

# 使用 Opentrons 移液工作站进行自动化 PELSA（以肽段为中心的蛋白质局部稳定性分析技术）样品制备



中国科学院大连化学物理研究所  
DALIAN INSTITUTE OF CHEMICAL PHYSICS, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

## 作者

薛连基，博士研究生（在读），中国科学院大连化学物理研究所

王龔，助理研究员，中国科学院大连化学物理研究所

叶明亮，研究员，中国科学院大连化学物理研究所

## 摘要

PELSA（以肽段为中心的蛋白质局部稳定性分析技术）作为一种无需配体修饰的靶标发现技术，通过在天然裂解液中进行单步胰酶酶解，可以同时鉴定配体结合蛋白并定位结合区域，对弱相互作用和药物脱靶效应具有高灵敏度。然而，PELSA 流程通常涉及酶解、淬灭、还原烷基化、超滤和脱盐等多步手工操作，每个步骤均引入变异性，且酶解时间窗口严格（约1 min），传统人工操作难以兼顾稳定性与通量。

自动化移液工作站通过程序化移液和精准时序控制，可有效降低酶解与淬灭步骤的偏差，确保亚分钟级操作的可靠性，从而大幅提升实验重复性和数据可比性。此外，集成温控模块可维持胰酶在低温下稳定，减少自酶切保证酶活性。自动化平台还可完整记录实验参数与操作流程，为实验结果提供更高的可追溯性与标准化保障。因此，将自动化平台引入 PELSA 流程，不仅是提高通量（如实现96样本/4h）和降低成本的关键，更是推动大规模、标准化配体-蛋白质相互作用研究的重要发展方向。



PELSA 样品制备的自动化流程

## 实验方法

### 试剂分装

#### 1.分装胰酶

使用96通道移液器将两个1.5ml离心管中的胰酶分装到96孔板中。

#### 2.分装药物

使用96通道移液器将离心管中的药物分装到后续要进行酶切的96孔板中。

#### 3.分装终止液 (0.1M HCl)

将移液槽中的0.1M HCl分装到另一块96孔板中，以备酶切终止使用。

### PELSA 酶切

1.药物孵育：将蛋白裂解液加入到含药物的96孔板中，在25°C、1000rpm条件下孵育 30min。

2.酶切：向每孔中加入胰酶，在37°C下酶切1min，随后加入0.1M HCl终止酶切。

3.还原烷基化：每孔加入含有TCEP CAA的8M盐酸胍溶液，在 95 °C 条件下反应 5 min。

4.样品酸化：每孔加入TFA，随后直接进行原位除盐操作。

### 杂质去除

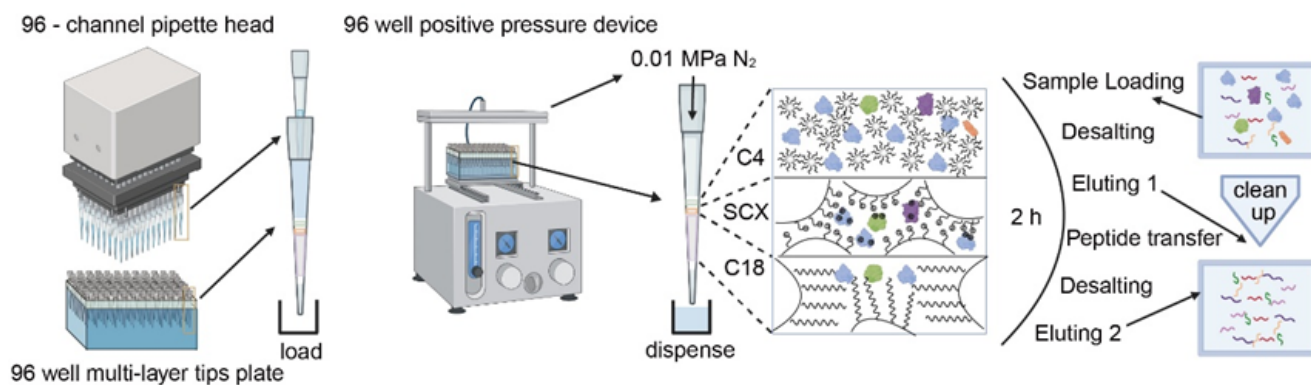


图1. Opentrons Flex的96通道移液器加入流动相，可结合正压模块以及本组研发的多层混合柱实现自动化去除 PELSA酶切后的胰酶和大片段蛋白，并可以实现肽段除盐。

## 实验结果

自动化不仅显著提升了实验效率，更全面提高了实验数据质量与结果稳定性：

**定量准确性：**自动化操作下肽段定量变异系数 (CV%) 仅为18.2%，显著优于手动操作的24.0% (图2左)；

**批次重复性：**三个独立批次样品的肽段定量皮尔森相关系数均 $\geq 0.94$ ，实验结果高度稳定 (图2右)；

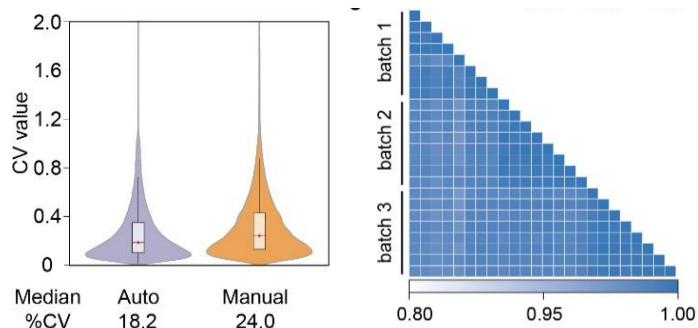


图2. 左：AutoPELSA与手动操作的对比；  
右：AutoPELSA三个批次的皮尔森相关系数

**靶蛋白鉴定效果提升：**在经典激酶抑制剂星孢菌素的靶标鉴定测试中，同等条件下AutoPELSA鉴定到114个激酶靶标，比手动方案多检出14个，靶标鉴定效果提升14%（图3）。

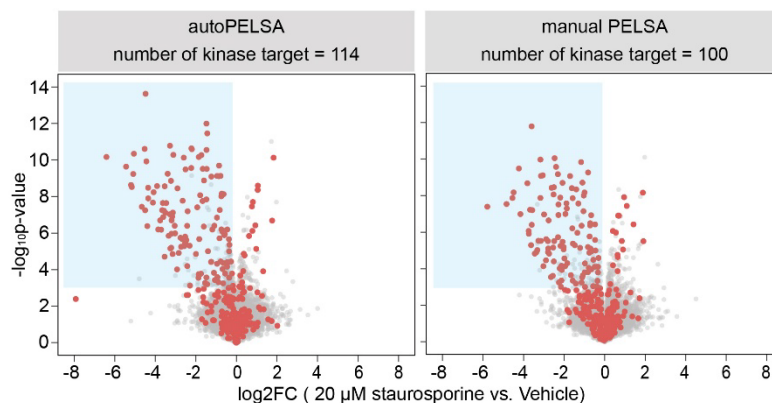


图3. AutoPELSA 与手动鉴定星孢菌素靶标的火山图对比

## 结论

本研究将 Opentrons 自动化移液工作站与 PELSA（以肽段为中心的局部稳定性分析）流程相结合，系统评估了其在自动化蛋白质组学样品制备中的可行性。通过 Opentrons 系统的精准时序控制与低温模块，我们成功实现了亚分钟级胰酶酶解与淬灭步骤的自动化操作，克服了手工操作难以精确控制酶解窗口的技术瓶颈。在本研究中，该自动化平台可靠执行了从酶解、还原烷基化到脱盐在内的完整 PELSA 流程，显著减少了人工操作时间，并将样品处理通量提升至约 96 个样品/4 小时。基于上述结果，Opentrons 自动化移液工作站不仅实现了 PELSA 技术的高通量自动化样品制备，同时为大规模、标准化的配体-蛋白质相互作用研究提供了有力支撑，有望推动药物靶标发现和脱靶效应分析领域的发展。

[www.opentrons.com.cn](http://www.opentrons.com.cn)

☎ 18098952246

✉ [Marketing.china@opentrons.com](mailto:Marketing.china@opentrons.com)

