

Caractéristiques techniques et mode d'emploi

Vivaspin 500 μl et 2 ml

À usage in vitro uniquement



Vivaspin 500 µl et 2 ml – Introduction

Conditions de stockage | Durée de vie

Les colonnes à centrifuger d'ultrafiltration Vivaspin doivent être stockées à température ambiante. Les appareils doivent être utilisés avant la date d'expiration figurant sur l'emballage.

Introduction

Les concentrateurs Vivaspin sont des dispositifs d'ultrafiltration jetables destinés à la concentration des échantillons biologiques. Le Vivaspin 500 convient aux volumes d'échantillons de 100 à 500 µl et le Vivaspin 2 aux volumes d'échantillons de 2 ml maximum. Le Vivaspin 2 s'utilise sur des rotors mobiles ou à angle fixe pouvant accueillir des tubes centrifugeurs de 15 ml.

La membrane verticale et la chambre de filtration à canal étroit brevetés (US 5 647 990) minimisent le colmatage de la membrane et permettent des vitesses de centrifugations élevées, même avec des solutions très chargées en particules.

Le Vivaspin 500 s'utilise sur des rotors à angle fixe pouvant accueillir des tubes centrifugeurs de 2,2 ml.

Vivaspin 2

Le système Vivaspin 2 a été spécialement conçu avec une surface interne et une surface de membrane faibles afin de permettre une récupération maximale de solutions très diluées.

Une autre caractéristique du Vivaspin 2 est qu'il est possible de récupérer le concentré soit par pipetage direct dans la chambre de rétention de sécurité placée au fond du dispositif soit dans le bouchon de récupération après centrifugation inverse. Le bouchon peut également être fermé pour stockage de l'échantillon.

Différentes membranes

Outre la disponibilité d'une membrane en polyéthersulfone (PES) permettant un flux important et recommandé pour la plupart des solutions, le Vivaspin 2 peut être proposé avec une membrane en triacétate de cellulose (CTA) et Hydrosart®.

La membrane en CTA est particulièrement recommandée lorsqu'un taux de récupération important dans le filtrat est nécessaire. La membrane Hydrosart® est une membrane à base de cellulose stabilisée qui a été optimisée pour l'industrie biotechnologique. La membrane Hydrosart® est un polymère stable qui supporte une vaste plage de pH. L'Hydrosart® est également extrêmement hydrophile, empêchant ainsi la fixation des protéines, ce qui la rend pratiquement non-colmatante et permet un flux important. Hydrosart® est disponible avec un seuil de coupure de 5, 10 et 30 kilo Dalton (kDa).

Le comportement de la membrane est fortement dépendant des caractéristiques de la solution à traiter. Sartorius Stedim Biotech recommande aux utilisateurs de tester différentes membranes afin d'optimiser les performances du dispositif et de son utilisation.

Équipement nécessaire

1. Centrifugeuse avec rotor mobile ou à angle fixe (minimum 25°).

Dispositif	Support requis
Vivaspin 500	2,2 ml/11 mm Ø
Vivaspin 2	15 ml/17 mm Ø

2. Des pipettes Pasteur pour le dépôt et le retrait de l'échantillon. Pour une récupération maximale, des embouts fins pour chargement des gels sont recommandés.

Fonctionnement

1. Sélectionnez la membrane la plus adéquate pour votre échantillon. Pour une récupération maximale, sélectionnez une coupure de membrane inférieure d'au moins 50 % à la taille moléculaire de l'espèce donnée.

2. Remplissez le concentrateur jusqu'aux volumes maximum indiqués dans le tableau 1. (Vérifiez que le bouchon à vis est bien fermé.)

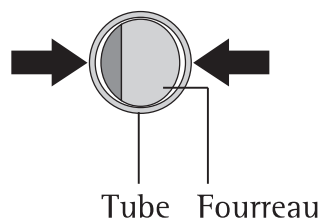
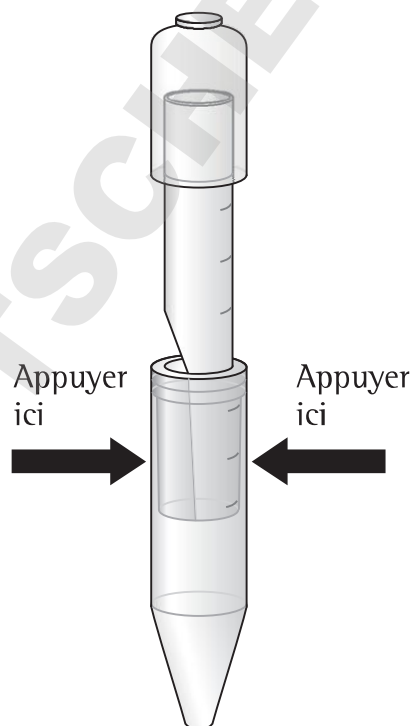
3. Insérez l'ensemble du concentrateur dans la centrifugeuse (en cas d'utilisation de rotors à angle fixe, la face imprimée doit être orientée vers le haut | l'extérieur).

4. Effectuez la centrifugation aux vitesses recommandées dans le tableau 2, en prenant soin de ne pas dépasser la force g maximale variable selon le type de membrane et la coupure de la membrane.

5. Dès que la concentration souhaitée est atteinte (voir les tableaux 3a et 3b pour connaître les durées de centrifugation), retirez l'ensemble et récupérez l'échantillon au fond de la poche de concentrés à l'aide d'une pipette. Le tube à filtrat peut être fermé à des fins de stockage.

Retrait du corps Vivaspin 2 du tube de filtrat

Le fourreau (vu depuis l'extrémité) est ovale dans la coupe transversale. Le tube est arrondi dans la coupe transversale pour un meilleur ajustement. Pour retirer le tube du fourreau, vous devez le pincer pour qu'il prenne une forme ovale avant de l'enlever par un mouvement de rotation.



Centrifugation inversée avec Vivaspin 2

Selon la préférence de l'utilisateur ou le besoin de stockage de l'échantillon, le concentré peut être récupéré par centrifugation inverse dans le bouchon de récupération (lorsque un rotor à angle fixe est utilisé, la face imprimée du dispositif doit être orientée vers le haut/l'extérieur). Dans cette procédure, le tube de filtrat doit être enlevé, le bouchon de récupération inséré dans le tube du filtrat puis le concentrateur retourné. Le système complet doit être centrifugé jusqu'à 3 000 g pendant 2 minutes. Le bouchon de récupération contenant le concentré peut être fermé à des fins de stockage.

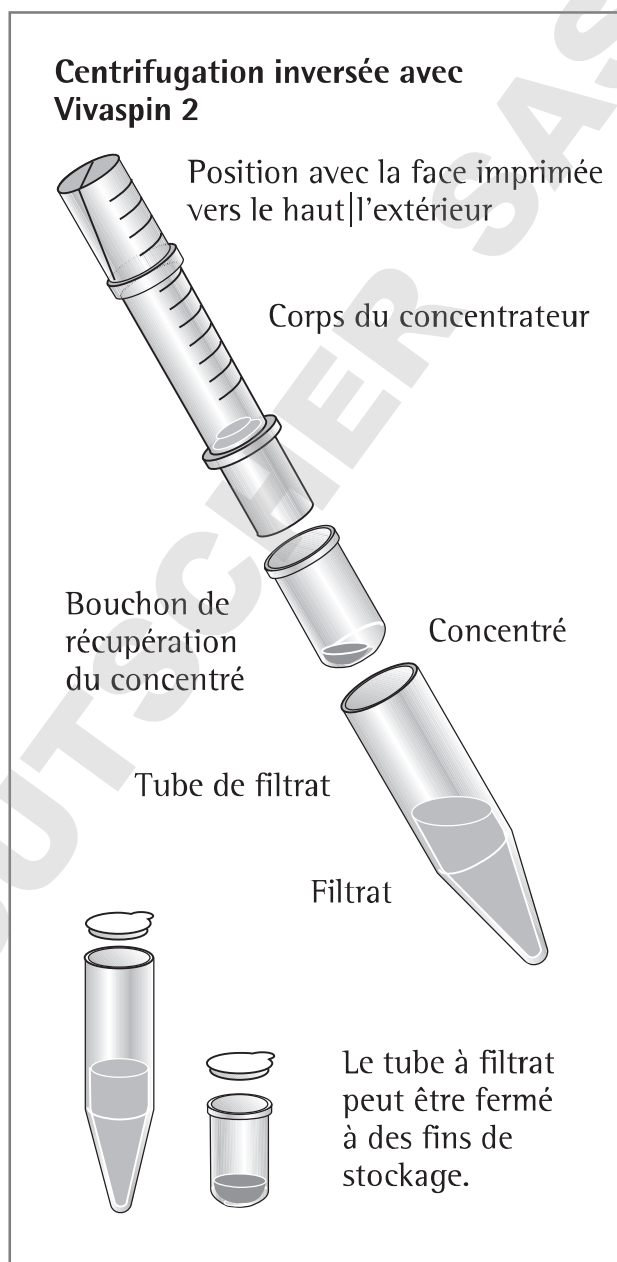
Dessalage | Changement de tampon

1. Concentrez l'échantillon jusqu'au niveau souhaité.

2. Videz le réservoir de filtrat.

3. Remplissez à nouveau le concentrateur à l'aide d'un solvant adéquat.

4. Concentrez à nouveau l'échantillon et répétez le processus jusqu'à ce que la réduction de la concentration de microsolutés contaminants soit suffisante. Habituellement, trois cycles de lavage vont permettre de réduire de 99 % la teneur en sels initiale.



Équipement nécessaire

Centrifugeuse

	Vivaspin 500	Vivaspin 2
Type de rotor	À angle fixe	Mobile ou à angle fixe
Angle minimal du rotor	40°	25°
Cavité du rotor	Pour des tubes inférieurs coniques de 2,2 ml (11 mm)	Pour des tubes inférieurs coniques de 15 ml (17 mm)

Récupération du concentré

Type de pipette	À volume fixe ou variable	À volume fixe ou variable
Recommandation	Embout fin pour chargement des gels	Embout fin pour chargement des gels

Caractéristiques techniques

Tableau 1 : Caractéristiques techniques

	Vivaspin 500	Vivaspin 2
Capacité du concentrateur		
Rotor mobile	Ne pas utiliser	3 ml
Rotor à angle fixe	500 µl	2 ml
Dimensions		
Longueur totale	50 mm	126 mm
Largeur	11 mm	17 mm
Zonre active de la membrane	0,5 cm ²	1,2 cm ²
Volume mort, membrane et support	<5 µl	<10 µl
Volume à butée fixe* :	5 µl	8 µl
Matériaux de construction		
Corps	Polycarbonate	Polycarbonate
Cuve de filtrat	Polypropylène	Polycarbonate
Capuchon du concentrateur	Polycarbonate	Polycarbonate
Membrane	Polyéthersulfone	PES, CTA, HY

Tableau 2 : Vitesse de centrifugation recommandée (xg)

Dispositif	Vivaspin 500	Vivaspin 2	
	À angle fixe	À angle fixe	Mobile
3–50 000 PES	15 000	12 000	4 000
>100 000 PES	15 000	9 000	4 000
5–20 000 CTA	–	8 000	4 000
Hydrosart®	–	8 000	4 000

* Volume à butée fixe comme dessiné dans l'outil de fraisage. Ce volume peut varier selon l'échantillon, la concentration de l'échantillon, la température de fonctionnement et le rotor de la centrifugeuse.

Conseils d'utilisation

1. Débit

La vitesse de filtration varie selon plusieurs paramètres, tels que la coupure de membrane, la porosité, la concentration de l'échantillon, la viscosité, la force centrifuge et la température. Il faut s'attendre à des durées de rotation beaucoup plus longues pour des solutions initiales de plus de 5 % de solides. À une température de fonctionnement de 4°C, les débits sont environ 1,5 fois plus lents qu'à 25°C. Les solutions visqueuses, comme la glycérine à 50 %, prendront jusqu'à 5 fois plus de temps pour se concentrer que les échantillons dans des solutions tampons.

2. Rinçage préalable

Les membranes fixées sur les concentrateurs Vivaspin contiennent des traces de glycérine et d'acide de sodium. Si ces dernières affectent l'analyse, elles peuvent être éliminées par rinçage en remplissant le dispositif concentrateur avec une solution tampon ou de l'eau désionisée et en la faisant traverser par la membrane par centrifugation. Éliminez alors filtrat et concentré avant de traiter l'échantillon. Si vous ne souhaitez pas utiliser immédiatement le dispositif pré-rincé, conservez-le au réfrigérateur, la surface de la membrane recouverte de tampon ou d'eau. Ne laissez PAS la membrane sécher.

3. Stérilisation des membranes en polyéthersulfone

Les dispositifs Vavispin ne doivent pas être auto-clavés car les hautes températures vont augmenter fortement les seuils de coupure des membranes. Pour les stériliser, utilisez une solution d'éthanol à 70 % ou un mélange gazeux stérilisant.

4. Compatibilité chimique

Les concentrateurs Vivaspin sont destinés à être utilisés avec des fluides biologiques et des solutions aqueuses. Pour obtenir plus d'informations sur la compatibilité chimique, reportez-vous au tableau 4.

Performances

Tableau 3a : Performances Vivaspin 500

	Temps [min.] pour concentrer jusqu'à 30x à 20°C	Concentré récupéré en %
Volume initial	500 µl	500 µl
Aprotinine 0,25 mg/ml (6 500 MW)		
3 000 coupures de membrane PES	30	96 %
BSA 1 mg/ml (66 000 MW)		
5 000 coupures de membrane PES	15	96 %
10 000 coupures de membrane PES	5	96 %
30 000 coupures de membrane PES	5	95 %
IgG 0,25 mg/ml (160 000 MW)		
30 000 coupures de membrane PES	10	96 %
50 000 coupures de membrane PES	10	96 %
100 000 coupures de membrane PES	10	96 %

DOMINIQUE DUTSCHER S.A.S

Tableau 3b : Performances Vivaspin 2

	Temps [min.] pour concentrer jusqu'à 30x à 20°C	Concentré récupéré en %
Volume initial	2 ml	2 ml
Chaîne d'insuline A 0,1 mg/ml (2 535 MW)		
2 000 coupures de membrane Hydrosart®	35	95 %
Aprotinine 0,25 mg/ml (6 500 MW)		
3 000 coupures de membrane PES	50	96 %
BSA 1 mg/ml (66 000 MW)		
5 000 coupures de membrane PES	12	98 %
5 000 coupures de membrane CTA	50	96 %
5 000 coupures de membrane Hydrosart®	22	98 %
10 000 coupures de membrane PES	8	98 %
10 000 coupures de membrane CTA	10	96 %
10 000 coupures de membrane Hydrosart®	12	98 %
20 000 coupures de membrane CTA	5	96 %
30 000 coupures de membrane PES	8	97 %
30 000 coupures de membrane Hydrosart®	5	97 %
IgG 0,25 mg/ml (160 000 MW)		
20 000 coupures de membrane CTA	6	97 %
30 000 coupures de membrane PES	10	96 %
50 000 coupures de membrane PES	10	96 %
100 000 coupures de membrane PES	8	95 %

Compatibilité chimique

Tableau 4 : Compatibilité chimique (temps de contact de 2 heures)

Solutions	PES	CTA	HY
Plage de pH compatible	pH 1–9	pH 4–8	pH 1–9
Acide acétique (25 %)	OK	NO	OK
Acétone (10 %)	NO	NO	NO
Acétonitrile (10 %)	NO	NO	NO
Hydroxyde d'ammonium (5 %)	?	OK	OK
Hydroxyde d'ammonium (saturé)	OK	?	?
Benzène (100 %)	NO	NO	NO
n-Butanol (70 %)	?	NO	?
Chloroforme (1 %)	NO	NO	NO
Diméthylformamide (10 %)	?	NO	NO
Diméthylsulfoxyde (5 %)	OK	NO	NO
Éthanol (70 %)	OK	OK	OK
Acétate d'éthyle (100 %)	NO	NO	NO
Formaldéhyde (30 %)	OK	OK	OK
Acide formique (5 %)	OK	?	OK
Glycérine (70 %)	OK	OK	OK
Guanidine HCl (6 M)	OK	?	OK
Hydrocarbures, aromatiques	NO	NO	NO
Hydrocarbures, chlorés	NO	NO	NO
Acide chlorhydrique (1,0 M)	OK	NO	OK
Imidazole (300 mM)	OK	NO	?
Alcool d'isopropyle (70 %)	OK	OK	OK
Acide lactique (5 %)	OK	NO	OK
Mercaptoéthanol (1,0 M)	NO	NO	OK
Méthanol (60 %)	?	?	OK
Acide nitrique (10 %)	OK	NO	NO

Solutions	PES	CTA	HY
Plage de pH compatible	pH 1–9	pH 4–8	pH 1–9
Phénol (1 %)	?	?	NO
Tampon de phosphates (1 M)	OK	OK	OK
Glycol polyéthylénique (10 %)	OK	?	?
Pyridine (100 %)	NO	NO	NO
Carbonate de sodium (20 %)	OK	NO	?
Désoxycholate de sodium (5 %)	OK	?	?
Dodécylsulfate de sodium (0,1 M)	OK	OK	OK
Hydroxyde de sodium (2,5 M)	NO	NO	NO
Hypochlorite de sodium (200 ppm)	OK	NO	NO
Nitrate de sodium (1,0 %)	OK	?	OK
Acide sulfamique (5 %)	OK	NO	?
Tétrahydrofurane (5 %)	NO	NO	NO
Toluène (1 %)	NO	NO	NO
Acide trifluoroacétique (10 %)	OK	NO	OK
Tween 20 (0,1 %)	OK	OK	OK
Triton X-100 (0,1 %)	OK	OK	OK
Urée (8 M)	OK	?	OK

OK = Acceptable ? = À tester NO = Non recommandé

Informations de commande

Conseils pour la prise de commande

- Choisissez une membrane avec une porosité au moins 50 % inférieure à celle de la molécule à retenir dans le concentré.
- Choisissez une membrane en polyéthersulfone (PES) pour une concentration plus rapide.
- Choisissez une membrane en triacétate de cellulose (TCA) pour l'élimination de protéines ou la récupération du filtrat.
- Choisissez une membrane Hydrosart® pour une récupération maximale de fractions d'immunoglobulines (Ig).

Vivaspin 500 Polyéthersulfone	Conditionnement	Réf.
3 000 coupures de membrane	25	VS0191
3 000 coupures de membrane	100	VS0192
5 000 MWCO	25	VS0111
5 000 MWCO	100	VS0112
10 000 MWCO	25	VS0101
10 000 MWCO	100	VS0102
30 000 MWCO	25	VS0121
30 000 MWCO	100	VS0122
50 000 MWCO	25	VS0131
50 000 MWCO	100	VS0132
100 000 MWCO	25	VS0141
100 000 MWCO	100	VS0142
300 000 MWCO	25	VS0151
300 000 MWCO	100	VS0152
1 000 000 MWCO	25	VS0161
1 000 000 MWCO	100	VS0162
0,2 µm	25	VS0171
0,2 µm	100	VS0172
Pack starter (5 de chaque 5 K, 10 K, 30 K, 50 K, 100 K)	25	VS01S1

Vivaspin 2 Polyéthersulfone	Conditionnement	Réf.
3 000 coupures de membrane	25	VS0291
3 000 coupures de membrane	100	VS0292
5 000 MWCO	25	VS0211
5 000 MWCO	100	VS0212
10 000 MWCO	25	VS0201
10 000 MWCO	100	VS0202
30 000 MWCO	25	VS0221
30 000 MWCO	100	VS0222
50 000 MWCO	25	VS0231
50 000 MWCO	100	VS0232
100 000 MWCO	25	VS0241
100 000 MWCO	100	VS0242
300 000 MWCO	25	VS0251
300 000 MWCO	100	VS0252
1 000 000 MWCO	25	VS0261
1 000 000 MWCO	100	VS0262
0,2 µm	25	VS0271
0,2 µm	100	VS0272
Pack starter (5 de chaque 5 K, 10 K, 30 K, 50 K, 100 K)	25	VS02S1

Vivaspin 2 Triacétate de cellulose	Conditionnement	Réf.
5 000 coupures de membrane	25	VS02U1
5 000 coupures de membrane	100	VS02U2
10 000 coupures de membrane	25	VS02V1
10 000 coupures de membrane	100	VS02V2
20 000 coupures de membrane	25	VS02X1
20 000 coupures de membrane	100	VS02X2

Vivaspin 2 Hydrosart®	Conditionnement	Réf.
2 000 coupures de membrane	25	VS02H91
2 000 coupures de membrane	100	VS02H92
5 000 coupures de membrane	25	VS02H11
5 000 coupures de membrane	100	VS02H12
10 000 coupures de membrane	25	VS02H01
10 000 coupures de membrane	100	VS02H02
30 000 coupures de membrane	25	VS02H21
30 000 coupures de membrane	100	VS02H22

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Sartorius Stedim Biotech GmbH
August-Spindler-Strasse 11
37079 Goettingen, Allemagne
Téléphone +49.551.308.0
Fax +49.551.308.3289
www.sartorius.com

Copyright de Sartorius Stedim Biotech GmbH, Goettingen, Allemagne. Tous droits réservés. La réimpression ou la transmission, totale ou partielle, de cette documentation, sous quelque forme et par quelque moyen que ce soit, est interdite sans l'accord écrit préalable de Sartorius Stedim Biotech GmbH. Les informations, caractéristiques techniques et illustrations contenues dans ce manuel sont fournies telles qu'elles étaient connues à la date indiquée ci-dessous. Sartorius Stedim Biotech GmbH se réserve le droit de modifier sans préavis les technologies, fonctions, caractéristiques techniques et l'aspect du matériel.

Date :
janvier 2014,
Sartorius Stedim Biotech GmbH,
Goettingen, Allemagne

Imprimé en Allemagne sur papier blanchi sans chlore. | W
N° de publication : SLU6093-f140104
Ver. 01 | 2014