



La nouvelle génération Kjeltect™ Encore plus innovant

Reconnu pour son expertise de l'analyse selon la méthode Kjeldahl, FOSS propose la nouvelle gamme Kjeltect™ 8000, avec de nouvelles prestations qui répondent aux besoins d'efficacité des laboratoires :

- Gestion documentaire simplifiée : enregistrement, résultats, diagnostics pour une traçabilité garantie
- Polyvalence renforcée et coûts de fonctionnement réduits
- Sécurité des opérateurs renforcée grâce à un ensemble de dispositifs proactifs : présence tube, porte de sécurité, niveau des réactifs, pression du générateur de vapeur

FOSS présentera sa nouvelle gamme Kjeltect™ 8000 ainsi que ses dernières innovations analytiques sur le **salon du Forum LABO & BIOTECH**, du 1^{er} au 4 juin, Pavillon 4, Stand C8-C9.



Disponible
bientôt !
www.shopfoss.fr
Vos consommables
et réactifs en
un seul clic !

FOSS France
Tél : 01 46 49 19 19
Fax : 01 47 60 00 67
www.foss.fr

Dedicated Analytical Solutions



Culture cellulaire sans compromis

Par Dr Kerstin Vieluf - Sartorius Stedim Biotech GmbH, Goettingen, Allemagne
Product Management, Lab Technologies - Tél. : +49.551/308-3522

Fax : +49.551/308-3565 – Web : www.sartorius-stedim.com

Sartorius Stedim France SAS - Tél : +33 4 42 84 56 00 - Fax : +33 (0)442.845 619

Email : info@sartorius-stedim.com - Web : www.sartorius-stedim.fr

En matière de conditions ambiantes et de composition des milieux de culture, la culture de cellules de mammifères impose des exigences élevées telles qu'un contrôle précis de la température, une concentration de CO₂ stable, une humidité constante et la régulation du pH et de la concentration de l'oxygène dissous dans le milieu de culture. La culture de haut niveau de cellules en suspension requiert notamment des solutions innovantes.

Une culture optimale de cellules en suspension n'est possible que si les conditions ambiantes sont reproductibles. Toutefois, les utilisateurs ne disposent pas toujours des appareils adaptés et doivent souvent faire des compromis. Pour les cellules en suspension par exemple, on a besoin d'un agitateur-incubateur ayant les propriétés d'un incubateur à CO₂. Jusqu'à présent, on disposait de deux solutions distinctes : il fallait soit placer de petits agitateurs de paillasse dans un incubateur à CO₂ ou bien modifier les agitateurs de bactéries de manière à permettre l'introduction de CO₂ et une humidification de l'espace intérieur. Mais, ces deux solutions présentent des inconvénients de taille : le dégagement de chaleur qui résulte du fonctionnement d'un agitateur dans un incubateur influence la précision et la répartition de la température dans l'incubateur. Quand on arrête l'agitateur, il se forme une condensation gazeuse qui corrode le moteur et diminue ainsi nettement la durée de vie de l'appareil. Dans les agitateurs-incubateurs de bactéries, l'introduction de CO₂ et l'humidité présente dans les endroits mal isolés peuvent également entraîner la formation de condensation et le dégagement d'une trop grande quantité de dioxyde de carbone dans l'air du laboratoire.

Un nouvel appareil

Lors du développement de son tout nouvel agitateur, le Certomat CTplus, Sartorius Stedim Biotech a tenu compte des aspects qui viennent d'être mentionnés et a ainsi créé le premier agitateur-incubateur spécialisé dans la culture de cellules de mammifères (ill. 1). L'intérieur de ce nouvel appareil est entièrement isolé des composants mécaniques et de la commande de l'appareil ce qui réduit énormément l'entretien. La surface lisse de la chambre en acier inoxydable est facile à nettoyer pour éviter de manière efficace que les cultures cellulaires ne soient contaminées.

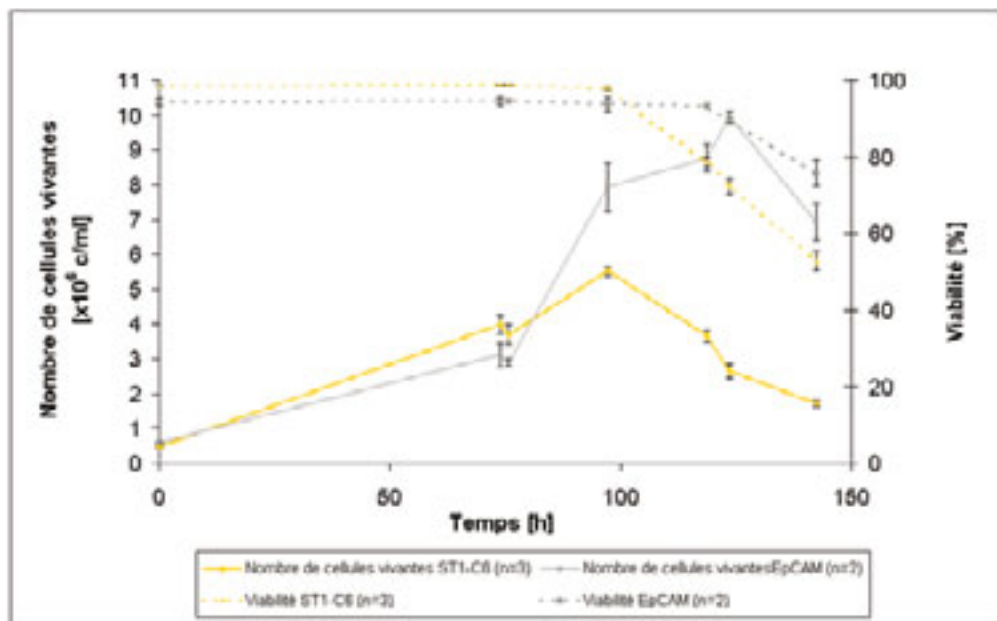
De nombreuses propriétés des cellules, telles que le taux de croissance, la production de protéines, le pH intracellulaire et l'apoptose, dépendent de la précision avec laquelle la température et le CO₂ sont réglés. C'est pourquoi les mécanismes de contrôle stricts de l'agitateur-incubateur et le fait qu'il atteigne à nouveau

très vite les paramètres de consigne après l'ouverture de la porte garantissent des conditions de culture optimales pour toutes les cellules en suspension.

Les domaines d'application typiques du nouvel agitateur-incubateur sont les cultures starter dans des fioles d'Erlenmeyer, la production d'anticorps monoclonaux à l'échelle de laboratoire et l'optimisation de milieux de culture à petite échelle. Il a été montré de manière expérimentale qu'il est possible d'obtenir des nombres élevés de cellules avec différentes lignées cellulaires (CHOST1-C6 et PER.C6 Epcam) dans différentes méthodes de culture. A cet effet, on a inoculé respectivement 5 x 10⁵ cellules/ml dans 15 ml de milieu de culture dans des CultiFlask 50 de 50 ml (Sartorius Stedim Biotech) et on les a cultivées dans les mêmes conditions (37 °C, 5 % de CO₂, 80 % d'humidité, 240 tr/min, 25 mm de course). Au bout de 96 heures, la lignée cellulaire CHOST1-C6 a atteint dans le procédé batch son nombre de cellules le plus élevé avec 4,6 x 10⁶/ml, l'ajout de glutamine n'améliorant que très peu ce nombre. En revanche, la croissance de la lignée cellulaire PER.C6 Epcam a pu être nettement optimisée : tandis qu'une densité cellulaire de 6,2 x 10⁶/ml a pu être obtenue pendant 118 heures de culture dans le procédé batch, l'ajout de 4 mM de glutamine le 3^{ème} et le 5^{ème} jour a fait passer le nombre de cellules à 1 x 10⁷ cellules/ml dans la préparation fed-batch (ill. 2).

Contrôle non invasif des conditions ambiantes

Le nombre et la viabilité des cellules ne sont que deux grandeurs pouvant être contrôlées pendant la culture. La détermination d'autres paramètres pendant la croissance des cellules, comme par exemple le contrôle du pH et de la concentration d'oxygène, peut être d'une grande importance notamment au tout début du développement du processus. Jusqu'à présent, le prélèvement et la mesure d'échantillons de la culture cellulaire, qui devaient avoir lieu à intervalles réguliers, demandaient un travail considérable. Avec la technologie Sensolux, Sartorius Stedim Biotech propose une solution qui fait gagner du temps en permettant de réaliser une mesure optique non invasive du pH et de la concentration de l'oxygène dissous (DO) dans jusqu'à neuf fioles d'Erlenmeyer en même temps. Cette méthode de détection simple et fiable facilite la sélection du clone cellulaire le plus productif et/ou du milieu de culture optimal. Les résultats permettent de connaître rapidement les taux de croissance et l'état des bioréactions et indiquent très tôt la présence de contaminations ainsi que l'arrêt de la croissance. Les mesures ont lieu en continu, c'est-à-dire qu'il est superflu de prélever des échantillons et qu'ainsi les cellules ne sont pas manipulées inutilement. Un logiciel de contrôle



III. 2 : Culture de cellules CHO-ST1-C6 et PER.C6 EpCAM à 37 °C, 5 % de CO₂ et 240 tr/min. Un échantillon a été prélevé tous les jours pour contrôler le nombre et la viabilité des cellules. Les 3^{ème} et 5^{ème} jours, on a ajouté 4 mM de glutamine ce qui a entraîné une augmentation significative des cellules Per.C6 EpCAM.

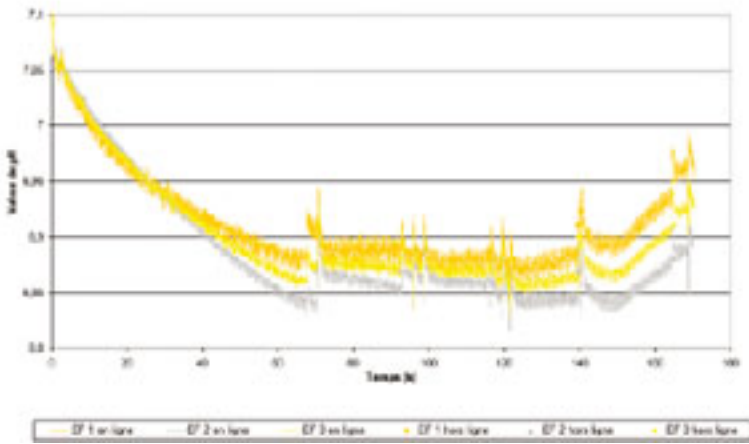


III. 1 : Agitateur-incubateur spécialisé dans la culture de cellules de mammifères

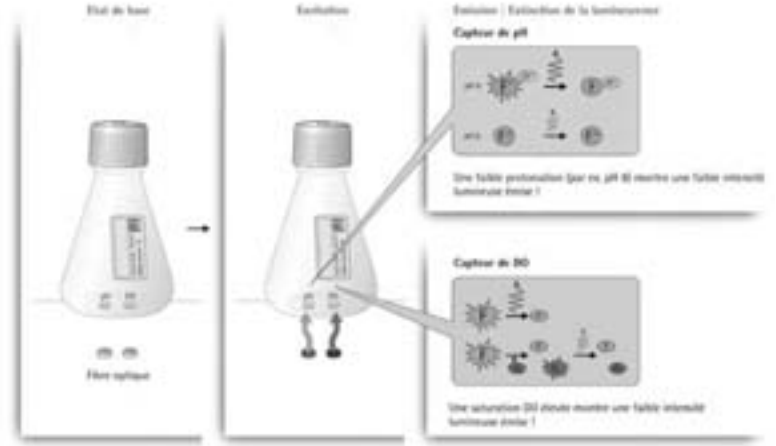
intuitif permet de sélectionner librement l'intervalle de mesure.

L'élément principal du système Sensolux est un plateau vibrant intelligent doté d'un système de capteurs intégrés. On l'utilise avec des fioles d'Erlenmeyer spéciales au fond desquelles se trouvent deux capteurs précalibrés ayant la forme de pastilles. Ces pastilles contiennent des colorants fluorescents qui peuvent être stimulés par

des longueurs d'onde spécifiques. L'une des pastilles sert à mesurer le pH, l'autre à déterminer le DO. La mesure a lieu de l'extérieur, c'est-à-dire de manière non invasive, à l'aide du système de capteurs du plateau vibrant. Des fibres optiques intégrées dans le plateau vibrant à l'emplacement de chacun des neuf postes de mesure dirigent de la lumière ayant la longueur d'onde d'excitation correspondante vers les pastilles et retransmettent la lumière



III. 4 : Des cellules CHO ont été cultivées dans trois fioles de 250 ml Sensolux EF à usage unique à 37 °C, 200 tr/min, 5 % de CO2 et 85 % d'humidité. Le graphique montre l'évolution du pH (mesuré en ligne avec cette technique et hors ligne avec une électrode standard) tout au long de la culture.



III. 3 : Technologie à pastilles Sensolux : deux capteurs placés au fond du flacon émettent de la lumière d'une longueur d'onde spécifique en fonction de la concentration de protons et d'oxygène.

émise par les pastilles aux amplificateurs de mesure. La caractéristique et l'intensité du signal lumineux émis sont alors influencées par des modifications des paramètres pH et DO (ill. 3).

Les séries de mesure ont été ici aussi convaincantes. Des valeurs de mesure obtenues d'une part avec des sondes classiques servant à mesurer le pH et le DO et d'autre part avec les pastilles révélatrices comparant les méthodes. Lors de la saisie d'un profil de pH créé par titrage, des écarts maximum de +/-0,1 unités de pH sont apparus avec un intervalle de mesure de 6 s pendant 19 h, ce qui correspond à 11 600 mesures individuelles. Cela est comparable à une culture cellulaire réalisée pendant 16 jours avec un intervalle de mesure de 2 minutes. Ici, la valeur de mesure dériverait uniquement de 0,01 par jour en raison de la décoloration de la pastille.

Une comparaison de la pastille DO avec une sonde Clark montre un écart de 0,2 % en cas de faible saturation en oxygène et de 1 % en cas de saturation élevée en oxygène. La dérive est d'environ 0,02 % par jour avec une saturation de 50 %.

Des expériences réalisées avec des cellules CHO inoculées dans 50 ml de milieu



de culture dans des fioles d'Erlenmeyer Sensolux EF de 250 ml et cultivées pendant plusieurs jours donnent des résultats comparables (ill. 4).

Bilan : En règle générale, le contrôle des principaux paramètres dans la culture cellulaire est lié à une charge de travail élevée. En revanche, le système Sensolux combine la précision des méthodes de mesure classiques avec une charge de travail nettement moindre tout en permettant d'installer le plateau vibrant dans chaque agitateur-incubateur à l'aide d'une plaque adaptatrice. Avec ses conditions de culture optimales, le Certomat CTplus offre toutefois la meilleure combinaison pour obtenir des résultats reproductibles et fiables.



Forum LABO&BIOTECH Stand F 48 - G 51

FRITSCH Mesure granulométrique

ANALYSETTE 22 MicroTec plus – LA NOUVELLE GÉNÉRATION



ANALYSETTE 22 MicroTec plus

- plage de mesure 80 nm – 2000 µm
- mini encombrement – mini prix
- technologie double laser sans équivalent
- disponible en voie humide et sèche
- volume de dispersion variable

Découvrez la nouvelle ANALYSETTE 22 MicroTec plus – un granulomètre laser polyvalent super compact pour toutes les applications. Et une nouvelle référence en termes de prix et de performance ! Retrouvez la gamme complète de FRITSCH sur www.fritsch-france.fr. Ou appelez-nous pour un conseil personnel ! 06 60 23 89 94 - deoliveira@fritsch-france.fr

FRITSCH. EN AVANT L'INNOVATION.