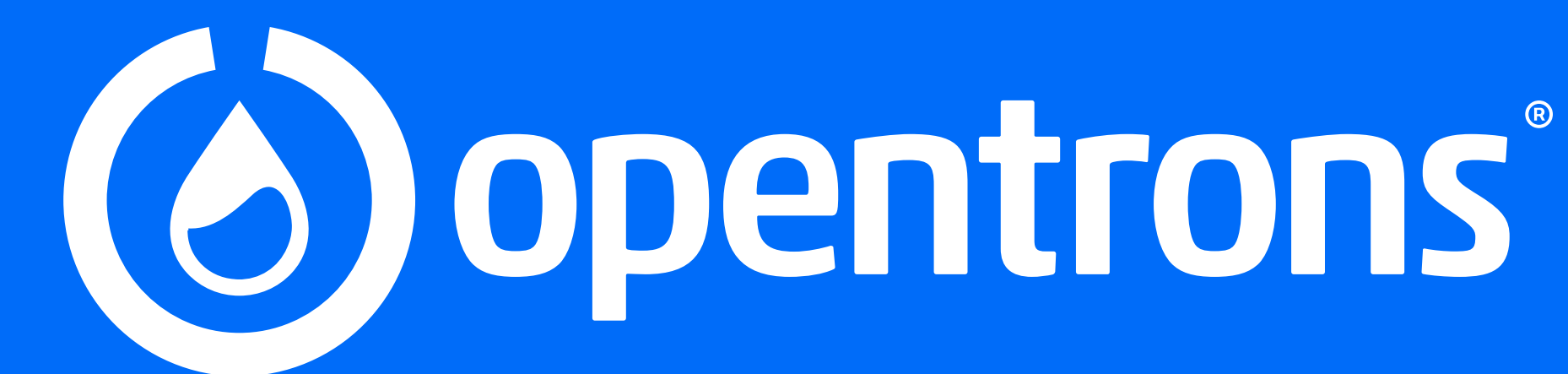


Opentrons Flex® 平台上实现自动化 BCA 蛋白定量检测与样品浓度标准化

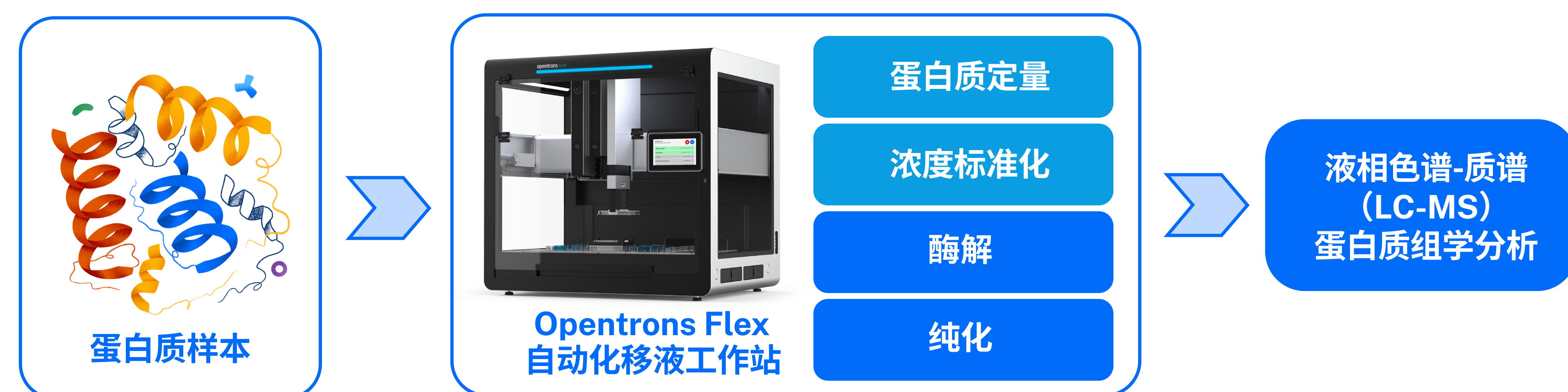


Boren Lin, Ph.D. and Kinnari Watson, Ph.D.
45-18 Court Square W., New York, NY 11101, USA
boren.lin@opentrons.com

概述

二喹啉甲酸 (BCA) 检测法是一种广泛使用的比色法，用于定量样品中的蛋白质含量。其原理是 BCA 试剂与一价铜离子 (Cu) 及目标蛋白质相互作用，会形成与溶液中肽键数量成正比的深紫色复合物。测定蛋白质浓度后，可采用适合下游应用 (如 SDS-PAGE 电泳或 LC-MS 分析) 的缓冲液进行浓度标准化。该步骤能确保不同样品间目标蛋白质水平的比较具有实际意义。

BCA 检测与浓度标准化的可靠性对下游应用至关重要。采用 Opentrons Flex® 自动化液体处理工作站执行这些步骤，既可确保检测结果的一致性，又能显著减少实验操作中的手动干预时间。



方法

本研究开发了一套基于 Opentrons Flex® 自动化平台的端到端工作流程，可顺序执行以下操作：

- BCA 蛋白定量检测 (使用 Thermo Fisher Scientific 公司，美国马萨诸塞州沃尔瑟姆市提供的试剂) 处理蛋白质样品与标准品；
- 通过 Opentrons 吸光度检测板读取模块进行吸光度测量；
- 经数据处理计算蛋白质浓度；
- 执行浓度标准化，制备新样品板 (将蛋白质样品稀释至目标浓度)

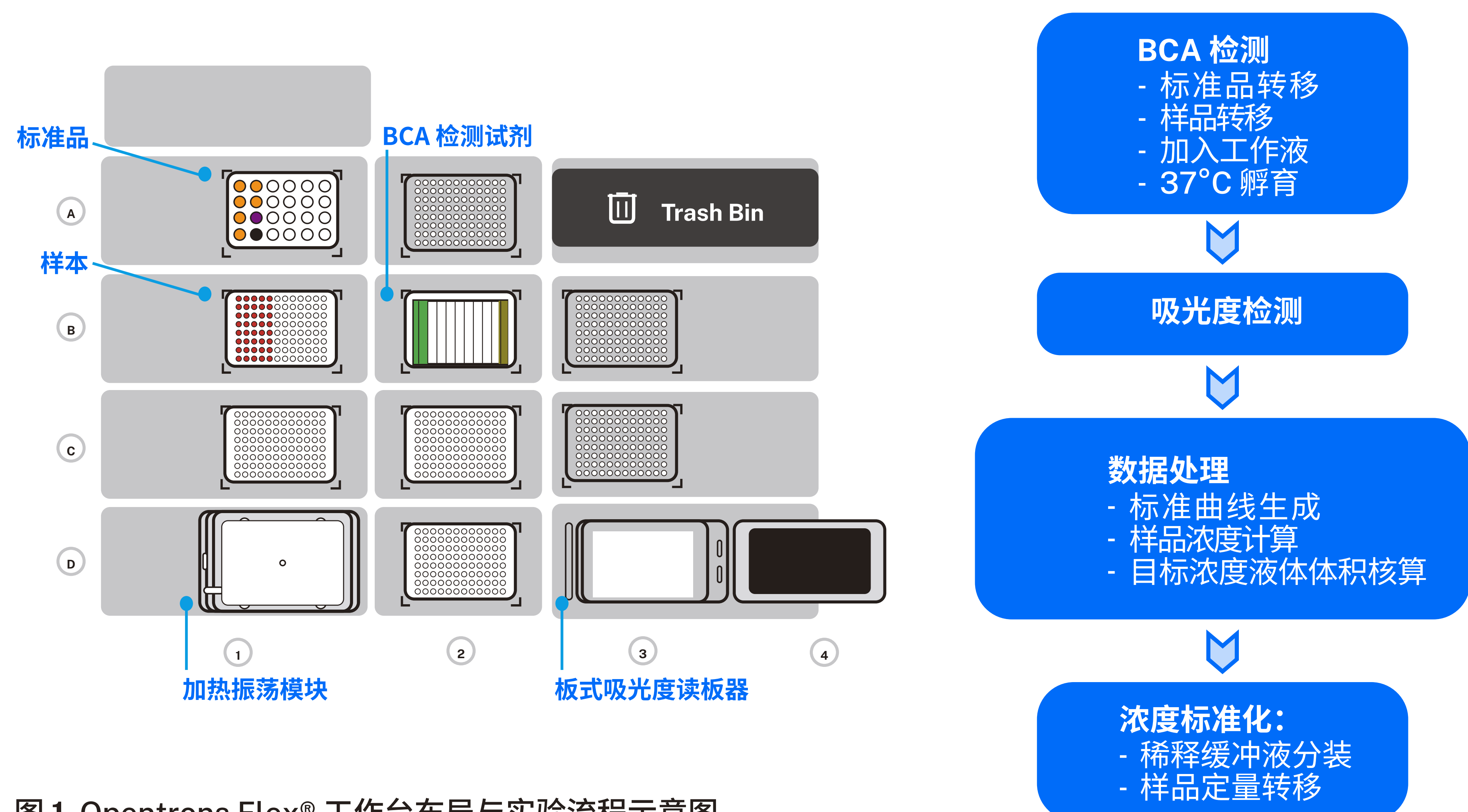


图 1. Opentrons Flex® 工作台布局与实验流程示意图

实验结果

• 采用 PBS 缓冲液对 5,000 µg/mL BSA 标准品进行连续 90% 梯度稀释，制备 40 个蛋白质样品溶液。与 6 个检测标准品共同通过

• 吸光度值超出检测范围或浓度低于移液限的样品被排除，最终将 12 个样品标准化至终体积 100 µL (总蛋白含量 50 µg, 目标浓度 500 µg/mL)，并通过第二次 BCA 检测确认 (平均值 ± 标准差: 497.5 ± 23.8 µg/mL; 变异系数: 5%) (图 3)。

该方案用于从 8 批纯化的兔单克隆 IgG 中制备标准化抗体溶液 (终体积 30 µL, 总蛋白含量 20 µg, 终浓度 667 µg/mL) (图 4)

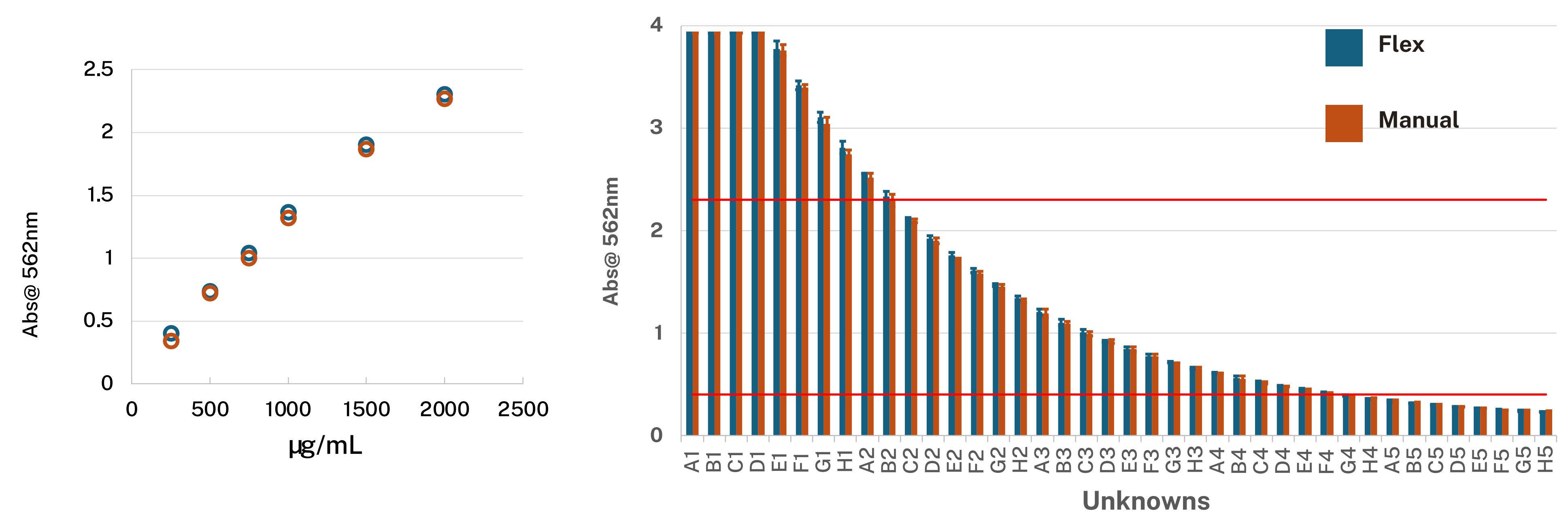


图 2. BCA 检测在 Opentrons Flex (蓝色)和手动操作(橙色)下的对比结果。两种方式均使用 Opentrons 吸光度板读取器自动测量吸光度(n=2)。左图为基于 6 个检测标准品的标准曲线，右图为 40 个未知蛋白样品的吸光度值。右图中红线表示基于最高和最低蛋白标准品浓度吸光度测量值确定的检测限。

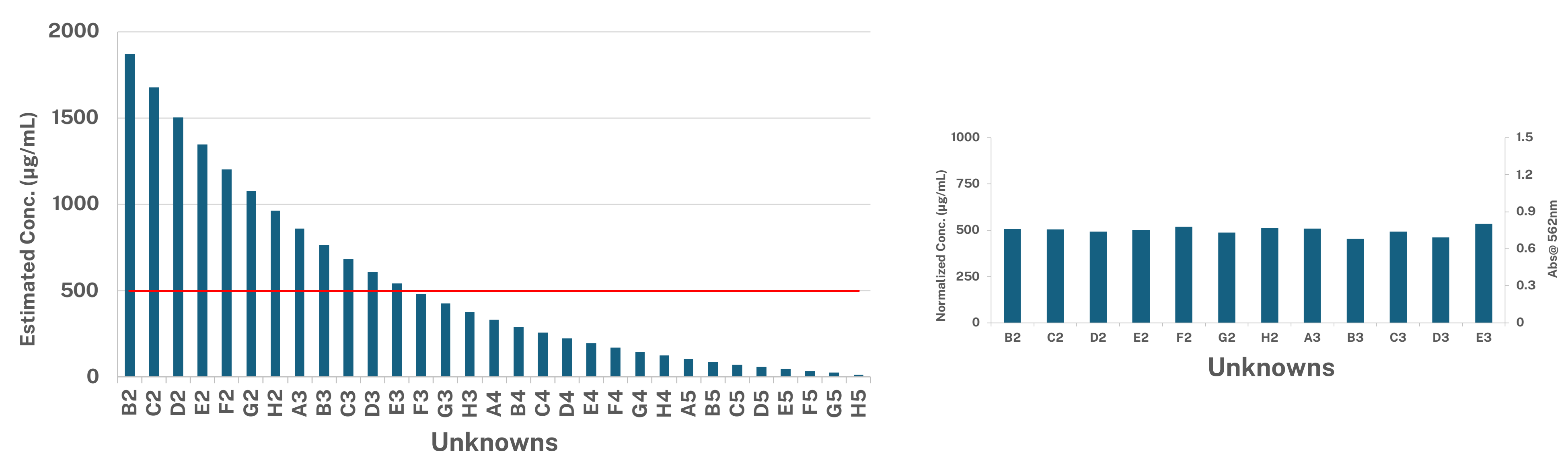


图 3. 浓度测定采用吸光度数据的点对点拟合方法 (左图)。浓度低于目标浓度 (500 µg/mL) 的样品被剔除。使用 Opentrons Flex 自动完成样品浓度标准化，并通过第二次 BCA 检测验证标准化后的样品浓度 (平均值 ± 标准差: 497.5 ± 23.8 µg/mL; 变异系数: 5%; 右图)。

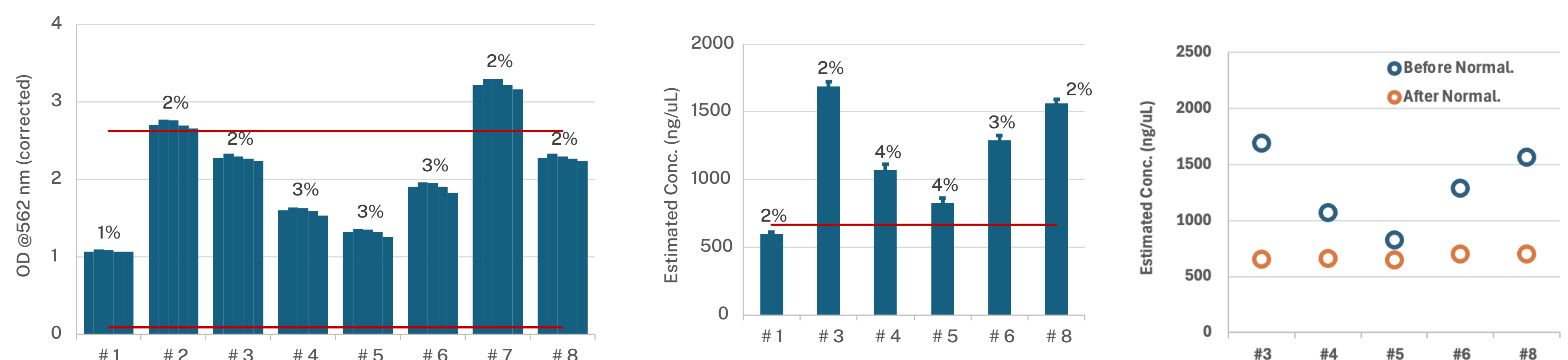


图 4. 使用相同的 Opentrons Flex 实验方案，通过 Opentrons 吸光度板读取器模块对纯化的兔单克隆 IgG 样品进行 BCA 检测和吸光度测量(n=5)。左图红线表示基于最高和最低标准品浓度吸光度测量值确定的检测限。中图采用吸光度数据的点对点拟合方法测定浓度。浓度低于目标浓度(667 µg/mL; 如红线所示)的样品被剔除。右图显示标准化后通过第二次 BCA 检测确认的最终浓度。

结论

本研究结果证实了 Opentrons Flex 平台上蛋白质定量与标准化操作方案的精密度，凸显了自动化技术在常规实验室应用中的高效性。

- 该方案能使科研人员在提升通量的同时获得可靠结果；
- 自动化蛋白定量与标准化步骤可与 Opentrons Flex 平台上已有的蛋白酶解和纯化方案整合，形成完整的 LC-MS 分析端到端样品制备工作流程。



Opentrons Flex 板式吸光度读板器模块 GEN 1

www.opentrons.com.cn

☎ 0755-26417273

☎ 18098952246

✉ Marketing.china@opentrons.com

Trademarks: Opentrons®, Opentrons Flex®, Opentrons drop logo (Opentrons Labworks, Inc.). Registered names, trademarks, etc. used in this document specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.
FEB 2025 © OPENTRONS 2025. ALL RIGHTS RESERVED

