

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2021-095

小型集成化自动移液工作站系统及应用

褚亚东, 赵宗保

(中国科学院大连化学物理研究所生物技术部, 辽宁 大连 116023)

摘要: 现代生物技术、合成生物学和化学生物学研究中经常需要处理大量样本, 对通量、精准度和时效性有很高要求。手动液体分装、转移和分发等操作不仅给科研人员带来很大工作负荷, 还是导致实验误差和效率低下的重要原因。搭建以移液工作站为核心的小型集成化自动移液工作站系统, 整合必要的外围设备, 并通过软件和人机交互界面协调各个设备运行, 可用于完成大量耗费人力的工作, 提高工作效率和科研数据质量。本文结合研究团队所搭建的自动移液工作站系统, 介绍了集成化移液工作站系统的主要组成, 分享其在菌株及培养基评价、酶的定向进化筛选、自动诱导表达及粗酶液制备、酶联免疫吸附筛选、高通量质粒提取等方面的应用, 并对集成化移液工作站系统的不足和购置及使用中的注意事项做了简要说明。预计集成化移液工作站系统将在国内高校和科研院所得到越来越普遍的应用, 但还需要加大研发投入, 从硬件、软件、人才、多学科交叉等多方面入手, 共同推动国产实验室自动化设备进步。希望能为科研人员今后设计和添置类似的集成化移液工作站系统提供参考。

关键词: 移液工作站; 合成生物学; 自动化; 集成化

中图分类号: Q816 **文献标志码:** A

Designing and application of small-scale integrated automated liquid handling system

CHU Yadong, ZHAO Zongbao

(Laboratory of Biotechnology, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Science, Dalian 116023, Liaoning, China)

Abstract: Nowadays experiments in biotechnology, synthetic biology and chemical biology often require handling a lot of samples timely with high throughput and accuracy. Manual operations such as liquid dispensing, transferring and distribution not only impose laborious burdens on researchers, but also lead to experimental errors and low efficiency. Therefore, the small-scale and integrated automation systems have emerged, whereby liquid-handling workstation serves as the core to integrate peripheral equipment and coordinate the operation of all instruments through software and human-machine interface. Such systems can be used to handle a large number of labor-consuming workloads and improve efficiency and data quality. As our laboratory is currently running a small-scale liquid handling system, here

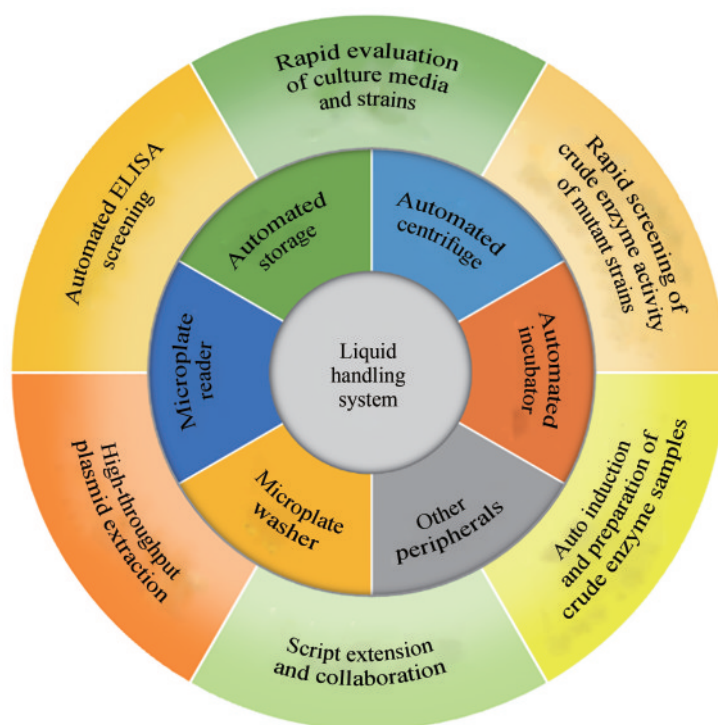
收稿日期: 2021-09-27 修回日期: 2021-10-20

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFA0904900)

引用本文: 褚亚东, 赵宗保. 小型集成化自动移液工作站系统及应用[J]. 合成生物学, 2022, 3(1): 195-208

Citation: CHU Yadong, ZHAO Zongbao. Designing and application of small-scale integrated automated liquid handling system[J]. Synthetic Biology Journal, 2022, 3(1): 195-208

we first illustrate the major compositions of the system, and then share the processes used for rapid evaluation of culture media and strains as well as enzyme activities for directed evolution, automatic induction, expression and preparation of crude enzyme samples, automatic enzyme-linked immunosorbent assay-based screening and high-throughput plasmid extraction. We also briefly introduce key factors that may have significant impact on these processes, such as the location of consumables, the details of pipetting, script extension, and workflow planning. We further describe the shortcomings detected during the use of the system, offer suggestions for assembling similar systems with improved performance, and share the precautions that may cause abnormalities. While integrated automated liquid handling systems are expected to become an important part of the automated laboratory in the future in Chinese universities and research institutes, increased R&D investment and personnel training in hardware and software are needed for promoting the development of domestic laboratory automation equipment. Overall, it is a useful reference for other laboratories to design automated workstation systems.



Keywords: liquid handling workstation; synthetic biology; automation; integration

对大量样本进行流程化处理，在现代生物技术、合成生物学和化学生物学研究中非常普遍。不论是利用化学试剂、射线、病毒或环境胁迫产生大量变异样本^[1]，还是采用基因工程技术构建胞外文库或构建胞内突变系统从而在分子水平产生多样性^[2]，都需处理大量样本。而且这些样本的处理过程，对通量、精准度和时效性有很高要求。液体分装、转移和分发等操作的巨大工作量

不仅给研究人员带来很大工作负荷，还是导致实验误差和效率低下的重要原因。

现代生物技术所涉及的大量变异样本多是以提高生长速度、增强环境耐受性、提高某种化合物产量、获取某种活性蛋白元件等为目的。这样就需要高通量进行菌株转移、培养基分发、产物检测、酶活分析等过程，工作量巨大。以获取高活性蛋白元件为例：蛋白质定向进化是获取优良

蛋白元件的常用方法^[3]，通常需要多次迭代才能获取性能优良的蛋白元件。不论是非理性的、理性的、半理性的进化策略^[4]还是基于计算机模拟或机器学习的计算辅助策略^[5]，最终都要通过对氨基酸序列中单个或多个氨基酸位点进行突变。蛋白质定向进化过程一般都需要突变库构建、转化子筛选、活性信息分析、设计优化、迭代进化等步骤（图1）。氨基酸序列突变过程中经常用到多位点突变^[4]，当采用饱和和突变方法时，随着突变位点数量的增加，需要筛选的转化子数量激增^[6]。克隆培养、活性检测（即筛选工作），其工作量大、重复度高，成为制约蛋白质定向进化改造的瓶颈之一^[4]。

随着自动化移液工作站和与其集成的自动化实验设备的发展^[7-8]，可整合构建出满足不同需求的集成化移液工作站，如细胞培养^[9-10]、药物筛选^[11-12]、DNA提取^[13]等。合成生物学领域中的大量重复工作可由集成化移液工作站完成^[14]，减少人力，提高效率。技术的不断进步与整合，已经形成设计-构建-测试-学习（DBTL）模式的用于微生物生产精细化工品的迭代进化过程^[15]。新成立的Biofoundry^[16]组织致力于通过自动化技术、合成生物学技术、生物信息学等促进DBTL模式的发展，但由于缺少精

确的预测模型，目前高通量筛选仍是其中必不可少的步骤^[17]。近期还发展出很多超高通量筛选技术^[18]，如基于微流控与荧光检测^[19]、吸光度检测^[20-21]、流式细胞分选^[22]、拉曼光谱检测^[23]、质谱检测^[24]等相结合的高通量筛选技术；基于微孔阵列与荧光检测相结合的在线培养筛选技术^[25]和基于质谱的原位检测筛选技术^[24, 26]等。但这些筛选技术往往依赖高度定制化的设备或方法，通用性欠佳，因此以微孔板为载体的高通量筛选方法仍占据重要地位。本文以自用的以微孔板为筛选载体的集成化移液工作站系统为例，在系统方案、应用、经验与不足等方面进行讨论，为其他使用者提供参考。

1 实验室用集成化移液工作站系统方案

通常集成化移液工作站系统以自动化移液工作站为核心，并整合在线外围设备共同组成。外围设备种类繁多，主要包括存储、传送、仪器三大类。存储类包括耗材堆栈、孵育器、培养箱等；传送类包括直线导轨、直角坐标式机械臂、圆柱坐标式机械臂、关节式机械臂等；仪器类包括离心机、酶标仪、PCR仪、克隆挑选系统、平板涂布系统、洗板

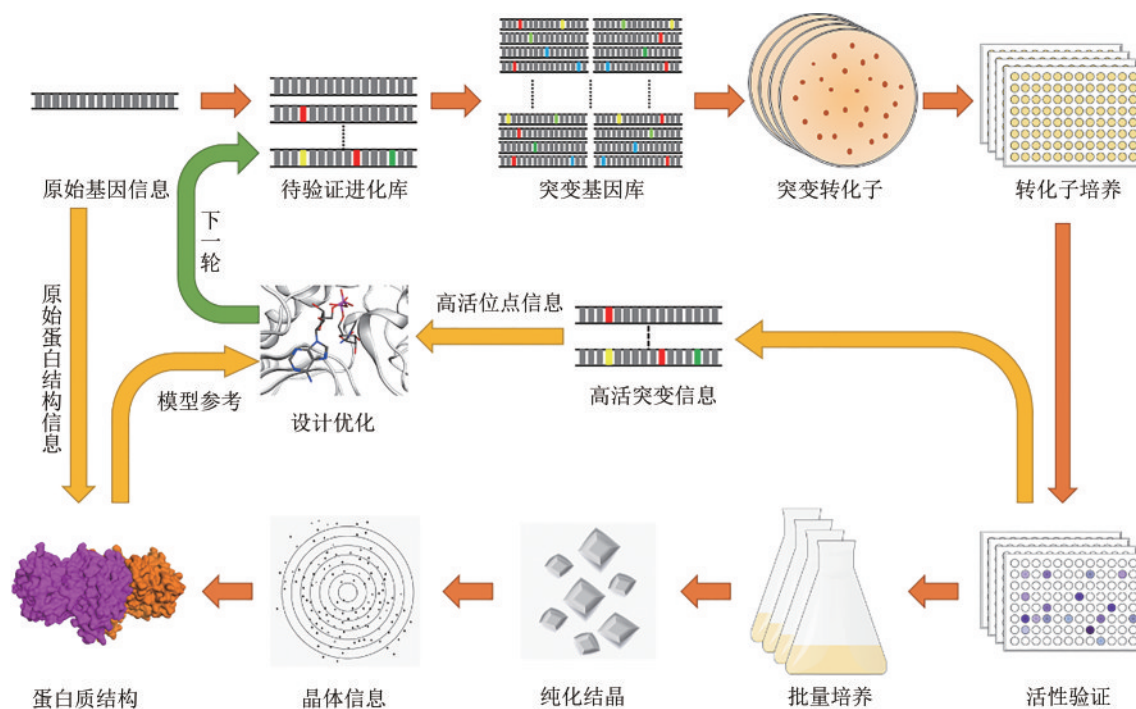


图1 蛋白质定向进化一般流程

Fig. 1 General process for directed evolution with proteins

机、在线破碎系统等。根据不同的需求采取不同的集成方案。本实验室使用的集成化移液工作站系统以自动化移液工作站为核心，集成了耗材堆栈、在线培养箱、在线离心机、洗板机、酶标仪、振荡孵育器等设备，并通过2个直线型穿梭导轨和1个直角坐标式协同机械臂将外围设备连接起来，构成集成化移液工作站系统（图2）。移液工作站主机包含1个96通道移液器和1个灵活8通道移液器，每套移液器上安装有1个机械夹手。两种移液器的单通道最大移液体积为1 mL，可完成移液、分液、混合、梯度稀释等操作。其中灵活8通道移液器的任一通道可独立运行，可设置不同的操作体积，还可以调节通道间距，来适应具有不同孔距的耗材。移液工作站主机包含板位30余个，提供了充足的操作空间。振荡孵育器安装在主机中部，方便两个机械夹手操作。移液工作站主机内装有吸头清洗站，用于清洗吸头，减少交叉污染。酶标仪与洗板机就近安装在移液工作站主机附近，由安装在96通道移液器上的机械夹手取放酶标板。耗材堆栈通过一个直线型穿梭导轨与移液工作站主机连接。在线离心机和振荡培养箱通过另一个直线型穿梭导轨及一个直角坐标式协同机械臂与移液工作站主机连接。直线型穿梭导轨上有多个虚拟板位（通过软件设置定位），有需要时穿梭导轨上的运载小车可在特定虚拟板位停靠。两条直线型穿梭导轨上还分别装有

条形码扫描器，可扫描耗材上的条形码并与其数据结果相对应。

2 集成化移液工作站系统应用

集成化移液工作站系统可完成在线培养、离心、洗板、移液、分液、活性分析等基础操作。将这些基础操作结合起来，可衍生出多种应用。本文简要介绍几种典型应用。

2.1 培养基与菌株快速评价

现代基因工程实验中经常需要对菌株^[27]和培养基组成及浓度^[28]进行评价，以获取优良菌株或培养条件。在培养基和菌株评价实验中，有单菌株多配方、多菌株单配方或多菌株多配方等不同方案。本文中以8菌株4配方为例进行说明（图3）。由于不同菌株的生长速度有差异，在对不同菌株在不同培养基中的生长情况进行评价时，需要让接种浓度尽量一致。先对菌种取样，测定其OD值，并在脚本中根据要接种的OD值与培养体积计算出菌种用量与培养基用量。集成化移液工作站系统控制灵活8通道移液器，按照计算结果，分别设置各个移液通道所需的移液体积，将所需的菌种和培养基加入到指定培养孔中，达到接种浓度



图2 小型集成化移液工作站系统实例

Fig. 2 Example for a small-scale integrated automated liquid handling system

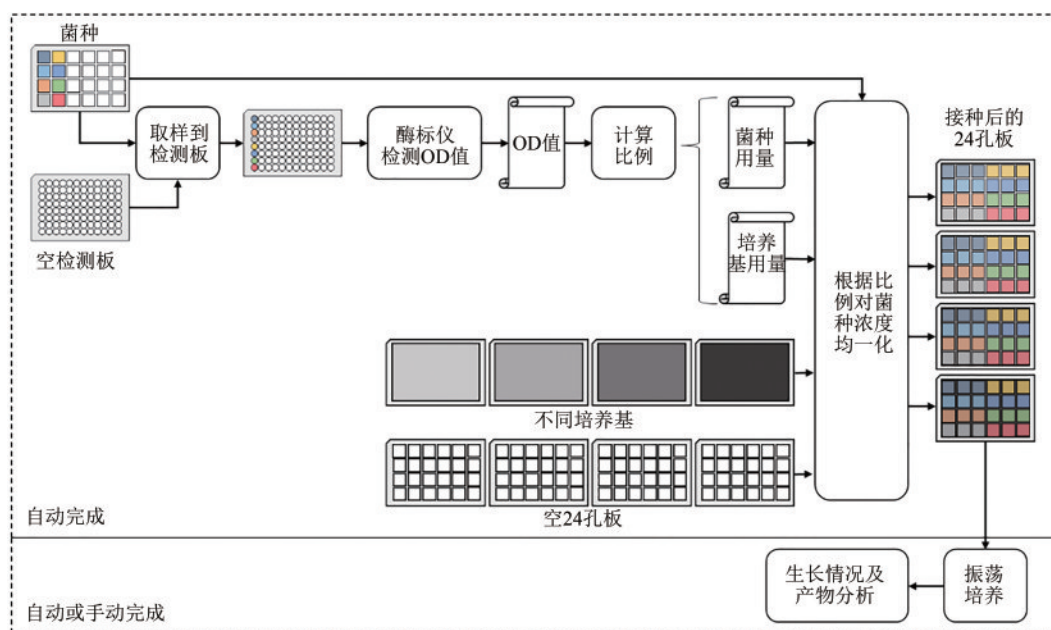


图3 培养基与菌株快速评价流程

Fig. 3 Process for rapid evaluation of culture media and strains

一致的目的。接种后的孔板经振荡培养后可对菌株的生长或产物情况进行分析。

2.2 酶的定向进化快速筛选

酶的定向进化过程中需要对大量转化子进行活性分析。本系统中的自动酶标仪，可测量吸光度、荧光强度、化学发光等指标，结合需要测定的酶反应特点可设计出相应的检测方法。本文通过酶促偶联显色反应引起的吸光度变化作为测量指标^[29]，对一般的粗酶快速筛选过程进行说明(图4)。首先将样品孔板离心，弃上清保留菌体，向样品孔内加入裂解液，振荡孵育裂解菌体。将菌体裂解液离心，取一定量上清到检测板，同时沉淀返回堆栈。向检测板中加入显色剂、反应底物等送入酶标仪检测，通过测量样品吸光度信号的变化情况对粗酶活性进行分析。以本实验室的粗酶筛选为例，通过合理的流程设计，从将样品和耗材放入样品堆栈和主机板位开始，约7 h可完成20块96孔板样品的筛选工作。

2.3 自动诱导表达制备粗酶样品

诱导表达后目标蛋白的表达量也是很重要的指标。但培养基成分、诱导剂的量、菌液浓度、

诱导时间等因素都会影响蛋白质表达效果^[30-31]。当样品量较多时，判断菌液浓度并在适当时机加入诱导剂对操作人员提出了挑战。集成化移液工作站系统可以定时从培养板中取样监测菌液浓度，通过用户脚本程序判断菌液浓度是否达到要求。当生物量较低时培养板返回培养箱继续培养，若生物量达到要求则加入诱导剂进行诱导培养。到达诱导培养时间后，将菌液离心，向菌体沉淀中加入裂解液，孵育裂解。菌体裂解液离心后收集上清得到粗酶液(图5)。制备的粗酶液可用于表达量分析、粗酶活性分析等。本操作流程与培养基评价流程整合，还可演化出对不同培养基及诱导剂浓度等条件筛选的方案。值得注意的是，多次在线取样测量对于无抗性培养基可能会增加染菌风险，所以一般在诱导菌株已经生长到接近目标OD值，为了在更好的时机加入诱导剂时使用此实验流程，在实验条件允许的情况下可在培养基中适量加入抗生素，减小染菌风险。若在工作站上配备HEPA高效过滤系统或将工作站系统置于无菌操作间内，将进一步降低染菌风险。

2.4 自动ELISA初步筛选

酶联免疫吸附测定(ELISA)自1971年被Engvall和Perlmann发表用于IgG定量测定^[32]后，

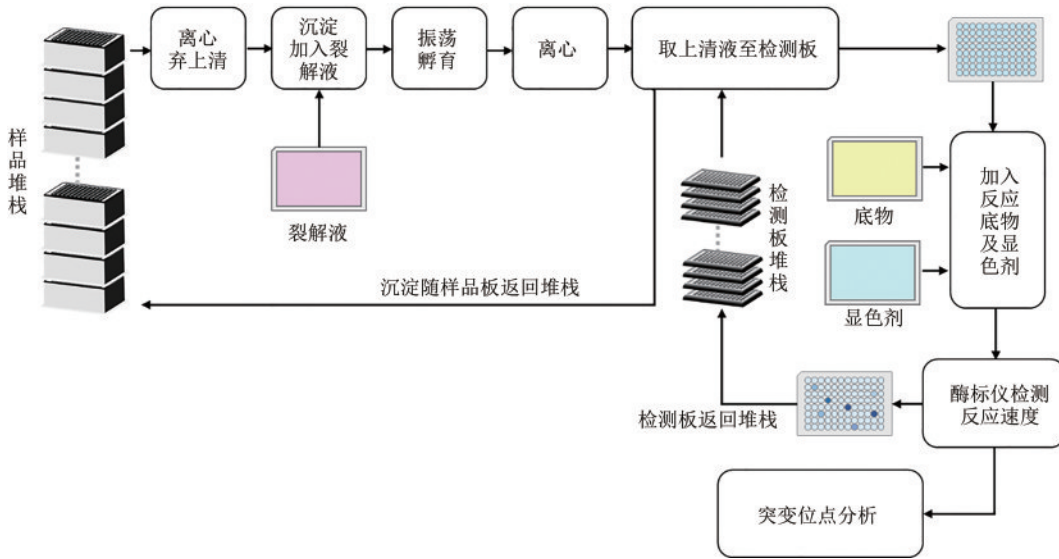


图4 突变株粗酶活性快速筛选流程

Fig. 4 Process for rapid screening of crude enzyme activity of mutant strains

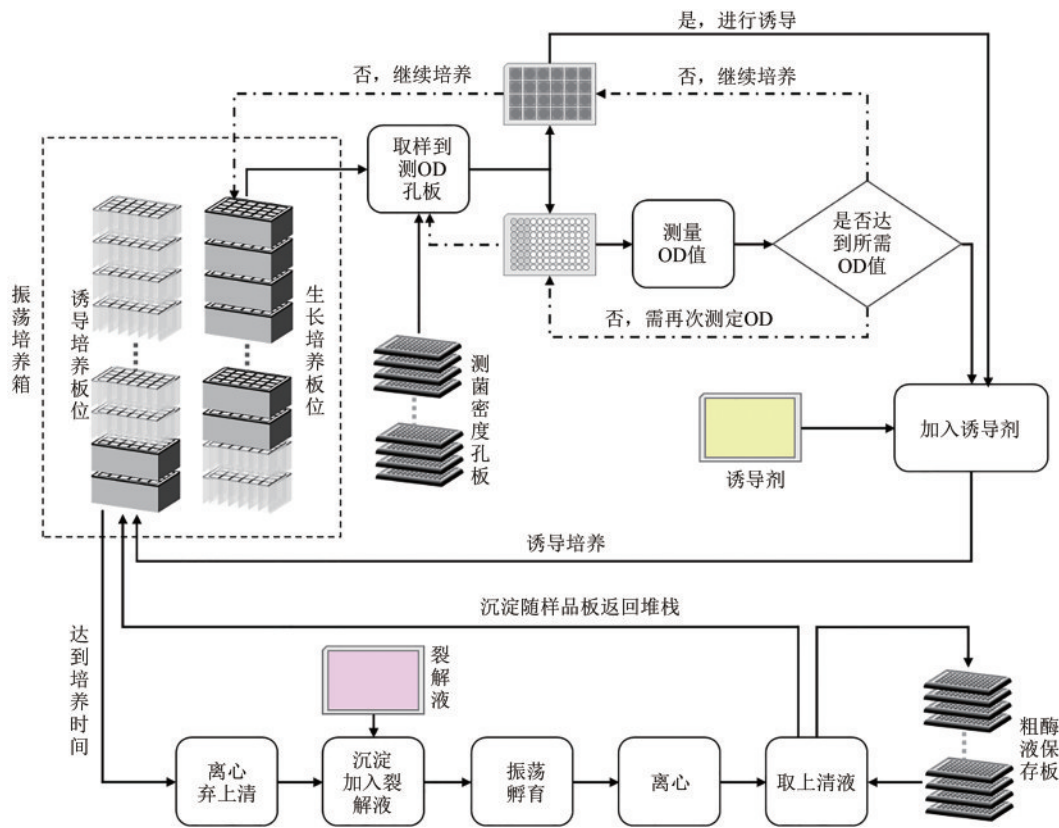


图5 自动诱导表达制备粗酶液流程

Fig. 5 Process for automatic induction, expression and preparation of crude enzyme samples

这种灵敏的免疫学测试方法被广泛用于多肽、蛋白质、激素、维生素、药物等的定性或定量分析^[33]。在筛选工作中，若目标蛋白有相应的ELISA检测方法，则集成化移液工作站系统可通过此方法对目标

蛋白进行高通量筛选。例如通过夹心法来对目的蛋白的表达量进行快速定性或定量（图6）。图6中描述了制备带捕获抗体酶标板的包被过程，若直接使用已经包被的商品化酶标板可省略此步骤。

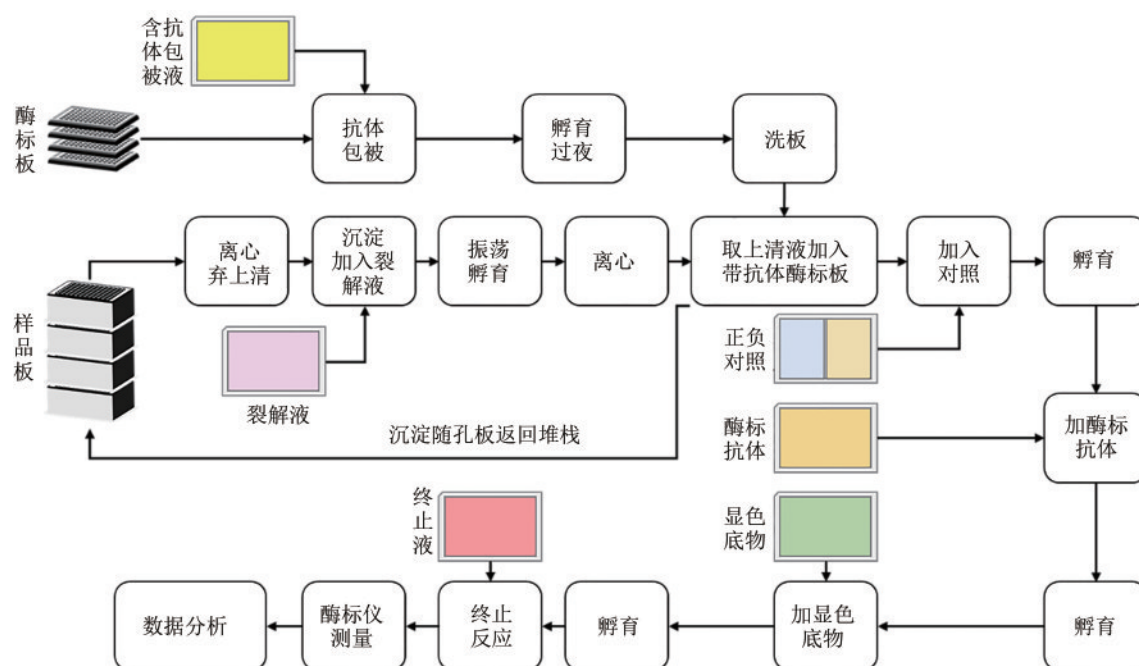


图6 自动ELISA初步筛选流程

Fig. 6 Process for automated ELISA screening

2.5 高通量质粒提取

质粒提取操作是指将质粒载体与宿主细胞的RNA、基因组DNA及其他成分分离纯化的过程。质粒提取的操作流程较长且其中有多需要精细操作的步骤，增加了高通量质粒提取的难度。曾有使用移液工作站系通过真空法^[34]或磁珠法^[35]进行质粒提取的报道。相对于真空法需要在系统中集成真空系统，磁珠法只需一个磁力架用于磁珠分离，系统更加简单。磁珠法质粒提取试剂盒通过磁珠吸附目标质粒。在磁力架的磁场作用下，磁珠在孔板底部聚集形成环，中心部位可由移液器吸取溶液，使溶液和磁珠分离。虽然不同厂家的磁珠法质粒提取试剂盒有所差异，但都遵循图7的流程。主要由重悬裂解、中和絮凝、离心分离、磁珠吸附、清洗、洗脱等步骤组成，只是其中个别步骤使用的溶剂不同。整个过程中有几点值得注意：①中和离心后吸取的上清液必须是完全澄清的，避免吸入下方的絮状沉淀物。②磁珠悬液在吸取前必须充分混匀。③磁珠悬液加入裂解上清液中时必须立即吹打混匀，否则磁珠沉淀过快会降低提取率。④磁珠在磁力架上富集后会形成圆环，在吸液和清洗过程中要轻柔，防止磁珠被吸走。

3 集成化液体工作站使用经验

集成化液体工作站能在很大程度上节省人力，但首先要将实验流程转化为程序流程，写入方法文件。其中包含大量需要优化的细节，包括耗材摆放、移液细节、脚本扩展、操作流程顺序和时序优化等。

3.1 耗材摆放

耗材摆放是重要的准备步骤，需要考虑耗材种类、高度、数量、使用频率等信息。耗材种类主要有吸头、液槽、孔板等。耗材高度主要分3个级别：低（酶标板等）、中（深孔培养板，小量程吸头等）、高（大量程吸头等）。通过耗材数量和使用频率可以决定耗材存放在耗材堆栈还是主机板位上。一般情况下液槽使用频率会比较高，且盛装液体较多，不适合频繁移动，适合放在主机板位上。一次性样品和测量用酶标板一般放置在堆栈中。大量程吸头盒较高不适合频繁搬运，一般放在主机吸头盒专用板位上。耗材摆放时还需要考虑它是否会影响机械臂和移液吸头，将其放置在合理位置。当使用的耗材较多，需要占用大量主机板位时，需保留部分空板位，方便设备运行过程中作为耗材转移的中转位。

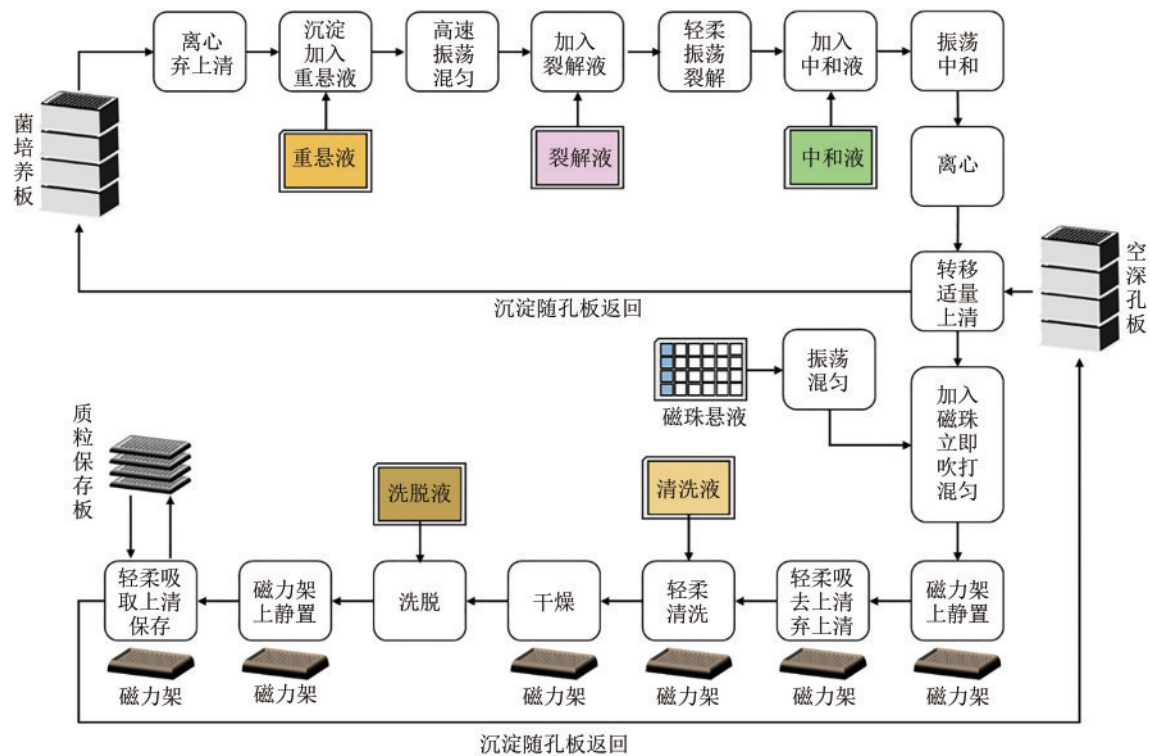


图7 高通量质粒提取流程

Fig. 7 Process for high-throughput plasmid extraction

3.2 移液细节

移液细节往往会对实验结果产生很大影响，主要包括移液精度、混匀、气泡、交叉污染等。

(1) 对移液精度影响主要来自三个方面：

①移液器量程影响 当吸取液体量小于量程1/4时，其变异系数（CV值）比吸取液体量超过量程1/2时更大^[36]。由于自用的集成移液工作站需要同时兼容大量程吸头（1 mL）和小量程吸头（50 μ L），且移液器是固定集成在设备中，因此移液器的量程选择了1 mL。此时对微量移液（小于20 μ L）的移液精度就会产生影响。

②吸头残留 浸润性强、黏度大或易产生气泡的液体，容易在吸头中残留或挂在吸头尖端。对于易在吸头内残留的液体，在吸取液体前先吸入一段空气，排出时可利用这部分气体辅助排空残液。对于黏度大的液体（例如甘油）需要降低吸液和排液速度。对于易产生气泡和容易在吸头尖端悬挂的液体，可在排液后在孔板孔壁碰触，将悬挂在吸头尖端的液体附着于孔壁上或让吸头下降轻点液面，但不要将吸头伸入到液面以下，能让吸头上悬挂的液体与液面融合即可。

(2) 混匀主要是针对含有易沉淀微粒或能够分相的液体。在吸取液体前可增加吹打混匀或振荡混匀的步骤，减少由于样品不均匀对后续实验步骤的影响。

(3) 孔板中的气泡会对酶标仪的测量和一些反应过程产生影响。对于易产生气泡的液体，若使用上面提到的触碰孔壁、轻点液面等操作仍无法消除气泡，可考虑通过短时间离心来消除气泡。

(4) 交叉污染主要是由重复使用吸头造成的，如从液槽中移液到孔板、重复使用吸头吸取不同的样品等。当吸头只用于同一种液体的移液，可考虑通过悬空加液的方法，避免吸头与其他液体接触。当同一组吸头用于不同样品或液体时，若吸取的是易于清洗的液体，可通过增加清洗步骤将吸头残留的液体洗净。对于水溶性差的液体，可考虑使用乙醇清洗。对于不易洗净的液体，建议使用一次性吸头。

3.3 脚本扩展

集成化移液工作站的控制软件本身就集成了

很多移液操作功能，一般还会集成脚本控制功能^[37-38]，用来完成用户的个性化操作和数据处理。在本文中的两个应用：培养基或菌株快速评价和自动诱导表达制备粗酶液样品中，都需要用户编写脚本对酶标仪测得的OD值进行计算或判断，来指导下一步的移液操作。

例如在自动诱导表达制备粗酶液样品的应用

中，由于菌株生长速度的差异，需要定时取样监测菌株生长情况来决定加入诱导剂的时机。这里使用一个比较简单的策略：当24孔板的24株菌中有20个及以上的菌株OD值达到要求时，就向所有孔中加入诱导剂。经过孵育表达后，提取粗酶液。

通过脚本判断有多少个孔OD的值达到要求的代码示例如下：

```
'VB脚本
'判断24孔板中有多少孔的OD值达到要求，当达到要求的孔数量超过设定值
'将okflg标志设置为1，下游步骤根据okflg标志来判断是否要向孔板加入诱导剂
Dim OD_Threshold      '判断是否达到加入诱导剂标准的OD值
OD_Threshold = 0.23
Dim OK_Count          '达到OD值的孔的数量
OK_Count = 0
Dim Count_Threshold  '达到OD值的孔数大于此值可以加入诱导剂
Count_Threshold = 19
Dim okflg              '是否可以加入诱导剂的标志变量
okflg = 0
Dim well_num          '孔板中孔的编号变量
'由于培养板是24孔板，测量板是96孔板，每块测量板可以测4次
'loops是外部整数变量，范围0~3，表示第几次测量，每次测量使用测量板3列
'通过循环读取测量板
For row = 0 To 7
'获得本次测量的每行第1个孔编号
'loops为软件在脚本外部设置的表示测量次数的变量（每块96孔板可以完成4次24孔板的测定）
    well_num = row*12+1+loops*3
    '读取每行3个孔
    For i = well_num To well_num+2
        '酶标仪测定的OD值数据保存在耗材的Labware.DataSets属性中
        OD = Positions.P13.Labware.DataSets ("ReaderData") (i)
        '如果OD值大于设定值，满足要求的孔数量加1
        If OD > OD_Threshold Then
            OK_Count = OK_Count + 1
        End If
    Next
Next
Next
'若达到OD要求的孔数大于设定值，则okflg标志置1
If OK_Count > Count_Threshold Then
    okflg = 1
End if
'设置okflg标志为全局变量，可在后续步骤中调用
Extend "okflg", okflg
```

集成移液工作站软件的脚本扩展功能支持文件读写，能进一步与其他软件或脚本协作。其他软件或编程语言通过读取集成移液工作站生成的数据文件，与其他来源数据进行整合分析。根据分析结果将移液数据按照约定格式写入文件。集成移液工作站软件依此文件中的移液数据进行移液、分液、挑取等操作。下面以集成移液工作站与python脚本协作为例，通过文件中写入的标志位来协调集成移液工作站与python脚本，协作运行，如图8所示。

3.4 操作流程顺序和时间优化

操作流程顺序和时间优化主要针对3种需求：需要立刻操作的步骤（即时性需求）、需要固定时间间隔的步骤（周期性需求）和整体优化节约总时间（时效性需求）。对于需要立刻操作的步骤，需要在流程控制软件中设置上下游步骤之间的最大间隔时间，达到即时运行的效果。对于需要固定时间间隔的步骤，可在上下游步骤之间设置一个固定时间的孵育或等待步骤，将此步骤与其上下游步骤之间都设置一个较小的间隔时间，从上游到下游的总时间处于一个可控的范围内。对于

总时间的优化，主要是要针对多样品过程节约总时间。由于样品操作中一般都会有孵育、离心、检测等耗时的步骤，此时需要通过手动或软件自动优化。在这些耗时的步骤进行时可以对其他样品进行移液或移动等操作，从而节约总时间。操作流程顺序和时间优化工作大部分由软件完成^[38-39]，这对仪器厂商的软件开发能力有很高的要求。

4 集成化液体工作站使用中的不足及注意事项

集成化液体工作站适用于样品量较多或需多次重复操作的实验。对于一次性操作的实验，由于需要先编写操作流程文件并进行相应的测试，因此集成化液体工作站并没有明显优势。集成化液体工作站一般都需要针对特定实验需求进行定制，如细胞培养^[9-10]、药物筛选^[11-12]、核酸提取^[13]、农残检测^[40]、法医鉴定^[41]等方案各不相同。虽然集成化液体工作站的集成方案可以定制，但选型过程中还是要充分考虑科研活动中实验需求的多样性，前瞻性地确定外围仪器设备性能和

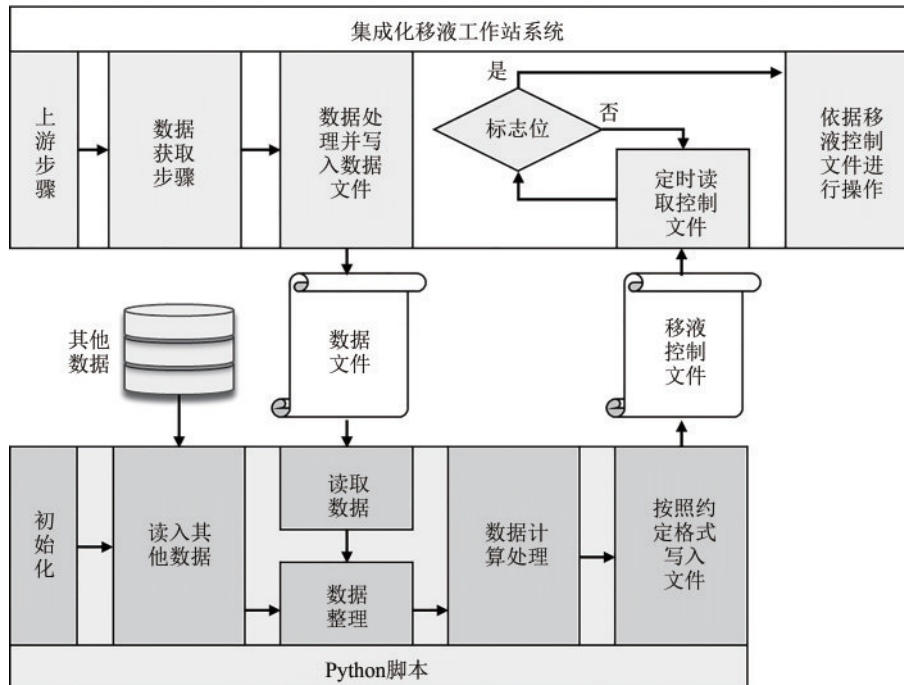


图8 集成移液工作站系统与python脚本协同工作流程

Fig. 8 Schematic diagram for the collaborative work flow between integrated automated liquid handling system and python scripts

操作环境等具体事项。例如,若需要大量无菌操作则需要配置HEPA过滤系统或将整套系统置于无菌操作间内。因为集成化液体工作站组装好以后再做调整会涉及设备布局、仪器校准、软件调试等多方面的工作。集成化液体工作站的软件系统相对封闭,用户无法直接集成其他设备或功能,需从厂家指定的候选型号中选取。自动移液器选择时微量移液与大量程移液不可兼得,选购时应充分考虑使用场景选取。对于某些复杂的移液操作,如倾斜吸取等,还需要购买特定的配件。由于移液工作站和外设仪器的售价较高,所以配置方案要充分考虑价格与功能之间的平衡。使用成本也是不得不考虑的方面。一般集成化液体工作站使用的吸头与普通吸头不通用,且自动移液器装载吸头时力量很大,对吸头的品质要求较高。进口吸头依不同规格售价约10~40美元/盒(96支/盒)。另一方面集成化液体工作站对其他耗材的强度、尺寸等要求也比较高,需要购买高质量的耗材,这些都会提高使用成本。集成化液体工作站系统复杂,难免有异常和故障发生。耗材损坏、外设或机械臂等发生位移、机械或光学定位传感器故障、软件之间通信不畅等,都会引起设备异常或运行中断。如深孔板在离心机内离心时受力较大,若孔板质量不好则容易造成边缘损坏。当机械臂抓取或堆栈存取损坏的孔板时容易引发异常。离心机和机械臂也可能由于振动和橡胶部件老化等造成机械定位偏差,导致取放耗材时发生故障。由于计算机操作系统升级、操作人员误操作、感染计算机病毒等还会造成软件方面问题。为防止计算机病毒感染,最主要的就是禁止U盘等移动存储设备,并切断计算机与外网连接。数据传输可通过局域网内的网络存储设备(NAS)作为中转,并严格限制用户权限。数据从设备计算机上传到网络存储设备,再下载至用户计算机,使数据只能单向流动。在维护保养方面,由于同时集成多种设备,且多个设备之间需要密切协作,涉及多个设备的维护、保养等问题。这对设备管理人员提出了较高要求,不但要能熟练使用设备、编辑实验方法,还需要有一定的机械、电气、电子电路、软件等方面的知识。当设备异常时,能及时从硬件、软件或系统通信等方面分析问题,

或准确地向工程师描述问题,从而及时解决故障,避免长时间停机或造成更大损失。

5 展望

集成化液体工作站功能强大,能够提高科研人员的工作效率,但是目前市场上的大型集成化液体工作站产品被进口品牌垄断。虽然也有一些开源液体工作站产品^[42-43],但整体性能不如商品化产品。目前国产液体工作站产品整体技术水平还低于国外产品,但由于性价比较高,正逐步得到用户认可^[44]。集成化液体工作站可完成大量高度重复性的工作,解放科研人员的双手,其未来的发展方向是将其扩展为全自动实验室的组成部分。全自动实验室对移液工作站的通用性要求更高。在龙门架式结构工作站的基础上辅以多轴机器人,可适应更复杂的精细操作,提高对外围设备的兼容性。目前不但有基于单个多轴机械臂^[45]和两个多轴机械臂^[46-47]的机器人来完成复杂实验操作的方案,还有通过固定轨道机器人^[48]或自由活动机器人^[49],在多个设备之间按照程序取放耗材等,使系统兼容不具备在线控制功能的设备。现代机械臂的示教再现功能开始引入机器学习、强化学习、机器视觉^[50-51]、增强现实^[52]等技术,不但可以手把手示教还可通过语音控制^[52]其运动,控制软件会自动规划运动路径,使机械臂模仿人工操作过程甚至直接与人交互协作。这使科研人员对机械臂的动作编程更加简单高效。将AI融入到机器人控制甚至实验方案的迭代进化中,使机器人能够自主完成实验^[46],是未来的发展方向,这又向全自动实验室迈出了一大步。一般实验室机器人都基于工业机器人技术,所以工业机器人的技术水平直接决定了实验室机器人的发展水平。针对工业机器人未来发展趋势,《中国制造2025》站在历史新高度,从战略全局出发,大力发展工业机器人本体及关键零部件和智能机器人关键技术^[53]。同时还要加强自主工业软件设计,补齐工业机器人发展的短板^[54]。总之,国产实验室自动化设备尤其是实验室机器人设备发展,还需要国内工业和科研领域从硬件、软件、人才、多学科交叉^[55]等多方面入手,共同推动国内实验室自动化设备逐步走向市场。

参 考 文 献

- [1] NAJAFI M. Bacterial mutation; types, mechanisms and mutant detection methods: a review[J]. *European Scientific Journal*, 2013, 4(4): 628-638.
- [2] 朱晁谊, 朱牧孜, 李爽. 微生物实验室进化的研究进展[J]. *生物加工过程*, 2019, 17(1): 8-14, 22.
ZHU C Y, ZHU M Z, LI S. Research progress in microbial laboratory evolution[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2019, 17(1): 8-14, 22.
- [3] COBB R E, CHAO R, ZHAO H M. Directed evolution: past, present and future[J]. *AIChE Journal*, 2013, 59(5): 1432-1440.
- [4] 曲戈, 赵晶, 郑平, 等. 定向进化技术的最新进展[J]. *生物工程学报*, 2018, 34(1): 1-11.
QU G, ZHAO J, ZHENG P, et al. Recent advances in directed evolution[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2018, 34(1): 1-11.
- [5] 蒋迎迎, 曲戈, 孙周通. 机器学习助力酶定向进化[J]. *生物学杂志*, 2020, 37(4): 1-11.
JIANG Y Y, QU G, SUN Z T. Machine learning-assisted enzyme directed evolution[J]. *Journal of Biology*, 2020, 37(4): 1-11.
- [6] REETZ M T, CARBALLEIRA J D. Iterative saturation mutagenesis (ISM) for rapid directed evolution of functional enzymes[J]. *Nature Protocols*, 2007, 2(4): 891-903.
- [7] KONG F W, YUAN L, ZHENG Y F, et al. Automatic liquid handling for life science: a critical review of the current state of the art[J]. *Journal of Laboratory Automation*, 2012, 17(3): 169-185.
- [8] HANSON K L, CARTWRIGHT C P. Evaluation of an automated liquid-handling system (Tecan Genesis RSP 100) in the Abbott LCx assay for *Chlamydia trachomatis* [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39(5): 1975-1977.
- [9] LEHMANN R, SEVERITT J C, RODDELKOPF T, et al. Biomek cell workstation: a variable system for automated cell cultivation[J]. *Journal of Laboratory Automation*, 2016, 21(3): 439-450.
- [10] LEHMANN R, GALLERT C, RODDELKOPF T, et al. 3 Dimensional cell cultures: a comparison between manually and automatically produced alginate beads[J]. *Cytotechnology*, 2016, 68(4): 1049-1062.
- [11] ROLLER D G, AXELROD M, CAPALDO B J, et al. Synthetic lethal screening with small-molecule inhibitors provides a pathway to rational combination therapies for melanoma[J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2012, 11(11): 2505-2515.
- [12] GOMEZ DE SANTOS P, CAÑELLAS M, TIEVES F, et al. Selective synthesis of the human drug metabolite 5'-hydroxypropranolol by an evolved self-sufficient peroxygenase[J]. *ACS Catalysis*, 2018, 8(6): 4789-4799.
- [13] SEIPP M T, HERRMANN M, WITTEW C T. Automated DNA extraction, quantification, dilution, and PCR preparation for genotyping by high-resolution melting[J]. *Journal of Biomolecular Techniques*, 2010, 21(4): 163-166.
- [14] SI T, CHAO R, MIN Y H, et al. Automated multiplex genome-scale engineering in yeast[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 15187.
- [15] CARBONELL P, JERVIS A J, ROBINSON C J, et al. An automated Design-Build-Test-Learn pipeline for enhanced microbial production of fine chemicals[J]. *Communications Biology*, 2018, 1: 66.
- [16] HILLSON N, CADDICK M, CAI Y Z, et al. Building a global alliance of biofoundries[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 2040.
- [17] ZHANG J Z, CHEN Y C, FU L H, et al. Accelerating strain engineering in biofuel research via build and test automation of synthetic biology[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2021, 67: 88-98.
- [18] MARKEL U, ESSANI K D, BESIRLIOGLU V, et al. Advances in ultrahigh-throughput screening for directed enzyme evolution[J]. *Chemical Society Reviews*, 2020, 49(1): 233-262.
- [19] MA F Q, CHUNG M T, YAO Y, et al. Efficient molecular evolution to generate enantioselective enzymes using a dual-channel microfluidic droplet screening platform[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 1030.
- [20] JIAN X J, GUO X J, WANG J, et al. Microbial microdroplet culture system (MMC): An integrated platform for automated, high-throughput microbial cultivation and adaptive evolution[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2020, 117(6): 1724-1737.
- [21] GIELEN F, HOURS R, EMOND S, et al. Ultrahigh-throughput-directed enzyme evolution by absorbance-activated droplet sorting (AADS) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(47): E7383-E7389.
- [22] ZINCHENKO A, DEVENISH S R A, KINTSES B, et al. One in a million: Flow cytometric sorting of single cell-lysate assays in monodisperse picolitre double emulsion droplets for directed evolution[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(5): 2526-2533.
- [23] WANG X X, XIN Y, REN L H, et al. Positive dielectrophoresis-based Raman-activated droplet sorting for culture-free and label-free screening of enzyme function *in vivo* [J]. *Science Advances*, 2020, 6(32): eabb3521.
- [24] FU L H, ZHANG J Z, SI T. Recent advances in high-throughput mass spectrometry that accelerates enzyme engineering for biofuel research[J]. *BMC Energy*, 2020, 2: 1.
- [25] CHEN B, LIM S, KANNAN A, et al. High-throughput analysis and protein engineering using microcapillary arrays[J]. *Nature Chemical Biology*, 2016, 12(2): 76-81.
- [26] ZHANG H, LIU C, HUA W Y, et al. Acoustic ejection mass spectrometry for high-throughput analysis[J]. *Analytical Chem-*

- istry, 2021, 93(31): 10850-10861.
- [27] ZHANG C, LI M, ZHAO G-R, et al. Alpha-terpineol production from an engineered *Saccharomyces cerevisiae* cell factory[J]. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18(1): 160.
- [28] HU M S, WANG J, GAO Q Q, et al. Converting lignin derived phenolic aldehydes into microbial lipid by *Trichosporon cutaneum*[J]. *Journal of Biotechnology*, 2018, 281: 81-86.
- [29] GUO X J, LIU Y X, WANG Q, et al. Non-natural cofactor and formate-driven reductive carboxylation of pyruvate[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(8): 3143-3146.
- [30] 叶质强, 冯露, 王心洁, 等. 转氨酶高效表达重组工程菌的培养基及诱导条件优化[J]. *生物化工*, 2019, 5(2): 23-27.
- YE Z Q, FENG L, WANG X J, et al. Optimization of culture conditions of recombinant engineered bacteria with high expression of transaminase[J]. *Biological Chemical Engineering*, 2019, 5(2): 23-27.
- [31] 吴蓉, 曹佳睿, 曹君, 等. 南极假丝酵母脂肪酶B基因在大肠杆菌中的表达和发酵优化[J]. *生物技术通报*, 2021, 37(2): 138-148.
- WU R, CAO J R, CAO J, et al. Expression and fermentation optimization of *Candida antarctica* lipase B in *Escherichia coli*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, 37(2): 138-148.
- [32] ENGVALL E, PERLMANN P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G[J]. *Immunochemistry*, 1971, 8(9): 871-874.
- [33] AYDIN S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA[J]. *Peptides*, 2015, 72: 4-15.
- [34] PROMEGA CORPORATION. Wizard® SV 96 plasmid DNA purification system automated protocol [EB/OL]. [2021-07-21]. <https://www.promega.com.cn/resources/protocols/automated-protocols/0/wizard-sv-96-plasmid-dna-purification-system-automated-protocol>.
- [35] SMITH D, WHITE D. Automated purification of plasmid DNA using paramagnetic particles[J]. *JALA: Journal of the Association for Laboratory Automation*, 2003, 8(3): 50-54.
- [36] 李晶, 李增, 魏翔翔. 全自动液体工作站移液模块设计与分析[J]. *分析仪器*, 2019(3): 14-18.
- LI J, LI Z, WEI A X. Design and analysis of pipetting pump module for automatic liquid processing workstation[J]. *Analytical Instrumentation*, 2019(3): 14-18.
- [37] BECKMAN COULTER. Biomek software[EB/OL]. [2021-06-10]. <https://www.mybeckman.in/liquid-handlers/software/biomek>.
- [38] TECAN TRADING AG. FluentControl[EB/OL]. [2021-07-10]. <https://lifesciences.tecan.com/fluent-laboratory-automation-workstation?p=tab-4#>.
- [39] BECKMAN COULTER. SAMI process management[EB/OL]. [2021-06-10]. <https://www.mybeckman.in/liquid-handlers/software/sami-process-management>.
- [40] 谢艳姣, 吴荣顺, 苑婷婷, 等. 液体工作站在蔬菜农药残留快速检测中的应用[J]. *现代农业科技*, 2015(16): 267-268, 272.
- XIE Y J, WU R S, YUAN T T, et al. Application of automatic liquid handing system for rapid detecting pesticide residue in vegetables[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2015(16): 267-268, 272.
- [41] 张琼予, 丁梅, 王保捷, 等. DNA提取自动化工作站在法医学领域的应用[J]. *中国法医学杂志*, 2010, 25(1): 40-42.
- ZHANG Q Y, DING M, WANG B J, et al. Application of DNA extraction automation workstation in the forensic area[J]. *Chinese Journal of Forensic Medicine*, 2010, 25(1): 40-42.
- [42] GOME G, WAKSBERG J, GRISHKO A, et al. OpenLH: open liquid-handling system for creative experimentation with biology[C]// TEI '19: Proceedings of the Thirteenth International Conference on Tangible, Embedded, and Embodied Interaction. 2019: 55-64.
- [43] COUNCILL E E A W, AXTELL N B, TRUONG T, et al. Adapting a low-cost and open-source commercial pipetting robot for nanoliter liquid handling[J]. *SLAS Technology*, 2021, 26(3): 311-319.
- [44] 张圆. 移液工作站行业处于初步发展阶段未来市场前景广阔[EB/OL]. [2021-07-12]. <http://www.newsijie.com/chanye/yiyao/jujiao/2020/0923/11261302.html>.
- ZHANG Y. Liquid handling workstation industry is in its infant stage but its market is quite promising in the future[EB/OL]. [2021-07-12]. <http://www.newsijie.com/chanye/yiyao/jujiao/2020/0923/11261302.html>.
- [45] 重庆微浪生物. 实验员福音!“重庆造”实验机器人诞生[EB/OL]. [2021-07-13]. <http://www.biowavelet.com/news/shownews.php?lang=cn&id=49>.
- Chongqing BioWavelet. The gospel for experimenters! The birth of laboratory robot “Made in Chongqing” [EB/OL]. [2021-07-13]. <http://www.biowavelet.com/news/shownews.php?lang=cn&id=49>.
- [46] Robotic Biology Consortium, YACHIE N, NATSUME T. Robotic crowd biology with Maholo LabDroids[J]. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(4): 310-312.
- [47] ABB. ABB's collaborative robot takes the strain out of sampling at karolinska university laboratory[EB/OL]. [2021-07-16]. <https://new.abb.com/news/detail/70465/abbs-collaborative-robot-at-karolinska-university-laboratory>.
- [48] NIKO M C. One lab in Germany is using robots to advance computer-aided synthetic biology[EB/OL]. [2021-07-16]. <https://synbiobeta.com/one-lab-in-germany-is-using-robots-to-advance-computer-aided-synthetic-biology>.
- [49] BURGER B, MAFFETTONE P M, GUSEV V V, et al. A mobile robotic chemist[J]. *Nature*, 2020, 583(7815): 237-241.
- [50] 郑钧天. 基于深度强化学习的机械臂轨迹规划仿真[D]. 成都: 电子科技大学, 2020.

- ZHENG J T. Simulation for manipulator trajectory planning based on deep reinforcement learning[D]. Chengdu: University of Electronic Science and Technology of China, 2020.
- [51] 卢彬鹏. 基于模仿学习和强化学习的机械臂运动技能获取[D]. 大连: 大连理工大学, 2019.
- LU B P. Robot skill acquisition based on imitation learning and reinforcement learning[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2019.
- [52] 陈偕权. 基于增强现实及自然人机交互的机器人示教再现技术研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- CHEN X Q. Research on robot teaching-playback technology based on augmented reality and natural human-robot interaction[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.
- [53] 吕佳. 《中国制造 2025》解读之: 推动机器人发展[EB/OL]. [2021-07-10]. http://www.gov.cn/zhuant/2016-05/12/content_5072768.htm.
- LÜ J. China Manufacturing 2025 decoding: Promoting robot development[EB/OL]. [2021-07-10]. http://www.gov.cn/zhuant/2016-05/12/content_5072768.htm.
- [54] 段宝岩, 李耀平. 中国制造 2025 亟须自主工业软件[N/OL]. 中国科学报, 2016-11-24[2021-07-23]. <http://news.sciencenet.cn/htmlnews/2016/11/361805.shtm>.
- DUAN B Y, LI Y P. China Manufacturing 2025 desiderates independent industry-oriented software [N/OL]. China Science Daily, 2016-11-24[2021-07-23]. <http://news.sciencenet.cn/htmlnews/2016/11/361805.shtm>.
- [55] 吴朝晖. 以学科交叉融合服务国家战略需求(新语)[N]. 人民日报, 2020-11-04(12).
- WU Z H. To serve strategic demands of our country with disciplinary intersection and integration[N]. Peoples' Daily (New story), 2020-11-04(12).



第一作者及通讯作者: 褚亚东 (1984—), 男, 高级工程师, 硕士生导师。研究方向为能源微生物发酵过程控制系统、微生物自进化测控系统开发。
E-mail: yadongchu@dicp.ac.cn



通讯作者: 赵宗保 (1968—), 男, 研究员, 博士生导师。主要从事能源生物技术、化学生物学和合成微生物学研究。
E-mail: zhaozb@dicp.ac.cn