

Foire aux questions concernant les Flacons à Haut Rendement (Ultra Yield Flask®) de chez THOMSON.

Foire aux questions concernant les Flacons à Haut Rendement

[Données et méthodes d'utilisation des flacons à Haut Rendement utilisés par Genentech, GSK et Pfizer pour E.coli et autres souches microbiennes.](#)

Q. Pourquoi les flacons à haut rendement donnent de meilleurs résultats que les flacons en verre et les autres flacons à chicane et usage unique utilisés pour e.coli, Pichia Pastoris, Pombe, Schizomycètes ?

R. Les flacons à haut rendement (brevetés) sont des flacons d'agitation à haut niveau d'aération jetables (ou mini bioréacteurs). Les flacons à haut rendement atteignent un niveau d'aération élevé grâce à une conception à 6 chicanes qui a été optimisée pour la fermentation des bactéries e.coli, Pichia, Pombe, Schizomycètes et autres souches microbiennes. Ils permettent un transfert de gaz élevé lors d'une agitation à grande vitesse (10 fois supérieur à une oxygénation dans d'autres type de flasques). Lorsqu'ils sont combinés avec un milieu enrichi en nutriments et un bon équilibre du pH approprié, les rendements sont significativement accrus. La combinaison avec le couvercle AirOTop unique réalisé en matériau poreux à l'air, permet une aération exceptionnelle en usage unique. Grâce aux bouchons de flacon utilisés, fini le découpage du papier d'aluminium et l'exposition à une contamination croisée. Les flacons à haut rendement permettent des résultats évolutifs à partir de 125mL, 250mL et 500mL jusqu'à 2,5L.

Q. Comment le rendement augmente-t-il avec les flacons à haut rendement ?

R. Les flacons à haut rendement permettent un développement plus important de la biomasse ou des cellules agissant ainsi tel un bioréacteur à usage unique. Cela conduit à une augmentation des protéines, d'ADN, etc. L'augmentation de la densité s'accompagne d'une augmentation du rendement. Les cellules présentes dans les flacons à haut rendement peuvent se développer durant plus de 24 heures, car il n'y a pas de limitation d'oxygène. Les cellules ne passent pas de la phase de captage à la phase stationnaire mais plutôt par une phase de transition comme le montrent les données (données GSK). Cette étape de transition permet une croissance continue sans conditions anaérobie et utilise les propres nutriments des cellules pour poursuivre leur développement, et par conséquent ne stresse pas le système. Le maintien du pH est extrêmement important, ainsi un tamponnage avec un tampon non dépendant de la température tel le MOPS permet une grande différence dans la croissance cellulaire avec les flacons à haut rendement. Les flacons à haut rendement permettent une croissance optimale dans les flacons d'agitation et ils permettent des résultats évolutifs à partir des volumes de 125mL

jusqu'à 2,5L. Des études et des essais nous ont permis de démontrer que les flacons à haut rendement permettent des résultats standardisés constants.

Q. De quel ratio de milieu liquide pouvons-nous disposer dans les flacons à haut rendement pour bactéries e.coli et microbes ? Quelles sont les vitesses d'agitation recommandées pour les bactéries e.coli et les souches microbiennes ?

R. La ratio de milieu dépend des cellules à développer. Nous allons donner un ordre d'idée général pour e.coli. qui utilisera un volume de remplissage de 40 %. Dans le flacon de 2,5 litres, certaines personnes versent 500mL pour une DO maximale, et d'autres utilisent 1 litre. Ils utilisent alors 3 ou 4 flacons pour remplacer le fermenteur de petite échelle.

Vitesses recommandées :

- Réf. du milieu (mL)/vitesse d'agitation du flacon
- 931147 - Flacons à haut rendement de 125mL 50/carton - Stérile, veuillez couvrir le flacon avec les joints AirOtop 899415. 40-50mL/flacon 300-350 tr/min
- 931144 - Flacons à haut rendement de 250mL 50/carton - Stérile, veuillez couvrir le flacon avec les joints AirOtop 899415. 75-110mL/flacon 300-350 tr/min
- 931141 - Flacons à haut rendement de 500mL 50/carton - Stérile, veuillez couvrir le flacon avec les joints AirOtop 899415. 125-200mL/flacon 300-350 tr/min
- 931136-B 2.5L Flacons à haut rendement - Stérile, veuillez couvrir le flacon avec les joints AirOtop 899414. 500mL (optimum) 300-400 tr/min
- 931136-B 2.5L (Mode fermenteur) 1L 250 tr/min.

Q. Est-ce que quelqu'un a testé les flacons à haut rendement pour la concentration d'acétate ? Est-ce possible de les utiliser comme activateur de culture pour les vaccins ?

R. GSK a aimablement fourni des données relatives au pH, à l'OD et à l'acétate utilisées en production de vaccins.

L'acétate semble progresser avec les flacons d'agitation normaux, alors que le pH et l'acétate restent constants avec les flacons à haut rendement. Les flacons ont effectivement montré une réduction de teneur avec le temps.

Q. Quels pinces et agitateurs fonctionnent le mieux avec les flacons à haut rendement ?

R. Les flacons à haut rendement sont conçus pour une agitation dans les agitateurs orbitaux de 1 in. Avec des vitesses plus élevées, le ruban adhésif ne fonctionne pas, puisque les vitesses d'agitation plus élevées permettent une meilleure aération. Nos versions 125ml, 250mL et 500mL conviennent pour des pinces à flacon d'agitation standard. Le modèle 2,5L peut accueillir une pince à flacon d'agitation de 2L et New Brunswick propose une pince spéciale. Les agitateurs Kuhner ont également développés une pince à flacon spéciale.

Q. Quel milieu est-il possible de placer dans les flacons à haut rendement ?

R. Le milieu recommandé est un milieu enrichi dont le pH d'équilibre avoisine 7.4 . TB, EnBase, Magic Media sont tous de bons exemples de milieux hautement enrichis. Le pH d'équilibre est davantage utilisé avec des tampons qui contiennent du phosphate puisqu'ils ne sont pas dépendants de la température. Personnellement, nous préférons le MOPS à 100 millimoles avec l'un des ces milieux.

Q. Est-ce que les flacons à haut rendement sont jetables ou réutilisables ?

R. Le prix des flacons à haut rendement a été estimé pour une utilisation de ces flacons en tant que bioréacteurs à usage unique ou flacons d'agitation également à usage unique. Les flacons à haut rendement sont réutilisables, mais leur coût est nettement moins élevé qu'un passage en autoclave. Avec un coût de main d'œuvre d'environ 100 dollars/heure, il n'est vraiment pas intéressant de réutiliser le produit. Cela explique pourquoi nous réalisons des flacons à haut rendement de quelques dollars. Si vous souhaitez réutiliser les flasques, nous vous conseillons 5 utilisations avant toute perte de densité, puisque nous savons que le plastique peut se fragiliser avec le temps. Certaines personnes ont utilisé les flacons à plusieurs reprises, mais il ne faut pas oublier qu'un peu de détergent dans les flacons qui altérera une expérimentation peut s'avérer plus coûteux que la simple utilisation d'un flacon neuf.

Q. Mythes et légendes de la croissance des cultures ?

- LB est le média de croissance le moins sain. Les flacons à haut rendement sont mieux adaptés lors de l'utilisation d'un milieu enrichi.
- Cultiver des cellules pendant plus de 18 heures risque d'endommager la culture. Ce qui endommage la culture et cause une croissance en conditions anaérobies c'est le manque d'oxygène et la chute du pH lors de l'utilisation de flasques normales. Les flacons à haut rendement (UYF Thomson) donnent une aération suffisante pour 7 jours de croissance à 20°C, et 50 heures à 37°C.

Q. Que manque-t-il avec le LB et un milieu minimal ?

R. Le LB ou milieu minimal reviendrait à alimenter une personne en pain et en eau uniquement, or nous avons besoin de nutriments et de vitamines pour correctement se développer. Ceci est vrai pour les autres organismes vivants comme les microbes qui nécessitent un régime équilibré pour bien se développer.

Q. Quels sont les choix de milieux et les recommandations qui pourraient être faits aux utilisateurs finaux ?

R. Différents types existent : TB, Magic Media, Enbase, etc. (Voir question ci-dessus)

Q. Quels sont les systèmes utilisés avec les flacons à haut rendement ?

R. Les clients utilisent les flacons d'agitation, de marque New Brunswick, ATR, Kuhner et toutes les plateformes d'agitation disponibles.

Question d'utilisateur :

Q. Nous cultivons des organismes qui doivent être tués après la culture par un passage en autoclave. Est-ce que les flacons peuvent supporter ce passage en autoclave ? Les flacons comme les joints d'étanchéité sont stériles et prêts à l'usage.

R. Les flacons à haut rendement et les couvercles poreux d'étanchéité sont livrés prêts à l'usage et stériles. Comme cela est décrit, les utilisateurs ajoutent du milieu et stérilisent le flacon avec le milieu à l'intérieur, mais n'utilisez pas le joint AiroTop pour cela. Pour la stérilisation, il est préférable de placer une feuille d'aluminium sur le dessus. Après le passage en autoclave, laisser le flacon à haut rendement refroidir avant de l'utiliser puisqu'il conserve la chaleur. Les clients commettent souvent une erreur et tuent leurs cellules en retirant les flacons de l'autoclave pour y ajouter les cellules immédiatement.

Q. Comment cultiver des cellules et le milieu ?

R. Nous préparons habituellement une grande quantité de milieu et le stérilisons dans des bouteilles. Nous versons ensuite le milieu préparé dans les flacons à haut rendement, puis ajoutons les cellules. Nous trouvons que cela fonctionne bien et les opérations multiples se trouvent accélérées. C'est plus facile.

www.system-c-industrie.com

assistance@system-c-industrie.com

Tél : 04 75 54 86 00 / Fax : 04 75 54 86 09