

Applications

Note 184 | April 2008

Technical Report

Eppendorf Deepwell Plate: Bestimmung von Restvolumina bei Einsatz des automatischen Pipettiersystems Eppendorf epMotion®

Natascha Weiß, Rafal Grzeskowiak, Martin Armbrrecht, Philip Müller
Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland

Zusammenfassung

Für den Einsatz in automatisierten Anwendungen sind die Anforderungen an Verbrauchsartikel sehr hoch, insbesondere wenn es darum geht, Probenverluste zu vermeiden oder reproduzierbare Versuchsbedingungen zu bieten. In diesem Technical Report werden Deepwell-Platten im 96-Well-Format und 384-Well-Format von verschiedenen Herstellern bezüglich des Restvolumens nach Probenentnahme mit dem Pipettiersystem epMotion® miteinander verglichen. Die Qualität des Plattendesigns und die Fertigungsqualität der Eppendorf Deepwell Plates wird durch das minimale Restvolumen der in den Wells verbleibenden Lösung belegt. Zudem sind die Flüssigkeitsmengen pro Well nahezu identisch.

Einleitung

Wird im Labor mit wertvollem Probenmaterial oder teuren Reagenzien gearbeitet, ist es wichtig, Verluste dieser Lösungen zu minimieren. Dazu trägt auch die möglichst vollständige Entnahme aus Gefäßen und Platten bei. Deepwell-Platten werden häufig, Platten im 384-Well-Format sogar praktisch ausschließlich für automatisierte Anwendungen eingesetzt. Während Lösungen manuell aus den Wells der Platten kontrolliert und fast vollständig entfernt werden können, ist dies aus technischen Gründen bei der Automatisierung nicht in vollem Maße möglich: Zwischen den Spitzen des Pipettiersystems und dem Gefäßboden muss ein Sicherheitsabstand bleiben, um zu verhindern, dass die Spitzen auf den Boden aufsetzen. Der notwendige Abstand ergibt sich aus Geometrie und Fertigungstoleranz der Wells und Spitzen sowie der Toleranz der Spitzenaufnahme des Gerätes. Da hieraus das theoretisch in den Wells verbleibende Restvolumen resultiert, ist ein geringer Sicherheitsabstand vorteilhaft. Voraussetzung ist, dass das Pipettiersystem sehr präzise arbeitet und sowohl die Spitzen als auch die Platten niedrige Fertigungstoleranzen aufweisen. Ebenso spielt die Planarität der Platten hierbei eine entscheidende Rolle, d.h. die Böden der Wells sollten sich exakt auf einer Ebene befinden.

Die Eppendorf Deepwell Plates zeichnen sich durch ihr funktionales Design inklusive Konformität zu den entsprechenden SBS-Standards* und die hohe Fertigungsqualität aus, die zu sehr homogenen und formstabilen Platten führen. Dadurch weisen die Platten eine hohe Belastbarkeit beim Mischen und Zentrifugieren auf (g-safe®) [1]. Farbige Rahmen mit kontrastreicher Lasergravur, die OptiTrack® Matrix, sorgen für eine gut lesbare alphanumerische Beschriftung. Das RecoverMax® Well Design mit seinen abgerundeten Kanten und konischen Böden lässt Flüssigkeitsreste effektiv zum Zentrum des Bodens fließen, wo sie gut entnommen werden können [2].

Für diesen Technical Report wurde das automatische Pipettiersystem Eppendorf epMotion 5070 eingesetzt, um eine photometrisch detektierbare Lösung aus Deepwell-Platten von Eppendorf und Platten anderer Hersteller möglichst vollständig zu entnehmen. Die in den einzelnen Wells verbliebenen Flüssigkeitsreste wurden mit einem Photometer quantifiziert, um darüber die verschiedenen Platten miteinander zu vergleichen.

* ANSI/SBS 1-2004: Microplates – Footprint Dimensions
ANSI/SBS 2-2004: Microplates – Height Dimensions
ANSI/SBS 3-2004: Microplates – Bottom Outside Flange Dimensions
ANSI/SBS 4-2004: Microplates – Well Positions

Material und Methoden

Für jedes Experiment wurden jeweils zwei Platten der Eppendorf Deepwell Plate 96/2000 μl und 384/200 μl sowie jeweils zwei Platten anderer Hersteller des entsprechenden Formats eingesetzt. Als Arbeitslösung wurde eine 5 mM ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure))-Lösung (Roche) verwendet.

Alle Pipettierschritte wurden mit der Eppendorf *epMotion* im Pipettiermodus unter Verwendung derselben Spitzen durchgeführt. Dabei wurde der Sicherheitsabstand zwischen Spitzen und Wellboden wie im Userguide AU005 beschrieben minimiert [3]. Entsprechend der in Tabelle 1 angegebenen Volumina wurde dazu ABTS-Lösung in jedes Well der Platten pipettiert und die gleiche Menge im nächsten Schritt wieder entnommen. Zu den in der Platte verbliebenen Restvolumina wurde (entsprechend Tabelle 1) Wasser gegeben und durch Auf- und Abpipettieren gemischt. Jeweils 50 μl wurden aus jedem Well in eine Messplatte (Nunc PS 96 well F-Boden Platte (#269620)) überführt und zur Bestimmung der ABTS-Konzentration im Flash-Scan Plattenphotometer

(Analytik-Jena) bei 340 nm gemessen. Anhand einer erstellten Standardreihe wurden die in den Platten verbliebenen Flüssigkeitsreste quantifiziert.

Tabelle 1: Pipettierschema für *epMotion*

DWP	Pipettenspitze	Zugabe und Entnahme* von ABTS-Lösung	Zugabe von Wasser	Transfer in Messplatte
2000 μl	300 μl	200 μl	200 μl	50 μl
200 μl	50 μl	50 μl	100 μl	50 μl

*Um tatsächlich die gleiche Menge entnehmen zu können, muss der *epMotion* vorgegeben werden, dass mehr Flüssigkeit in den Wells ist, als tatsächlich vorhanden, da das durch den Sicherheitsabstand zurückbleibende Volumen schon durch das Gerät berücksichtigt wird.

Bei dieser Vorgehensweise wurde nicht berücksichtigt, dass das Gesamtvolumen (Restvolumen + zugegebenes Wasser) steigt, je mehr Restvolumen vorhanden ist. Da die hier betrachteten Volumina klein sind, kann dieser Fehler vernachlässigt werden.

Ergebnisse und Diskussion

Die Daten beider getesteten Plattenformate zeigen, dass in den Deepwell-Platten von Eppendorf ein geringeres Flüssigkeitsvolumen verbleibt als in den getesteten Platten anderer Hersteller (Abb. 1 a+b, 2 a-e, 3 a-d). Durchschnittlich befinden sich in jedem Well der Eppendorf Deepwell Plate 96/2000 μl weniger als 2 μl und in der 384/200 μl weniger als 0,15 μl , während diese Werte bei Wettbewerbsplatten höher sind (Abb. 1). Anhand der Farbgrafiken

(Abb. 2 und 3) ist klar erkennbar, dass die Restvolumina der Eppendorf Deepwell-Platten nicht nur auf einem niedrigen Niveau liegen, sondern auch über die gesamte Platte sehr homogen sind. Bei Platten anderer Hersteller (insbesondere Hersteller G) treten zum Teil größere Schwankungen auf. Diese können aus der Kombination von Material der Platte und Herstellungsprozess resultieren oder auch an der Geometrie der Wells liegen.

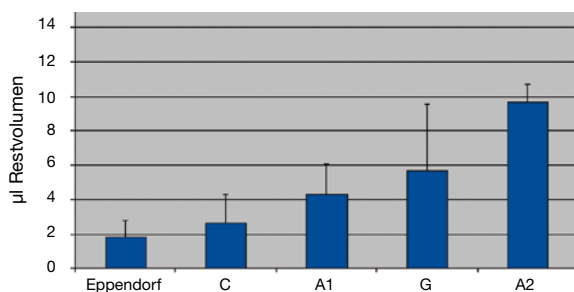
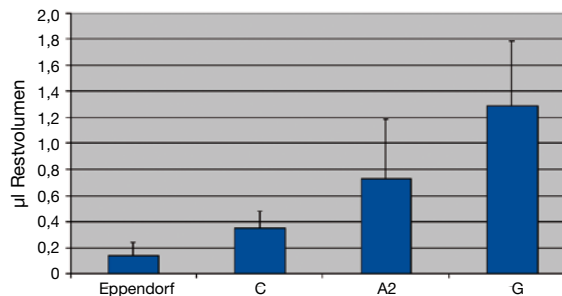
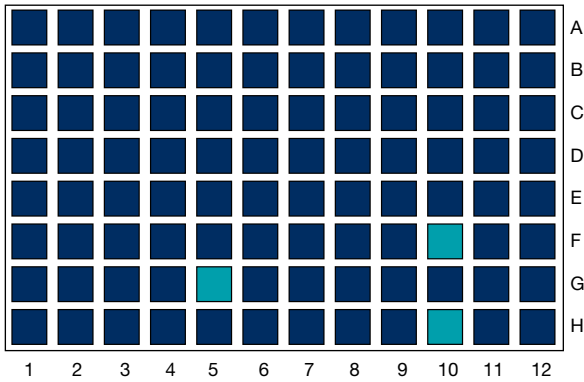
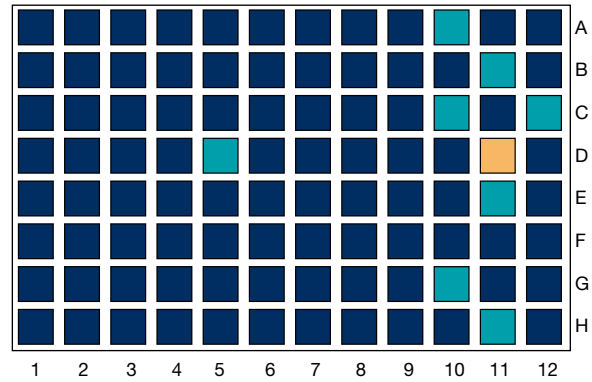
Abb. 1a: Restvolumina Deepwell-Platte 96-Well – 2000 μl Abb. 1b: Restvolumina Deepwell-Platten 384-Well – 200 μl 

Abbildung 1 a und b: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Restvolumina in den getesteten Deepwell-Platten (a) 96-Well, 2000 μl (n=96); (b) 384-Well, 200 μl (n=384).

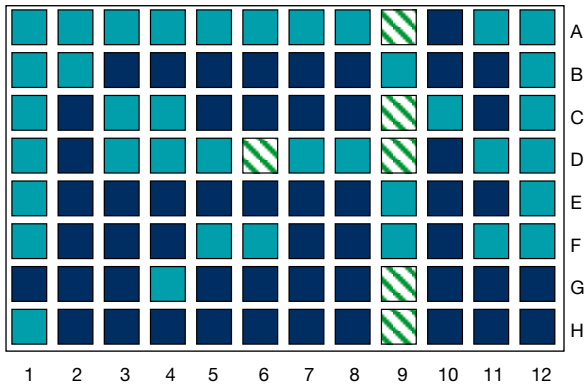
2a Eppendorf Deepwell Plate 96/2000 μ l



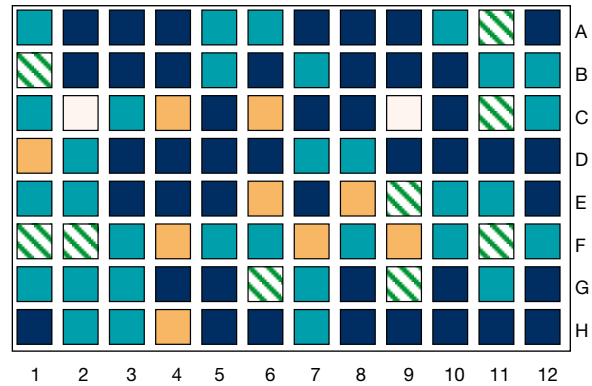
2b Hersteller C – 96 Wells, 2000 μ l



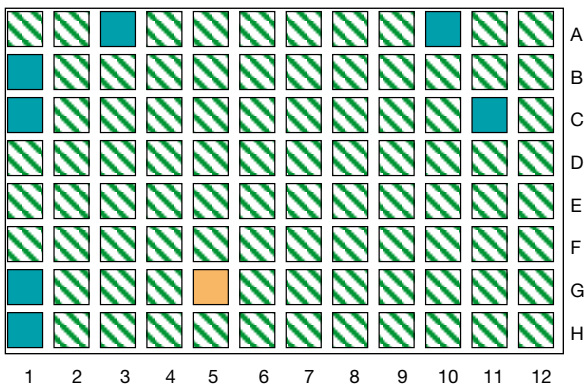
2c Hersteller A1 – 96 Wells, 2000 μ l



2d Hersteller G – 96 Wells, 2000 μ l



2e Hersteller A2 – 96 Wells, 2000 μ l



Legende

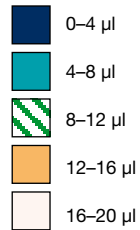
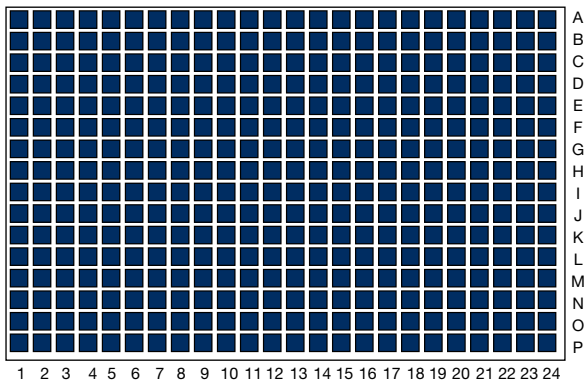
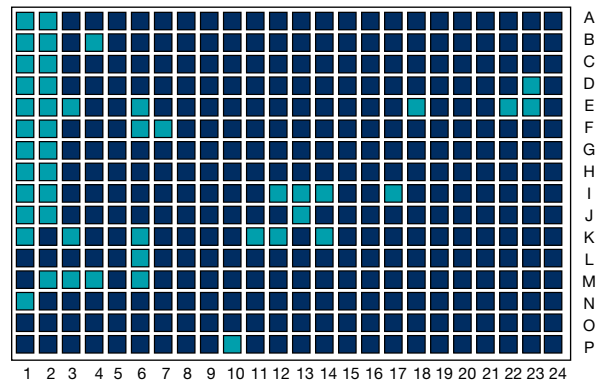


Abbildung 2 a-e: Darstellung der in den getesteten Deepwell-Platten des Formats 96-Wells, 2000 μ l, verbliebenen Restvolumina pro Well. Die Farben repräsentieren wie in der Legende angegeben jeweils einen Volumenbereich.

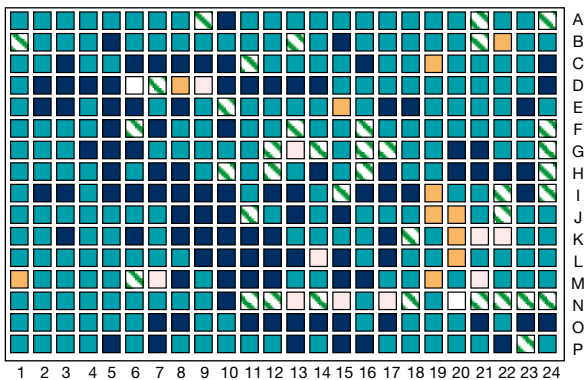
3a Eppendorf Deepwell Plate 384/200 µl



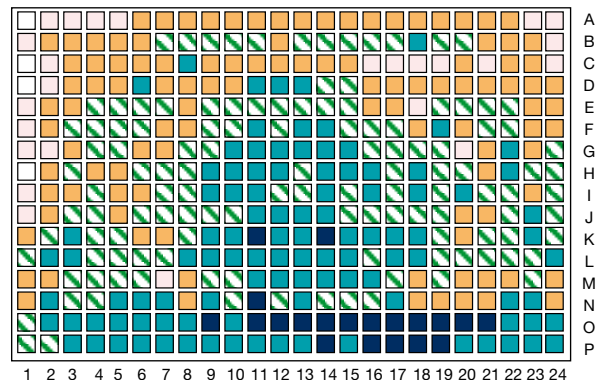
3b Wettbewerber C – 384 Wells, 200 µl



3c Wettbewerber A2 – 384 Wells, 200 µl



3d Wettbewerber G – 384 Wells, 200 µl



Legende



Abbildung 3 a–d: Darstellung der in den getesteten Deepwell-Platten des Formats 384-Well, 200 µl, verbliebenen Restvolumina pro Well. Die Farben repräsentieren wie in der Legende angegeben jeweils einen Volumenbereich.

Fazit

Die präsentierten Daten belegen das funktionale Design und die hohe Fertigungsqualität der Eppendorf Deepwell Plates. Durch die RecoverMax Wellgeometrie sammeln sich Flüssigkeitsreste direkt am Boden und können dort leicht entnommen werden. Somit lassen sich Proben und teure Reagenzien effizient einsetzen. Die sorgfältige Materialauswahl in Kombination mit dem optimierten Produktionsprozess führen zu Platten, die durch extrem geringe Toleranzen und hohe Planarität perfekt auf automatisierte Anwendungen ausgerichtet sind.

Literatur

- [1] Eppendorf Application Note 146: Eppendorf Plate® Deepwell 96 und 384: g-Safe®-Untersuchungen zur Zentrifugationsstabilität von Eppendorf Plate Deepwell (<http://www.eppendorf.de>)
- [2] Eppendorf Application Note 145: Eppendorf Plate® Deepwell 96 und 384: RecoverMax®-Untersuchungen zur Auswirkung eines optimierten Well-Designs auf Resuspendierungseigenschaften, Probenverluste und Kontaminations-Effekte (<http://www.eppendorf.de>)
- [3] Userguide epMotion 5070/5075 No. AU005: Minimization of remaining volumes in plates and tubes (<http://www.eppendorf.de>).

Bestellinformationen

Eppendorf Deepwell Plate 384/200 µl*/Normalpackung**			
Qualität	Farbe***	Verpackung	Bestell-Nr.
Standard	weiß	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 521.102
Steril	weiß	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 522.109
DNA LoBind (auch für RNA & andere Nukleinsäuren)	weiß	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 523.105
Protein LoBind	weiß	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 524.101

Eppendorf Deepwell Plate 96/500 µl*/Normalpackung**			
Qualität	Farbe***	Verpackung	Bestell-Nr.
Standard	weiß	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 501.101
Steril	weiß	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 502.108
DNA LoBind (auch für RNA & andere Nukleinsäuren)	weiß	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 503.104
Protein LoBind	weiß	40 Platten (5 Beutel à 8)	0030 504.100

Eppendorf Deepwell Plate 96/1000 µl*/Normalpackung**			
Qualität	Farbe***	Verpackung	Bestell-Nr.
Standard	weiß	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 501.209
Steril	weiß	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 502.205
DNA LoBind (auch für RNA & andere Nukleinsäuren)	weiß	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 503.201
Protein LoBind	weiß	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 504.208

Eppendorf Deepwell Plate 96/2000 µl*/Normalpackung**			
Qualität	Farbe***	Verpackung	Bestell-Nr.
Standard	weiß	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 501.306
Steril	weiß	20 Platten (5 Beutel à 4)	0030 502.302

*Alle Deepwell-Platten sind auf Anfrage mit Barcode erhältlich.

**Auch als Großpackung (384/200 µl und 96/500 µl = 120 Platten; 96/1000 µl und 96/2000 µl = 80 Platten) erhältlich

***In fünf Farbcodes erhältlich (weiß, gelb, rot, grün, blau).

Eppendorf epMotion	
Bezeichnung	Bestell-Nr.
epMotion 5070, 200–240 V, 50/60 Hz	5070 000.000
epMotion 5075 LH, 230 V (Liquid Handling)	5075 000.008
epMotion 5075 VAC, 230 (mit integrierter Vakuumsstation)	5075 000.016
epMotion 5075 MC, 230 V (Mastercycler ep nicht enthalten)	5075 000.032

eppendorf
In touch with life

Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH · Deutschland · Tel: +49 2232 418-0 · Fax: +49 2232 418-155 · E-Mail: vertrieb@eppendorf.de

Eppendorf Austria · Österreich · Tel: +43 1 29017560 · Fax: +43 1 290175620 · E-Mail: office@eppendorf.at

Vaudaux-Eppendorf AG · Schweiz · Tel: +41 61 482 1414 · Fax: +41 61 482 1419 · E-Mail: vaudaux@vaudaux.ch

Application Support Tel: +49 1803 666 789 · E-Mail: support@eppendorf.com