

Електронна піпетка E1-ClipTip Equalizer та диспенсор для реагентів Multidrop Combi допомагають підвищити ефективність підготовки зразків для RT-PCR

Анотація

Це дослідження демонструє підвищену ефективність використання електронної піпетки Thermo Scientific™ E1-ClipTip™ Equalizer з розширюваним інтервалом і диспенсора для реагентів Thermo Scientific™ Multidrop™ при підготовці зразків для RT-PCR. Результати показують скорочення часу, необхідного для підготовки зразків для екстракції нуклеїнових кислот на 63% при використанні піпетки E1-ClipTip Multichannel Equalizer та Multidrop Combi. Це скорочення часу також дозволяє збільшити пропускну здатність на 24% за рахунок скорочення часу простою приладу між запусками RT-PCR.

Передумови

Однією з проблем при підготовці зразків для RT-PCR є людський фактор і як результат наявність помилок та непослідовностей перенесення зразків. У більшості випадків перед екстракцією нуклеїнових кислот зразки повинні бути перенесені з однієї посудини (пробірка для зразків) в абсолютно іншу, наприклад 96-лунковий планшет для зразків. Для полегшення даного процесу доцільним буде використання **E1-ClipTip**. Це електронна піпетка, в якій можна регулювати відстань між наконечниками. Також вона дозволяє користувачам швидко і ефективно переносити зразки між різними посудинами (пробірки, штативи, мікропланшети, т.д.) на відміну від одноканальної піпетки.

Під час екстракції нуклеїнової кислоти існує кілька стадій промивання та елюювання, які вимагають заповнення 96-лункових планшетів відповідними розчинами. Вкінці виділену нуклеїнову кислоту необхідно перенести в планшет для PCR і об'єднати з реагентами для RT-PCR.



Щоб скоротити час і зусилля на цих етапах, можна використовувати диспенсер для реагентів **Multidrop Combi** для швидкого і точного розкапування планшетів, промивання та елюювання, необхідних для процесу виділення нуклеїнових кислот. Для об'єднання зразків можна використовувати піпетку E1-ClipTip Multichannel Equalizer з необхідними реагентами для RT-PCR. Як правило, підготовка до RT-PCR вимагає виконання безлічі кроків ручного дозування, які підвищують неефективність і помилки, що впливають на продуктивність робочого процесу RT-PCR. Спільне використання електричної піпетки E1-ClipTip Multichannel Equalizer та диспенсора для реагентів Multidrop Combi дозволяє значно заощадити час при підготовці зразків для RT-PCR.

Матеріали і методи

Щоб визначити кількість часу, який був заощаджений на всіх етапах перенесення рідини, необхідного до RT-PCR, технічний фахівець розрахував час, який потрібний для ручного піпетування в порівнянні з використанням електронної піпетки E1-ClipTip Multichannel Equalizer та диспенсера для реагентів Multidrop Combi. Щоб гарантувати, що вимірювалися лише стадії перенесення рідини, всі реагенти та обладнання були завчасно приготувані до використання. Під час роботи дотримувалися протоколу для виділення нуклеїнових кислот **Thermo Scientific™ MagMAX™ Viral/Pathogen**

Nucleic Acid Isolation Kit (Cat. No. A48310). Спочатку технічний фахівець підготував планшети для обробки (таблиця 1), використовуючи 8-канальну ручну піпетку або диспенсер для реагентів Multidrop Combi (один Multidrop Combi на розчин). Потім технічний фахівець підготував 96-лунковий планшет для зразків, додавши реагенти для виділення нуклеїнових кислот за допомогою 8-канальної електронної піпетки E1-ClipTip Equalizer (таблиця 2). Завершальним етапом була підготовка планшета для RT-PCR (таблиця 3) та запис необхідного часу.

Таблиця 1 : Підготовка планшетів для виділення нуклеїнових кислот

Plate ID	Plate type	Volume per well	Device
Wash plate 1	96-лунковий планшет	1,000 µL	8-канальна піпетка або Multidrop Combi
Wash plate 2		1,000 µL	
Wash plate 3		500 µL	
Elution plate		50 µL	

Таблиця 2 : Етапи підготовки планшетів для виділення нуклеїнових кислот

Step	Volume	Device
1. Додати протеїназу К (96 лунок)	10 µL	8-канальна піпетка або 8-канальна піпетка E1-ClipTip Equalizer
2. Додати негативний контроль (1 лунка)	400 µL	Одноканальна піпетка
3. Додати зразок для екстракції (94 лунки)	400 µL	Одноканальна піпетка або 8-канальна піпетка E1-ClipTip Equalizer
4. Додати суміш bead binding (96 лунок)	550 µL	8-канальна піпетка або Multidrop Combi
5. Додати контроль MS2 Phage (96 лунок)	10 µL	8-канальна піпетка E1-ClipTip Equalizer

Таблиця 3 : Етапи підготовки 96-лункового PCR планшета для RT-PCR

Step	Volume	Device
1. Підготовка позитивного контролю і реакційної суміші	Різний	Одноканальна піпетка
2. Додати реакційну суміш до PCR плати (96 лунок)	20 µL	8-канальна піпетка або 8-канальна піпетка E1-ClipTip Equalizer
3. Додати зразки нуклеїнової кислоти на PCR плати	5 µL	
4. Додати позитивний контроль (1 лунка)	2 µL	
5. Розбавити позитивний контроль водою без нуклеаз (1 лунка)	3 µL	Одноканальна піпетка
6. Додати негативний контроль (1 лунка)	5 µL	

Підсумки і висновки

Результати цього дослідження показують, що час який необхідний для підготовки зразків для RT-PCR з використанням 8-канальної піпетки E1-ClipTip Equalizer і диспенсора для реактивів Multidrop Combi, скорочується на 63% в порівнянні з ручним розкапуванням (рис. 1). Підготовка зразків і планшетів для екстракції нуклеїнових кислот вручну, зайняло 45 хвилин в порівнянні з 16 хвилинами при використанні 8-канальної піпетки E1-ClipTip Equalizer і Multidrop Combi. Підготовка 96-луночного планшета для RT-PCR зайняла 30 - 12 хвилин з використанням 8-канальної піпетки E1-ClipTip Equalizer. В сумі загальна економія часу становить 47 хвилин (75-28 хвилин). Це скорочує час, який необхідний для ручного розкапування більш ніж удвічі, а також є більш ергономічним, що пов'язано зі зменшенням кількості етапів дозування. Значна кількість цих етапів піпетування усувається за рахунок використання 8-канальної піпетки E1-ClipTip Equalizer для перенесення 94 зразків з пробірки в 96-луноковий планшет, за рахунок регулювання відстані між наконечниками.

Найбільший вплив на загальне скорочення часу простою приладу можливе за рахунок зменшення часу простою приладу для PCR і часу на підготовку планшетів. Ця економія часу призводить до збільшення пропускної здатності зразків для стандартного робочого процесу RT-PCR на 24% (рис. 1). Це також дозволяє двом PCR інструментам працювати безперервно і збільшує кількість зразків, які можна обробити за 24 години, з 30 планшетів (2820 зразків) до 37 планшетів (3478 зразків). Крім того, виконання етапів роботи з рідинами може здійснюватися набагато швидше і послідовніше з використанням електронної піпетки, яка включає в себе покрокове створення програми, в порівнянні з необхідністю зміни об'ємів за допомогою ручних піпеток. E1-ClipTip має можливість імпортувати протоколи, які були створені в додатку My Pipette Creator, доступному на **Connect**. Також за допомогою програми ви можете ділитися протоколами між користувачами і лабораторіями. Це знижує кількість помилок при розкапуванні і підтримує відтворюваність результатів.

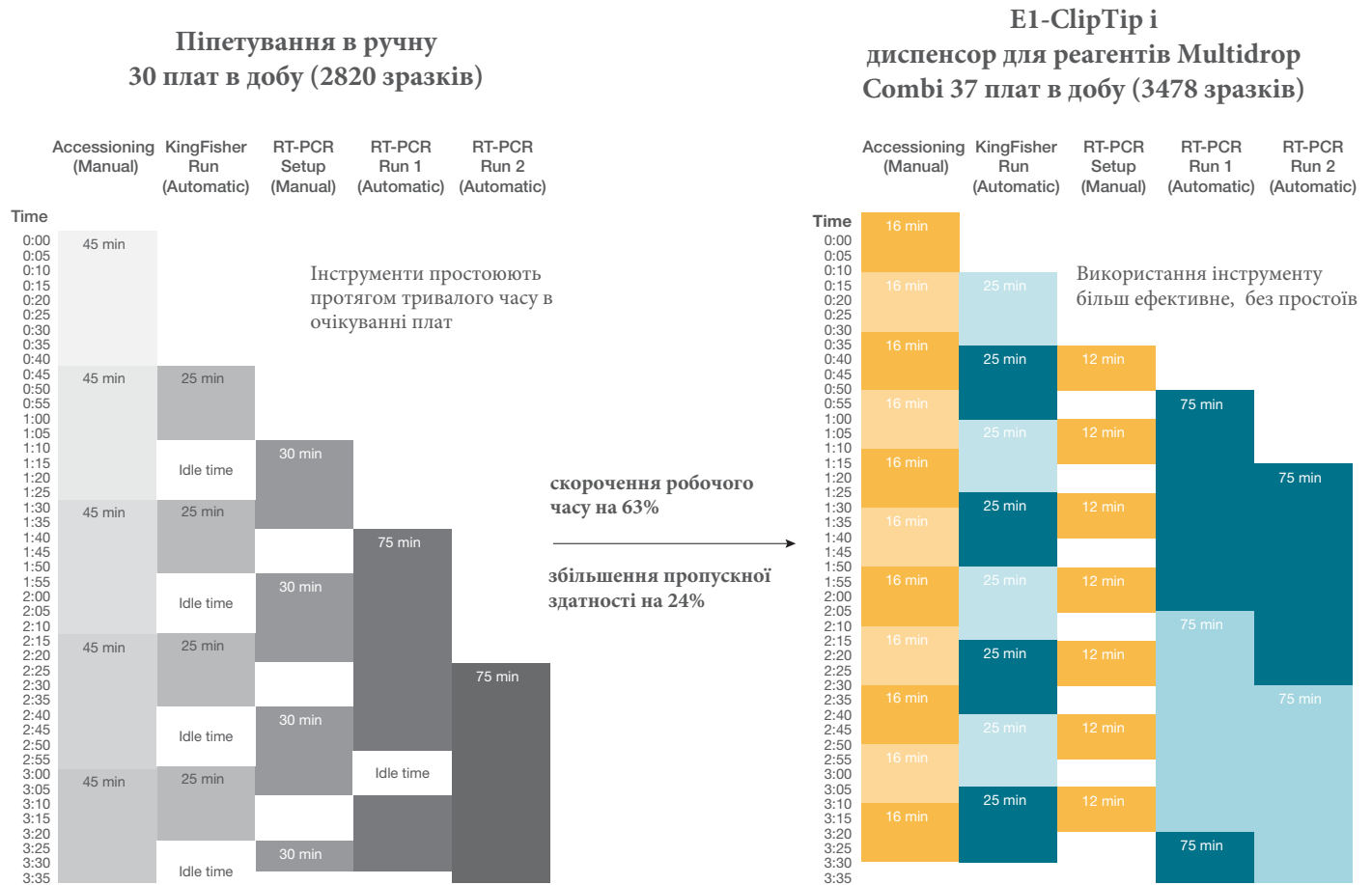


Рис 1 : Підвищення продуктивності RT-PCR на 24% і скорочення робочого часу на 63% з використанням E1-ClipTip і Multidrop Combi



Підсумок

- Піпетка E1-ClipTip Multichannel Equalizer економить час, дозволяючи користувачам швидко і ефективно виконувати кілька переносів зразків одночасно між будь-якою пробіркою, штативом, мікропланшетом або горизонтальним гелевим боксом, просто змінюючи відстань між наконечниками під потрібне лабораторне обладнання.
- Диспенсор для реагентів Multidrop Combi забезпечує точне автоматичне дозування, дозволяючи заповнювати планшет з будь-яким розміром лунок з високою пропускною здатністю.
- Було визначено, що час необхідний для виконання етапів підготовки екстракції нуклеїнової кислоти знижено на 63%, за допомогою використання 8-канальної піпетки E1-ClipTip Equalizer і диспенсора для реагентів Multidrop Combi. Це скорочення часу дозволяє збільшити пропускну здатність на 24% за рахунок скорочення часу простою приладу між запусками RT-PCR.

