



Правильная  
работа  
с пипетками

Методы  
оценки  
и выбора

## Оптимизируйте работу в лаборатории

Руководство по качественному дозированию



---

# Содержание

<b>1. Предисловие</b>	4
<b>2. Планирование рабочего процесса и подбор оборудования</b>	5
Планирование рабочего процесса	5
Анализ рабочего процесса	5
Оптимизация рабочего процесса	7
Требования к объему пробы и производительности при анализе образцов	7
Требования к контейнерам для образцов и реагентов	10
Специальные требования к образцу и анализу	11
<b>3. Выбор правильной пипетки</b>	15
Пипетки воздушного вытеснения	16
Пипетки позитивного вытеснения	16
Оптимизация рабочего процесса	17
Требования к объему и пропускной способности при анализе образцов	17
Электронные одноканальные пипетки	19
Многоканальные пипетки	20
Высокопроизводительные системы дозирования	21
Специальные пипетки	22
Пипетки позитивного вытеснения	22
Шприцевые дозаторы (репитеры)	23
Пипеточные дозаторы	24
Бутылочные дозаторы	25
<b>4. Выбор правильного наконечника: конструкция, качество и посадка</b>	27
Конструкция наконечника	27
Качество наконечника	28
Уплотнение между пипеткой и наконечником	29
Система сброса наконечников LTS™ LifeTouch™	29
Выбор наконечника	31
Специальные наконечники для особых областей применения	31

---

## Содержание

<b>5. Методы работы с пипеткой</b>	34
Оптимальный диапазон объемов	35
Глубина погружения наконечника	36
Отбор образца под правильным углом	37
Улучшение воспроизводимости	38
Единообразное дозирование образца	39
Предварительное промывание наконечников	40
Как избежать колебаний температуры	40
Последовательное изменение настроек объема	41
<b>Риски при дозировании</b>	44



---

## 1. Предисловие

Надлежащая практика работы с пипетками призвана помочь исследователям в достижении наилучших результатов благодаря продуманному выбору точного и эргономичного оборудования, процедурам калибровки и подходящим режимам повседневной работы. Дозирование с помощью пипетки (отбор и перенос небольших объемов жидкости в диапазоне от микролитров до миллилитров) — вероятно, самая распространенная операция в любой лаборатории. Способность выполнять ее быстро и точно — необходимая предпосылка успешной работы. Благодаря своим многочисленным преимуществам современные пипетки с воздушным вытеснением используются для выполнения большей части задач в лаборатории — они идеально подходят для эффективного дозирования жидкостей в небольших объемах. Новейшие высококачественные пипетки и наконечники позволяют достигать высокого уровня производительности при соответствующей экономии трудозатрат.

---

## 2. Планирование рабочего процесса и подбор оборудования

### Планирование рабочего процесса

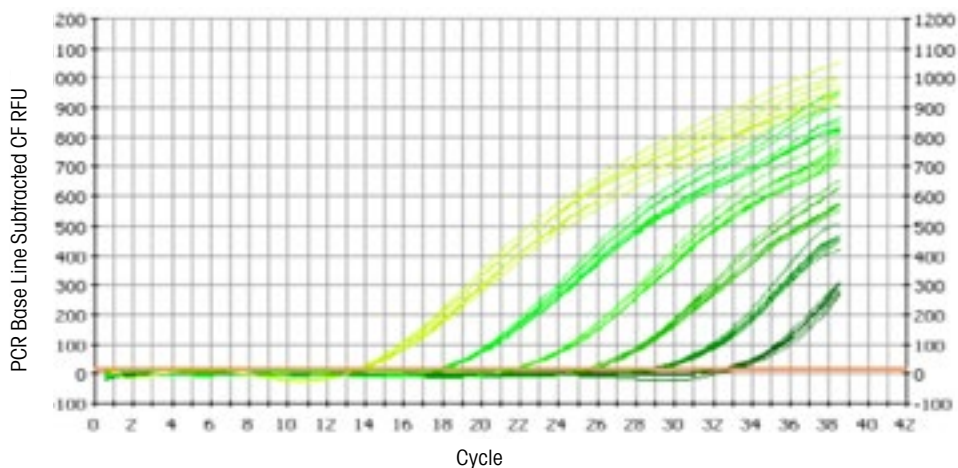
Новый проект необходимо начинать с плана, подробно анализируя каждый этап с точки зрения эффективности и целесообразности. Необходимо четко понимать свойства пробы и знать требуемую производительность. Это позволит определиться с объемами пробы (планшеты, пробирки и т.д.) и оптимальными средствами для отбора образцов. Выбор правильной пипетки, наконечника и способа дозирования — это неотъемлемая часть планирования и реализации любого эксперимента.

### Анализ рабочего процесса

Первый шаг заключается в определении всех этапов эксперимента — от первоначального выделения образца до получения конечных данных. Сюда также входят подготовительные этапы (приготовление буферного раствора или концентрированной реакционной смеси). Далее необходимо определить допустимый разброс данных эксперимента, позволяющий получить хорошие результаты. Одни области исследования более чувствительности к экспериментальной нестабильности, чем другие. Например, амплификация при количественной ПЦР может сильно зависеть от алгоритма выполнения, тогда как для приготовления буфера это не настолько критично. Основным источником экспериментальной нестабильности могут быть неоптимальный подбор пипетки и наконечника, а также плохая техника дозирования. Например, погрешности при дозировании могут повлиять на любые эксперименты, зависящие от стандартной кривой, формируемой последовательным разбавлением образцов.

## Анализ рабочего процесса

- Определите максимально допустимую изменчивость в эксперименте.
- Выявите области применения и этапы, где изменчивость наиболее вероятна:
  - Количественная ПЦР;
  - Последовательные разбавления.



---

## Оптимизация рабочего процесса

### Требования к объему пробы и производительности при анализе образцов

Часто в начале рабочего процесса несколько жидкостей используются в относительно большом объеме (например, приготовление буферного раствора, посев клеток и т. д.), и на этом этапе вполне обычен перенос 5 или 10 мл без особого упора на точность. Однако в конечных методиках обнаружения могут использоваться лишь небольшие объемы, и требования к точности дозирования могут возрасти.

Необходимо соблюдать разумное соотношение между скоростью и точностью (прецизионностью), так как различные средства для работы с большими объемами могут обладать разными возможностями. Для выбора пипетки правильного объема рекомендуется оценивать ее рабочий диапазон как 35–100 % от указанного общего объема. Например, эффективный рабочий диапазон пипетки объемом 1000 мкл составляет 350–1000 мкл. Даже если в технических данных пипетки этого объема указан минимум 100 мкл и ее можно отрегулировать до 0 мкл, рекомендация использовать 350 мкл в качестве минимума основывается на пользовательской методике. Для объемов меньше 35 % от общего объема пипетки требуется более точная методика дозирования. Работа в ненадлежащем диапазоне любого прибора приведет к ухудшению точности (прецизионности).



Тип пипетки	Модель	Мин. емкость	Макс. емкость	Точность 10 %	Прецизионность 10 %	Точность 50 %	Прецизионность 50 %	Точность 100 %	Прецизионность 100 %
Пипетка позитивного вытеснения	MR-10	0,5 мкл	10 мкл	9 %	3 %	2 %	0,60 %	1,50 %	0,60 %
	MR-250	50 мкл	250 мкл	3 %	0,60 %	1,70 %	0,30 %	1 %	0,20 %
	MR-1000	100 мкл	1000 мкл	3 %	1,60 %	1 %	0,50 %	0,80 %	0,40 %
Пипетка воздушного вытеснения	L-10XLS	0,5 мкл	10 мкл	2,50 %	1,20 %	1,50 %	0,60 %	1 %	0,40 %
	L-200XLS	20 мкл	200 мкл	2,50 %	1 %	0,80 %	0,25 %	0,80 %	0,15 %
	L-1000XLS	100 мкл	1000 мкл	3 %	0,60 %	0,80 %	0,20 %	0,80 %	0,15 %

## Точность и прецизионность

Точность — это способность пипетки дозировать количество жидкости, максимально близкое к объему, заданному в установках. Традиционные нормы точности для пипеток воздушного вытеснения составляют приблизительно 1 % при номинальных установках объема больше 35 %. Для установок объема пипетки на уровне 10 % или ниже характеристики точности могут быть почти в три раза меньше.

Прецизионность измеряет способность пипетки воспроизводить дозировку одинаковых объемов жидкости. Традиционные нормы прецизионности для пипеток воздушного вытеснения составляют примерно от 1/3 до 1/4 от норм точности. Прецизионность часто называют повторяемостью или воспроизводимостью дозирования образца, а также стандартным отклонением.

Тип используемой пипетки зависит от свойств образца. Например, для вязких проб нужна особая методика или модель пипетки, чтобы получить хорошую прецизионность и точность. Дополнительная информация представлена в таблице:

Тип раствора образца		Диапазон объемов	Рекомендуемый раствор	
			Механические системы	Электронные системы
Вязкий, органический растворитель, не стандартная температура	Образцы большого объема	20–50 мл	AutoRep S	AutoRep E
Невязкий, водный, не стандартная температура		20–50 мл	AutoRep S	Pipet-X
Вязкий, органический растворитель, не стандартная температура		1–20 мл	AutoRep S	AutoRep E
Невязкий, водный, не стандартная температура		1–20 мл	Pipet-Lite XLS, AutoRep S	Pipet-X, E4 XLS
Вязкий, органический растворитель, не стандартная температура	Образцы среднего объема	200–1000 мкл	Pos-D, AutoRep S	AutoRep E
Невязкий, водный, при температуре окружающей среды		200–1000 мкл	Pipet-Lite XLS	E4 XLS
Вязкий, органический растворитель, при экстремальной температуре	Образцы малого объема	10–200 мкл	Pos-D	
Невязкий, водный, при температуре окружающей среды		10–200 мкл	Pipet-Lite XLS	E4 XLS
Вязкий, органический растворитель, не стандартная температура	Микроколичества образца	<10 мкл	Pos-D	
Невязкий, водный, при температуре окружающей среды		<10 мкл	Pipet-Lite XLS	E4 XLS

При большом количестве образцов оптимально использовать планшеты и многоканальные пипетки. Если анализируется несколько планшетов на 96 или 384 лунки, рекомендуется применять 96-канальное дозирование для экономии времени и уменьшения ошибок.

## Требования к контейнерам для образцов и реагентов

При использовании 96-луночных планшетов может потребоваться перемещение нескольких образцов или реагентов из пробирок на планшеты или наоборот, а иногда требуется перенос между планшетами различных форматов (с 24-луночного на 96-луночный). Многоканальные пипетки с регулируемым шагом позволяют добиться сокращения времени на изменение формата до 85 %, так как можно перемещать до восьми образцов одновременно. Например, перемещение целевых образцов из неформатированного набора пробирок на форматированный (9 мм между центрами лунок) 96-луночный планшет требует лишь простого отбора образца с неформатированного планшета.



### Многоканальные пипетки с регулируемым шагом

Помогают перемещать несколько образцов одновременно:

- Из пробирок на планшеты (и наоборот);
- Между различными планшетами (24/48/96 лунок).

## Специальные требования к образцу и анализу

В случае сложного или многократного дозирования могут пригодиться электронные пипетки, так как их можно использовать для повторного дозирования и запрограммировать под конкретные протоколы. Более того, электронные пипетки по сравнению с механическими повышают достоверность результатов, поскольку микропроцессор устраняет ошибки и колебания в перемещении поршня. Разница особенно заметна в случае данных, требующих последовательных разбавлений, когда ошибки дозирования могут накапливаться, и в областях применения, требующих амплификации, например, при количественной ПЦР.

Каждый химический анализ и образец обладают уникальными свойствами, которые могут создавать сложные проблемы. Например, в исследованиях генома всегда следует использовать наконечники с фильтрами, чтобы минимизировать загрязнение образца или пипетки инородными ДНК. Фильтры блокируют аэрозоли образца, загрязняющие ствол пипетки, а затем и последующие образцы. Фильтры также защищают от микробного заражения, едких веществ и отложений солей.

### Электронные пипетки могут быть полезны:

- При использовании протоколов сложного и повторного дозирования;
- В областях применения, требующих высоких уровней точности и прецизионности (например, количественная ПЦР).



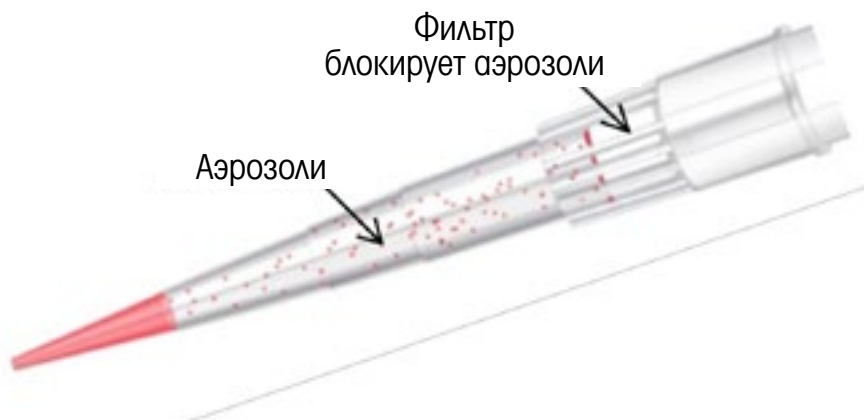
---

После выбора типа пипетки и объемного диапазона необходимо определиться с типом наконечников.

Обычно наконечники изготавливают из полипропилена из-за его устойчивости к большинству растворителей, но важно учесть скрытые факторы. В ходе изготовления часто используют множество добавок, которые могут вымываться из готового изделия и влиять на результаты эксперимента. Чтобы обезопасить себя необходимо приобретать сертифицированные изделия, удостоверившись, что поставщик предоставляет документальное подтверждение испытаний на чувствительность ко всем вымываемым продуктам и загрязнителям. Множество организаций, занимающихся литьем и упаковкой, выполняют эти операции в нестерильных помещениях, что приводит к загрязнению продукта ДНК и пирогенами. Надежное предприятие гарантирует, что все рабочие носят одежду, полностью покрывающую тело, головные уборы, маски и перчатки, и в помещение подается фильтрованный воздух. Кроме того, в сертификатах должен быть описан процесс испытания и указана чувствительность анализа. Сертификаты без указания метода или чувствительности обнаружения, не дают никакой информации или гарантии качества.

### Уникальное применение

- Используйте фильтр для минимизации кросс-контаминации ДНК.
- Кроме того, наконечники с фильтрами защищают поршень от микробного заражения, агрессивных веществ и отложений солей.



Следующим аспектом, который следует учитывать в отношении наконечников, является наличие определенных объемов, требуемых для различных выбранных пипеток, а также специальных наконечников, которые могут понадобиться для анализа (например, наконечники с фильтром для исследований генома). И, наконец, нужно учесть размер упаковки, чтобы обеспечить количество наконечников, достаточное для комфортной работы в заданный период времени.

Возможно, потребуется предусмотреть некоторое количество механических пипеток для различного диапазона объемов, которые нужно будет дозировать, чтобы обеспечить точность и избежать частой перенастройки объемов.



### 3. Выбор правильной пипетки

Существует множество средств дозирования, которые позволяют достичь оптимальных результатов и повысить производительность, обеспечивая при этом дополнительные преимущества, такие как эргономичность и улучшенная функциональность для данной области применения. Микропипетки бывают двух основных типов: воздушного вытеснения и позитивного вытеснения. В обоих типах объем дозируемой жидкости определяется диаметром и длиной хода поршня.

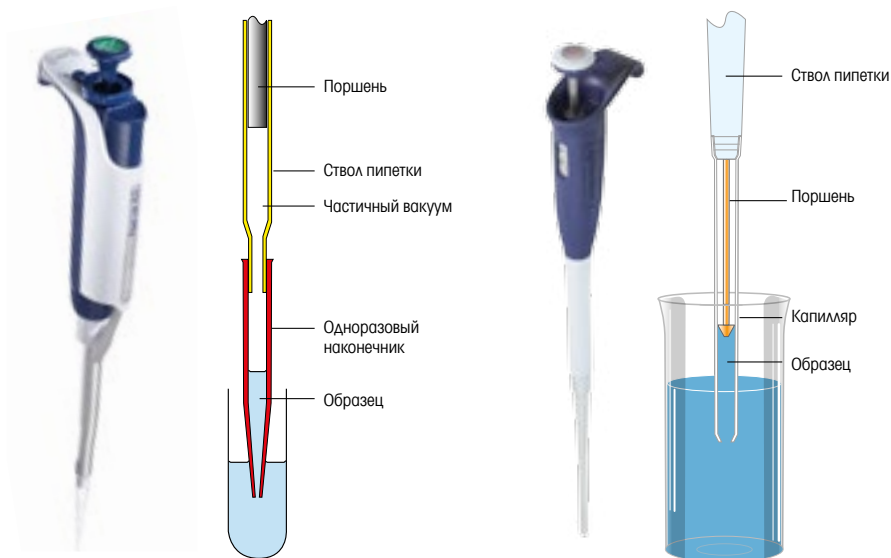


Рис. 1. Пипетки воздушного и позитивного вытеснения



---

## Пипетки воздушного вытеснения

- Очень точны при работе с водными растворами.
- Экономичны.

Пипетки с воздушным вытеснением — это самые распространенные средства дозирования в лаборатории. Эти пипетки применяют следующим образом: кончик наконечника опускают в жидкость, затем отпускают кнопку поршня. Когда поршень пипетки движется вверх, создается частичный вакуум, и жидкий образец перемещается в верхнюю часть наконечника, заполняя пустое пространство выбранного объема, образовавшееся под действием частичного вакуума.

## Пипетки позитивного вытеснения

- Очень точны при работе с большинством растворов.
- Рекомендуются для вязких, плотных, летучих или агрессивных жидкостей.

Хотя пипетки позитивного вытеснения не столь распространены, как пипетки с воздушным вытеснением, их можно часто встретить в лабораторной обстановке. Для создания пустого пространства выбранного объема в этих пипетках используется система, состоящая из одноразового поршня и капилляра. Когда поршень, непосредственно соприкасающийся с образцом, начинает подниматься, образец всасывается в капилляр. Пипетки позитивного вытеснения обеспечивают высокую точность и прецизионность при дозировании водных растворов, но рекомендуются для использования с вязкими, плотными, летучими и агрессивными растворами. Одноразовые капилляры и поршни, применяемые в пипетках позитивного вытеснения, обходятся дороже по сравнению с одноразовыми наконечниками для пипеток воздушного вытеснения, поэтому рекомендуется использовать пипетки воздушного вытеснения, если они дадут те же самые результаты.

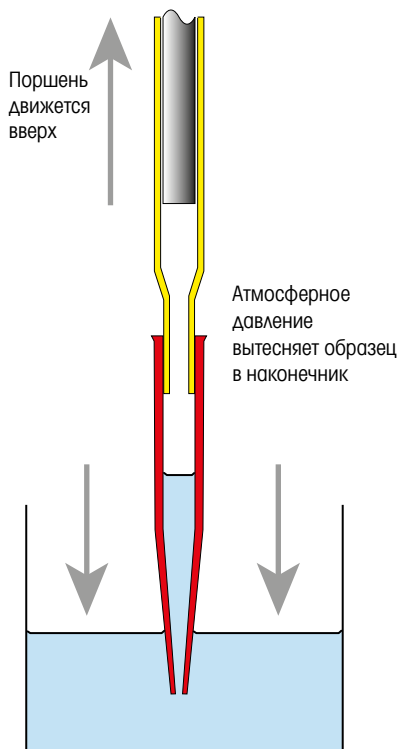


Рис. 2.  
Действие пипетки с воздушным вытеснением

## Оптимизация рабочего процесса

### Требования к объему пробы и производительности при анализе образцов

Часто в начале рабочего процесса несколько жидкостей используются в относительно большом объеме (например, приготовление буферного раствора, посев клеток и т. д.), и на этом этапе вполне обычен перенос 5 или 10 мл без особого упора на точность. Однако в конечных методиках обнаружения могут использоваться лишь небольшие объемы, и требования к точности дозирования могут возрасти.

Необходимо соблюдать разумное соотношение между скоростью и точностью (прецизионностью), так как различные средства для работы с большими объемами могут обладать разными возможностями. Для выбора пипетки правильного объема рекомендуется оценивать ее рабочий диапазон как 35–100 % от указанного общего объема. Например, эффективный рабочий диапазон пипетки объемом 1000 мкл составляет 350–1000 мкл. Даже если в технических данных пипетки этого объема указан минимум 100 мкл и ее можно отрегулировать до 0 мкл, рекомендация использовать 350 мкл в качестве минимума основывается на пользовательской методике. Для объемов меньше 35 % от общего объема пипетки требуется более точная методика дозирования. Работа в ненадлежащем диапазоне любого прибора приведет к ухудшению точности (прецизионности).



Рис. 3.  
Механическая пипетка



Рис. 4. Электронная пипетка

## Электронные одноканальные пипетки

Электронные пипетки появились в продаже в середине 1980-х годов. В электронных пипетках воздушного вытеснения отбор и дозирование пробы управляются микропроцессором и инициируются нажатием кнопки, а не нажатием или отпуском поршня большим пальцем. Электронная пипетка позволяет добиться более единообразного отбора и дозировки образца и повысить точность и воспроизводимость, фактически устранив расхождения между пользователями. Современные электронные пипетки должны быть простыми в работе, с хорошим пользовательским интерфейсом и большим цветным экраном. Они универсальны, а их программируемые функции подходят для точного выполнения сложных задач, таких как повторное дозирование, титрование, последовательные разбавления, измерение объемов неизвестных образцов и т. д. В электронной пипетке можно без труда запрограммировать повторное перемещение поршня для смешивания двух растворов в наконечнике. Электронные пипетки с регуляторами скорости отбора и дозирования можно использовать для переноса самых разных жидкостей. Самые большие скорости идеально подходят для дозирования образцов на водной основе, более низкие скорости подходят для вязких, пенящихся или чувствительных к повреждению образцов.

---

## Многоканальные пипетки

Многоканальные пипетки идеально подходят в тех случаях, когда требуется высокая производительность, в том числе при выполнении иммуноферментного твердофазного анализа (ELISA) на 96-луночном планшете или ПЦР для синтеза ДНК. Современные многоканальные пипетки от компании Rainin обладают эргономичным дизайном, позволяют быстро и надежно надевать наконечники и обеспечивают единообразный отбор образца во всех каналах. Модели с регулируемым шагом позволяют задавать интервал между наконечниками для переноса образцов из 96-луночных планшетов в штативы с пробирками или на 24-луночные планшеты. Многоканальные пипетки и пипетки с регулируемым шагом выпускаются в механическом и электронном исполнениях в широком диапазоне объемов.



Рис. 5. Многоканальные пипетки

---

## Высокопроизводительные системы дозирования

Системы дозирования, которые отбирают и дозируют 96 лунок за раз, идеально подходят для быстрой и эффективной работы с многолучными планшетами. До недавнего времени дорогостоящие роботизированные системы были единственным способом дозирования в 96 лунок или на весь планшет. Однако Rainin Liquidator 96 — ручная настольная система дозирования, не требующая электричества, программирования и обучения оператора — упрощает и оптимизирует дозирование 96-луночных и 384-луночных планшетов и может использоваться в лабораториях или в месте проведения исследования.



Рис. 6.  
Настольная система дозирования Liquidator

---

## Специальные пипетки

Пипетки других типов (или устройства для работы с жидкостями) менее распространены, чем пипетки с воздушным вытеснением, но исследователи часто отдают им предпочтение с учетом специфики их конструкции и предназначения.

### **Пипетки позитивного вытеснения**

Примером механической пипетки позитивного вытеснения является Rainin Pos-D. В этих пипетках для создания пустого физического пространства заданного объема используется одноразовая система из поршня и капилляра. Когда поршень, непосредственно соприкасающийся с образцом, начинает подниматься, образец всасывается в капилляр. Эти пипетки полностью предотвращают перекрестное загрязнение пипетки образцом, так как для каждого образца используется новый поршень. Благодаря этому они идеально подходят для ПЦР и других важных областей применения. Пипетки позитивного вытеснения рекомендуется использовать с вязкими, плотными, летучими и агрессивными растворами.



Рис. 7.  
Пипетка позитивного вытеснения



### **Шприцевые дозаторы (репитеры)**

Шприцевые дозаторы, оснащенные шприцем и встроенным поршнем, действуют по принципу позитивного вытеснения. Они предназначены для всасывания большого объема жидкого образца с последующей его дозировкой в нескольких равных аликвотах. Они выпускаются в электронном и механическом вариантах и используют одноразовые шприцы в широком диапазоне объемов.

Рис. 8.  
Электронные (слева) и механические  
шприцевые дозаторы



## Пипеточные дозаторы

Пипеточные дозаторы, которые в основном используются для больших объемов (25–100 мкл), представляют собой электронные или механические устройства, обеспечивающие всасывание для стеклянных или пластмассовых серологических пипеток. Пипетка прикрепляется к мягкому «носику», и пользователь нажимает кнопку на дозаторе, чтобы создать частичный вакуум внутри стеклянной или пластмассовой пипетки. Частичный вакуум вытесняется жидкостью под атмосферным давлением. После переноса в другой сосуд жидкость дозируется нажатием другой кнопки или самотеком. В самых простых версиях используется мягкая эластичная груша, которую сжимают рукой и отпускают, создавая и регулируя частичный вакуум.



Рис. 9.  
Электронный пипеточный дозатор

### **Бутылочные дозаторы**

Некоторые лабораторные жидкости из-за их свойств (например, агрессивные или токсичные жидкости) лучше держать на постоянном месте под вытяжными колпаками или в безопасных шкафах. Для безопасного переноса относительно небольших объемов этих жидкостей можно использовать бутылочный дозатор. Дозатор действует по принципу насоса, и современные версии обеспечивают точную и безопасную дозировку «опасных» жидкостей в объемах до 50 мл.



Рис. 10. Бутылочный дозатор



## 4. Выбор подходящего наконечника: конструкция, качество и посадка

Пипетка и наконечник — это система, а не отдельные компоненты. При использовании универсальных, совместимых со всеми типами пипеток, наконечников страдает качество посадки и конструкция наконечника.

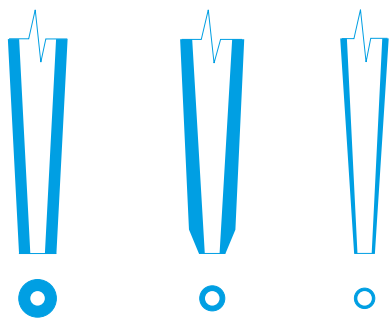


Рис. 11.  
Толстостенный наконечник (слева), скошенный наконечник (посередине) и наконечник Rainin FinePoint (справа)

### Конструкция наконечника

Самая совершенная конструкция — это гибкий тонкостенный наконечник с тонким кончиком или небольшим отверстием на конце. При дозировании малых объемов (менее 20 мкл) наконечники Rainin FinePoint™ повышают точность и прецизионность по сравнению со стандартными наконечниками для пипеток с толстыми стенками или скошенными кончиками.

Наконечники FinePoint более гибкие, чем большинство других стандартных наконечников, и позволяют жидкому образцу стекать при наклоне наконечника под любым углом, обеспечивая полный перенос пробы.

Различия в конструкции наконечника влияют на производительность, точность и прецизионность. Если используются наконечники, рекомендованные изготовителем, пипетки при правильном обращении будут гарантированно работать указанной точностью и прецизионностью.

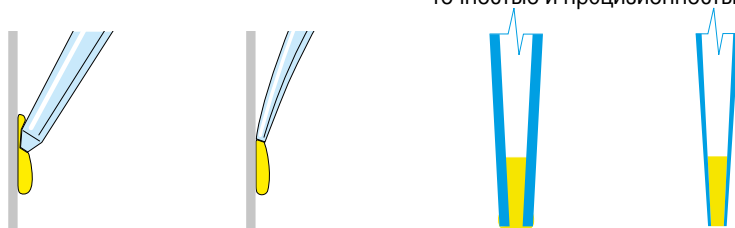


Рис. 12. Дозировка (слева) и удержание образца (справа) в случае конического и наконечника FinePoint

## Качество наконечника

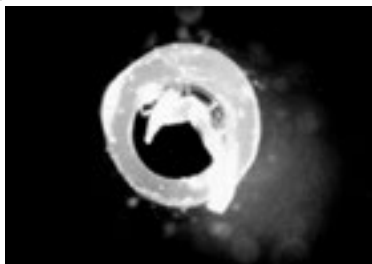
Самые серьезные дефекты качества имеют место на кончике наконечника, которое оказывает наибольшее влияние на отбор и дозирование образца. На рис. 13 в увеличенном виде показаны кончики наконечников четырех типов.

**Заусенец** — это остатки пластмассы, образовавшиеся внутри наконечника или вокруг отверстия в процессе отливки.

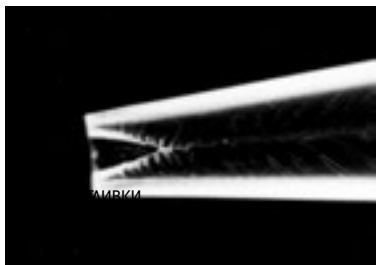
**Дефекты отливки и нарушения соосности** возникают в результате неправильного срабатывания пальца подачи литейного стержня после впрыскивания пластмассы. Все эти дефекты приводят к потере образца во время дозирования. Производственный процесс высокого качества позволяет свести к минимуму возникновение дефектов наконечника и ошибок при дозировании.



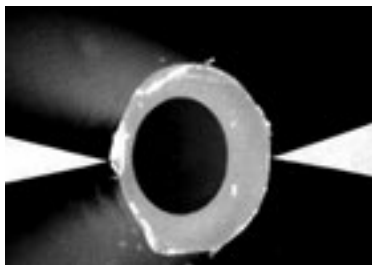
Качественное отверстие наконечника



Заусенец на выходе наконечника



МВКИ



Нарушение соосности

Рис. 13. Отверстия наконечников: хороший наконечник и три типа дефектов

---

## Уплотнение между пипеткой и наконечником

Большинство конических наконечников рассчитаны на пипетки любых моделей: уплотнитель между внутренней частью наконечника и наружной частью ствола пипетки достаточно большой, чтобы подойти к самым разнообразным пипеткам. Из-за этого возникает сильное трение между ним и посадочным конусом при посадке наконечника. Не существует маячка, что нужное уплотнение достигнуто и приходится прикладывать силу, чтобы гарантировать герметичность.

Из-за увеличенной площади сцепления наконечника и пипетки необходимо прикладывать большое усилие для сброса наконечника. Это может повысить риск получения травм из-за постоянной нагрузки (RSI), особенно при длительной работе с пипеткой.

### Система сброса наконечников LTS LifeTouch

Учитывая проблемы, связанные с эргономикой и усилием при надевании и сбросе наконечников, а также другие трудности с уплотнением, специалисты Rainin разработали новую конструкцию наконечника под названием LTS или LifeTouch System. LTS значительно сокращает усилие при посадке и сбросе наконечников.

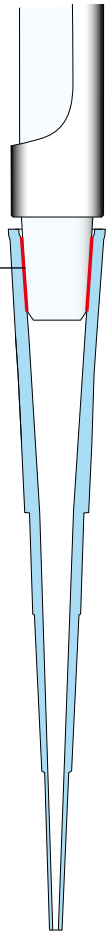
Две характеристики LTS способствуют снижению усилия сброса:

- Меньшая площадь уплотнения позволяет закреплять наконечники без всякого труда.
- Выступ внутри наконечника образует жесткий упор, не позволяющий стволу пипетки с усилием входить в наконечник.

Конструкция области уплотнения обеспечивает хорошую боковую устойчивость, благодаря которой наконечник не сваливается во время работы.

Универсальный

Большая площадь  
уплотнения



LTS Lite Touch System

Небольшая площадь  
уплотнения

Жесткий упор

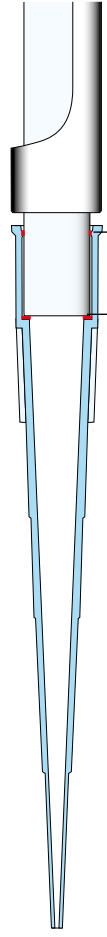


Рис. 14. Системы универсального (конического) и LTS (цилиндрического) наконечников

---

## Выбор наконечника

Чтобы обеспечить плавный и непрерывный поток образца и снизить риск загрязнения, при выборе наконечников следует учитывать:

**Материал наконечника.** Наконечники должны быть изготовлены из материала с малой адгезией (например, из чистого полипропилена), не содержащего добавок, красителей или вторично используемых материалов.

**Конструкция наконечника.** Толщина стенок, гибкость, диаметр выходного отверстия и чистота поверхности — это важные факторы для посадки на пипетку и потока жидкости в наконечнике.

**Качество наконечника.** Наконечники изготавливают в стерильных условиях? Можно отследить отдельные партии? Есть ли в материале наконечника добавки или дефекты, которые могут привести к ошибке?

## Специальные наконечники для особых областей применения

Существует несколько «нестандартных» типов наконечников, которые полезны в отдельных областях применения.

**Наконечники Rainin Gel-Well** предназначены для внесения пробы в гель и выпускаются с плоскими или закругленными концами с очень маленькими выходными отверстиями.

**Наконечники с широким выходным отверстием** предназначены для работы с образцами, требующими осторожного обращения (целые клетки или ДНК с высокой молекулярной массой). Большое выходное отверстие сводит к минимуму повреждение образца и предотвращает лизис клеток. Эти наконечники рекомендуются при дозировании соляных растворов или взвесей отмытых клеток для облегчения отбора пробы и предотвращения разрушения клеток.

**Наконечники с малой адгезией** обладают специальным гидрофобным покрытием, которое позволяет дозировать чрезвычайно «липкие» образцы, как белки, например. Такие наконечники не требуются для стандартных жидких образцов.



---

**Наконечники Rainin ShaftGard** защищают ствол пипетки от случайного загрязнения, поскольку эти компоненты находятся внутри наконечника. Наконечники ShaftGard можно использовать в узких пробирках, не рискуя коснуться пипеткой стенок.

**Наконечники увеличенной длины** более узкие и длинные по сравнению с другими того же объема. Благодаря малому диаметру и длине 102 мм эти наконечники могут достигать дна узких пробирок, не касаясь стенок.

**Наконечники с фильтром** используются для устранения перекрестного загрязнения проб или загрязнения пипетки аэрозолями, причем рабочие характеристики пипетки не снижаются. Их рекомендуют использовать при дозировании летучих проб, чтобы избежать попадания агрессивных паров в ствол пипетки и повреждения поршня.

**Капилляры/поршни** предназначены для использования с пипетками позитивного вытеснения при дозировании вязких, плотных, летучих жидкостей или холодных и горячих водных растворов.

**Наконечники для подготовки образцов** появились относительно недавно. Конструкция Rainin PureSpeed «смола в наконечнике» создает возможность для удобной, недорогой и полуавтоматической очистки биомолекул, обессоливания пробы или использования в задачах, связанных с ионным обменом.

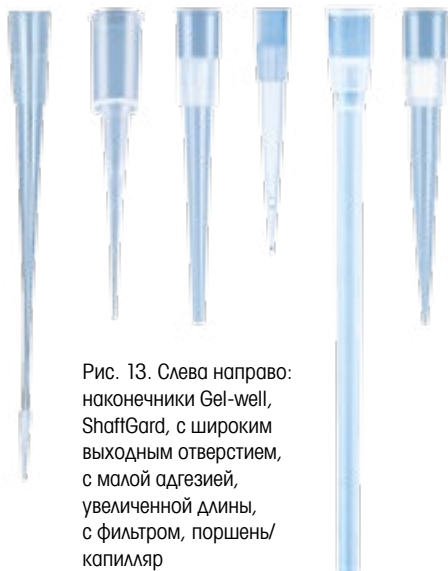


Рис. 13. Слева направо: наконечники Gel-well, ShaftGard, с широким выходным отверстием, с малой адгезией, увеличенной длины, с фильтром, поршень/капилляр



Рис. 14. Наконечник для подготовки образцов Rainin PureSpeed

---

## 5. Методы работы с пипеткой

Правильная оценка области применения и, следовательно, выбор инструментов оказывают значительное влияние на результаты исследования. Однако это не все аспекты, которые следует учитывать исследователям для достижения оптимальных результатов. Другие факторы, такие как правильная техника пипетирования, а также воздействие окружающей среды, тоже будут влиять на результаты исследования. В научных исследованиях велика роль точности и прецизионности, и на следующих страницах будет дан краткий обзор различных аспектов, важных при работе с пипетками. Знаете ли вы, что одно лишь выполнение этих рекомендаций может повысить точность и прецизионность почти на 5 %?

### Оптимальный диапазон объемов

Нормальный рабочий диапазон для большинства пипеток составляет 10–100 % от номинального объема. Хотя этот диапазон принято считать рабочим, эксплуатационные характеристики пипетки будут меняться при уменьшении установки объема.

Нормы точности для пипетки объемом 100 мкл составляют  $\pm 0,8\%$  от номинала 50–100 %. Но если бы объем был установлен на 10 мкл (или 10 % от номинала), погрешность увеличилась бы в три раза или до 2,5–3 %.

Поэтому оптимальный объем для наибольшей точности и прецизионности обычно составляет 35–100 % от номинала. Старайтесь не устанавливать на пипетке объем меньше 10 % от ее максимального объема — вместо этого перейдите на пипетки меньшего размера, предназначенные для меньших объемов.

### Зависимость объем/диапазон



При уменьшении объема дозирования до 10 % снижение точности может составить до 3 %.

## Глубина погружения наконечника

Правильная глубина погружения может повысить точность на 5% и имеет особое значение при работе с микродозаторами. В зависимости от размера наконечника его следует погружать в образец на глубину 1–2 мм для пипеток, предназначенных для микрообъемов, и на 6–10 мм для пипеток, рассчитанных на большие объемы. Если погрузить наконечник слишком глубоко, объем содержащегося в нем воздуха будет сжиматься, что приведет к всасыванию лишнего количества жидкости. Жидкость, задержавшаяся на поверхности наконечника, также может нарушить точность результатов. Если же погрузить наконечник недостаточно глубоко, это может привести к затягиванию внутрь воздуха, что вызовет образование пузырей и также повлияет на точность результатов. И то, и другое приводит к неточному объему.

## Глубина погружения наконечника



1–10 мкл: 1–2 мм

10–200 мкл: 2–3 мм

200–2000 мкл: 3–6 мм

При правильной глубине погружения улучшение точности может составить до 5 %, поэтому используйте рекомендованную глубину погружения, как показано ниже. (>2000 мкл, используйте глубину 6–10 мм.)

## Отбор образца под правильным углом

Угол погружения наконечника пипетки в образец должен быть как можно ближе к  $90^\circ$  и не отклоняться более чем на  $20^\circ$  от вертикали. В случае микрообъемных пипеток поддержание угла, максимально близкого к вертикали, может повысить точность на величину до 2,5 %.

Если угол больше  $20^\circ$ , измерения могут быть неверными. В этом случае в наконечник будет втягиваться слишком много жидкости, что приведет к неточному отбору.

## Вертикальный угол погружения



Правильный угол



Неправильный угол

Погружение под углом  $60^\circ$  может привести к отбору жидкости на 0,7 % больше, чем намечалось.

## Улучшение воспроизводимости

Сохранение постоянного ритма и скорости работы пипеткой поможет добиться оптимальных результатов и улучшить воспроизводимость. Поддержание постоянного ритма и скорости позволяет добиться улучшения точности до 5 %.

## Стабильный темп дозирования

Дозируйте образцы в стабильном темпе. Не спешите и размеренно выполняйте каждый этап цикла дозирования.

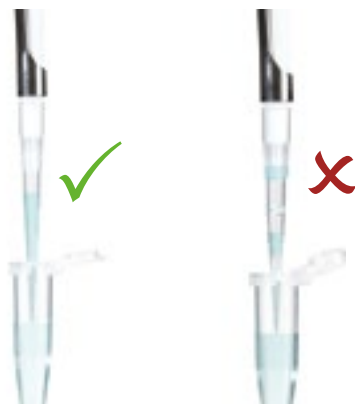
## Пипетки больших объемов

При работе с большими объемами, обычно от 1 мл, делайте паузу около 1 секунды или больше после отбора образца, не вынимая наконечник из жидкости. Это позволит полностью отобрать образец.

## Плавное движение поршня

Нажимайте и отпускайте поршень плавно, поддерживая постоянную скорость. Неуправляемый отбор может привести к возникновению пузырьков, разбрызгиванию, образованию аэрозолей и загрязнению ствола и поршня пипетки, а также к потере объема образца.

## Стабильный ритм и скорость работы



Правильное дозирование

Захват воздуха в наконечник

## Единообразное дозирование образца

Можно добиться высочайшей точности и воспроизводимости результатов от образца к образцу, если жидкость до последней капли будет выходить из пипетки, не оставаясь в наконечнике. Это единообразие особенно важно при дозировании микрообъемов из-за сверхмалых размеров образцов.

Правильная методика дозирования позволяет повысить точность на величину до 1 %. При дозировании образца кончик наконечника должен касаться стенки сосуда, что предотвратит удерживание образца в наконечнике. Если после дозирования провести кончиком наконечника вверх по стенке сосуда, из наконечника выйдет вся жидкость, оставшаяся возле выходного отверстия.

## Единообразное дозирование образца



Дозирование по стенке сосуда



Дозирование в жидкость



Дозирование на поверхность жидкости

### Дозирование в жидкость или на поверхность жидкости

При дозировании непосредственно в жидкость или на ее поверхность используйте режим обратного дозирования, чтобы предотвратить захват образца после дозирования.

---

### **Предварительная промывка наконечников**

Предварительная промывка наконечника 2–3 раза позволяет создать на внутренней поверхности пленку жидкости, способную увеличить точность на величину до 0,2 %. Предварительная промывка также помогает нейтрализовать капиллярные эффекты в микрообъемных пипетках, а в наконечниках большого объема выравнивает температуру внутри наконечника с температурой образца.

### **Исключения**

Предварительная промывка может отрицательно сказаться на результатах в случае дозирования очень холодных растворов, например, из ледяных ванн, или растворов с температурой выше 37 °С, так как это может привести к погрешности до 5 %.

### **Предварительная промывка наконечника**





## Как избежать колебаний температуры

### Постоянная комнатная температура

Идеальная температура для дозирования —  $21,5\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ ; эта же температура должна быть при калибровке. Избегайте сквозняков и прямого солнечного света, так как они создают сильные и резкие перепады температуры, снижающие точность дозирования. Дозирование при постоянной температуре повышает точность на 5%.



### Необходимо дополнительное время для выравнивания температур

Другим важным аспектом является время выравнивания температур. Пипетки восприимчивы к колебаниям температуры между различными образцами. Холодные жидкости часто отбираются в избыточном объеме, а теплые — в объеме меньше расчетного. Если не указано иное, дождитесь выравнивания температур пипеток и жидкостей, прежде чем работать с ними.

### Эффекты от нагрева рукой

При длительной работе тепло рук может передаваться пипетке. В результате воздух внутри пипетки нагревается и расширяется, и результаты становятся неточными.

Избежать ошибок от нагрева можно, используя качественную пипетку из ПВДФ-полимеров, и установкой пипетки на стойку в перерывах между циклами.



---

### **Последовательное изменение настроек объема**

При изменении дозируемого объема от более высокого значения к более низкому переходите к нужному объему сразу. Однако при переходе от более низкого к более высокому объему поверните колесо селектора примерно на 1/3 оборота больше нужной установки объема. Это позволит избежать механического люфта и повысить точность.





## Риски при дозировании

Надлежащая практика работы с пипетками — это специальная комплексная программа оценки характерных рисков дозирования и нахождения способов их снижения. Интерактивный инструмент GPP Risk Check™ — отличный способ приступить к делу: потратив всего пять минут, вы получите оценку рисков и рекомендации по их снижению.



Компания МЕТТЛЕР ТОЛЕДО предлагает проведение комплексных семинаров по GPP и управлению рисками при работе с пипетками. Если вас заинтересовало это предложение, обратитесь к представителю компании Rainin.

► [www.mt.com/gpp](http://www.mt.com/gpp)

[www.mt.com/rainin](http://www.mt.com/rainin)

Дополнительная информация

### МЕТТЛЕР ТОЛЕДО СНГ

101000 Москва,  
Сретенский бульвар, 6/1  
Тел.: (495) 777-70-77

E-mail: [inforus@mt.com](mailto:inforus@mt.com)  
Internet: [www.mt.com](http://www.mt.com)

© 11/2016 МЕТТЛЕР ТОЛЕДО СНГ  
Права на технические изменения  
сохраняются  
Напечатано в России