

Советы по пипетированию

1. Используйте наконечник для пипетки надлежащего высокого качества (низкого сопротивления) и убедитесь, что он подходит к пипетке.
2. Работайте при комнатной температуре, что позволяет жидкости и оборудованию быть в равновесии с температурой окружающей среды.
3. Изучите наконечник до забора образца и оботрите его, при условии что жидкость находится снаружи наконечника, соблюдая осторожность, избегая дотрагиваться до отверстия наконечника.
4. Предварительно смочите наконечник пипетки: заберите и сбросьте образец жидкости по крайней мере 3 раза до забора образца для дозирования.
5. Используйте одинаковую силу давления на поршень и скорость нажатия при каждом пипетировании.
6. При заборе погружайте наконечник в жидкость от 2 до 5 мм.
7. Задержите на секунду наконечник в жидкости после аспирации образца
8. Вынимайте пипетку прямо, будьте осторожны и не прикасайтесь к сторонам контейнера.
9. Не наклоняйте пипетку более чем на 15 ° при сбросе пробы.
10. После сброса пробы, оботрите наконечник об контейнер для доставки оставшегося образца.
11. Минимизируйте время удержание в руках пипетки и наконечника во избежание переноса тепла от тела к пипетке.

Работа с автоматической пипеткой

Введение.

Правила работы.

Чистка пипетки.

Введение.

Априори, объем, выставленный на пипетке, равен объему жидкости в наконечнике только в том случае, если эта жидкость - вода при комнатной температуре. "Особое внимание" (контролировать объем в наконечнике визуально) требуется обращать при отборе:

вязких жидкостей типа глицерина (практически всегда в таких случаях лучше пользоваться весами);

жидкостей с низким поверхностным натяжением, особенно при повторных заборах (детергенты, растворы белков);

холодных и горячих растворов, так как воздух в наконечнике меняет температуру, и, следовательно, объём (растворы ферментов на -20°C , горячие буфера для гибридизации, верхний агар).

Автоматические пипетки используют либо совсем неградуированные, либо слабо градуированные наконечники. С заметной частотой случается, что отбирается неправильный объём (некачественный наконечник, наконечник неплотно одет, не сразу коснулся жидкости, наконечник закупорился каким-нибудь сгустком). Поэтому нужно контролировать работу пипетки "на глаз". Речь не идёт о том, чтобы различать $950\mu\text{l}$ и $990\mu\text{l}$, но разницу в 25-30% нужно уметь заметить (не говоря уже о том, что случается, что начинающие путают $200\mu\text{l}$ и $20\mu\text{l}$ пипетки).

Наконечник имеет не только внутренний объём, но и поверхность:

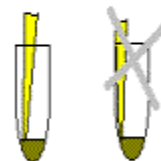
не надо глубоко погружать наконечник в отбираемую жидкость (особенно в случае вязких жидкостей);

следует обращать внимание, чтобы наконечник не касался ничего лишнего своей внешней поверхностью.

Априори, материал пипетки выдерживает только пары воды. В остальных случаях устойчивость не гарантируется. Особое внимание следует обращать на летучие жидкости. Лучше не использовать автоматическую пипетку при работе с органическими растворителями и кислотами.

Правила работы.

перед отбором сбросить жидкость на дно эппендорфа (ЦФ). Боковыми стенками наконечника не касаться боковых стенок пробирки*;



отжать пипетку до первого упора;

жидкость отбирать прямо с поверхности, наконечник глубоко не опускать;

выдавливает жидкость, отжав пипетку до второго упора (по возможности на стенку пробирки или на поверхность жидкости – лучше не капать и не погружать наконечник глубоко).

Для того, чтобы жидкость не попала внутрь автоматической пипетки, отжимать поршень вверх обязательно плавно;
не класть на стол пипетку с надетым наконечником **;
не сбрасывать наконечник, в котором есть жидкость.

* сразу по двум причинам: (i) часто наконечник укрепляют на пипетке руками, так что внешняя поверхность у него грязная; (ii) на внешнюю поверхность может налипнуть жидкость со стенок пробирки.

** тоже по двум причинам: (i) наконечник может загрязниться/кого-нибудь испачкать (особое внимание при "чистой" работе (стерильные среды, RNA, PCR) или работе с "опасными" растворами (бактериальные суспензии, радиоактивность, бромистый этидий); если в наконечнике осталась жидкость, то она может затечь внутрь пипетки (если осталось больше 50µl в желтом наконечнике или больше 200µl в синем). НО!!! Растворы с низким поверхностным натяжением (растворы белков, детергентов, фенол, хлороформ, спирт) способны затечь в горизонтально лежащую пипетку даже если их в типчике очень мало.

Чистка пипетки.

Если в пипетку всё же попала жидкость, её нужно разобрать и почистить. В первый раз нужно попросить опытного сотрудника, чтобы он показал как это делается (и внимательно смотреть самому, чтобы научиться). Точность пипеток проверяется на электронных весах. В качестве жидкости используется mQ (или дистиллят).

разобрать пипетку*;

промыть её (но не наборный механизм) раствором детергента**;

сполоснуть mQ;

протереть фильтровальной;

подсушить в термостате 37-42°C, ~1-2h;

смазать хорошей вакуумной смазкой;

вновь собрать.

* очень внимательно отнеситесь к маленькому уплотнительному колечку/колечкам и подложке для него (чтобы они не потерялись);

** если внутри грязь пристала плотно, то для чистки можно использовать толстую нитку с привязанным к ней кусочком марли.

Дополнение.

Порядок работы с пипеткой сильно определяется тем, какая она, в смысле какой фирмы. Если Вы работаете с пипеткой, на которой объем выставляется вращением ручки, то смотрите, чтобы выставленный объем не сбился. При дозировании больших серий, старайтесь добиться максимальной воспроизводимости движений, лучше сначала потренироваться на весах, так вы сразу увидите свой разброс. Не выкручивайте на пипетке объем выше ее номинала. При работе с вязкими жидкостями или сорбентами, наконечник лучше подрезать, чтобы отверстие стало больше.