

Applications

Note 202 | Oktober 2008

Technical Report

Eppendorf Polypropylen Microplates – Schnelles und sicheres Auffinden von Proben

Natascha Weiß¹, Wolf Wente², Sophie Freitag², Daniel Wehrhahn¹

¹Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland; ²Eppendorf Instrumente GmbH, Hamburg, Deutschland

Zusammenfassung

Mikrotestplatten aus Polypropylen weisen im Vergleich zu Platten aus Polystyrol eine höhere Temperatur- und Chemikalienbeständigkeit auf und sind daher für eine größere Bandbreite an Anwendungen einsetzbar. Es ist allerdings schwieriger, Probenmaterial durch die Wells hindurch zu erkennen, da das Material weniger transparent ist als Polystyrol. In dieser Technical Note wird gezeigt, dass die Eppendorf Microplates im Vergleich zu anderen Polypropylenplatten die höchste Transparenz aufweisen und somit die Probenidentifizierung deutlich vereinfachen. Zusätzlich wird gezeigt, dass Testpersonen durch die einzigartige, kontrastreiche alphanumerische Beschriftung Well-Positionen innerhalb der Platten um 20-30 % schneller auffinden.

Einleitung

Durch die steigende Anzahl an Proben und den Trend zur Miniaturisierung wird Probenmaterial im Labor statt in Einzelgefäßen zunehmend im höheren Durchsatz in Polypropylenplatten im 96-Well und 384-Well-Format verarbeitet. Einsatzbereiche sind die Lagerung von Probenmaterial sowie Pipettier-, Inkubations- und Zentrifugationsschritte bei der Probenvorbereitung. Die Standardgefäße im Mikrolitermaßstab (0,5 ml, 1,5 ml, 2,0 ml) werden entsprechend durch unterschiedliche Arten von Platten abgedeckt: Deepwell-Platten für größere Volumina und die flacheren Mikrotestplatten für geringvolumige Ansätze.

Polypropylenplatten sind im Gegensatz zu Platten aus Polystyrol, die hauptsächlich für Methoden wie ELISA verwendet werden, für ein breites Anwendungsspektrum geeignet. Sie zeichnen sich durch eine hohe Temperatur- und Chemikalienbeständigkeit aus.

Zudem weist Polypropylen eine geringere Bindungsaffinität zu Biomolekülen wie DNA- oder Proteinen auf. Allerdings ist das Material grundsätzlich trüber als Polystyrol, wodurch es schwieriger ist, Probenmaterial durch die Wells zu identifizieren.

Beim manuellen Bearbeiten von Platten ist eine gute Lesbarkeit der alphanumerischen Beschriftung für schnelles und fehlerfreies Arbeiten von entscheidender Bedeutung. Abhängig ist diese hauptsächlich von der Größe der Schrift und dem Kontrast zum umgebenden Material. Klassische Mikrotestplatten weisen oft eine nur schwer zu erkennende Alphanumerik auf. Besonders wenn eine Labor-Schutzbrille getragen wird oder unter einer Sterilbank gearbeitet wird, kann die Zuordnung des Rasters durch den größeren Abstand zur Platte oder Lichtreflexionen stark beeinträchtigt werden.

Einleitung

Für die Eppendorf Microplates wurde die bewährte Opti-Track® Matrix der Eppendorf Deepwell Plates übernommen (Abb. 1), die sich durch ein kontrastreiches, gut lesbares Raster auszeichnet und darauf ausgelegt ist, Wells schnell und fehlerfrei zu identifizieren. Zusätzlich wurde bei der Materialauswahl und Verarbeitung darauf Wert gelegt, die höchstmögliche Transparenz zu erzielen, um so Probenmaterial einfach durch die Wells erkennen zu können.

In dieser Application Note wurde die Transparenz des Materials und die Lesbarkeit des Rasters der Eppendorf Microplates mit Platten anderer Hersteller verglichen. Geprüft wurde dazu die Identifizierung unterschiedlich großer Pellets in den Wells und die Lichtdurchlässigkeit des Materials. Weiterhin wurde ermittelt, wie schnell einzelne Wells der verschiedenen Platten aufgefunden werden.

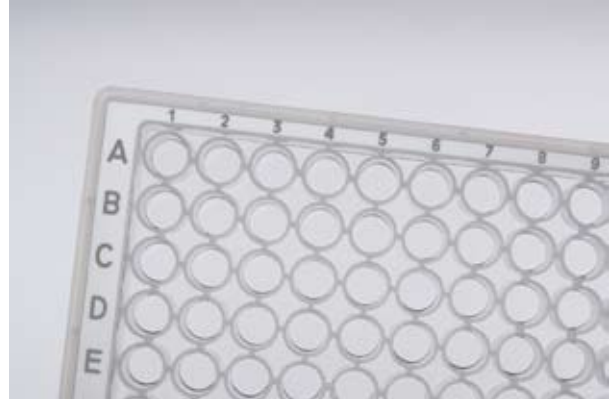


Abbildung 1: OptiTrack Matrix der Eppendorf Microplates

Material und Methoden

1. Transparenz

a) Identifizierung von Pellets

Es wurden unterschiedliche Verdünnungen einer Bakterien-Suspension in Wells der Eppendorf Microplate 96/V und in Wells von 96-Well Mikrottestplatten mit V-Boden anderer Hersteller pipettiert, um Pellets unterschiedlicher Größe zu erzeugen. Dazu wurden *E. coli* Bakterien (Stamm DH5 α) über Nacht bei 37 °C kultiviert. Die Kultur wurde mit LB Medium auf eine OD von 1,0; 0,5 und 0,25 verdünnt. Jeweils 100 μ l wurden pro Well pipettiert, wobei für jede Verdünnung eine neue Reihe genommen wurde und dazwischen jeweils eine Reihe freigelassen wurde. Anschließend wurden die Platten in der Eppendorf Zentrifuge 5810 R (Ausschwingrotor A-4-62, 2200 x g, 10 min) zentrifugiert. Das LB-Medium wurde entnommen und die Pellets getrocknet. Danach wurden die Platten fotografiert und die Sichtbarkeit der Pellets durch den Boden optisch beurteilt.

b) Messung der Lichtdurchlässigkeit

Die Transparenz von Flachboden-Mikrottestplatten wurde durch Absorptionsmessungen quantifiziert. Dazu wurde die optische Dichte von leeren Eppendorf Microplates 96/F und 384/F sowie zwei Flachboden-Platten im 96-Well-Maßstab und einer 384-Well-Platte anderer Hersteller gemessen. Für den Scan im Wellenlängenbereich von 350-650 nm wurde der Safire²™ (Tecan) eingesetzt. Zusätzlich wurden die Eppendorf Microplate 96/V sowie zwei Vergleichsplatten des gleichen Formats schräg auf ein mit Text bedrucktes Blatt Papier gelegt und von oben fotografiert, um die Klarheit anhand der Lesbarkeit der darunter liegenden Schrift zu vergleichen.

2. Alphanumerik

Ziel war es, die Lesbarkeit des Rasters messbar und damit bewertbar zu machen. Daher wurde ein Test entwickelt, in dem die Schnelligkeit bestimmt wird, mit der einzelne Wells einer 96-Well-Platte aufgefunden werden. Eine klare Eppendorf Microplate sowie drei vergleichbare 96-Well-Platten von anderen Herstellern wurden eingesetzt. Anhand vorgegebener Koordinaten sollten Testpersonen jeweils eine Pipettenspitze zur Markierung in die entsprechenden Wells stecken. Die für 10 Wells einer Platte benötigte Zeit wurde gestoppt. Dieses Verfahren wurde dem Pipettieren vorgezogen, um den Faktor der Pipettiererfahrung nicht in den Versuch eingehen zu lassen. Jede Person hat jeden Plattentyp (in unterschiedlicher Reihenfolge) getestet. Um Gewöhnungseffekte zu vermeiden, wurde für jede neue Platte ein anderes „Steckschema“, das per Zufallsgenerator ermittelt wurde, verwendet. An dem Test nahmen 7 Personen teil.

Ergebnisse und Diskussion

1. Transparenz

a) Identifizierung von Pellets

Wie Abbildung 2 zeigt, ist das Material der Eppendorf Microplates 96/V deutlich klarer als das der Wettbewerbsplatten. Die verschiedenen Pelletgrößen können gut differenziert werden und selbst das kleinste eingesetzte Pellet ist einfach zu identifizieren. Durch die Böden der anderen getesteten Platten sind die kleinsten Pellets der OD 0,25 vom leeren Well praktisch nicht mehr zu unterscheiden. Da auch die größeren Bakterienpellets nur undeutlich zu erkennen sind, ist die Größe kaum einschätzbar. Der Grund liegt in der geringeren Transparenz des Materials und zum Teil auch in der Ausführung des Bodens.

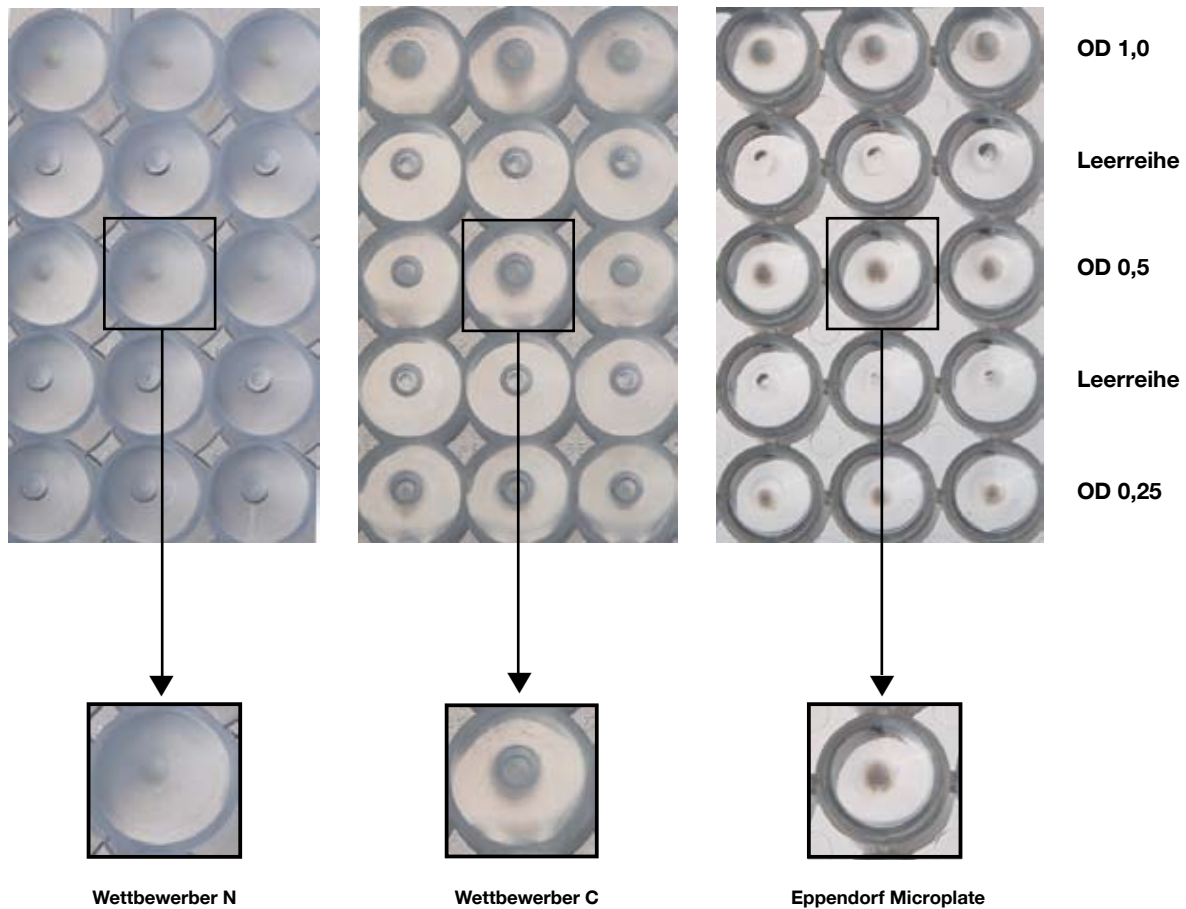


Abbildung 2: Wells von 96-Well-Platten, die Pellets unterschiedlicher Größe auf den Wellböden enthalten. Die Aufnahmen wurden unter identischen Lichtbedingungen gemacht.

b) Messung der Lichtdurchlässigkeit

Die Daten aus den Absorptionsmessungen sind in Abbildung 3 in Form der Lichtdurchlässigkeit dargestellt. Sie belegen, dass die Transparenz für die Eppendorf Microplates 96/F und 384/F über das gesamte gemessene Spektrum höher ist als die der Wettbewerbsplatten im 96- und 384-Well-Format. Dieser Test bestätigt, dass Proben durch die Wellböden der Eppendorf Microplates hindurch leicht erkennbar sind. In Abbildung 4 wird die hohe Klarheit des Materials am Beispiel der Eppendorf Microplate 96/V demonstriert. Hier sind die gedruckten Zeichen durch den Wellboden hindurch gut lesbar, während dies bei den Platten der anderen Anbieter nicht gegeben ist.

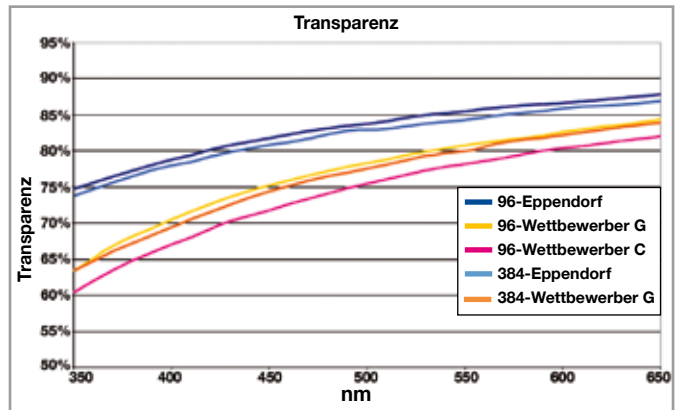
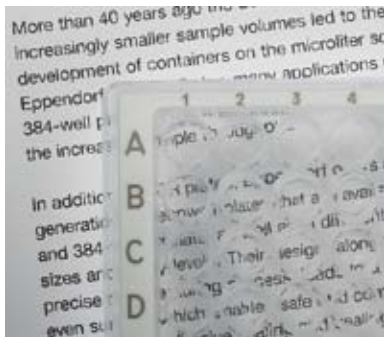
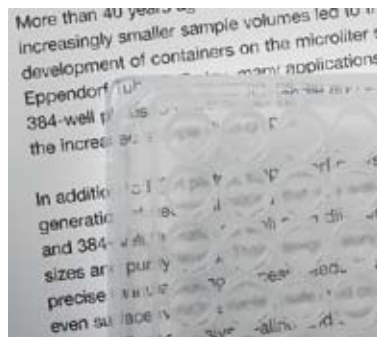


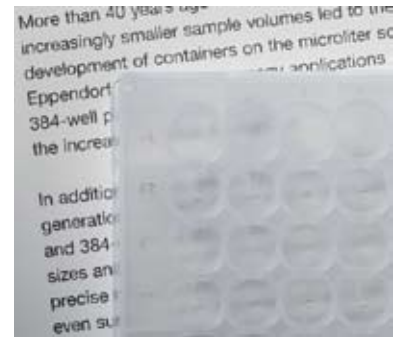
Abbildung 3: Darstellung der aus der Absorptionsmessung von leeren Mikrottestplatten berechneten Transparenz im Wellenlängenbereich 350-650 nm.



Eppendorf Microplate



Wettbewerber G



Wettbewerber N

Abbildung 4: Lesbarkeit von gedruckter Schrift durch die Böden von Mikrottestplatten

2. Alphanumerik

Die Auswertung des „Stecktests“ (Abbildung 5) zeigt, dass die OptiTrack Matrix der Eppendorf Microplates hilft, Wells schneller zu identifizieren als es das konventionelle Raster der Wettbewerbsplatten ermöglicht. Der durchschnittliche Wert für das Markieren von 10 Wells einer Platte beträgt bei Eppendorf 38 sec, während er bei Platten mit Standardmatrix bei 48-53 sec liegt. Somit sind Wells der Eppendorf Microplate um 20-30 % schneller auffindbar. Zusätzlich fällt auf, dass die Spannweite (Minimal- und Maximalwert) bei den Eppendorf Platten sehr eng ist, während diese Werte bei den anderen Platten viel weiter auseinander liegen. Eine schwer lesbare Beschriftung kann somit dazu führen, dass zeitkritische Experimente eine höhere Variabilität aufweisen, da das Auffinden eines Wells unterschiedlich lange dauert. Wenn Wells unter Zuhilfenahme einer gefüllten Pipettenspitze „abgezählt“ werden müssen, um das richtige Well zu treffen, birgt das zusätzlich eine hohe Kontaminationsgefahr in sich.

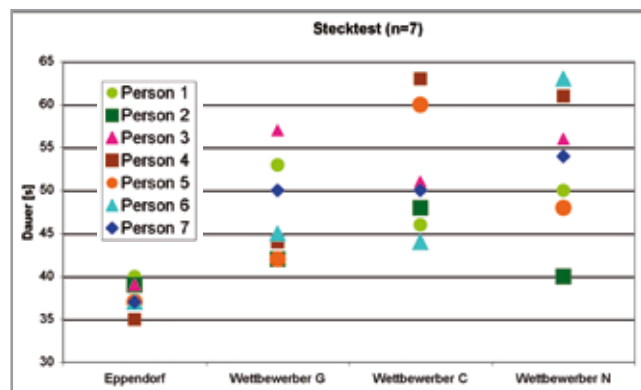


Abbildung 5: Dauer des „Stecktests“ pro Person und Platte. Jedes farbige Symbol repräsentiert eine Testperson und zeigt die Zeit, die für die jeweilige Platte benötigt wurde.

Fazit

Die hier beschriebenen Versuche zeigen, dass die für Mikrotestplatten aus Polypropylen einzigartige Transparenz der Eppendorf Microplate das schnelle und zuverlässige Auffinden von Probenmaterial vereinfacht und damit zum angenehmen und sicheren Arbeiten beiträgt. Die kontrastreiche OptiTrack Matrix ermöglicht im Vergleich zu einem konventionellen Raster eine wesentlich schnellere Identifizierung einzelner Wells. Damit wird nicht nur die Arbeit erleichtert, es werden auch Fehler und Kontaminationen vermieden, die zu erheblicher Mehrarbeit führen können. Die gleichmäßig schnelle Wellidentifizierung trägt zu einer besseren Reproduzierbarkeit bei, wenn mit zeitkritischen Reaktionen gearbeitet wird.

Bestellinformationen

| Eppendorf Microplates*, 80 Platten (5 Beutel à 16) | | | | |
|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------------|--------------------------------------------------------------|
| Bezeichnung | Qualität | Wellfarbe | Umrandungsfarbe | Bestell-Nr. |
| Microplate 96/F | PCR clean Steril | Klar | Weiß | 0030 601.106 0030 602.102 |
| Microplate 96/U | PCR clean Steril | Klar | Weiß | 0030 601.203 0030 602.200 |
| Microplate 96/U | PCR clean | Schwarz | Weiß | 0030 601.807 |
| Microplate 96/U | PCR clean | Weiß | Grau | 0030 601.572 |
| Microplate 96/V | PCR clean Steril | Klar | Weiß | 0030 601.300 0030 602.307 |
| Microplate 96/V | PCR clean | Schwarz | Weiß | 0030 601.904 |
| Microplate 96/V | PCR clean | Weiß | Grau | 0030 601.670 |
| Microplate 384/F | PCR clean Steril | Klar | Weiß | 0030 621.107 0030 622.103 |
| Microplate 384/V | PCR clean Steril DNA LoBind, PCR clean Protein LoBind, PCR clean | Klar | Weiß | 0030 621.301 0030 622.308 0030 623.304 0030 624.300 |
| Microplate 384/V | PCR clean | Schwarz | Weiß | 0030 621.905 |
| Microplate 384/V | PCR clean | Weiß | Grau | 0030 621.670 |

*Alle Microplates sind auf Anfrage mit Barcode erhältlich.

Safire² ist eine geschützte Marke der Tecan Group Ltd.

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 GmbH · 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