

Agilent Bravo 自动化液体处理平台实现 Medicinal Genomics SenSATIVAx 和 PathoSEEK 试剂盒的自动化操作

自动从不同基质中提取大麻 DNA 样品并进行 qPCR 设置

作者

Heather Ebling
Medicinal Genomics

Mike Leasia
Cambium Analytica

Lisa Knapp
安捷伦科技有限公司

前言

Medicinal Genomics SenSATIVAx 植物/微生物 DNA 纯化试剂盒和 PathoSEEK 微生物安全检测解决方案工作流程使用基于磁珠的 DNA 分离和定量 PCR (qPCR) 技术来检测大麻花朵和掺入大麻的产品 (MIP) 基质中存在的微生物污染。这些试剂盒在 [Agilent Bravo 自动化液体处理平台](#) 上实现了自动化操作，从而创建用于分析多种基质的高效 DNA 提取和 qPCR 设置工作流程。

自动化方法的特征与主要优势

自动化的 Medicinal Genomics SenSATIVAx 和 PathoSEEK 工作流程包含直观的用户界面，允许选择可定制的工作流程选项。在运行 SenSATIVAx 时，用户可处理多达 94 个样品，并在运行 PathoSEEK 时可设置 94 次 qPCR 反应（以及阳性和阴性对照）。通过用户界面选择的选项将自动更新并创建显示内容，提示用户设置所需的试剂和实验室耗材。

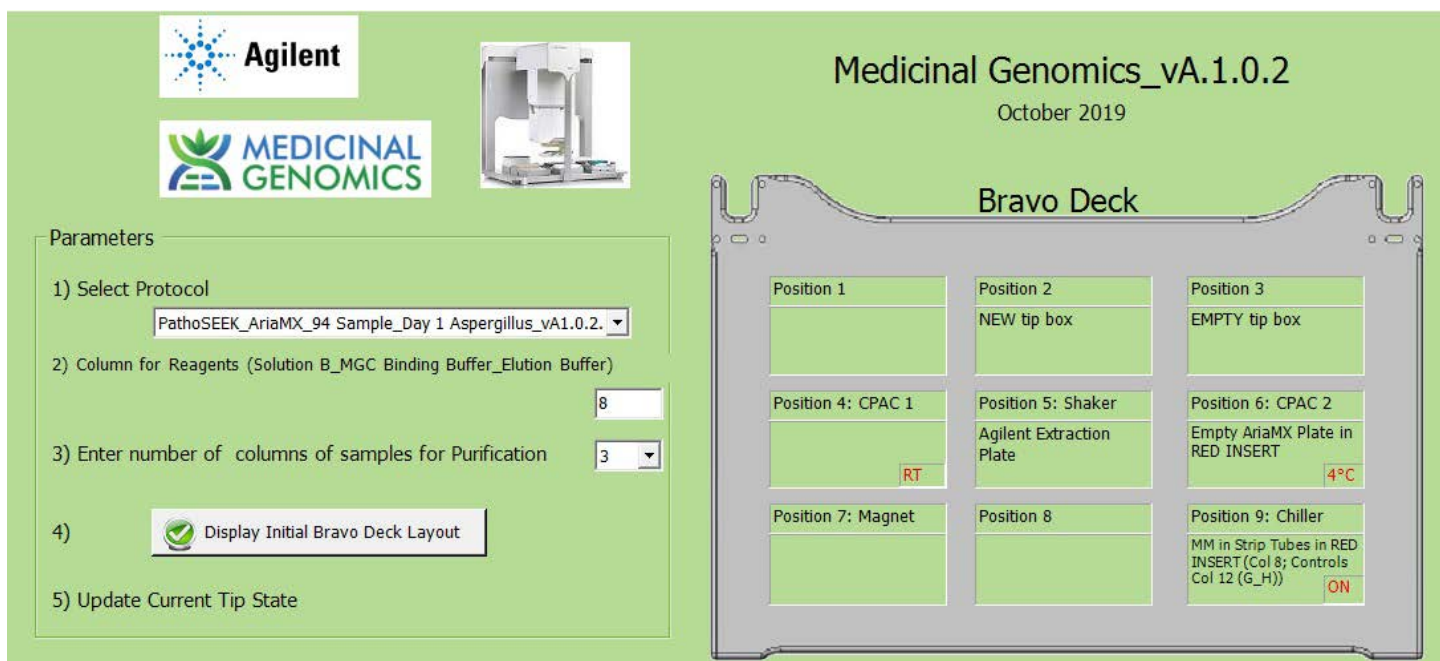


图 1. Agilent Bravo 自动化液体处理平台上实现 Medicinal Genomics PathoSEEK qPCR 设置方法自动化的用户界面

可在大约 75 分钟内完成 94 个样品的完整提取，可在大约 12 分钟内完成 96 次反应 qPCR 的完整设置。

SenSATIVax 和 PathoSEEK 检测工作流程

花朵样品



MIP 样品



实验部分

花朵检测

根据 Medicinal Genomics SenSATIVAx 花朵样品 SOP 的规定，称取 1 g 大麻花朵样品并将其置于 Whirl-Pak 采样袋 (Nasco B02385WA) 中，然后向采样袋中加入 14.2 mL 胰蛋白酶大豆肉汤 (TSB，MGC 420205)。然后手动操作花朵样品并将其均质化处理 1 分钟。完成均质化处理后，将 1 mL 均质花朵/TSB 混合物转移到 1.5 mL 卡口盖试管中。分别对检测的三个花朵样品重复这一过程。

通过 Bravo 平台处理使用 SenSATIVAx 试剂的 DNA 提取物。同时，对三个相同的花朵样品进行手动处理。

然后使用 MGC PathoSEEK 总酵母菌和霉菌检测 (MGC 420103)、总大肠菌群检测 (MGC 420107)、黄曲霉毒素双色多重检测 (MGC 420130) 和沙门氏菌/STEC 大肠杆菌多重检测 v2 (MGC 420120)，通过 qPCR 在 Bravo 平台上检测样品的总酵母菌和霉菌、总大肠菌群数、黄曲霉毒素、沙门氏菌和产志贺毒素大肠杆菌污染。在 Agilent AriaMx qPCR 仪器上运行 qPCR。结果如表 1 所示。

表 1. 手动和自动 PathoSEEK 方法得到的花朵样品结果比较

基质	靶标	Cq 值		靶标	Cq 值	
		Bravo	手动		Bravo	手动
花朵	大麻 DNA	22.24	20.88	总酵母菌和霉菌	无 Cq	无 Cq
花朵	大麻 DNA	22.11	21.17	总酵母菌和霉菌	无 Cq	无 Cq
花朵	大麻 DNA	21.39	20.36	总酵母菌和霉菌	无 Cq	无 Cq
花朵	大麻 DNA	22.34	20.37	总大肠菌群	无 Cq	无 Cq
花朵	大麻 DNA	21.83	21.24	总大肠菌群	无 Cq	无 Cq
花朵	大麻 DNA	21.51	20.10	总大肠菌群	无 Cq	无 Cq
花朵	大麻 DNA	17.58	18.20	沙门氏菌/STEC	无 Cq/无 Cq	无 Cq/无 Cq
花朵	大麻 DNA	17.60	18.18	沙门氏菌/STEC	无 Cq/无 Cq	无 Cq/无 Cq
花朵	大麻 DNA	17.64	18.03	沙门氏菌/STEC	无 Cq/无 Cq	无 Cq/无 Cq
花朵	大麻 DNA	17.54	18.20	曲霉属真菌 MPX	无 Cq	无 Cq
花朵	大麻 DNA	17.58	18.16	曲霉属真菌 MPX	无 Cq	无 Cq
花朵	大麻 DNA	17.48	18.09	曲霉属真菌 MPX	无 Cq	无 Cq

MIP 检测

根据 Medicinal Genomics SenSATIVAx MIP SOP 的规定，称取 1 g 软糖和巧克力样品并将其置于单独的 15 mL 试管中，然后加入 7 mL 的 MIP 溶液 A。然后通过涡旋直至溶解使 MIP 样品均质化。完成均质化处理后，将 500 µL 均质巧克力或软糖与 MIP 溶液 A 转移到 1.5 mL 卡口盖试管中。加入内部 SCCG 对照并进行样品离心。将处理得到的一部分样品转移到新的 1.5 mL 卡口盖试管中，并加入等体积的氯仿。涡旋混合后再次进行样品离心，将一部分上清液转移到 96 孔萃取板中，然后加入 MIP 溶液 B。分别对检测

的三个软糖和巧克力样品同时执行该过程。使用 SenSATIVAx 试剂，在 Bravo 平台上执行剩余的 DNA 提取。同时，对相同的 MIP 样品进行手动处理。

然后使用 MGC PathoSEEK 总酵母菌和霉菌检测 (MGC 420103)、总大肠菌群检测 (MGC 420107)、双色黄曲霉毒素多重检测 (MGC 420130) 和沙门氏菌/STEC 大肠杆菌多重检测 v2 (MGC 420120)，通过 qPCR 在 Bravo 平台上检测样品的总酵母菌和霉菌、总大肠菌群数、黄曲霉毒素、沙门氏菌和产志贺毒素大肠杆菌污染。在 AriaMx qPCR 仪器上运行 qPCR。结果如表 2 所示。

表 2. 手动和自动 PathoSEEK 方法得到的 MIP 样品结果比较

基质	靶标	Cq 值		检测	Cq 值	
		Bravo	手动		Bravo	手动
软糖	大麻 DNA	26.00	26.44	总酵母菌和霉菌	无 Cq	无 Cq
软糖	大麻 DNA	26.01	26.38	总酵母菌和霉菌	无 Cq	无 Cq
软糖	大麻 DNA	26.16	26.60	总酵母菌和霉菌	无 Cq	无 Cq
巧克力	大麻 DNA	27.17	27.44	总酵母菌和霉菌	无 Cq	无 Cq
巧克力	大麻 DNA	27.57	27.47	总酵母菌和霉菌	无 Cq	无 Cq
阳性对照	大麻 DNA	38.78	无 Cq	总酵母菌和霉菌	10.78	10.73
阴性对照	大麻 DNA	36.79	39.95	总酵母菌和霉菌	无 Cq	无 Cq
软糖	大麻 DNA	25.68	26.45	总大肠菌群	无 Cq	无 Cq
软糖	大麻 DNA	25.54	26.50	总大肠菌群	无 Cq	无 Cq
软糖	大麻 DNA	26.05	26.65	总大肠菌群	无 Cq	无 Cq
巧克力	大麻 DNA	26.88	27.05	总大肠菌群	32.81	33.13
巧克力	大麻 DNA	27.19	27.16	总大肠菌群	30.89	32.81
阳性对照	大麻 DNA	无 Cq	无 Cq	总大肠菌群	10.81	10.66
阴性对照	大麻 DNA	无 Cq	无 Cq	总大肠菌群	无 Cq	无 Cq
软糖	大麻 DNA	25.53	25.82	沙门氏菌/STEC	无 Cq/无 Cq	无 Cq/无 Cq
软糖	大麻 DNA	25.51	26.19	沙门氏菌/STEC	无 Cq/无 Cq	无 Cq/无 Cq
软糖	大麻 DNA	26.15	26.76	沙门氏菌/STEC	无 Cq/无 Cq	无 Cq/无 Cq
巧克力	大麻 DNA	26.15	26.62	沙门氏菌/STEC	无 Cq/无 Cq	无 Cq/无 Cq
巧克力	大麻 DNA	28.35	28.98	沙门氏菌/STEC	无 Cq/无 Cq	无 Cq/无 Cq
阳性对照	大麻 DNA	无 Cq	无 Cq	沙门氏菌/STEC	14.83/10.35	14.53/10.14
阴性对照	大麻 DNA	无 Cq	无 Cq	沙门氏菌/STEC	无 Cq/无 Cq	无 Cq/无 Cq
软糖	大麻 DNA	25.45	26.20	曲霉属真菌	无 Cq	无 Cq
软糖	大麻 DNA	25.53	26.19	曲霉属真菌	无 Cq	无 Cq
软糖	大麻 DNA	26.18	26.96	曲霉属真菌	无 Cq	无 Cq
巧克力	大麻 DNA	26.36	26.98	曲霉属真菌	无 Cq	无 Cq
巧克力	大麻 DNA	28.27	28.75	曲霉属真菌	无 Cq	无 Cq
阳性对照	大麻 DNA	无 Cq	无 Cq	曲霉属真菌	10.26	9.90
阴性对照	大麻 DNA	38.26	无 Cq	曲霉属真菌	无 Cq	无 Cq

结论

实验表明，基于Agilent Bravo 自动化液体处理平台的 Medicinal Genomics SenSATIVax 植物/微生物 DNA 纯化试剂盒和 PathoSEEK 微生物安全检测解决方案试剂盒的自动化操作可为多种基质提供

稳定、灵活且高效的 DNA 提取和 qPCR 设置工作流程。可在不到一小时的时间内完成 94 个样品的提取，可在大约 10 分钟内完成整个 96 孔板的 qPCR 反应设置。直观的用户界面引导用户完成设置过程，从而实现无缝的设置和方法执行。

www.agilent.com

DE44368.6257060185

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2021
2021 年 7 月 9 日，中国出版
5994-3636ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心：
www.agilent.com/chem/contactus-cn
免费专线：
800-820-3278, 400-820-3278（手机用户）
联系我们：
LSCA-China_800@agilent.com
在线询价：
www.agilent.com/chem/erfq-cn

