응용 개요

대마초 및 헴프 테스트

Agilent Bravo 자동 액체 처리 장치에서의 Medicinal Genomics SenSATIVAx 및 PathoSEEK 사용

다양한 매트릭스에서 자동화된 대마초 DNA 시료 추출 및 qPCR 설정

저자

Heather Ebling
Medicinal Genomics

Mike Leasia
Cambium Analytica

Lisa Knapp
Agilent Technologies, Inc.

서론

Medicinal Genomics의 SenSATIVAx Plant/Microbial DNA 정제 키트와 PathoSEEK Microbial Safety Testing Solution 워크플로는 자성 비드 기반 DNA 분리 및 정량 PCR(qPCR) 기술을 사용해 대마초 꽃과 마리화나 주입 제품(MIP) 매트릭스의 미생물 오염 여부를 테스트합니다. 여러 매트릭스 분석을 위한 효율적인 DNA 추출 및 qPCR 설정 워크플로를 생성하기 위해 이들 키트를 Agilent Bravo 자동 액체 처리 플랫폼에서 자동화하였습니다.

자동 분석법 특징 및 주요 이점

자동화된 Medicinal Genomics SenSATIVAx 및 PathoSEEK 워크플로에서는 직관적인 사용자 인터페이스를 통해 사용자 맞춤형 워크플로 옵션을 선택할 수 있습니다. 사용자는 SenSATIVAx 실행 시 최대 94개의 시료를 처리할 수 있으며, PathoSEEK 실행 시에는 94개의 qPCR 반응(추가적으로 양성 및 음성 대조군까지)을 설정할 수 있습니다. 사용자 인터페이스에서 선택한 옵션은 자동으로 업데이트되어 필요한 시약 및 랩웨어를 사용자가 설정할 수 있도록 하는 디스플레이를 생성합니다.

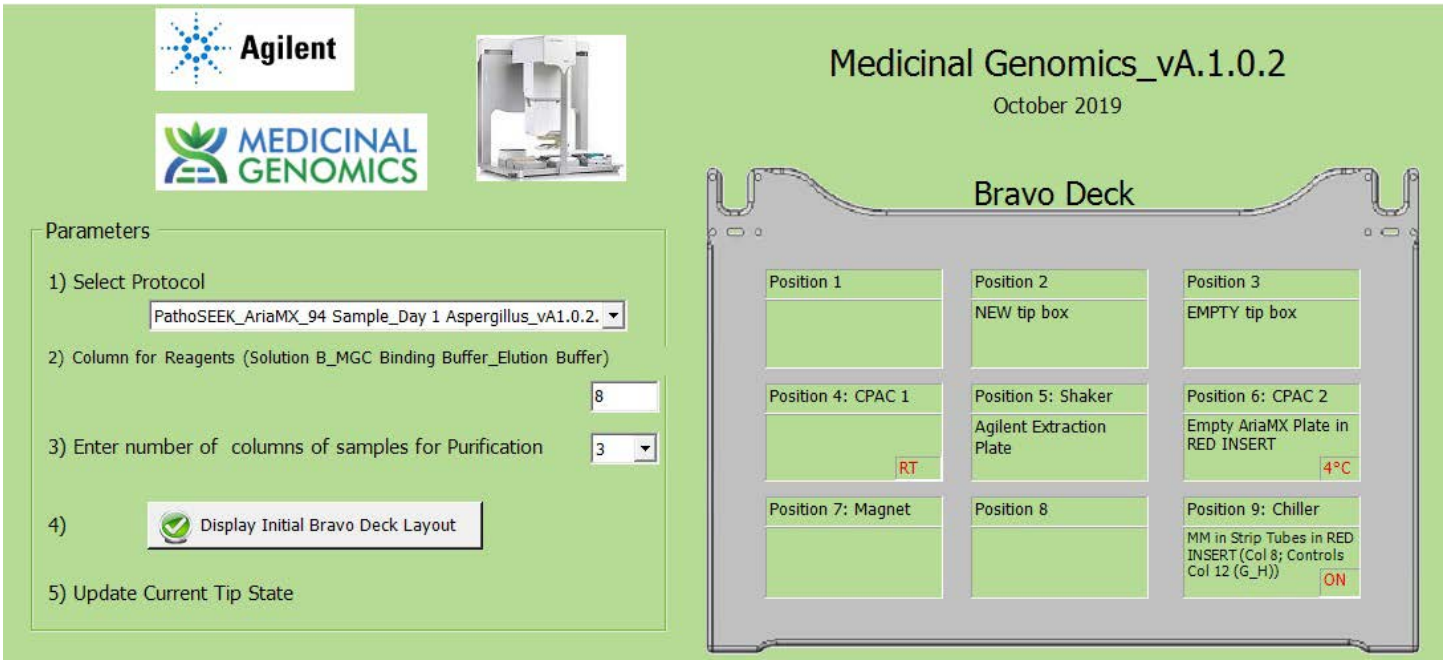
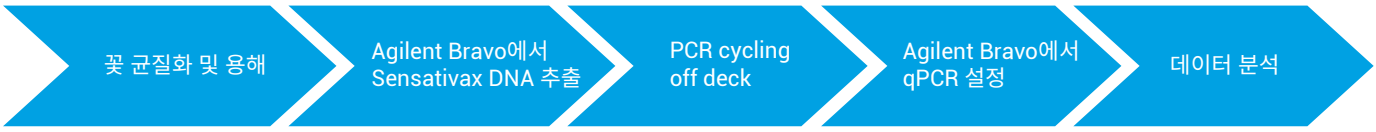


그림 1. Agilent Bravo 자동 액체 처리 플랫폼에서 자동화된 Medicinal Genomics PathoSEEK qPCR 설정 방법에 대한 사용자 인터페이스.

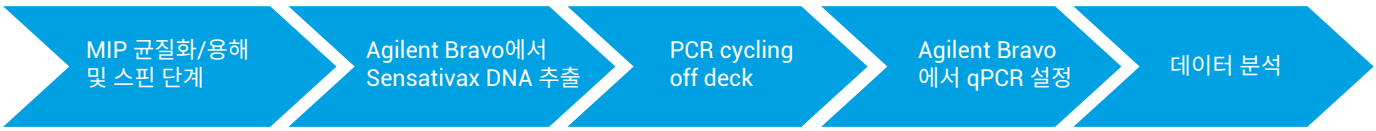
전체 94개 시료 추출을 약 75분 내에 처리할 수 있으며, 전체 96개의 qPCR 반응은 약 12분 내로 설정할 수 있습니다.

SenSATIVAx 및 PathoSEEK 분석 워크플로

꽃 시료



MIP 시료



실험

꽃 테스트

Medicinal Genomics SenSATIVA SOP (꽃용)에 정의된 바에 따라, 대마초 꽃 시료 1g을 Whirl-Pak 샘플백(Nasco #B02385WA)에 칭량한 후, Tryptic soy broth (TSB, MGC #420205) 14.2mL를 첨가하였습니다. 그 다음 꽃 시료는 수동조작으로 1분간 균질화하였습니다. 균질화 후 1mL의 균질화된 꽃/TSB 혼합물을 1.5mL의 스냅 캡 튜브로 옮겼습니다. 테스트 대상인 3개의 꽃 시료 각각에 대해 해당 과정을 반복하였습니다.

SenSATIVAx 시약을 이용한 DNA 추출을 Bravo 플랫폼에서 처리하였으며, 이와 동일한 3개 꽃 시료를 수동으로도 처리하였습니다.

그런 다음 시료는 Bravo 플랫폼에서 다음을 사용한 qPCR을 통해 이스트와 몰드, 총 대장균군, 아스페르길루스, 살모넬라 및 시가 독소 생성 대장균(STEC) 오염 등을 테스트했습니다: MGC PathoSEEK Total Yeast and Mold Detection Assay (MGC #420103), Total Coliform Detection Assay (MGC #420107), Aspergillus 2-Color Multiplex Detection Assay (MGC #420130), Salmonella & STEC *E. coli* Multiplex Detection Assay v2 (MGC #420120). qPCR은 Agilent AriaMx qPCR 기기로 수행하였습니다. 결과는 표 1을 참조하세요.

표 1. 꽃 시료의 수동 및 자동 PathoSEEK 결과 비교.

매트릭스	타겟	Cq 값		타겟	Cq 값	
		Bravo	수동		Bravo	수동
꽃	대마초 DNA	22.24	20.88	총 이스트 및 몰드	NoCq	NoCq
꽃	대마초 DNA	22.11	21.17	총 이스트 및 몰드	NoCq	NoCq
꽃	대마초 DNA	21.39	20.36	총 이스트 및 몰드	NoCq	NoCq
꽃	대마초 DNA	22.34	20.37	총 대장균군	NoCq	NoCq
꽃	대마초 DNA	21.83	21.24	총 대장균군	NoCq	NoCq
꽃	대마초 DNA	21.51	20.10	총 대장균군	NoCq	NoCq
꽃	대마초 DNA	17.58	18.20	살모넬라/STEC	No Cq/No Cq	NoCq/No Cq
꽃	대마초 DNA	17.60	18.18	살모넬라/STEC	No Cq/No Cq	NoCq/No Cq
꽃	대마초 DNA	17.64	18.03	살모넬라/STEC	No Cq/No Cq	NoCq/No Cq
꽃	대마초 DNA	17.54	18.20	아스페르길루스 MPX	NoCq	NoCq
꽃	대마초 DNA	17.58	18.16	아스페르길루스 MPX	NoCq	NoCq
꽃	대마초 DNA	17.48	18.09	아스페르길루스 MPX	NoCq	NoCq

MIP 테스트

Medicinal Genomics SenSATIVAx SOP (MIP용) 에 정의된 바에 따라, 젤리 및 초콜릿 시료 1g을 칭량하여 각각 15mL의 튜브에 넣고 MIP 용액 A 7mL를 첨가하였습니다. MIP 시료는 그 후 완전한 용액이 될 때까지 볼텍싱으로 균질화하였습니다. 균질화 후 500µL의 균질화된 초콜릿 또는 젤리 MIP 용액을 1.5mL의 스냅 캡 튜브로 옮겼습니다. 내부 SCCG 대조군을 첨가했으며, 시료를 원심분리했습니다. 이 시료 부분을 새로운 1.5mL 스냅 캡 튜브로 옮긴 후, 동일 부피의 클로로포름을 첨가했습니다. 볼텍스 처리 후, 시료를 다시 한 번 원심분리하고 상등액을 96-well 추출 플레이트로 옮겨 MIP 용액 B를 첨가하였습니다. 이 절차는 테스트 대상인 3개의 젤리 및 초콜릿 시료에 대해 동시에 수행되었습니다. DNA 추출액의 잔여물은 SenSATIVAx 시약을 이용해 Bravo 플랫폼에서 처리하였습니다. 동일한 MIP 시료에 대하여 수동으로도 처리하였습니다.

그런 다음 시료는 Bravo 플랫폼에서 다음을 사용한 qPCR을 통해 이스트와 몰드, 총 대장균군, 아스페르길루스, 살모넬라, 시가 독소 생성 대장균(STEC) 오염 등을 테스트했습니다: MGC PathoSEEK Total Yeast and Mold Detection Assay (MGC #420103), Total Coliform Detection Assay (MGC #420107), 2-Color Aspergillus Multiplex Detection Assay (MGC #420130), Salmonella & STEC *E. coli* Multiplex Detection Assay v2 (MGC #420120). qPCR은 AriaMx qPCR 기기로 수행하였습니다. 결과는 표 2를 참조하세요.

표 2. MIP 시료의 수동 및 자동 PathoSEEK 결과 비교.

매트릭스	타겟	Cq 값		함량 시험	Cq 값	
		Bravo	수동		Bravo	수동
젤리	대마초 DNA	26.00	26.44	총 이스트 및 몰드	NoCq	NoCq
젤리	대마초 DNA	26.01	26.38	총 이스트 및 몰드	NoCq	NoCq
젤리	대마초 DNA	26.16	26.60	총 이스트 및 몰드	NoCq	NoCq
초콜릿	대마초 DNA	27.17	27.44	총 이스트 및 몰드	NoCq	NoCq
초콜릿	대마초 DNA	27.57	27.47	총 이스트 및 몰드	NoCq	NoCq
양성 대조군	대마초 DNA	38.78	NoCq	총 이스트 및 몰드	10.78	10.73
음성 대조군	대마초 DNA	36.79	39.95	총 이스트 및 몰드	NoCq	NoCq
젤리	대마초 DNA	25.68	26.45	총 대장균군	NoCq	NoCq
젤리	대마초 DNA	25.54	26.50	총 대장균군	NoCq	NoCq
젤리	대마초 DNA	26.05	26.65	총 대장균군	NoCq	NoCq
초콜릿	대마초 DNA	26.88	27.05	총 대장균군	32.81	33.13
초콜릿	대마초 DNA	27.19	27.16	총 대장균군	30.89	32.81
양성 대조군	대마초 DNA	NoCq	NoCq	총 대장균군	10.81	10.66
음성 대조군	대마초 DNA	NoCq	NoCq	총 대장균군	NoCq	NoCq
젤리	대마초 DNA	25.53	25.82	살모넬라/STEC	No Cq/No Cq	No Cq/No Cq
젤리	대마초 DNA	25.51	26.19	살모넬라/STEC	No Cq/No Cq	No Cq/No Cq
젤리	대마초 DNA	26.15	26.76	살모넬라/STEC	No Cq/No Cq	No Cq/No Cq
초콜릿	대마초 DNA	26.15	26.62	살모넬라/STEC	No Cq/No Cq	No Cq/No Cq
초콜릿	대마초 DNA	28.35	28.98	살모넬라/STEC	No Cq/No Cq	No Cq/No Cq
양성 대조군	대마초 DNA	NoCq	NoCq	살모넬라/STEC	14.83/10.35	14.53/10.14
음성 대조군	대마초 DNA	NoCq	NoCq	살모넬라/STEC	No Cq/No Cq	No Cq/No Cq
젤리	대마초 DNA	25.45	26.20	아스페르길루스	NoCq	NoCq
젤리	대마초 DNA	25.53	26.19	아스페르길루스	NoCq	NoCq
젤리	대마초 DNA	26.18	26.96	아스페르길루스	NoCq	NoCq
초콜릿	대마초 DNA	26.36	26.98	아스페르길루스	NoCq	NoCq
초콜릿	대마초 DNA	28.27	28.75	아스페르길루스	NoCq	NoCq
양성 대조군	대마초 DNA	NoCq	NoCq	아스페르길루스	10.26	9 .90
음성 대조군	대마초 DNA	38.26	NoCq	아스페르길루스	NoCq	NoCq

결론

Agilent Bravo 자동 액체 처리 플랫폼에서 자동화된 Medicinal Genomics SenSATIVAx Plant/Microbial DNA 정제 키트 및 PathoSEEK Microbial Safety Testing Solution 키트는 여러 매트릭스에 대해 견고하고 유연하며 효율적인 DNA 추출 및 qPCR 설정 워크플로를 제공함을 입증했습니다. 94개 시료를 1시간 내로 추출할 수 있었으며, 전체 96-well plate의 qPCR 반응을 약 10분 내로 설정할 수 있었습니다. 직관적인 사용자 인터페이스가 사용자의 설정 절차를 안내함으로써, 원활한 설정과 분석법 실행을 지원합니다.

www.agilent.com/chem

DE44368.6257060185

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
2021년 7월 9일, 한국에서 인쇄
5994-3636KO

한국애질런트테크놀로지스㈜
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com

Agilent
Trusted Answers