blau) Zellen lassen sich in sowohl konventioneller (links) als auch impedanzbasierter (rechts) Durchflusszytometrie klar unterscheiden.
- **Mit Nanopartikeln (b):** In Gegenwart von TiO₂-Nanopartikeln sind apoptotische Zellen in der konventionellen Durchflusszytometrie (unten links) nicht mehr nachweisbar, da die Partikel die Markerbindung verhindern. Dagegen identifiziert die Impedanz-Durchflusszytometrie (unten rechts) apoptotische Zellen (schwarz dargestellt) zuverlässig, ohne auf Markierungen angewiesen zu sein.

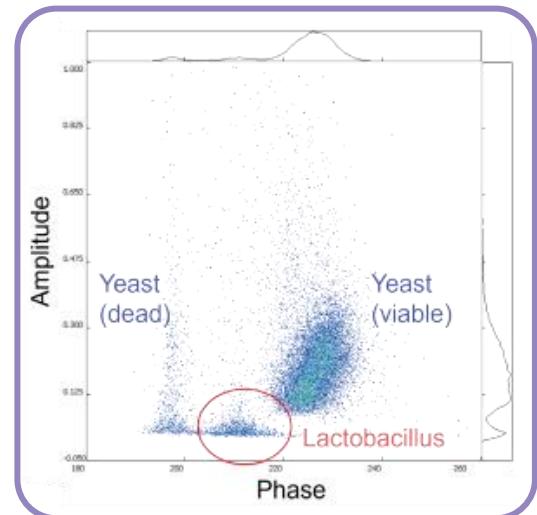
Die markierungsfreie Impedanz-Durchflusszytometrie ist somit eine leistungsstarke Alternative in Fällen, in denen die Bindung von Markern an Zellen gestört ist oder keine geeigneten Marker verfügbar sind. Sie ermöglicht eine robuste und verlässliche Zellanalyse auch unter herausfordernden Bedingungen.

Kontaminationen: Parallele Messung zweier Zelltypen

Die **Impedanz-Durchflusszytometrie** kommt ohne Label oder Marker aus, sodass sich die Probenvorbereitung auf einfaches Verdünnen und Filtrieren beschränkt. So können Kontaminationen von Kulturen mit anderen Zelltypen detektiert werden, selbst wenn diese von ähnlicher oder kleinerer Größe sind, ohne das aufwendige Färbeprotokolle nötig werden.

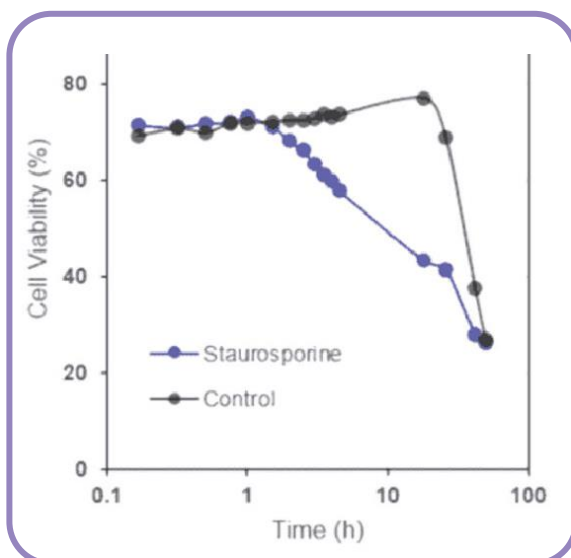
Die **Abbildung rechts** zeigt eine Hefekultur, die in lebensfähige und tote Populationen getrennt wurde. Zusätzlich wird eine Kontamination durch kleinere, lebensfähige *Lactobacillus*-Zellen nachgewiesen.

Das impedanzbasierte Durchflusszytometer von Amphasys ermöglicht die gleichzeitige Messung von Zellen und Partikeln ähnlicher Größe, mit dem Vorteil, dass keine spezifischen Marker oder Label erforderlich sind.



Messung von Apoptose

Das Impedanz-Durchflusszytometer Ampha X30 von Amphasys bietet eine schnelle Methode zur Charakterisierung von Zellen. Die Messungen sind innerhalb weniger Sekunden abgeschlossen und die Probenvorbereitung erfordert nur minimalen Zeitaufwand. Da keine Inkubation notwendig ist, stehen die Ergebnisse in Echtzeit zur Verfügung.



Die **Abbildung links** zeigt zeitaufgelöste Viabilitätsmessungen von Burkitt-Lymphomzellen nach Behandlung mit Staurosporin (blaue Linie).

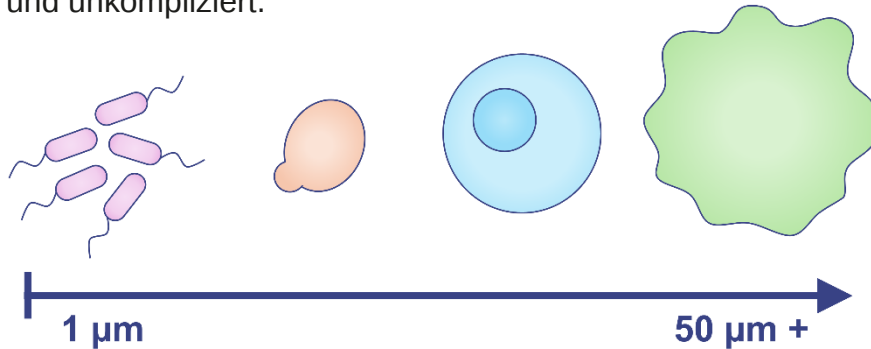
Die Zellviabilität einer unbehandelten Referenzprobe (schwarze Linie) wurde parallel gemessen.

Der Abfall der Lebensfähigkeit der behandelten Probe ist in Echtzeit und ohne Verzögerung zu beobachten, wobei bereits eine Stunde nach der Behandlung ein Rückgang der Viabilität einsetzt (Hinweis: logarithmische Skala). Ähnliche Messungen wurden durchgeführt, um die Wirksamkeit von Antibiotikabehandlungen an Bakterien zu demonstrieren.

Zellanalyse mit dem Ampha X30

Erhalten Sie neue Einblicke in Ihre Zellkultur und messen Sie Zellzahl, Viabilität und Stoffwechselaktivität gleichzeitig.

Analysieren Sie die gesamte Bandbreite an Zellen, ob Bakterien, Algen, Hefen sowie menschliche und tierische Zellen, ganz ohne Marker, Farbstoffe, Inkubation oder Kalibrierung. Mit Hilfe der inkludierten Software AmphaSoft PRO ist die Auswertung der Daten intuitiv und unkompliziert.



Markierungsfreie Analyse

Keine Färbung, keine Marker, keine Apoptose-Kits erforderlich.
Keine Inkubation und keine Kalibrierung notwendig.

Schwierige Medien

Unempfindlich gegenüber Trübung, Opazität oder Autofluoreszenz.
Erkennt somatische Zellen in Milch sowie Zellkontaminationen.

Umfassende Analyse

Alle Zelltypen von 1 bis 50 µm. Zellzahl und Viabilität gleichzeitig.
Zellgesundheitsstatus und Stoffwechsel als Bonus.

Kosteneffizient und schnell

Niedrige Betriebs- und Investitionskosten.
Sehr kurze Probenvorbereitung und Messzeiten.

Bitte kontaktieren Sie uns für weitere Informationen oder ein individuelles Angebot!

Tel.: +49 (0) 2683 4 30 94 • E-Mail: info@dunnlab.de • Internet: www.dunnlab.de

Ebenfalls von Dunn Labortechnik erhältlich:

**ECIS® Z Theta und ECIS® TEER Z
von Applied BioPhysics**

Messung der elektrischen Impedanz von Zellkulturen
mit **ECIS®** – Electric Cell Impedance Sensing

