

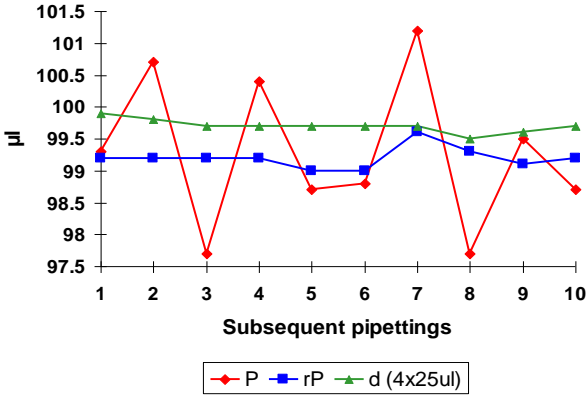
Technical Note



피펫팅에 정확성 정밀성 영향을 주는 요인 1 - Pipette

피펫팅 결과, 올바른 피펫 사용에 따라 좌우된다!!

1) 시료에 따라 피펫팅 작동법을 다르게!



[작동모드에 따른 75% glycerol 100ul씩 10회 피펫팅 시의 측정값]

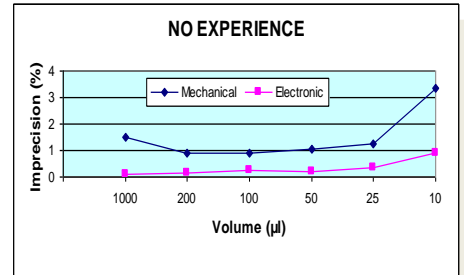
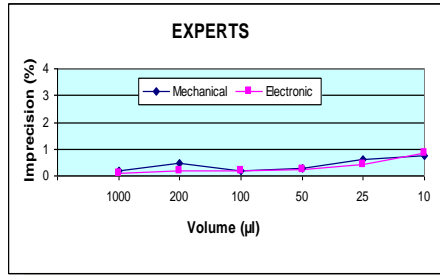
2) 올바른 피펫팅 방법

- ① 최소 volume의 피펫과 tip 선택
피스톤과 시료 사이의 air space를 최소화하기 위함
- ② 제조사의 original tip 사용
- ③ 흡입 시, tip을 시료에 2~3 mm 정도 잠기게 하여흡입
- ④ 시료흡입 후 vessel 내부 벽에 tip을 touch
tip 외벽에 있는 잔여시료 제거하기 위함
- ⑤ 피펫팅 전에 3~5회의 pre-rinsing, 시료, air,
피펫 사이의 온도차이가 감소할 수록정확도와 정밀도 향상
- ⑥ 피펫, tip, 시료를 같은 온도로 유지
- ⑦ 피펫을 수직으로 향하여 피펫팅 시행
- ⑧ 흡입 시, 최대한 부드럽고 천천히 피스톤 작동

3) 전자피펫으로 정확도와 정밀도 높이기

전자피펫 사용은 반복분주에 의한 손의 피로를 줄이고 시간 절약이 가능하며, 시료 흡입횟수 감소, 교차오염 감소, tip 사용량 감소 등이 가능하므로, 전자피펫은 피펫팅의 효율성, 안전성, 정확도를 높일 수 있는 피펫이다.

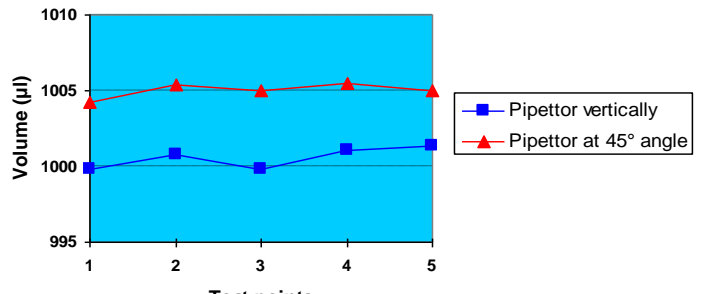
아래의 그래프는 9명씩 구성된 전문가와 무경험자 그룹이 전자피펫과 수동피펫을 사용하여 10, 25, 50, 100, 200, 1000ul 씩 10회 피펫팅하였을 때의 평균 정밀도를 나타내고 있다. 아래 그래프에서 알 수 있듯이, 수동피펫과 달리, 전자피펫을 사용한 피펫팅은 사용자의 경험과 상관 없이, 동일한 피펫팅 결과를 얻을 수 있다.



4) 피펫팅 각도

피펫팅 각도는 수직으로!!

- 기울여서 흡입할 경우, 중력의 영향을 적게 받아
더 많은 양의 시료가 흡입됨
- 흡입할 때 마다 각도가 일정하지 않으므로, 각도로 인한 오차는 더 커짐



▶ Pipetting technique mode ◀



5) 정확도에 영향을 주는 온도 변화

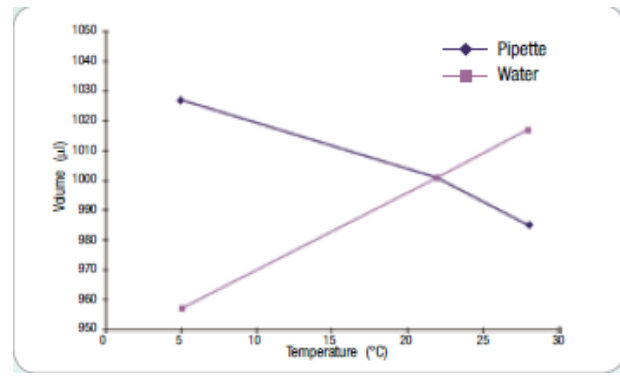
- 실내온도, 피펫, tip, 사용하는 용액의 온도 모두 피펫팅 결과에 큰 영향을 미친다. enzyme solution은 상온에서 불안정하기 때문에, 피펫팅하는 동안 ice bath에 넣어야만 한다.
또한 대부분의 실험자들은 냉장보관하는 용액을 냉장고에서 꺼내는 즉시 바로 피펫팅 작업을 한다. 그러나 5°C의 용액 1000ul를 흡입하여 분주할 때, 실제로 분주용량은 940ul이다.

1000ul 피펫팅 시,

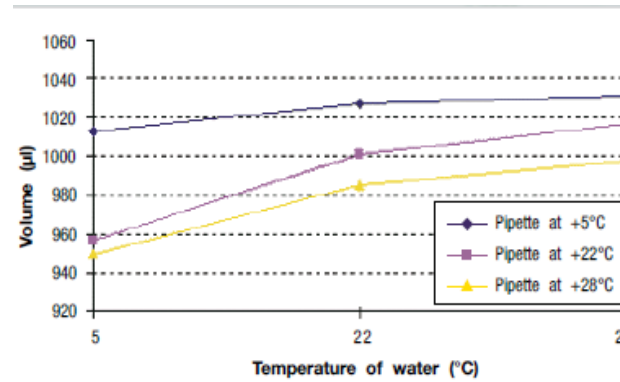
- 용액의 온도가 5°C에서 28°C로 상승할 경우 (피펫, tip, 실내 온도 22°C) : 6%의 오차발생
- 피펫의 온도가 5°C에서 28°C로 상승할 경우(피펫tip, 용액, 실내 온도22°C) : 4%의 오차 발생
- 실내 온도가 5°C에서 28°C로 상승할 경우(피펫, tip, 용액의 온도 22°C) : 1.5%의 오차 발생

- 시료의 온도와 피펫/tip의 온도는 똑같이!

: 모든 공기치환식 피펫(일반적인 피펫)은 시료의 온도와 피펫/tip의 온도 차이에 민감하다. 5°C, 22°C, 28°C의 동일한 피펫으로 각각 5°C, 22°C, 28°C의 증류수를 1000ul씩 10회씩 피펫팅한 결과의 평균값을 오른쪽 그래프로 나타내었다. 그 결과, 피펫의 온도와 증류수(시료)의 온도가 동일할 때 초기 셋팅 volume에 가장 가까운 결과값이 측정되었다. 즉, 시료의 온도와 피펫의 온도 차이가 작을 수록 정확도의 오차를 줄일 수 있다. 따라서, 피펫팅의 정확도를 위하여 피펫, tip, 시료를 모두 같은 온도가 되도록 유지하는 것이 매우 중요하다. 온도 외에, 습도 역시 피펫팅의 정확도에 영향을 준다. 실내 습도가 80%에서 20%로 줄어들 경우 volume은 0.3~1.2% 작아지게 되며, 셋팅 volume이 커질 수록 오차범위도 커지게 된다.



1000ul 피펫팅 시, 시료의 온도와 피펫의 온도변화에 따른 volume



1000ul 피펫팅 시, 시료와 피펫의 온도에 따른 volume 변화