

使用 Opentrons 移液工作站进行自动化ELISA (酶联免疫吸附试验)



Boren Lin, PhD, Kinnari Watson, PhD, Opentrons Labworks Inc. Queens, NY 11101, USA
boren.lin@opentrons.com

www.opentrons.com.cn

180 9895 2246



简介

ELISA (酶联免疫吸附实验) 是一种被广泛应用于诊断和研究领域的重要测试方法。在这项技术中, 确保样本处理的一致性至关重要, 而减少人工操作时间则可以有效降低人为误差。我们利用 Opentrons OT-2 和 Flex 液体处理工作站, 开发并测试了多种自动化协议。通过这些自动化协议, 您可以直接使用 ELISA 试剂盒进行实验, 也可以根据需要进行定制特定的实验流程。

方法

- 试剂盒: Takara Fibronectin (FN) EIA Kit (夹心法ELISA, 图1)
- 仪器: Opentrons OT-2
- 工作流程:
 1. 加样 (靶向捕获)
 2. 洗涤
 3. 加酶标抗体
 4. 洗涤
 5. 加显色底物

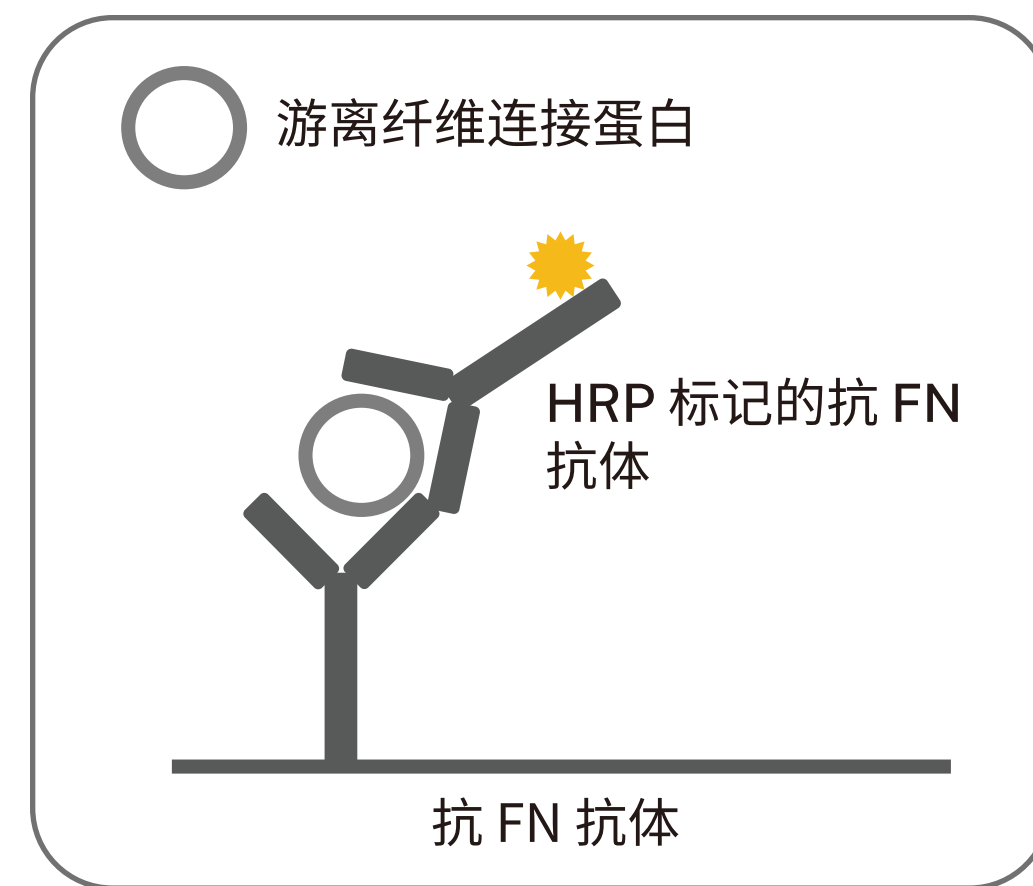


图1. 检测方法示意图

- 检测方法: Tecan Cortisol Saliva ELISA Kit (竞争法ELISA, 图2)
- 仪器: Opentrons OT-2
- 工作流程:
 1. 加样 (靶向捕获) & 标记抗原
 2. 洗涤
 3. 加显色底物

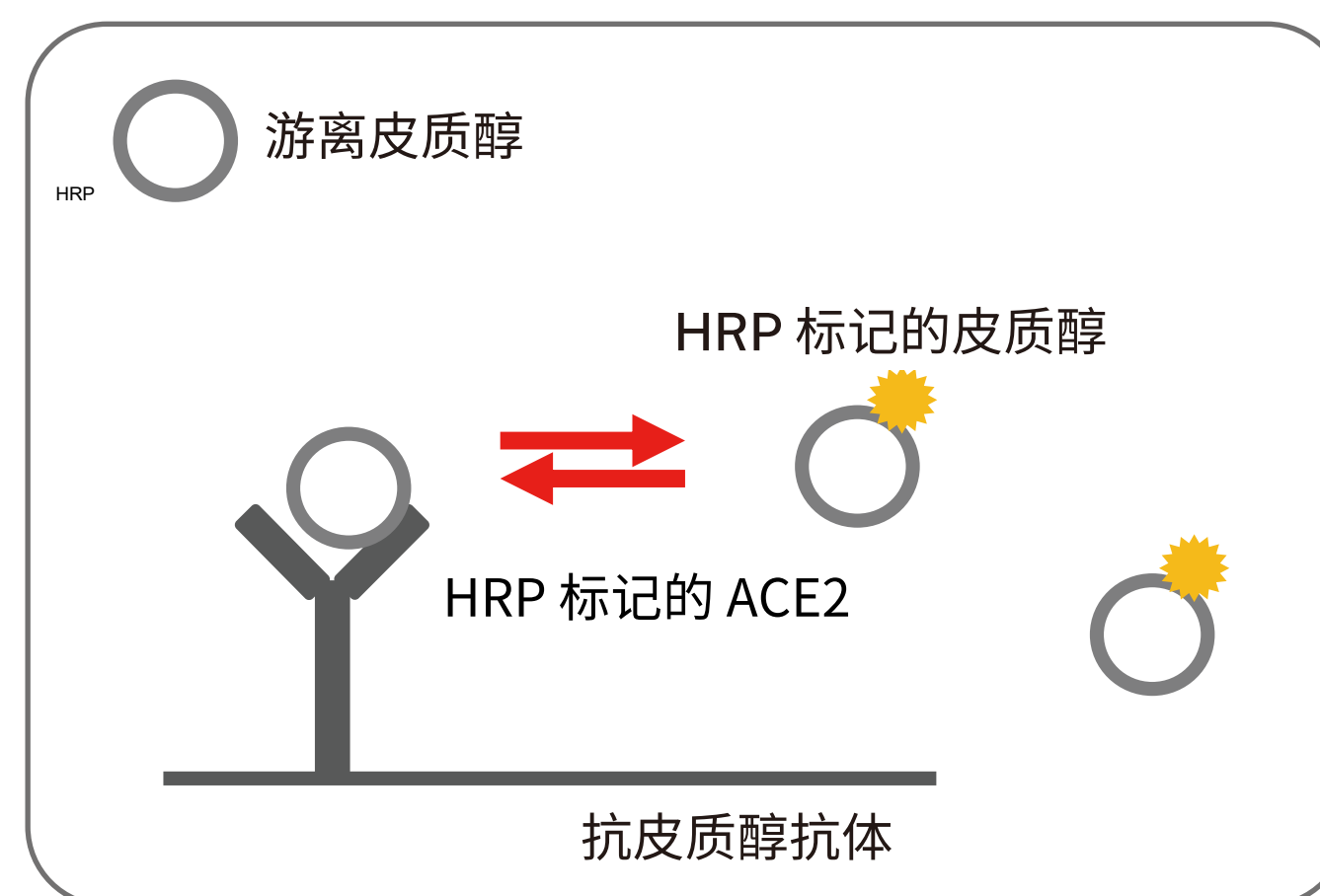


图2. 检测方法示意图

- 检测方法: Cell Sciences SARS-CoV-2 Surrogate Virus Neutralization Test Kit (竞争法ELISA, 图3)
- 仪器: Opentrons OT-2
- 工作流程:
 1. 加样 (靶向捕获) & 标记ACE2
 2. 洗涤
 3. 加显色底物

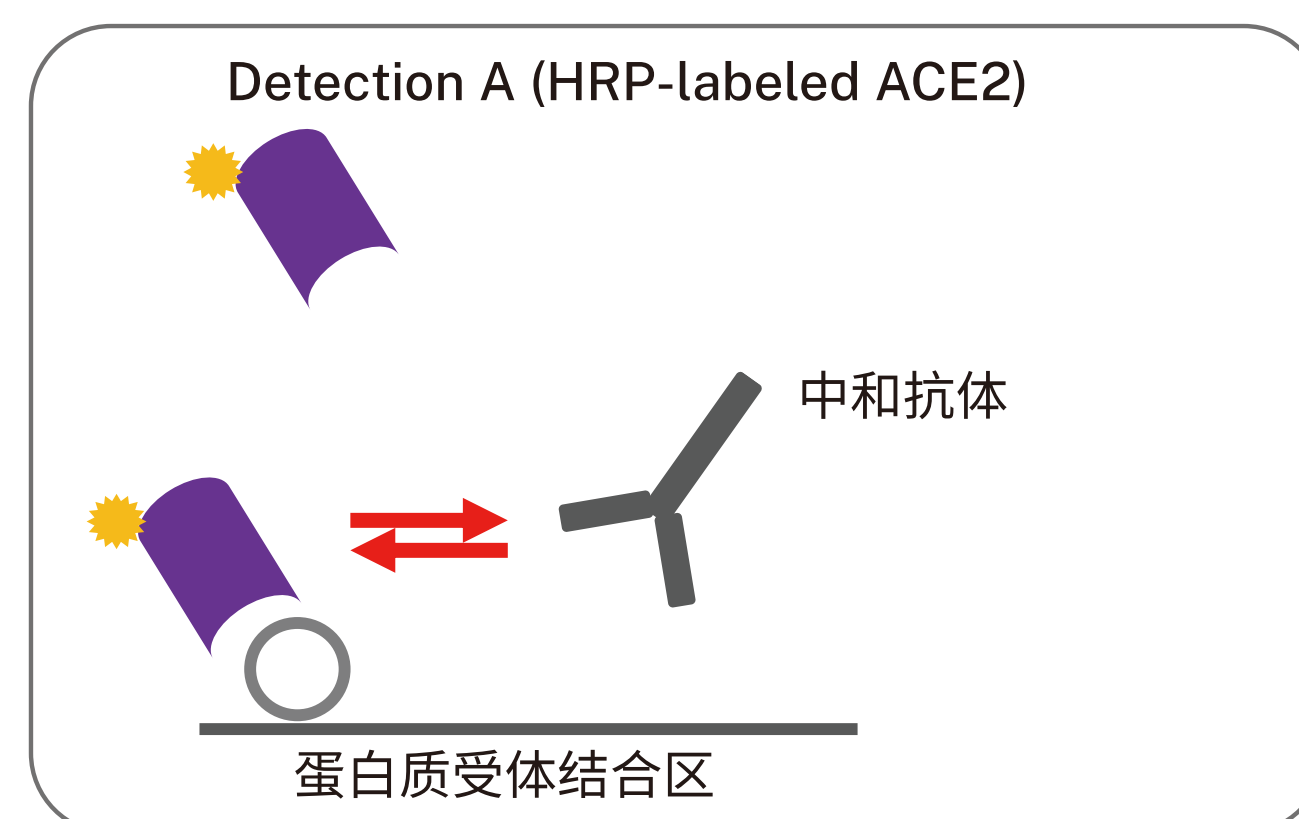


图3. 检测方法示意图

- 检测方法: SARS-CoV-2 Spike RBD-coupled Magnetic Beads (磁珠式ELISA, 图4)
- 仪器: Opentrons OT-2 & 磁力架模块
- 工作流程:
 1. 加样 (靶向捕获)
 2. 洗涤
 3. 加酶标抗体
 4. 洗涤
 5. 加显色底物

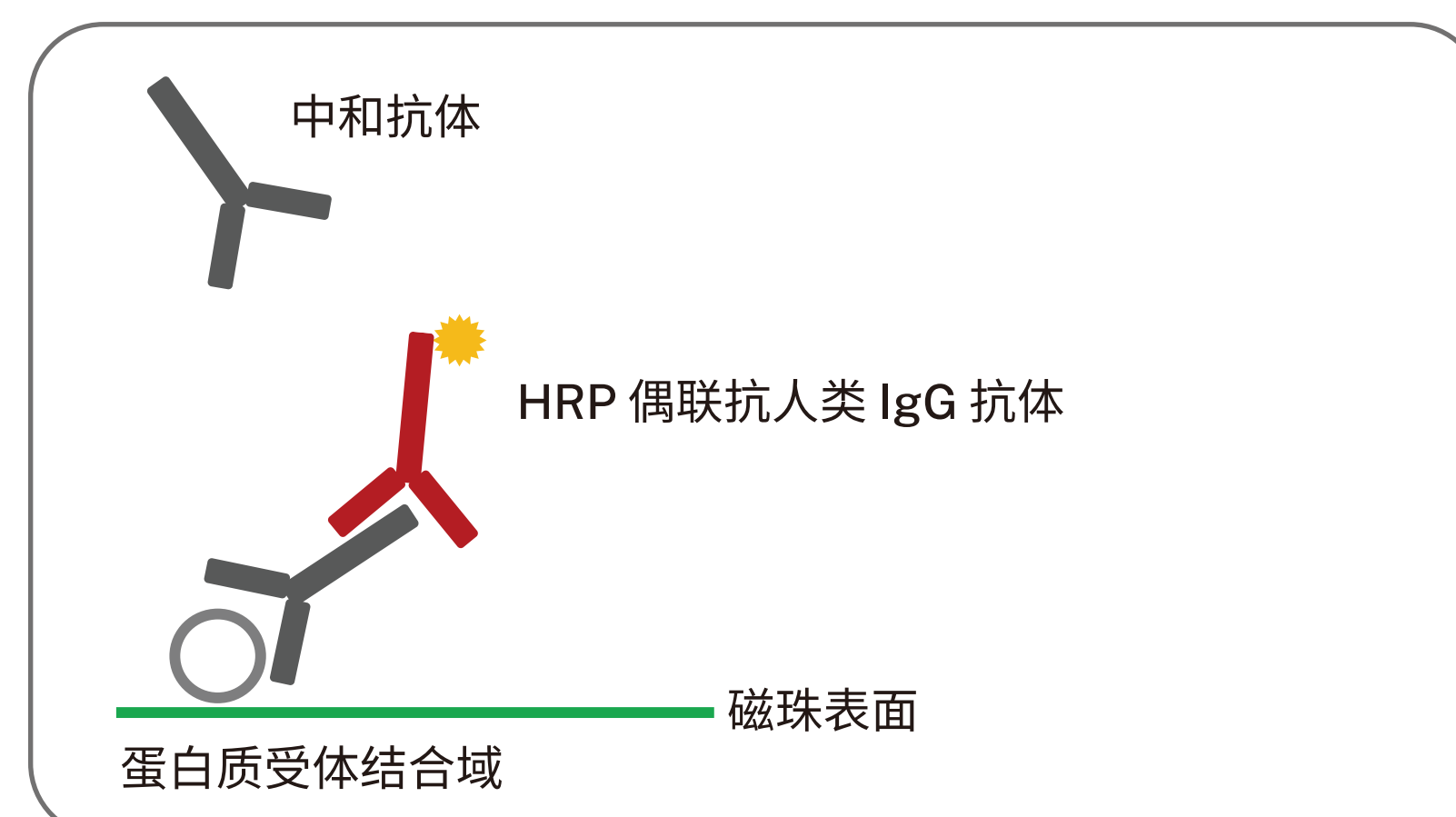


图4. 检测方法示意图

- 检测: 细胞因子检测的测定方法开发 (夹心法 ELISA, 图5)
- 仪器: Opentrons Flex
- 工作流程:
 1. ELISA 板准备
 2. 洗涤
 3. 加样 (靶向捕获)
 4. 洗涤
 5. 加酶标抗体
 6. 洗涤
 7. 加底物显色

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
样本 1	A	TNFab				IFN ab							uncoated
样本 1	B												
样本 1	C												
样本 1	D												
样本 1	E												
样本 1	F												
blk	G												
blk	H												

图5. ELISA 板设计



结果

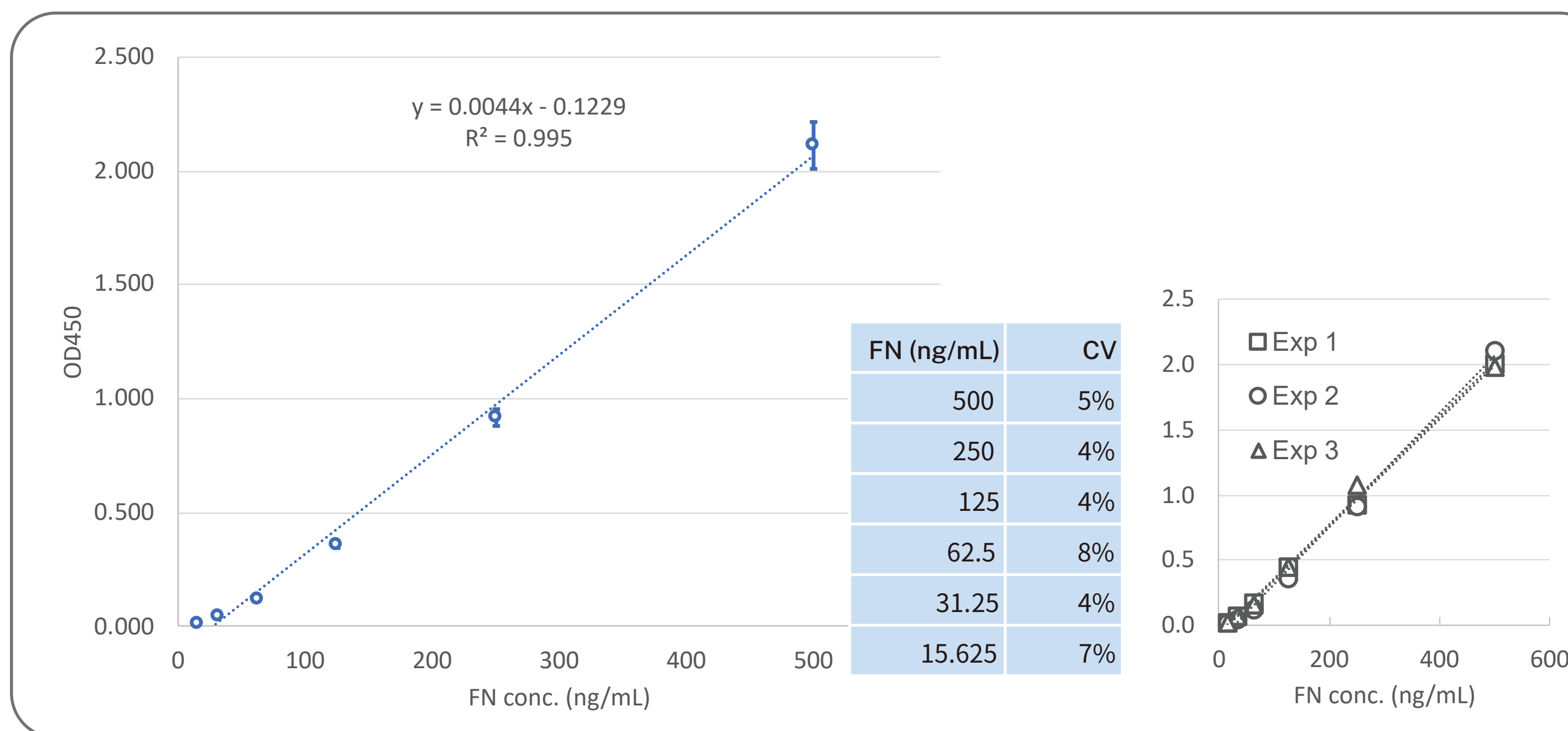


图6. Takara Fibronectin (FN) EIA Kit (图1)。对FN样品进行梯度稀释并检验, 检验结果如图所示: 左图为FN样品浓度和平均吸光度 (n=3) 数据, 呈高度线性回归; 右图为3次重复实验结果, 呈现良好的重复性和稳定性。

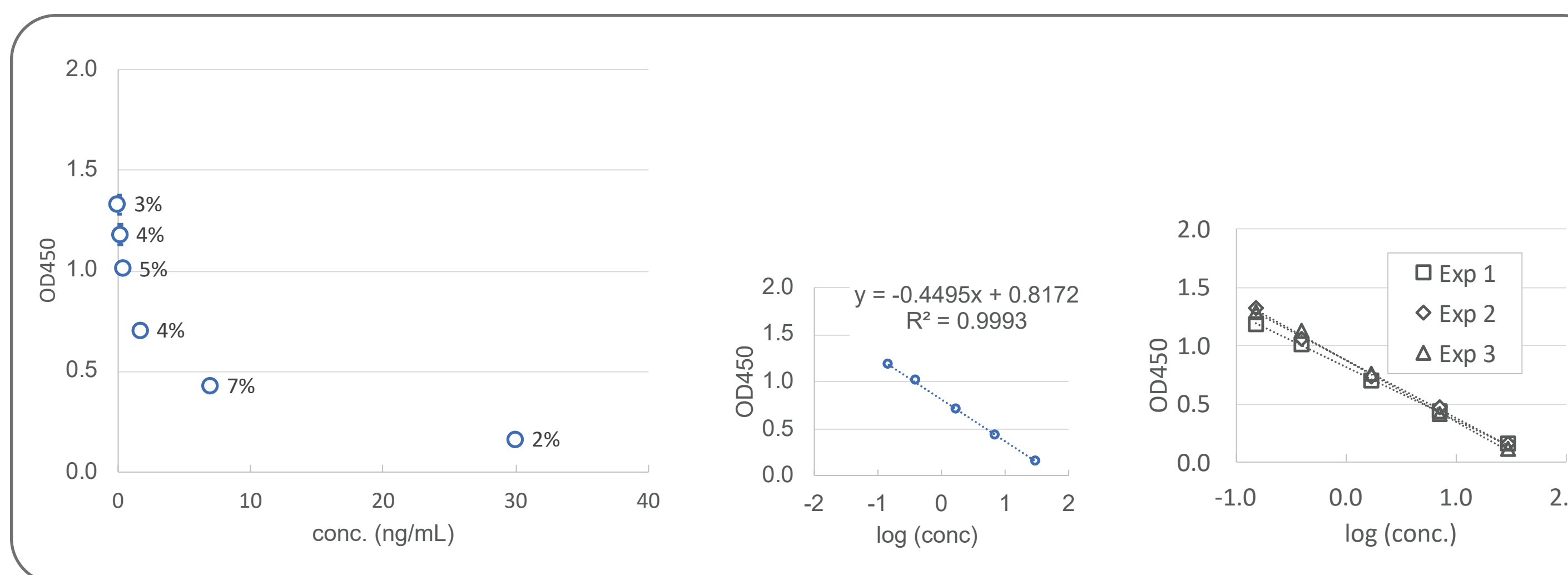


图7. Tecan Cortisol Saliva ELISA Kit (图2)。对皮质醇样品进行梯度稀释并检验, 检验结果如图所示: 左图为皮质醇样品浓度和平均吸光度 (n=3) 数据, 呈高度线性回归; 右图为3次重复实验结果, 呈现良好的重复性和稳定性。

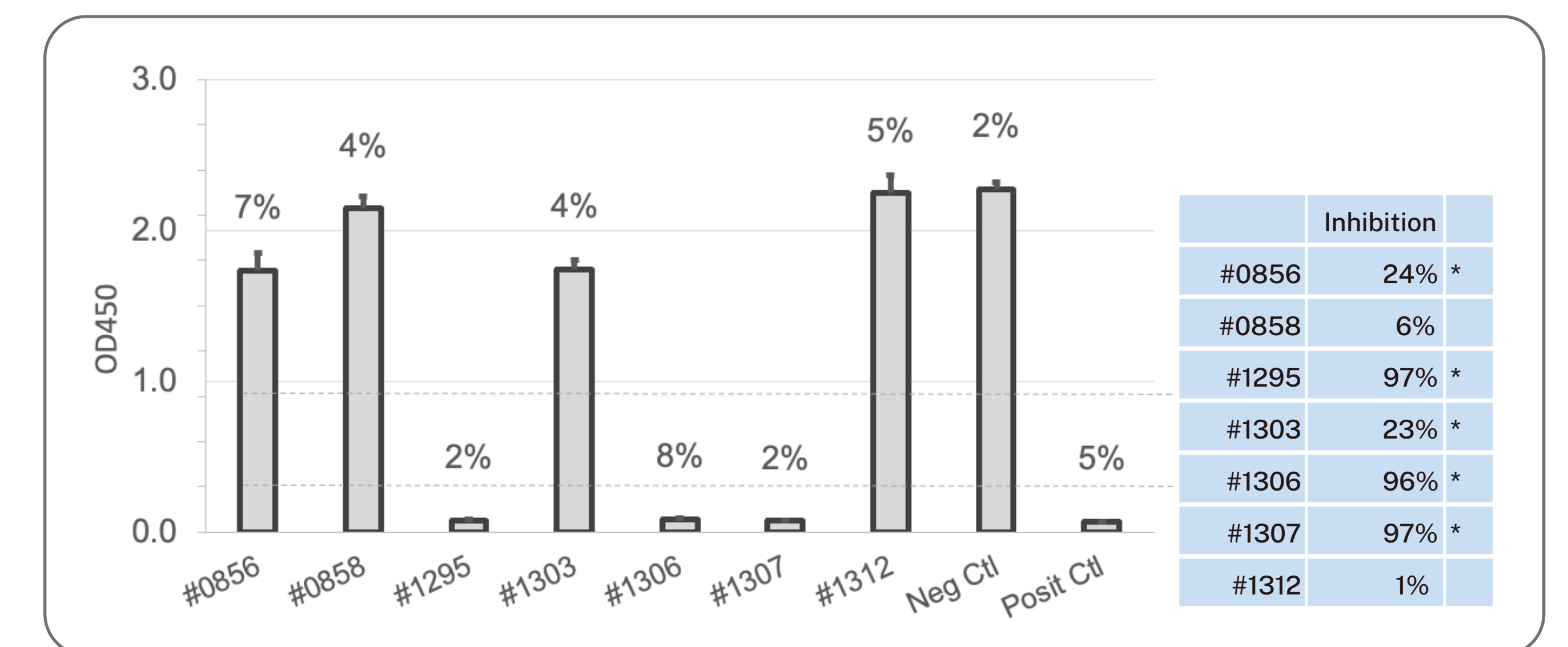


图8. Cell Sciences SARS-CoV-2 Surrogate (图3)。检验结果表明, 阳性的人血清样本 (之前已通过 FDA 认证的 ELISA 实验检测结果为阳性), 在该测试中呈现结果为阳性 (抑制率 > 20%, 计算公式: 抑制率 = [1 - (样本的OD450值 / 阴性对照的OD值)] x 100%, n = 3)。

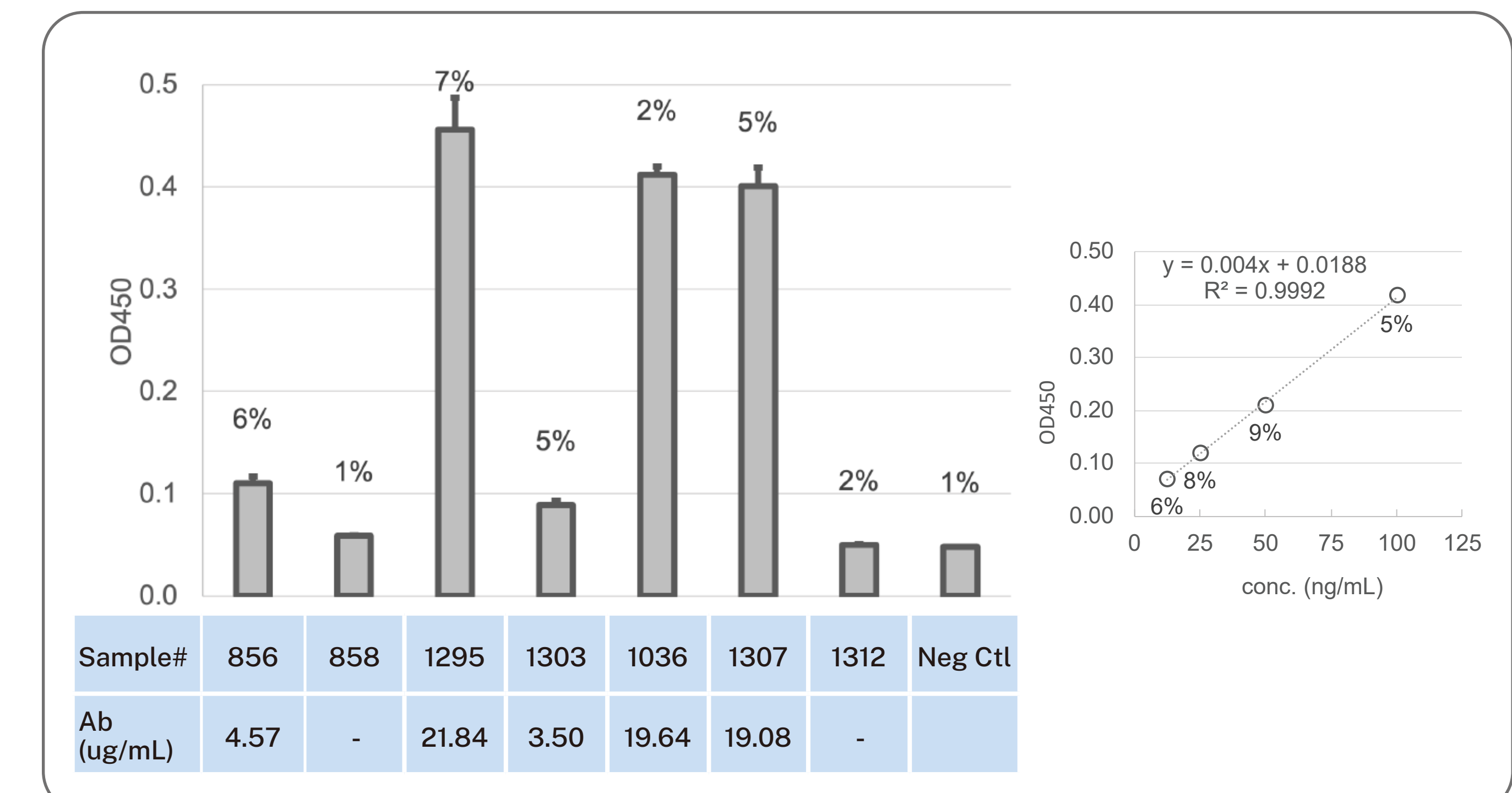


图9. SARS-CoV-2 Spike RBD-coupled Magnetic Beads (图4)。对重组中和抗体样品进行梯度稀释并检验。检验结果表明, 阳性的人血清样本 (之前已通过 FDA 认证的 ELISA 实验检测结果为阳性), 在该测试中呈现结果为阳性 (n = 3) (右)。

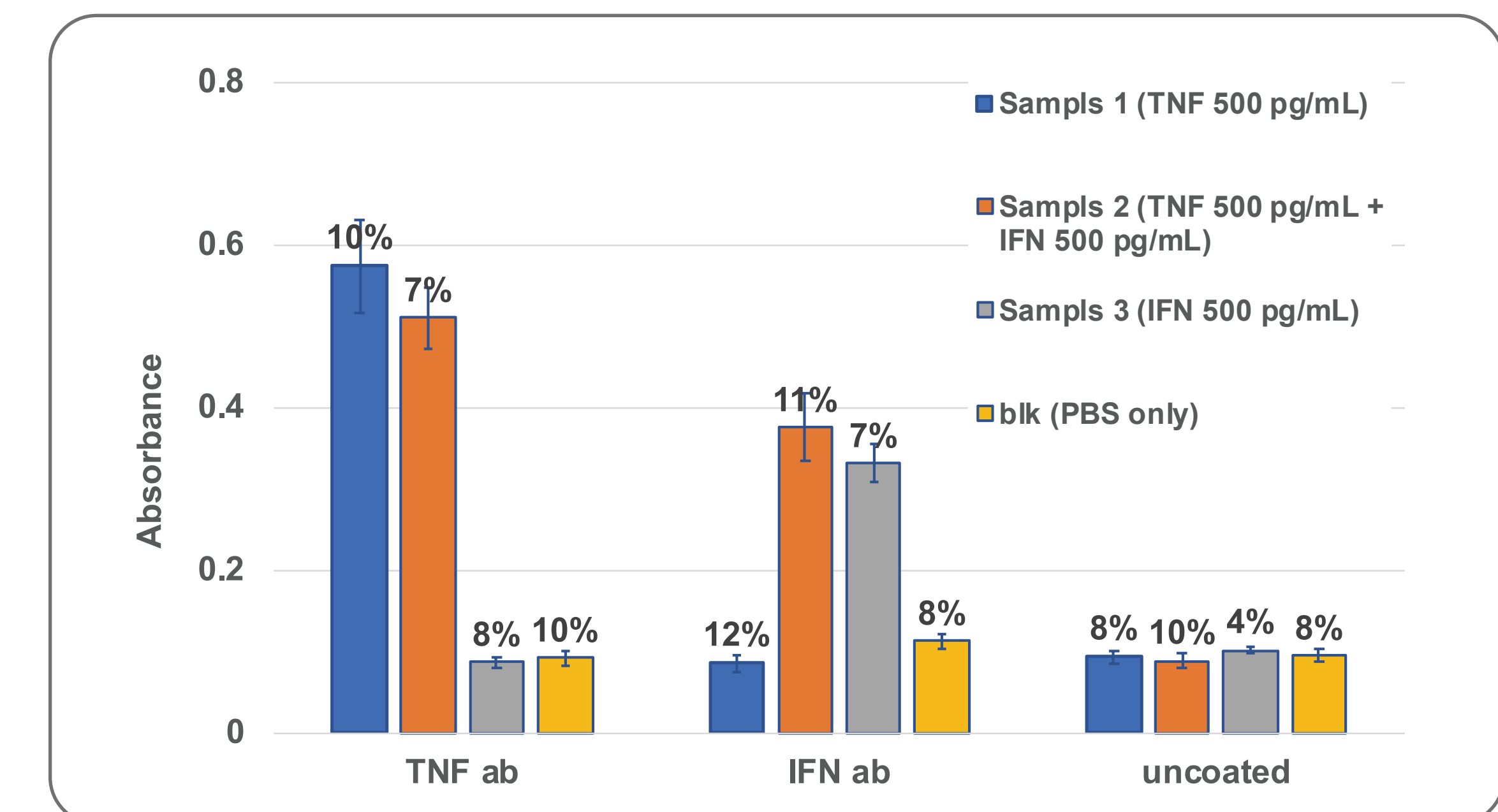


图10. Assay Development for Cytokine Detection (图5)。在96孔板涂覆抗TNF-alpha抗体和抗IFN-gamma抗体, 对含有细胞因子的样品进行ELISA检测, 数据如图所示 (n=6)。

结论

- 该工作站可以用于执行从加抗体/抗原到加显色底物的完整 ELISA 流程
- 结果表明样本处理的一致性高 (变异系数<10%)、准确性高 (R-squared>0.99), 重复性好。
- 以 SARS-CoV-2 抗体检测为例, 基于96孔板的商用试剂和基于磁珠的自制 ELISA 试剂均可实现全自动化处理, 且结果与 FDA 认证的 ELISA 方法测定结果一致。