

epMotion 自动移液工作站的准确度和精确度探究

随着人类基因组时代的到来，分子生物学实验室已经从一个小规模的手工实验室变成了一个半工业化的高通量的处理站，每天要分析大量的样本和数字信息。大量的转录本、基因、蛋白质和SNP信息的积累和增加对高密度的实验操作提出了新的要求，手工的实验操作无法满足高密集度和高重复性的要求，而且极不准确，和不具有可重复性，会引入各种误差。

六十年前，Eppendorf开始制造世界上第一支可调式微量移液器，凭借悠久的移液工具制造历史，其产品优秀的性能和卓越的品质一直在移液器的制造领域处于领导者的地位。从70年代的EPOS，80年代的ELAN，到现在的epMotion 5070 / 5075这两个更加出众的机器人移液操作平台，Eppendorf在移液电动工具和液体处理工作站方面也经历了一个不断发展的过程。这些各式各样的移液工具虽然在功能和外观上各有千秋，但无论是分液工具还是移液工作站上的分液器，都具有一个共同的重要特性，这就是Eppendorf成功应用了几十年的空气垫活塞技术和一次性精确吸头的制造。这些技术不仅使移液器成为了一种十分容易操作的小工具，而

且在一个很大的移液体积范围内都能确保其精确性和准确性，并避免交叉污染（表1）。

不过，对于自动工作站用一次性吸头分液的过程，在自由射流，无交叉污染模式下的分液1 μl 也能达到这样的高精确度吗？任何一位使用过移液器的操作者都知道，分液过程并不那么容易控制，而且并不是每次都能保证很高的精确度的。那么就让我们进一步分析一下epMotion工作站的分液数据，看看到底机器人分液能不能如所说的那么精确。

相对于机器人移液，手工移液对于一些有通量要求和比较敏感的实验来说就显

得有些约束，如基因分型、定量和基因表达分析、大规模测序等等。机器人工工作站的高度重复移液操作在速度、准确度和避免交叉污染上更具有不可替代的优势。这些方面也是Eppendorf非常注重的。

从不同批次的产品中选择了40个50 μl 的单道分液器，用称量法直接测试其精确性。设定1 μl 分液体积，通过自由射流技术分液，液体在严格控制的ISO认证实验室用高精度密度天平进行称量。测试结果见图2。TS50分液器的不准确度界限在 $\pm 10\%$ ，表示如果设置分液体积为1 μl ，则不会有分液器的分液体积会大于1.1 μl 或小于0.9 μl 。所有40个分液器的实际分液体积都非常接近平

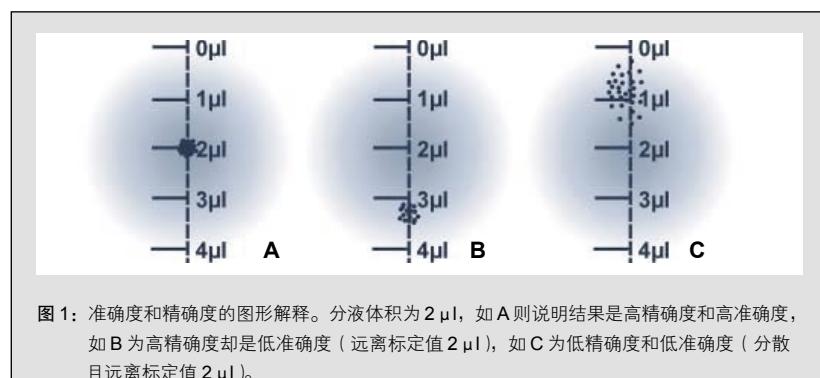


图1：准确度和精确度的图形解释。分液体积为2 μl ，如A则说明结果是高精确度和高准确度，如B为高精确度却是低准确度（远离标定值2 μl ），如C为低精确度和低准确度（分散且远离标定值2 μl ）。

Tool	Range	Volume	Accuracy	Precision
TS 50	1-50 μl	1 μl	$\pm 10\%$	< 5%
		50 μl	$\pm 0.8\%$	< 0.4%
TS 300	20-300 μl	20 μl	$\pm 4\%$	< 3%
		300 μl	$\pm 0.6\%$	< 0.3%
TS 1000	40-1000 μl	40 μl	$\pm 3\%$	< 2%
		1000 μl	$\pm 0.6\%$	< 0.2%

表1：epMotion 5070/5075 自动移液工作站的分液器的准确度和精确度的数据
单道分液器量程的边界体积的准确度和精确度数据已列出

均值 $1.025 \mu\text{l}$ 。进一步分析可以看到超过 80% 的分液器的不准确度界限是在 $\pm 5\%$ 之内。这表明设定 $1 \mu\text{l}$ 体积分液时，分液器的真实分液误差不会超过 $0.05 \mu\text{l}$ (而一个微小液滴的直径在 0.2 mm!)。这个准确度是非常高的。统计结果表明 40 个分液器分液 $1 \mu\text{l}$ 液体的平均精确度为 3%，平均的绝对变异在 $1.055 \mu\text{l} - 0.995 \mu\text{l}$ (平均准确度为 $1.025 \mu\text{l}$, $\pm 3\%$)。

但是更具有实际应用意义的证据还是要来自于生物应用方面，如 epMotion 5070 应用于非常敏感的实时定量 PCR 反应。在图 3 中给出的例子是从人血样中检测 HBV 病毒的定量 PCR 实验。epMotion 5070 制备 PCR 反应体系得到的 PCR 曲线非常一致，重复性很高，

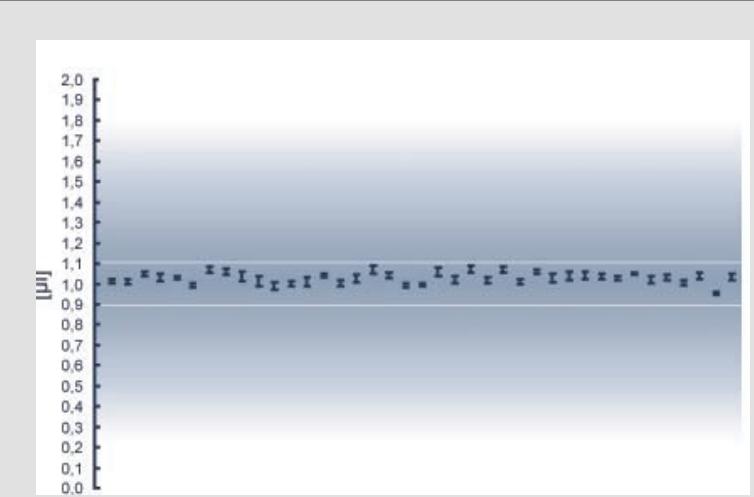


图 2：图为 epMotion 工作站单道 $50 \mu\text{l}$ 分液器操作 $1 \mu\text{l}$ 液体的不准确度和不精确度。测试中对 40 个不同生产批次的分液器的移液体积进行了重量测定，图中的点为每个分液器进行 10 次测定的平均值，误差区域表示其精确度，不准确度的边界值 $\pm 10\%$ ，平均值为 $1.025 \mu\text{l}$, 82% 的分液器的不准确度为 $\pm 5\%$ 。

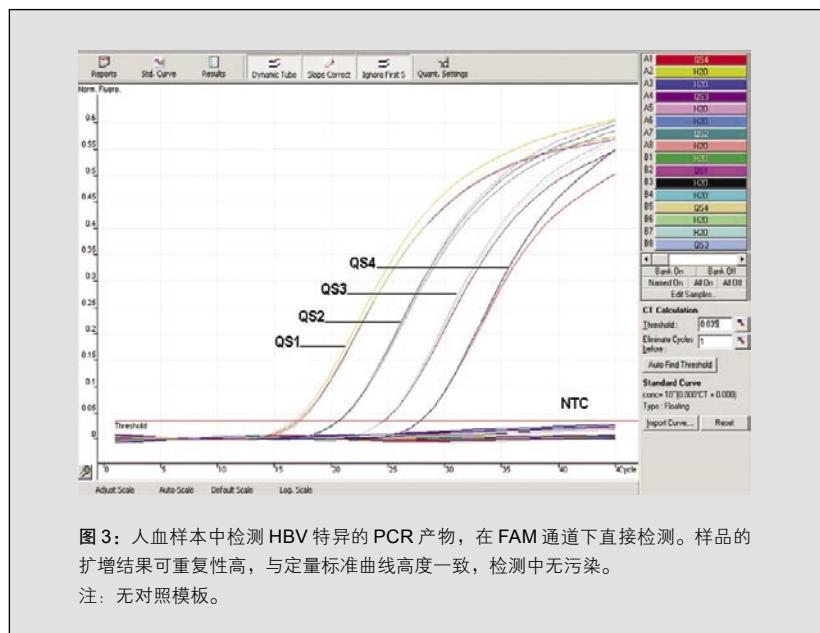


图 3：人血样本中检测 HBV 特异的 PCR 产物，在 FAM 通道下直接检测。样品的扩增结果可重复性高，与定量标准曲线高度一致，检测中无污染。
注：无对照模板。

相比手工移液制备 PCR 反应体系要具有更高的可重复性。除了能给出最可靠的实验结果以外，使用 epMotion 制备反应体系还能减少重复样品的操作数量、反应体积和试剂用量，尤其是对于那些昂贵的探针法 RT-qPCR 反应，这一点是非常有意义的。

我们对高通量的理解并不只是一味的追求速度，更重要的是最佳的准确度和精确度。

快固然不错，但精确更具有意义。

(*Wyatt Earp, the old west legendary gunslinger*)

作者 Rafał Grzeskowiak,
Eppendorf AG,
Hamburg and Rainer Oltmanns,
Eppendorf Instrumente GmbH,
Hamburg