

# 基于Opentrons Flex自动化平台的 细胞蛋白提取液全自动化处理 流程



## 作者

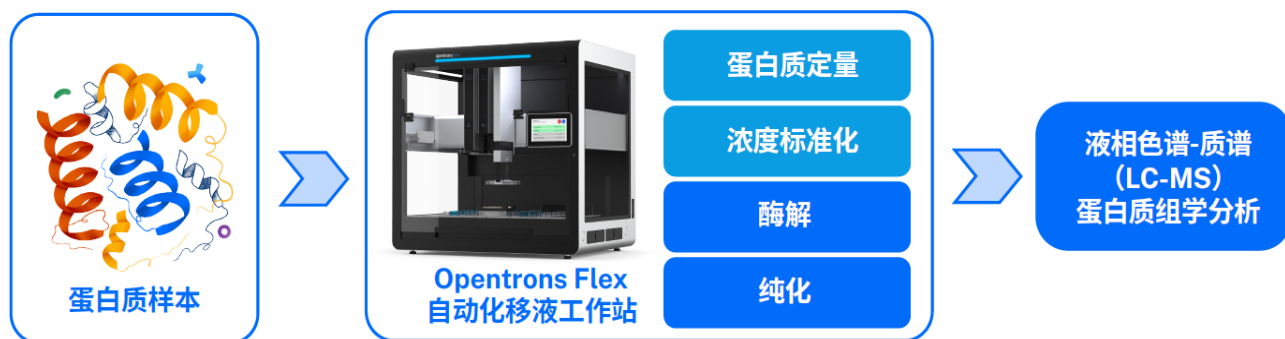
曾瑚瑚，生物活性分子与成药性优化全国重点实验室

## 摘要

蛋白质组学研究对样本前处理的一致性、通量及重复性提出了越来越高的要求，尤其是在细胞蛋白分析等复杂生物样本研究中，前处理流程通常涉及蛋白定量、归一化、酶解及富集纯化等多个步骤。传统手动操作不仅流程繁琐、耗时较长，而且易引入人为误差，导致数据重复性不足，已逐渐成为制约大规模蛋白质组学研究和临床转化应用的关键瓶颈。

生物活性分子与成药性优化全国重点实验室曾瑚瑚老师团队，围绕蛋白质组学样本制备过程中的标准化与自动化需求，基于Opentrons Flex平台，系统构建了一套用于细胞蛋白提取液处理的全自动化样本制备流程，实现了关键步骤的标准化与流程整合。该方案有效提升了实验通量与数据一致性，降低了人为操作带来的偏差，为高通量蛋白质组学研究及临床样本的大规模分析提供了可靠的技术支撑，在生物标志物筛选与药物研发等领域展现出良好的应用前景。

## 实验流程



1. 取 BSA 母液 (2mg/mL) ，通过Opentrons Flex全自动流程制备系列浓度的BSA标准品稀释液，配合BCA试剂盒完成蛋白质定量并建立标准曲线。
2. 对HCC827 细胞蛋白样品进行吸光度重复测定 (570 nm) ，基于标准曲线计算样品蛋白浓度，并执行自动化归一化处理。
3. 归一化后样品通过plate reader进行二次定量验证，以评估归一化准确性。
4. 选取8份经归一化处理后的 HCC827 细胞蛋白样品 (4 μg/份) ，基于 Opentrons Flex 平台配合Auto SISPROT 试剂盒完成全自动前处理流程 (还原烷基化、酶解、除盐等) ，得到混合多肽溶液。
5. 前处理完成后，采用超高分辨液质联用仪 (型号：Thermo Orbitrap Ascend) DDA模式进行数据采集，利用PD 软件进行蛋白鉴定分析。
6. 设置人工处理流程作为对照组，对比自动化与手动处理在蛋白鉴定数量及重复性方面的差异。

## 实验结果

自动化平台可在4小时内完成8份样品 (最多96份) 的全流程处理，实现高效稳定的样品制备。结果显示，自动化处理的样品可稳定鉴定 3000+ 蛋白 (上样量200ng) ，技术重复性优异 (CV<2%) ，显著优于人工操作 (CV<10%) ，且蛋白鉴定数量较手动流程提升 10.36% 。整体来看，自动化平台在重复性、平行性及鉴定效率方面均显著优于传统手动操作，体现出更高的数据稳定性。

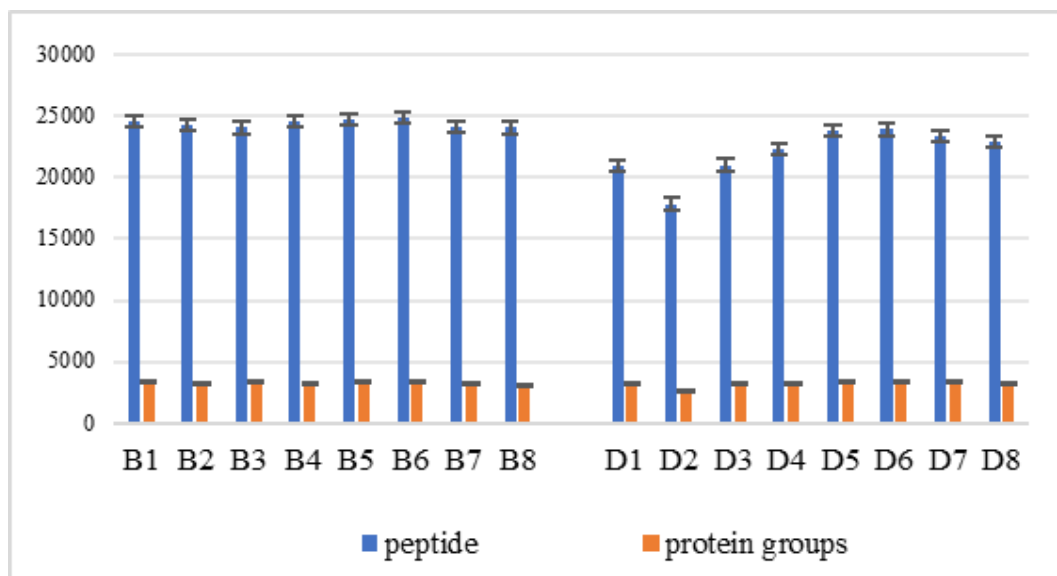


图1 自动化和人工处理样品得到的多肽和蛋白鉴定数 (B: 自动化处理; D: 人工处理)

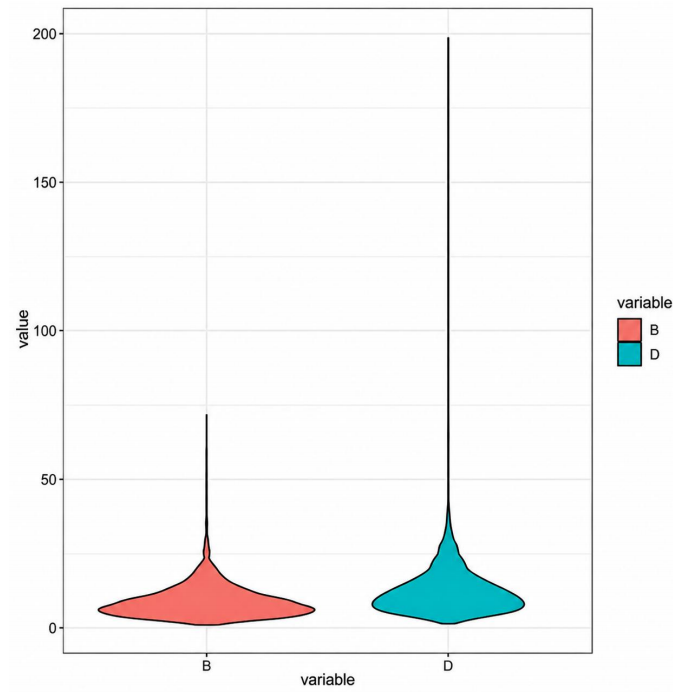


图2 Coefficient of variance  
(B: 自动化处理; D: 人工处理)

## 结论

本研究成功建立了基于Opentrons Flex平台的细胞蛋白提取液自动化处理流程，实现了从定量、标准化到质谱前处理的全流程自动化。该平台运行稳定，具备高通量处理能力（最高可达96样品/小时），相较传统手动操作，该自动化体系在重复性、通量及数据可靠性方面均实现显著提升，为大规模蛋白质组学研究提供了稳定、高效的样本制备解决方案。

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

☎ 18098952246

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

