

Low Retention Tips

ザルトリウス スマートチップ (ローリテンション)



#05

ザルトリウス
ローリテンシ
ョンチップ

#01

他社製品の
性能比較

#02

#03

#04

サマリー

分注の系統誤差（正確度）と偶然誤差（再現性）は、ラボでの実験において成功の鍵を握る要因となります。ピペットとチップが相互に完璧に適合し、チップとピペット本体の環境が使用サンプルにとって最適な場合、最高の分注が実現されます。

表面張力が低い液体（例：界面活性剤など）の分注では、ポリプロピレン製の一般的なチップは、その内壁に液体の膜を残存してしまい、バラツキの多い、不正確な分注の原因となるだけでなく、貴重なサンプルのロスを引き起こしてしまいます。

この問題をより解決するため、一般的なチップの改良にはさまざまな技術が用いられています。本アプリケーションノートでは、界面活性剤などの溶液を扱う際のローリテンションチップを他社製のチップと比較しています。その結果、表面張力の低い液体の分注において、ザルトリウススマートチップ（ローリテンション）はほぼ完璧な回収率を示しています。他社製のローリテンションチップとの比較では、ザルトリウスのチップは最高のサンプル回収率と最高の耐薬品性を実現しました。

はじめに

多くの分子生物学アプリケーションにおいて検出法の感度が向上したことにより、分注に極めて高い信頼性と再現性が求められています。DNAやタンパク質の分析において、試薬やサンプルには界面活性剤が含まれていることが少なくありません。

界面活性剤が含まれる溶液の分注は、一般的なチップを使用する際に問題となる恐れがあります。サンプルとポリプロピレン製チップ間の表面エネルギーが異なるために、溶液やサンプルがチップに残存してしまうことが少なくありません。この、時には目に見えないチップの内壁の膜は、不正確な分注、および貴重なサンプルや高価な試薬のロスの原因となります。ザルトリウススマートチップ（ローリテンション）は、極めて疎水性に優れ、かつ耐久性も備えた表面を実現する先進技術を活用しています。これは、界面活性剤をはじめとする表面張力の低い液体を扱う際のチップ内の残量の減少に非常に有効な特性です。分注における再現性の向上は、PCRやリアルタイムPCRといった高い精度が求められるようなアプリケーションで特に有益です。

本アプリケーションノートでは、

1. ローリテンション機能を備えた複数の他社製チップを、分子生物学実験などでよく使用される界面活性剤を含む溶液を使用して分注する場合と比較しました。
2. 他社製のローリテンションチップの耐薬品性を比較した実験結果を示しました。

試験材料と試験方法

試験材料

- ザルトリウス スタンダードチップ・フィルター付きチップ（SafetySpace™）・スマートチップ（ローリテンション）：120μL, 200μL, 350μL, 1000μL
- ザルトリウス Picus 電動ピペット：5-120μL、10-300μL、50-1000μL、速度4で吸引し、最も遅い速度1で吐出。
- ザルトリウス mLINE® 手動ピペット：20-200μL, 100-1000μL
- 界面活性剤を含む溶液：0.1% Triton X-100, 10% Tween 20, 10% SDS,
- 着色済み 10X PCRバッファー（界面活性剤、色素等を含む）
- その他の有機溶媒：イソプロパノール、アセトニトリル、DMF（ジメチルホルムアミド）
- 食用色素 緑
- 他社製5社のローリテンションチップ
- ザルトリウスMC5マイクロ天秤、ザルトリウス分析天秤 BP211D
- 96ウェルマイクロプレート用分光光度計（Biotek）

重量法

重量法を用いてチップに残った残存液を測定しました。試液の入った小さなガラス容器を天秤の上に置き、重量をゼロに設定します。容器から所要量の試液を吸引し、吐出して戻します。天秤の目盛に表示された、チップに残存した液量を記録します。上に示した各界面活性剤を含む溶液でこれを繰り返しました。

吸光度法

吸光度法では、緑色の食用色素により着色した試液を使用して、吐出後のチップの残存液を測定しました。試液の吸引は、試験を行ったチップの公称容量（最大容量）が使用されました。液体は元の容器に、直接戻されます。チップは、チップの最大容量にて蒸留水によるリンスが5回行われました。その後、分光光度計を使用してこの溶液の吸光度（405nm）を測定し、結果の比較を行いました。吸光度とチップ内の残存量は比例関係に係あります。

耐薬品性試験

1000 μ Lの溶媒、(インプロパノール、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド)の吸引と吐出を、1000 μ Lチップで各20回行いました。その後、蒸留水によるチップの rins を3回行いました。この処理で、対象のローリテンションチップの性能におよぼす影響を、着色された溶液を使用し、吸光度法により、測定しました。試験はすべての溶媒に対し各チップ6回繰り返しました。一般的なチップおよびローリテンションチップとの比較を行いました。

結果

残存量の比較

一般的に使用される界面活性剤を含む溶液の分注時における、他社製5社のローリテンションチップとザルトリウススタンダードチップおよびスマートチップ(ローリテンション)を比較しました。試験を実施した溶液のすべてにおいて、ザルトリウススマートチップ(ローリテンション)は最も少ない残存量でした(図1a)。他社製のローリテンションチップの中には、ザルトリウスのスタンダードチップより性能が劣るものさえありました。これは、現在販売されているローリテンションチップの性能に著しい差があることを示唆しているといえます。

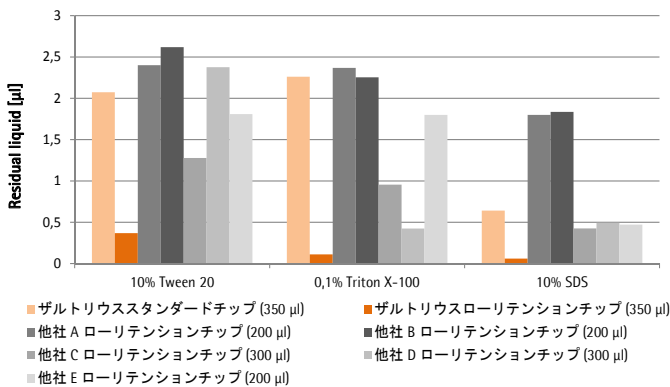


図1a 残存量の比較

メーカー5社のローリテンションチップをザルトリウススタンダードチップおよびスマートチップ(ローリテンション)の比較。界面活性剤を含む溶液には10% Tween 20、0.1% Triton X-100、10% SDSを使用し、200 μ Lの分注を実施。容量200 μ L、300 μ L、350 μ Lのピペットチップには(チップ容量は各メーカーの製品ラインによる) Picus電動ピペット10-300 μ Lを使用。チップに残った液体の量を、材料と方法の項で述べた重量法を用いて測定。試験は各メーカーのチップで10回繰り返した。

別の実験では、着色した界面活性剤を含むPCRバッファーを使用してさまざまなローリテンションチップの分注精度を比較し、チップ内の液体の吸着が分注容量がにどのような影響を及ぼすかを調べました。図1bに示す通り、ザルトリウススマートチップ(ローリテンション)は、どの容量とも最も少ない残存量でした。一部の他社製のローリテンションチップは、ザルトリウススタンダードチップと同じ残存量レベルでした。結果として、ザルトリウススマートチップ(ローリテンション)は、PCR前処理におけるこれらのチップの利点を裏付ける最高の分注精度を示しました。また、このデータは、分注された量の増加に従って一般的なチップとローリテンションチップの残存量の差が広がることも示しています。これは、チップ内の表面積が大きい方が液体が付着する影響と考えられます。

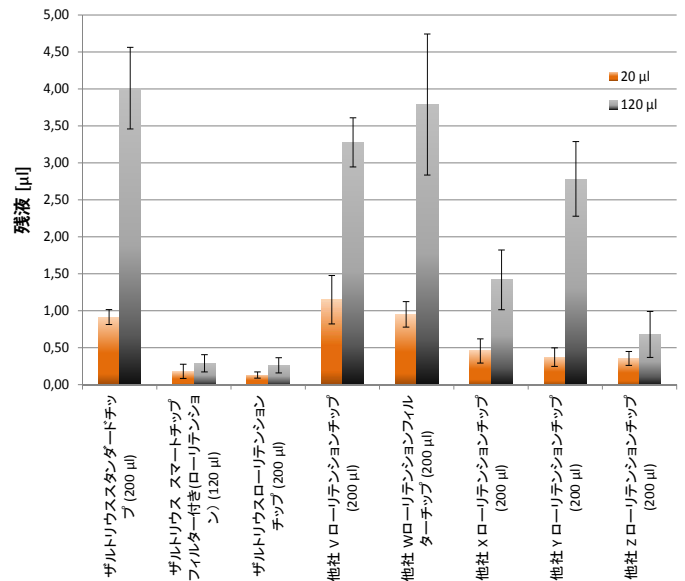


図1b 他社製ローリテンションチップの液体残存量と分注精度の比較 2種類の容量で着色済みPCRバッファーを使用。

5社が製造するローリテンションチップとザルトリウススタンダードチップおよびスマートチップ(ローリテンション)(フィルター付きおよびノンフィルター)を比較。容量120 μ L、200 μ L、300 μ Lのピペットチップには(サイズはメーカーの製品ラインと互換性による)ザルトリウスmLINE®20-200 μ Lを使用し、20 μ Lおよび120 μ Lの着色済みPCR/バッファーの吸引と吐出を実施。チップに残った液体の量を、前項で述べた重量分析法を用いて測定。試験は各メーカーのチップで10回繰り返した。エラーバーは標準偏差を表す。

表面張力の影響

液体の表面張力がチップに残存した量に及ぼす影響を、表面張力が低い(23mN/m)さまざまな濃度のイソプロパノールを使用して試験しました(図2)。イソプロパノールの濃度が高く、表面張力が低い場合、一般的なチップよりも超疎水性のスマートチップ(ローリテンション)を使用した方が、試薬のロスや不正確な分注を最小限に抑えました。水や水溶液では、超疎水性のスマートチップ(ローリテンション)と水の間の表面エネルギー差が大きくなるため(72mN/m)、同様の影響は見られません

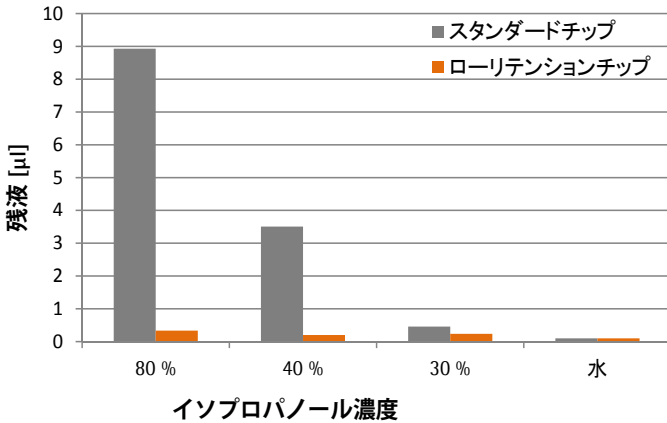


図2 液体の表面張力がチップの残存量に及ぼす影響

さまざまな濃度のイソプロパノール(30%、40%、80%)と蒸留水1000μLを、ザルトリウス Picus電動ピペット(1000μL)を使用してザルトリウススタンダードチップおよびローリテンションチップ(1000μL)の両方で吸引、吐出した。チップの残液量を、前項で述べた重量分析法を使用して測定。試験は各メーカーのチップで10回繰り返した。

ローリテンションチップの耐薬品性の比較

ローリテンションチップ表面の製造には、さまざまな技術が使用されています。また、疎水性を完全に達成するために、低溶出のチップを安定して製造することも必要です。図3に示す通り、試験を実施したローリテンションチップは、耐薬品性の点で著しい違いがあります。他社製のチップの中には、溶媒による処理後、ローリテンション機能が著しく減少したものもありました。ザルトリウススマートチップ(ローリテンション)の性能は、試験後も、試験を一切行っていないものと変化がありませんでした。このことは、これらのチップが不活性かつ低溶出であることを示しています。また、ザルトリウススマートチップ(ローリテンション)は、オートクレーブ(高圧蒸気滅菌処理)後もチップの性能に影響はありませんでした。

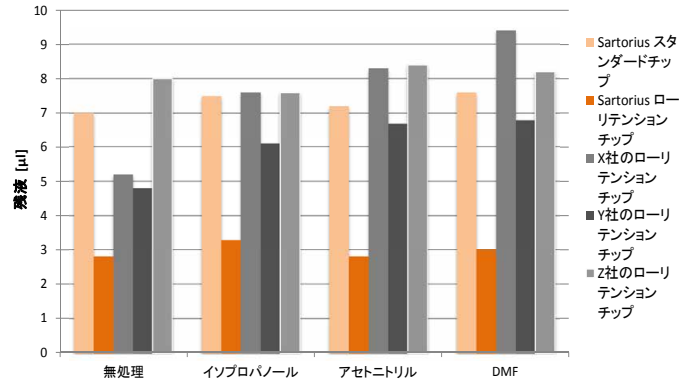


図3 ローリテンションチップの耐薬品性の比較

3社が製造するローリテンションチップとザルトリウススタンダードチップおよびスマートチップ(ローリテンション)を比較。耐薬品性試験は、材料と方法の項に記載の通り、ザルトリウス Picus電動ピペット(1000μL)に1000μLピペットチップを装着して実施。試験は各メーカーチップで6回繰り返した。

考察

試験の結果、ザルトリウススマートチップ(ローリテンション)は、界面活性剤を含む溶液やその他の表面張力の低い液体の分注において、チップの液体残存量が明らかに減少することが示されました。また、現在販売されているローリテンションチップは、性能と耐薬品性に極めて大きな差があることも示しました。さまざまなチップを試験した中でも、ザルトリウススマートチップ(ローリテンション)は、最高のサンプル回収率、最高の精度、最高の耐薬品性を確保しました。

お問い合わせ

ザルトリウス・ジャパン株式会社
 科学機器事業部 <http://www.sartorius.co.jp>
 本社 / 〒140-0001 東京都品川区北品川1-8-11
 Tel.(03)3740-5408 Fax.(03)3740-5406
 大阪 / 〒532-0003 大阪市淀川区宮原4-3-39
 Tel.(06)6396-6682 Fax.(06)6396-6686
 名古屋 / 〒461-0002 名古屋市東区代官町35-16
 Tel.(052)932-5460 Fax.(052)932-5461
 LHサービスセンター / 〒162-0842 東京都新宿区市谷砂土原町1-2-34
 Tel.(03)5228-0323 Fax.(03)5228-0324

Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG
 Weender Landstrasse 94-108
 37075 Goettingen, Germany

Phone +49.551.3080
 Fax +49.551.308.3289

Sartorius Biohit Liquid Handling Oy
 Laippatie 1
 00880 Helsinki, Finland

Phone +358.9.755.951
 Fax +358.9.755.95.220

www.sartorius.com