

自动化PCR应用笔记



Written by
Opentrons





INTRODUCTION
目 录

目 录

Chapter 1	PCR实验自动化的益处	3
Chapter 2	启用PCR自动化的前期准备	8
Chapter 3	如何选择最适合你的PCR平台	13
Summary	总结	16
Conclusion	自动化PCR实验的下一步	17



PCR实验自动化的益处

CHAPTER 1

提高数据质量

- 准确度和精密度
- 减少变异性和错误
- 再现性和一致性

更少的操作时间

更高的实验产量

更低的投入成本



您的实验室适合使用自动化吗？

PCR 是一种分子生物学的核心应用之一，用于检测和定量特定基因，是基因组学和转录组学等下游应用的重要组成部分。

PCR是一项耗时、耗人力且容易出错的分子生物学技术。往往高质量的PCR实验需要耗费大量时间和金钱，这两点成为了很多科研工作者的项目瓶颈。然而，通过十多年的优化和改进，实验室自动化应运而生，实验室自动化技术的应用能够减少人力和预算限制，为科学家提供更高效、准确的结果。

自动化为PCR实验带来了很多有效的帮助。本章将讨论其中三个最核心的优势：

- 1、改善数据质量
- 2、提高通量
- 3、降低成本

提高数据质量

准确度和精确度

PCR 包括两个工作步骤：1) 反应设置；2) 梯度加热。在 PCR 实验过程中，准确度和精确度非常关键。试剂和样品必须按精确的量分装、混合和转移，以获得高质量的结果。因此，精准移液是一个严重影响产品质量的关键性能因素。

在进行PCR时，大多数实验室通常会使用微量移液器，并且将体积降至最低为1 μl 。在这个体积下，大多数自动化系统可媲美熟练的人工技术人员，使得实际移液体积与目标体积相差不超过 5%。

降低变异性和错误

自动化系统可以最大限度地减少变异性并消除错误，且在面临复杂的实验步骤或大量样品时，人工执行难度较大，此时，自动化可以替代人工完成这项挑战。

PCR 实验的步骤可能涉及众多独立的操作，这些操作会在长达几个小时的过程中进行，考虑到大多数 PCR 实验的规模，移液任务在整个项目中会被反复执行无数次（更多讨论请参阅第三章）。

即使是熟练的人工技术人员也会出现注意力不集中和移液错误。通常的解决办法就是重新执行整个过程。然而，机器人系统可以不知疲倦地执行移液操作，并且可以做到每次都正确的液体移至正确的孔中。通过消除人工失误带来的重复操作，可以节省您的试剂和宝贵的时间（有关成本节约的更多信息请参阅下文）。此外，通过消除错误，自动化系统可以提供更准确的下游数据。

复现性和一致性

生物科研实验需要具备复现性和一致性，不仅是为了确保结果的正确性，也是为了增加研发人员的信心。

自动化能够更好地实现实验的复现性和一致性。而移液操作是影响测定复现性的一个关键因素。自动化消除了实验者技术上的变异性，因为机器人每次都以相同的方式执行每个步骤，同时，这有助于更好的后续分析。

减少人工操作时间，提高吞吐量

除了提高数据质量外，自动化还可以增加实验室的吞吐量，更快地运行更多的 PCR 反应，并释放宝贵的人工操作时间。PCR 应用的时间长度可能有很大的差异。对于典型的 PCR 过程，包括设置和运行，通常需要 1-2 小时的时间。自动化系统可以在相似的时间内完成 PCR 反应，但仅需不到 15 分钟的人工操作时间，而且自动化系统可以在夜间和周末工作。

减少人工操作时间，让科研人员可以把时间聚焦在实验设计和数据分析上，发挥他们宝贵的知识技能。

手动 PCR

总耗时

1-2 小时

手工操作时间

30 分钟，或者对于大量样本可能需要更多时间

自动化 PCR

总耗时

1-2 小时

手工操作时间

<15 分钟

降低成本

自动化系统可能需要一笔相当大的采购费用。但是，通过提高效率和性能，许多实验室的产出将可以抵消其设备投入，并且还可以节省总体成本。将繁琐的手工移液操作替换为高效的机器人技术可以在多个方面节省成本。通过消除错误操作导致的重复实验的需要，自动化可以避免样本、试剂和耗材的浪费。此外，通过缩短实验周期，自动化还可以节省长时间实验的固定成本。尽管短期内投资和学习曲线似乎很大，但通过引用自动化，多数实验室真正实现了降本增效。



实验室通过自动化可以节省的金额是可计算的

投资回报率预估 (ROI)

实验室通过自动化获得的投资回报率 (ROI) 可以通过当前手动工作流程成本与使用自动化系统后潜在成本之间的差异进行计算。这些成本将取决于实验室的整体需求，例如特定试剂的价格或实际操作时间的费用。但事实上对 ROI 影响最大的因素是实验室的吞吐量。

确切地量化成本可以通过将样品、试剂、耗材、劳动力和设备归纳为一个衡量指标：每个样品的成本 (CPS)。实验室可以使用 CPS 作为基准，根据当前和未来的吞吐量进行推算，并与自动化的成本进行对比。

要计算 CPS，首先将实验室在一定时期内的试验费用相加。接下来，加上手动操作所需的劳动力小时数的衡量指标。全职当量 (FTE) 可用于量化这些小时数。FTE 会为您所进行的工作分配一个每小时工资。

这可以是技术人员的实际工资或一个合理的估计值。您还可以将 FTE 以小时而不是货币方式进行量化，以便关注节省的时间。然后将这些成本除以该时期运行的样品数量。商就是您的 CPS，可以以每个样品的美元或美元和 FTE 小时来表示。

计算投资回报率的下一步是用自动化系统量化您的 CPS。只需将使用新系统的等量样品的试剂和 FTE 成本相加。然后加上与自动化系统本身相关的成本，如购买价格（请参考第 4 章）。将这个总和除以您打算运行的样品数量，就可以得到一个可比较的 CPS。

具有良好投资回报率的自动化系统将提供价格适中的机器，并且具有最低的运营成本，并能够通过降低成本获得所讨论的结果。您运行的样品越多，就可以节省更多的操作时间和减少更多的错误测定废料，这样节省成本的净值效果就会被放大。

每个样品的成本：手动与自动

$$\text{手动样品成本} = \frac{\text{实验室检测费用（例如试剂）} + \text{手动程序花费的工时（例如 FTE）}}{\text{在给定时间段内运行的样本数量}}$$

$$\text{自动化样品成本} = \frac{\text{实验室检测费用（例如试剂）} + \text{手动程序花费的工时（例如 FTE）} + \text{自动化系统的成本}}{\text{在给定时间段内运行的样本数量}}$$

您的实验室是否适合引进自动化?

每个实验室都有自己的资源和目标。许多研究人员都会合理地担心自动化是否能在他们自己的实验室中发挥作用。尽管最近自动化技术的进步使其在大多数实验室环境中被普遍采用并获益无数，但确实有些实验室可能最好继续使用手动操作。在评估是否采用自动化时，请考虑以下问题：

在评估自动化对实验室的益处时，请结合实验室的目标和当前资源，综合考虑以下因素

以下情况，建议手动

- 最低通量需求，即每周少于 10 个样本
- 实验室可用资源（资金和劳动力）充沛

以下情况，建议选择自动化

- 中高通量样品处理
- 要求高重复性
- 需要保护员工免受有害物质（样品和试剂中）的影响
- 需要避免重复操作
- 需要消除批次效应
- 需要更快的运转时间
- 需要较大的实验产出
- 可以将时间投入到更有成效的任务上



启用PCR自动化前期准备

CHAPTER 2

评估您当前的工作流程

- 绘制您的工作流程图
- 评估您的处理能力需求
- 评估试剂需求

了解您工作流程中的难点以及优化方案

- 孔板装载
- 温度循环
- 特定液体处理需求

难点及优化方案总结

多年来许多研究人员和实验室经过反复调整优化和实践，成功研发出了 PCR 自动化工作流程。下面的讨论将介绍这个过程，并描述需要牢记的关键要点。我们也会为您提供技术支持，帮助您完成您的 PCR 设置。

评估您当前的工作流程

市场上提供的自动化系统具有各种功能、优势和劣势（有关比较这些系统的提示，请参阅第三章）。因此，在确定哪种系统最适合您之前，首先确定您的需求是很有帮助的。通过按照以下步骤进行，您将能够清楚地了解自己的需求，并能够充分准备选择可用的系统：

绘制工作流程图

列出在 PCR 工作流程中所需要使用的机器、试剂和耗材。同时，请考虑是否正在使用或将需要使用定量 PCR、多重 PCR 或嵌套 PCR。如果是，请列出每个步骤的清单。

评估您的吞吐量需求

在考虑工作流程时，需要评估您的实验通量需求，以及您的工作流程是否与之匹配。需评估是否以足够快的速度生成所需的扩增 DNA。同时，也要展望未来的目标。随着学术和工业研究的进展，分子生物学家越来越看重更高效的实验。如果您认为未来有意扩大 PCR 工作流程的规模，就需要突破手动带来的限制。

评估试剂需求

您使用的试剂可以与哪些自动化系统兼容。例如，如果您的样品中PCR抑制剂浓度较高，您可能需要抗抑制试剂。如果模板数量较少，您可能需要高灵敏度试剂。如果目标具有复杂结构，您可能需要增加退火温度或添加试剂来破坏次级结构。因此，在评估自动化时，您需要衡量您的试剂需求。

了解工作流程的压力点和优化解决方案

根据所使用的PCR应用程序，可能会包括更多的子任务，每个任务都有其自身的挑战。每个步骤的试剂和流程都有相应的难点。自动化为优化PCR提供了有效方法。目前，Opentrons已经为许多实验室提供了技术支持，帮助他们完成了PCR工作站设置。

评估样品需求

正如上面所讨论的，样品的很多因素都将影响您的工作流程，包括您使用的试剂、所需的仪器等。不同实验室的样品类型及其相关的难点不同。本节将通过描述PCR工作流程的每个步骤，关注可能适用于特定实验室的难点和解决方案，帮助您为向自动化过渡做好准备。

简单的PCR工作流程可以分解为以下几个子任务：

- **孔板装载**
将引物、酶和其他试剂添加到主混合物中；装配模板；加载预混物
- **温度循环**
 - 变性
 - 退火
 - 扩增

孔板装载

孔板装载是一系列的移液和混合步骤，目标是生产高度准确的适当成分的混合物，同时消除污染。为了达到这个目标，我们的操作需要具备高精度、准确性和可靠性。此外，如果繁琐的移液过程都是由人工操作完成，将不利于提高通量。

通过经过高度培训、有足够时间和专注力的技术人员，可以实现精确、准确和可靠的目标。

同样，经过严谨的测试和清晰的设置的实验室自动化操作流程可以创造更好的实验环境。先进的移液器可以提高移液性能。自动化系统提高效率和精准度。

在这一步骤中，我们还需要考虑所使用的耗材和试剂。可能面临许多试剂与 PCR 孔板不匹配的问题。因此，通常需要使用单通道移液器进行操作。

试剂的处理也具备相应的难点；有些试剂需要在特定的温度下保存，有些则需要通过高难度的移液来克服粘度问题。温度要求可以通过在冰上操作或将添加温控模块来解决。快速操作有助于减少暴露在室温下的时间。粘度问题必须通过谨慎的移液操作来克服，可以通过针对手动程序进行专门培训或使用灵活的自动化系统和低吸附度耗材来实现。

难点总结	优化解决方案
精度、准确度和可靠性	大量的培训、完善的方案、先进的移液器、自动化
甲板布局	板位重新调整，单通道移液器
温度控制	冰块制冷，温控模块，快速程序
粘性试剂操作	专业培训、灵活的自动化系统、专业耗材

温度循环

这一步骤主要由机器完成，但研究人员仍然在努力取得更稳定的结果。如前所述，您根据您的应用和工作流程的几个具体因素确定了最佳的温度循环参数。然而，想要实现规模化高精度大批量PCR扩增，需要在参数上进行变化测试，并进行质量控制以观察输出并调整。

此外，在使用热循环仪可能面临试剂蒸发的可能性，不一致的热量分布可能会导致数据中的孔板位置伪影，因

为个别板孔在高温暴露上存在差异，它们都需要时间进行调整，因此这两种效应都会降低数据质量并减慢吞吐量。通过选择有效的密封系统可以防止蒸发问题。而选择具有均匀加热特性的温度循环仪可以防止孔板位置伪影。这两个问题都可以通过适当的质量控制进行监控和调整。

特殊液体处理需求

您使用的试剂类型不同，面临的操作难点也不一样。移液操作的精准度会影响到每个步骤。极低容量的液体要求移液准确性，需要专门的技术来处理。而大容量的液体则需要专用的实验室器具，较难控制吞吐量。

难点总结	优化方案
高精度、高产量	在实验室环境下进行试点并调整参数，有效的质量控制
孔板位置伪影	均匀加热，QC
试剂蒸发	有效密封、QC

难点及优化方案总结

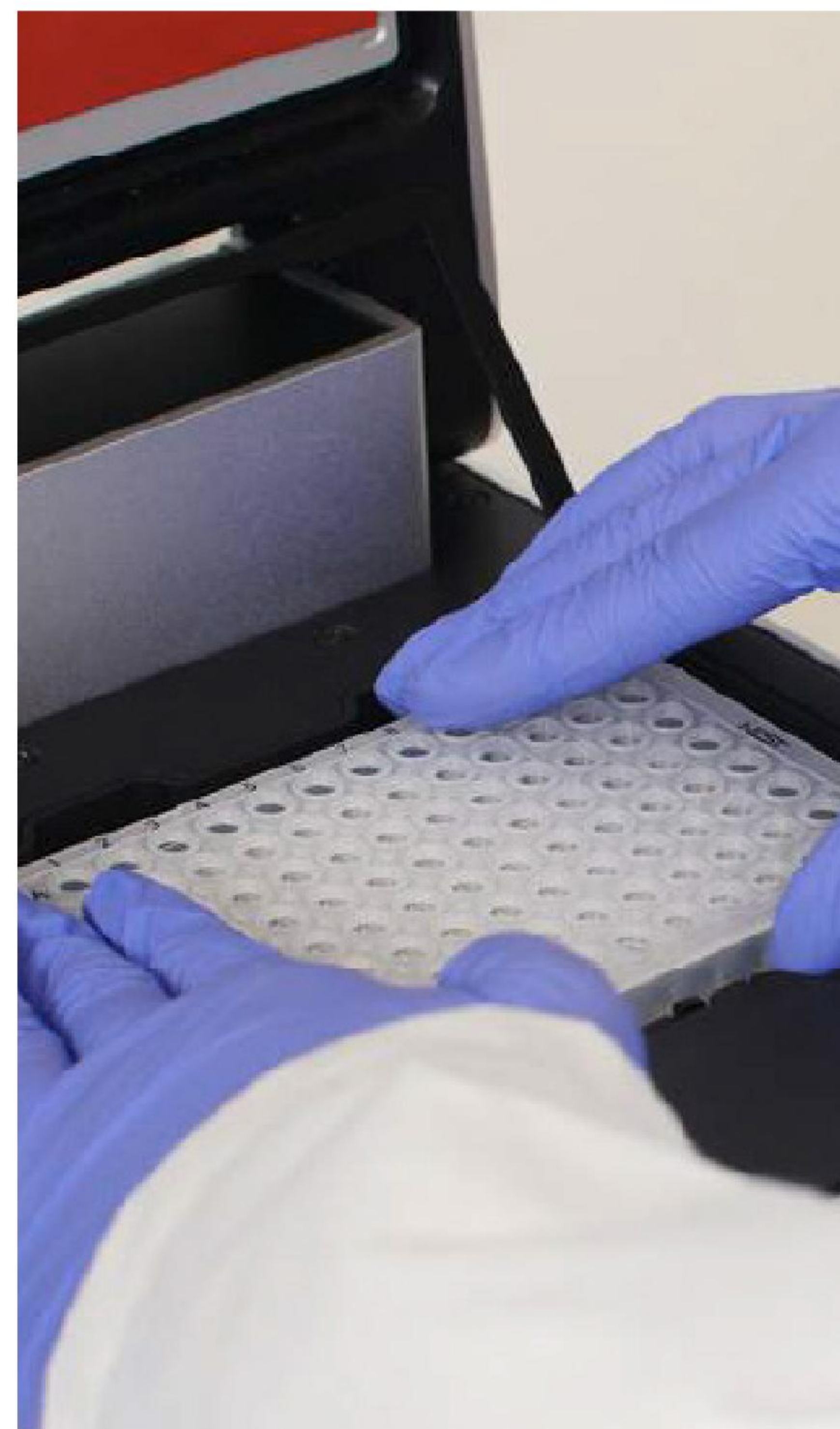
在进行自动化工作流程步骤优化时，提高吞吐量、产量和性能是常见的操作难点；每个步骤都有其特定的性能需求。

自动化能够减少人工失误、将工作流程标准化和提高吞吐量，自动化提高了每个步骤的性能，并且这些解决方案可以降低成本。

许多 PCR 参数取决于实验室使用的特定样品、试剂和机器之间的相互关联的需求。因此，对设备进行测试和调整对于取得良好结果至关重要。但这种调整需要有效的质量控制。在质量控制方面，自动化具备较好的优势，因为它提高了可重复性，流程标准化便于您对每个环节进行监控和调整。

常见的工作流程难点

- 吞吐量
- 产量
- 性能





如何选择适合你的自动化PCR方案

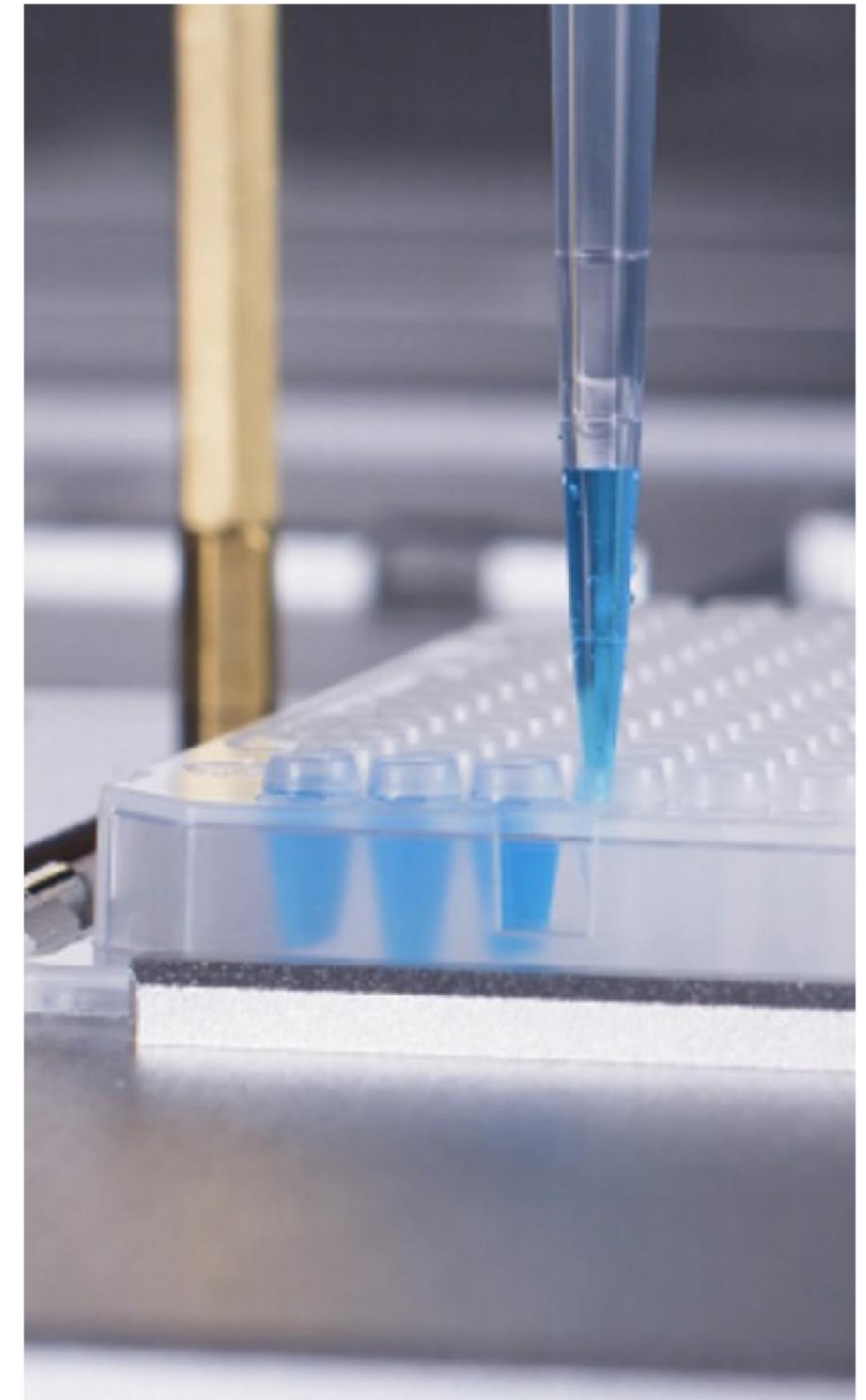
CHAPTER 3

哪些方案可以满足您的工作流程需求和解决难点？

了解自动化系统的全部成本

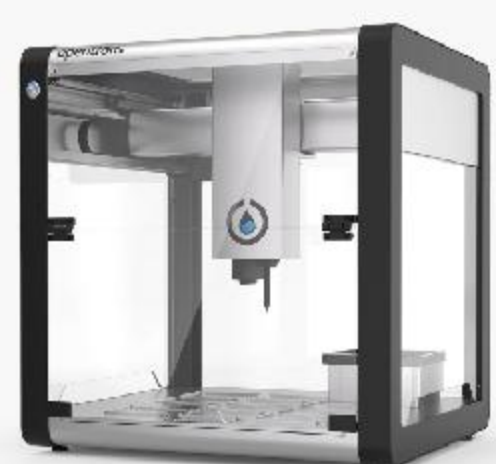
- 设置成本
- 过渡成本
- 运营成本

市面上提供自动化 PCR 的设备或系统非常多。在不同价格区间，琳琅满目的产品选择中，如何深入了解您的核心需求。下面我们将深入探讨这些问题，帮助您找到理想的方案。



哪些设备可以满足您的工作流程需求和解决难点？

移液工作站



热循环模块



温控模块



移液工作站

移液工作站是 PCR 以及现代实验室中大多数其他操作流程的自动化系统的主力。移液工作站能够满足生物实验室提高吞吐量的需求。OT-2 移液工作站能够灵活适配到实验室的工作流程，并具备与实验室需求相匹配的扩展能力。

热循环模块

热循环模块是PCR实验中的核心设备，它可以在不同的温度阶段之间循环。它本质上是一个具备加热和冷却功能的温控设备，能够通过加热和冷却控制PCR反应的温度变化。Opentrons 热循环模块可以与 OT-2 集成，从而实现无缝、全自动化的从样品装载到热循环的过程。

温控模块

您可根据您的需求选配温控模块，用于支持PCR实验中所使用的试剂和酶的恒温保存。

了解自动化系统的全部成本

自动化系统的成本效益分析可能很复杂。研究人员在选择自动化供应商时通常首先考虑的是机器人设备本身的成本；然而，在比较自动化选项时，还有其他几个费用需要考虑。除了设备价格外，还有一些不太透明的费用，从初始购买到日常运营。通过思考以下因素并了解系统的全面成本以及自动化 PCR 的好处，可以帮助研究人员做出更合理的购买决策。

设备安装费

安装费用是购买自动化系统并在实验室中使其正常运行的全部费用，这包括安装费和购买价格。虽然安装费通常被描述为可选服务，但许多设备体积庞大，并使用专有技术，需要现场专业人员进行安装设置。除了经济成本外，交付和安装可能需要时间，从而延误研究进展。

订单和交付机器之间的等待时间也是一个潜在成本。对于大多数湿实验室来说，空间是一个常常被忽视的成本。从大型多机器自动化系统占用了宝贵的实验室空间，并且它们可能与您现有的实验室设置不完全匹配。Opentrons PCR 工作站的机型非常精巧，仅占实验台的一半空间，可与生物安全柜搭配使用，不受实验室规模限制，易于与您的实验流程兼容。

培训成本

在交付和安装完成后，实验室操作员需要从手动操作过渡到适应新设备。这个过渡过程涉及到工作流程的改变、标准操作程序的更新、实验室信息系统的更新，以及创建或调整新机器的软件协议。这些变化将需要投入时间和培训。Opentrons 的软件系统非常容易操作，在线协议编辑器适合所有零编程基础的客户，可通过简单点击拖动完成协议设置，下载即用。

有些机器具有预设的协议，只有他们的工程师可以调整，有些机器具有可调节的软件，需要进行广泛培训，而Opentrons的设备则具有灵活的开源软件和简单的图形界面且进一步整合并提供了在线社区交流，比如GitHub，用户可以在这些社区中共享协议。在这些社区中，研究人员可以找到经过 Opentrons 及社区客户中的科研团队验证和优化的协议，具备严谨性和科学性，可以放心使用。

设备维护成本

与任何实验室设备一样，PCR机器人也需要一定程度的维护。但是，不同的系统在维修上难度有所不同。不同供应商的提供的售后支持条件也不同，有些需要收取昂贵的费用，有些只提供部分支持，有些提供远程支持。支持水平和相关成本将取决于系统本身。设备越不易使用，解决问题就越困难，维护所需的时间也越长。

对于一些系统来说，昂贵的服务合同和长时间的停机时间是隐形的运营成本。而 Opentrons 系统操作简单，用户友好，可以通过免费的支持服务保持最佳运行状态。

除了设备维护之外，新的自动化系统可能需要新的耗材，这意味着需要为新购买的设备和调整工作流程和协议所耗费的时间。有些系统需要特定的实验室用品，这些用品可能比实验室已经在使用的更昂贵。Opentrons 可以适应大部分市面上常用的耗材，可为您节约耗材成本，更快地启动您的自动化实验流程。

此外，一些系统会捆绑使用专有试剂，使用户不得不捆绑购买相应的试剂。对试剂使用的限制还会使实验室容易受到供应链问题的影响。如果实验室的系统必须使用特定的试剂，而该试剂供应短缺，实验室将不得不支付不断增加的成本，并等待缓慢的交付。相比之下，Opentrons 系统允许用户与市面上各类试剂兼容，您无需被试剂捆绑，可灵活选择您需要的试剂。



总结

自动化

- 提高 PCR 性能
- 提高通量
- 降低成本

自动化可以提高PCR性能，增加吞吐量的同时降低成本。机器人系统可以根据实验室的需求在PCR工作流程的上下游进行整合，或者可以使用全面的工作站对整个端到端过程进行自动化处理。Opentrons 提供了多种自动化解决方案，其中包括[Opentrons PCR 工作站](#)，旨在为客户提供更适用、更高效的解决方案。

自动化的性能取决于所选择的系统与实验室是否能够解决您面临的压力点和特定需求。目前，越来越多的自动化供应商推出各种品类的 PCR 自动化产品，客户可以横向对比选择更适合自己的自动化方案。





CONCLUSION

PCR 自动化的后续步骤

希望本期说明能够为您解答有关 PCR 设置的疑虑，帮助您找到适合自己的自动化方案。如果您对我們的 PCR 自动化方案感兴趣，欢迎联系我们：

公司电话： 0755-26417273

客服热线： 18098952246

联系邮箱： ChinaSales@opentrons.com

产品

Opentrons PCR 工作站

BLOG

如何制备优质 DNA

BLOG

PCR 样品制备自动化，节省预算

BLOG

**Opentrons 客户采访：
南加州大学凯克医学院的Gina Faraci**

PDF

粘性液体处理

