

### マイクロピペット

#### 1 はじめに

JIS規格の呼称はピストン式ピペットであるが<sup>1)</sup>、本稿では馴染み深いと思われる名称のマイクロピペットを用いる。その原型は、1957年のHeinrich Schnitgerが開発したMarburgピペットにさかのぼる。このピペットはこれまでの口から吸いこむ操作を必要とせず、ピストンの往復運動で一定量の液体を素早く取ることができた。そのライセンスをEppendorf社が引き継ぎ、現在の同社のマイクロピペットに至る。一方、1972年にWarren Gilsonはそのピペットを改良して最初の容量可変型を開発し、現在のGilson社のマイクロピペットに至る。Eppendorf社も容量可変型を作製し、現在ではこの両社のマイクロピペットが一般的なスタイルとして定着し、他社からも販売されている(図1)。

1973年にOsimo Suovaniemiが最初のマルチチャンネルピペット(同時に複数の液が取れるピペット)を開発し、1984年にはRainin社が電動モーター式のピペットを開発した。これらのマイクロピペットは、日頃の研究活動には欠かせない器具であり、この扱い方でデータの善し悪しが決まると言っても過言ではない。そこで今回、マイクロピペットの一般的な使い方とメンテナンスについて解説する。

#### 2 マイクロピペットの選択

マイクロピペットには固定容量型と可変容量型がある。固定型は、常に一定量を取る必要があるルーティンワークには良いが、可変型と比べて精確さや価格面に大きなメリットがある訳ではない。一般的な研究では様々な容量を取る必要があるため、可変型が主流である。そこで本稿では可変型のシングルチャンネルマイクロピペットについて解説する。

表1に示すように可変型には容量が重なる範囲があるため、広範囲の容量に対応できるよう選んでそろえることになる(例えば、0.2~2, 2~20, 20~200, 100~1000  $\mu\text{L}$ の組み合わせなど)。ピペットの個体間には若干の誤差があり、また一般的に容量の上限よりも下限の方が誤差が大きい。例えば、Eppendorf社のピペットReference 2で100  $\mu\text{L}$ を取る場合、100~1000  $\mu\text{L}$ ピペットでは真度を示す系統誤差が3%、ばらつきを示

すランダム誤差が0.6%で、20~200  $\mu\text{L}$ ピペットでは系統誤差が1%、ランダム誤差が0.3%であり、200  $\mu\text{L}$ の方が精確さは良好である。しかし、容量上限付近の液を取る場合、ピペット内に液が吸い込まれやすい。また、表1のように容量ごとにチップの指定がある。例えば2  $\mu\text{L}$ を取る場合、0.2~2や1~10  $\mu\text{L}$ のピペットは良好な精確さであるが、それらは全長が短いクリスタルチップを使うためシャフトに液が付いて汚れやすい。一方、2~20  $\mu\text{L}$ のピペットは精確さで劣るものの、全長が長いイエローチップを使うためシャフトが汚れづらい。さらに、イエローチップのみで2~200  $\mu\text{L}$ まで対応できるため実験台のスペースを確保しやすい。上記の内容と日頃扱う容量から、自分に適した組み合わせでマイクロピペットをそろえると良い。

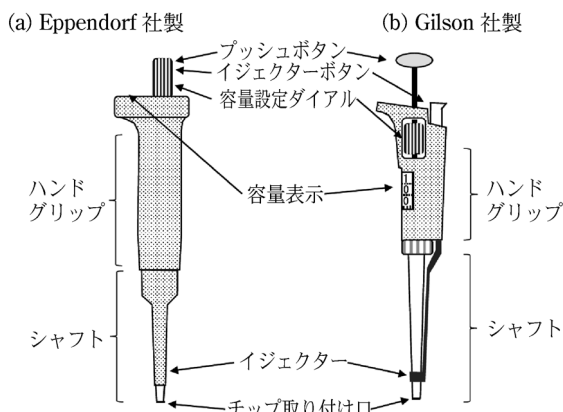
マイクロピペットの形状は、図1aのEppendorf社製と図1bのGilson社製(本稿ではE型とG型と略す)の二つに大きく分けられる。握り具合や操作性などは個人の好みがあるため、自身で試されると良い。E型はイジェクターがシャフトと一体化しているため、両者が別になっているG型よりもシャフト先端が細く、汚れづらい。しかし、シャフトが汚れた場合、G型の方が清掃しやすいなど、一長一短である。

それ以外の着目点として、使用中に容量設定ダイヤルのズレを防ぐロック機能、視認性良いデジタル表示、チップのイジェクトをサポートするスプリング内蔵、熱耐性素材を用いたオートクレーブ対応などがある。同じ液量を複数の容器に入れる操作を頻繁に行う場合にロック機能は便利であり、細胞培養などの無菌操作やDNAのコンタミネーション防止にはオートクレーブ対応は欠かせない。また近年、軽量化が進んでいる。例えば、Gilson社の2~20  $\mu\text{L}$ の新型ピペットP20L(質量80g)は従来型ピペットP20(質量102g)よりも約20%軽量化されている。従来型を使い続けている熟練者も、一度試されると良いだろう。しかし、多機能なマイクロピペットは高価であり、使用する状況に適したものを選ぶことをお勧めする。

表1 マイクロピペットの種類と対応するチップ

マイクロピペットの種類 (容量)	対応チップ
0.2~2 $\mu\text{L}$	クリスタルチップ
1~10 $\mu\text{L}$	クリスタルチップ
2~20 $\mu\text{L}$	イエローチップ
10~100 $\mu\text{L}$	イエローチップ
20~200 $\mu\text{L}$	イエローチップ
100~1000 $\mu\text{L}$	ブルーチップ

\* 近年、イエローチップと同じ規格のクリスタルチップも市販されている。



一つのボタンでプッシュボタン、イジェクターボタン、容量設定用ダイヤルを担う。      プッシュボタン、イジェクターボタン、容量設定用ダイヤルが別々にある。

図1 マイクロピペットの例

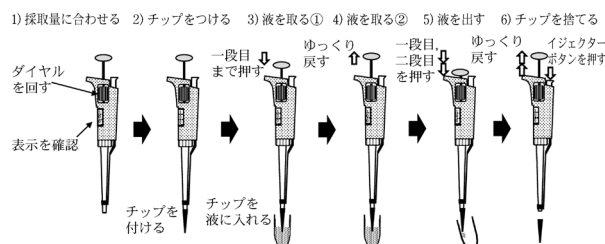


図2 マイクロピペットの操作手順 (Gilson社製の例)

### 3 マイクロピペットの使い方

マイクロピペットは、基本的に1)~6)の順に操作する(図2)。以下に各操作の注意点を記載する。

#### 1) 容量設定ダイヤルを回して容量表示を採取量に合わせる

最も致命的なミスは、規定範囲外の容量までダイヤルを回すことである。ピペットの規定範囲を理解していない初心者だけでなく、不注意な経験者にも起こるミスであるが、回し方次第では即故障につながる。そして、一般的に容量表示は4桁であり(100~1000  $\mu\text{L}$ の1000  $\mu\text{L}$ 設定では5桁)、1桁目がピペットの規定容量の最大値の一番大きな桁と同じとなる。目盛り表示の4桁目は見る角度で読み間違える場合があるので、目盛りを真っ正面から見て合わせる。また、同じ液量を複数回取する場合、ダイヤルがずれることがあるので数回に一度は容量表示を確認する(ロック機能があれば確認不要)。

#### 2) シャフトの先にチップをつける

表1に示したようにピペットに適したチップを付ける。このとき、フィルターチップでは適合性が異なる場合がある。例えば、イエローチップは2~20  $\mu\text{L}$ と20~200  $\mu\text{L}$ の両ピペットに対応するが、フィルターチップではフィルターが干渉するため両ピペットで別のチップとなる。また、ピペットメーカー指定以外のチップを用いる場合、チップイジェクターが干渉して付かないなどの問題が生じることもあるので、事前に適合性を確認しておく。

シャフトへのチップの取り付けが緩いと精確な液量が取れないだけでなく、作業中にチップが外れる場合もある。逆に、強い力で取り付けるとチップを外すときに強い力が必要となり、作業効率が低下する。著者の周りでは、取り付け方として「トン、トン」と2回たたき、「ギュッ」と1回押し込むの2通りであるが、特に決まりはないので各自適した方法で付ける。

#### 3) プッシュボタンを一段階目まで押した状態でチップ先を液面に浸ける

規定容量の最小値付近ではプッシュボタンの一段階目のストロークが僅かで、二段目まで誤って押す場合があるので注意する。そして、液に浸けるチップの深さは、クリスタルチップで1 mm以下、イエローチップで2~3 mm、ブルーチップで2~4 mmを目安とする。深すぎるとチップ周囲に液が付いて誤差となるだけでなく、水圧が加わって液を多く吸い取ることもなる。一方、メタノールなど流動性の高い有機溶媒では吸い込み時に界面から空気を吸い込みやすいため、少し深めにチップを浸けると良い。

#### 4) ゆっくりとプッシュボタンを戻し、チップ内に液を吸い込む

ピペットを横に傾け過ぎると、吸い込み量が変化したり、シャフト内に液が入ったりするため、基本的にピペットは垂直に持つ。また、勢いよくプッシュボタンを戻すと、液がピペット内に入るので注意する。アセトンなどの揮発性の高い有機溶媒を取る場合、その液がピペット内部で気化し、吸い上げた液がチップ先から漏れる場合がある。それを回避するには5回くらい液の吸い込みと排出を行い、ピペット内部を気化したガスで満たしてから液を吸い込む。液を取った後、界面がチップのどの位置にあるかを確認する習慣付けをしておく、操作ミスやピペットの異常に気付きやすい。

#### 5) プッシュボタンを一段そして二段目まで押し、吸い込んだ液を容器に入れる

液を取ったチップ周囲に付着している液を除き、容器に入らないようにする。そして、液の排出時にはチップ先を容器の壁に付けて液の飛散を防ぐ。また、プッシュボタンの一段目を勢いよく押すとチップ内に液が残る場合があるので、チップ先端に残存液が集まったのを確認してから二段目を押し、残った液を確実に排出する。

#### 6) E型ではプッシュボタンを三段目まで押し、G型ではプッシュボタンをゆっくり戻した後にイジェクターボタンを押し、チップを外す

チップを外す前にプッシュボタンを勢いよく戻すと、チップ内の残存液がピペットに入る可能性がある。また、チップ周囲に付いた残存液が落ちる場合もあるので、ピペット操作する場所からチップ捨て容器への動線には物を置かない。さらに動線を短くした方が作業効率も良い。チップ捨て容器は、捨てたチップが飛び出したり、チップに付着していた液が飛散しないよう、少し深めのものが良い。

上記以外の重要な使い方として、一つの液を複数容器に同じ容量ずつ入れる操作(分注)がある。分注したい液の中で吸い込みと排出(このときはプッシュボタンの一段目までしか押さない)を数回行うと、排出後のチップ先に若干液が残った状態となる。その状態で液を吸い込み、プッシュボタンの一段目を押して容器に液を入れる。この操作を繰り返すことで分注できる。この方法は、チップの消耗が少ないだけでなく、操作の負荷も軽減される。この他にも試料に合わせた操作法はあるが、紙面の都合上、他に譲る<sup>2)</sup>。

### 4 マイクロピペットのメンテナンス

ピペットごとにメンテナンスが異なるので基本的には説明書を確認する。ここでは一般的な方法について解説する。

マイクロピペットの外部の汚れは、精製水やアルコールなどを湿らせたペーパータオルで拭き取る。液の吸い込みによる内部の汚れは、シャフト部分を外し、シャフト、スプリング、o-リング、ピストンなどで汚れている箇所を精製水やアルコールなどを湿らせたペーパータオルで拭き取る。そして各部品を乾かした後、組み立てる。

オートクレーブする場合は、ピペットがオートクレーブ対応であることを確認する。ピペットによってはシャフト部分のみ対応の場合もあり、未対応の箇所をオートクレーブすると破損につながる。オートクレーブ処理後は、室温で長時間放置し、乾燥してから使用する(無菌処理の場合、クリーンベンチなどで乾燥すると良い)。

マイクロピペットの精確さは、重量法で確認する。特に水を吸い上げた状態でマイクロピペットを維持し、20秒以内にチップ先に液滴を生じるピペットは圧が漏れている可能性があるため確認する。重量法では、ピペットで一定量の水を取り、その質量を測定し、採取量( $\mu\text{L}$ )と質量(mg)が一致するかを確認する。この方法はピペット技術の確認にも有用である。

更に、JISにはマイクロピペットの性能試験及び校正が記載されており<sup>1)</sup>、JIS適合性が要求される場合に確認すると良いだろう。

### 5 最後に

マイクロピペットは、液体試料を扱うバイオ実験などでは必須であり、その簡便性から近年では化学実験にも用いられ、優れた器具であることに疑う余地はない。しかし、ポリプロピレン製のチップでは対応できない有機溶媒や酸があること、減圧して液を吸い上げるため揮発性物質が気化すること、高粘度の液はチップ内に残存することなどの問題もあり、ガラス製の他の器具を使用した方が良いケースもあることを忘れてはならない。本稿が、マイクロピペットの特性を考え、マイクロピペットを正しく使うための一助になれば幸いである。

### 文 献

- 1) JIS K 0970, ピストン式ピペット (2013).
- 2) 西方敬人, 川上純司, 藤井敏司, 長濱宏治: “ゼロからはじめるバイオ実験マスターコース (1) 実験の基本と原理”, (2012), (学研メディカル秀潤社).

[日本大学薬学部 張替直輝]