

使用 Opentrons Flex™ 进行自动化 蛋白定量检测



作者

Boren Lin, PhD¹, Kinnari Watson, PhD¹
¹Opentrons Labworks, Inc.

介绍

蛋白质浓度的检测是许多常规实验流程的重要部分，它通常是样品在进行电泳、色谱或其他分子生物学分析之前的必要步骤。使用自动化移液工作站不仅能帮助实验室以更少的手动操作时间处理更多数量的样本，而且还能建立一个标准化的操作流程，长期稳定地生成可靠的测试结果。Opentrons Flex 开发了三个常见的蛋白质定量方法的 protocol 协议，分别是 BCA 法蛋白质检测协议、Bradford 法蛋白质检测协议和 BCA 法肽段定量检测协议。（所有试剂盒均来自 Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA）。

方法与结果

本实验所涉及的操作流程是一个较通用的流程。实验人员基于 Opentrons Flex 移液工作站进行编程，将工作试剂和测试样品转移到 96 孔透明平板的各个孔中。试剂样品混合物在 Opentrons 热振荡模块上进行 30 秒混匀并孵育 30 分钟。然后使用 BioTek Synergy H1 读板器 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) 对结果板进行分析。对于 BCA 法和 Bradford 法蛋白质检测实验，实验人员使用了 BSA 的 PBS 连续二倍稀释液 (2000 至 31.25 $\mu\text{g/mL}$ ，共 7 个稀释梯度) 作为测试样品，PBS 缓冲液作为空白对照。对于 BCA 法肽段定量检测实验，实验人员使用试剂盒配套的肽段标准品 (1000 至 15.625 $\mu\text{g/mL}$ ，共 7 个稀释梯度) 作为测试样品。对于涉及 BCA 法蛋白质检测或 BCA 法肽段定量检测的实验，自动化移液工作站首先根据待处理样品的数量，通过移液和混合试剂 A 和 B，或试剂 A、B 和 C，准备足够的工作试剂。此外，所有基于 BCA 法的检测都需要在 37°C 下孵育以确保检测的信号强度，而 Bradford 法蛋白质检测则在室温下进行。

结果证实了使用 Opentrons Flex 进行 BSA 法蛋白质检测 (图 1, 上)、Bradford 法蛋白质检测 (图 1, 中) 和 BCA 法肽段定量检测 (图 1, 下) 的有效性。所有这些自动化流程都表现出了理想的样品处理质量和可重复性 (CV <10%)。在手动布置实验耗材和试剂后，整个实验流程可实现完全自动化。根据这些自动化流程的时间预计，处理 96 个样品的耗时将小于 1 小时。

结论

使用 Opentrons Flex protocol 协议可令蛋白质定量检测的样品处理步骤更加精简以及流程化，在提高处理通量的同时可减少手动操作，并保证了测试结果的可靠性。

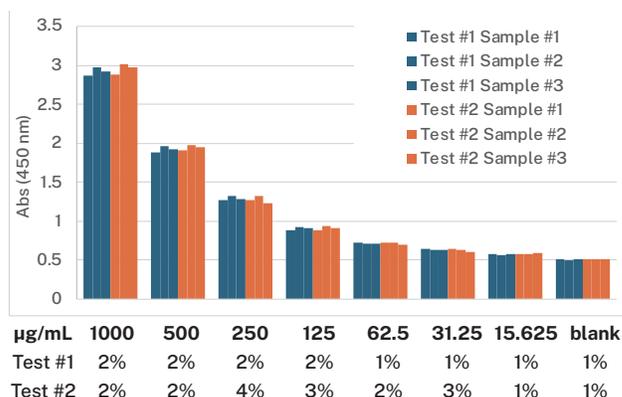
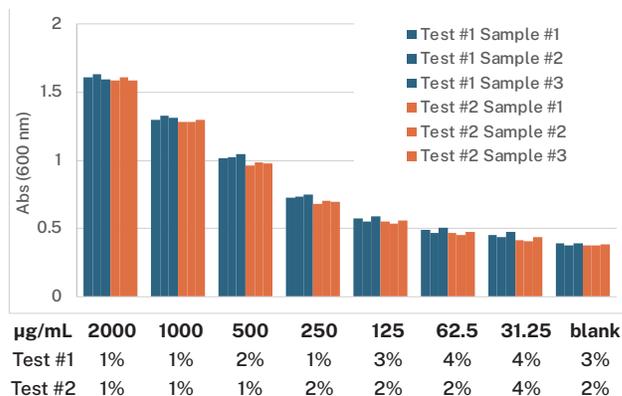
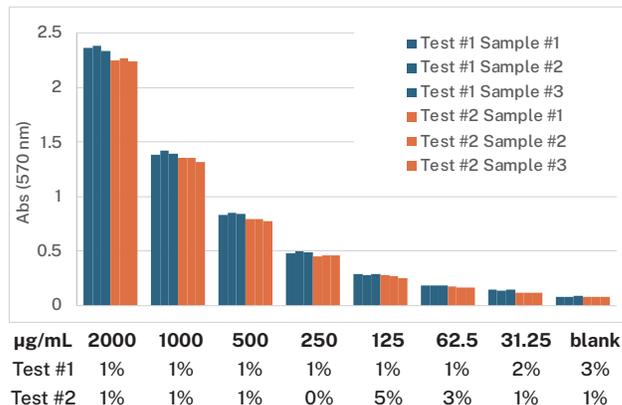


图 1：在 Opentrons Flex 上对 BCA 法 (上) 和 Bradford 法 (中) 蛋白质检测分别处理了各三组 8 个测试样品 (7 个 BSA 稀释液和 1 个空白对照)，并分别在 570 nm 和 600 nm 波长下进行吸光值重复读数。对于 BCA 法肽段定量检测 (下)，处理了三组 7 个肽段稀释液和 1 个空白对照，并在 450 nm 波长下进行吸光值重复读数。每种检测方法均分别进行了两次独立的重复实验。图表中呈现的每个数据点是每个测试样品重复测量的平均值，并根据各浓度的 3 个数据点计算对应 CV 值。