

# Agilent Bravo Automated Liquid Handler での Medicinal Genomics 社 SenSATIVAx および PathoSEEK キットの自動化

多様なマトリックスから的大麻 DNA サンプル抽出および  
qPCR セットアップの自動化

## 著者

Heather Ebling  
Medicinal Genomics  
Mike Leasia  
Cambium Analytica  
Lisa Knapp  
Agilent Technologies, Inc.

## はじめに

Medicinal Genomics 社の SenSATIVAx 植物/微生物 DNA 精製キットおよび PathoSEEK 微生物安全性試験ソリューションワークフローでは、大麻花やマリファナ含有製品 (MIP) のマトリックスに存在する微生物汚染を試験するために、磁気ビーズベースの DNA 分離および定量 PCR (qPCR) 技術を用います。これらのキットを Agilent Bravo Automated Liquid Handling Platform 上で自動化し、複数のマトリックスの分析における効率的な DNA 抽出および qPCR セットアップワークフローを作成しました。

## 自動化メソッドの特徴と主な利点

自動化された Medicinal Genomics SenSATIVAx および PathoSEEK ワークフローでは、直観的なユーザーインターフェースを利用して、カスタマイズ可能なワークフローオプションを選択できます。SenSATIVAx 実行時には最大 94 個のサンプルを処理でき、PathoSEEK 実行時には 94 の qPCR 反応 (およびポジティブコントロールとネガティブコントロール) をセットアップできます。ユーザーインターフェースからオプションを選択すると画面は更新され、必要な試薬とラボウェアのセットアップを促す画面が表示されます。

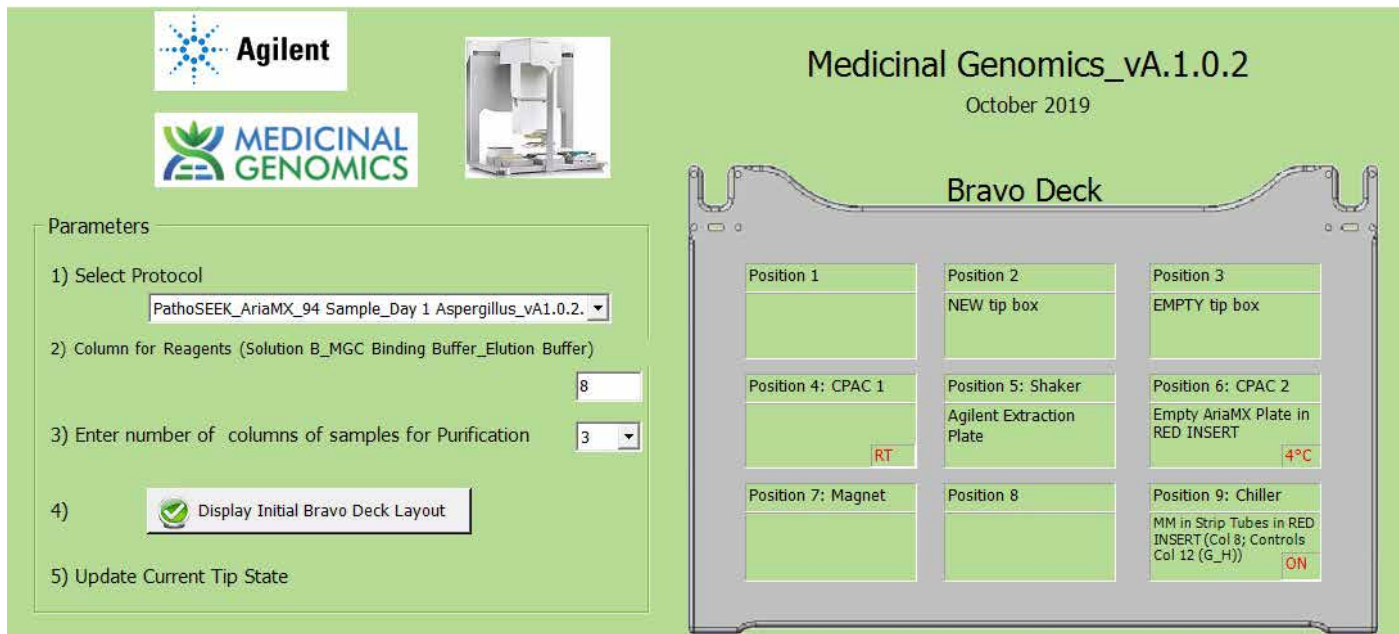


図 1. Agilent Bravo Automated Liquid Handling Platform で自動化した Medicinal Genomics PathoSEEK qPCR 設定メソッド用のユーザーインターフェース

全 94 個のサンプル抽出を約 75 分で処理でき、  
全 96 反応の qPCR を約 12 分でセットアップ可  
能です。

## SenSATIVax および PathoSEEK アッセイワークフロー

### 花のサンプル



### MIP のサンプル



## 実験方法

### 花の試験

Medicinal Genomics SenSATIVAx の花用 SOP で定義されているように、1 g の大麻花のサンプルを計量して Whirl-Pak バッグ (Nasco #B02385WA) に移した後、14.2 mL のトリブチックソイブロス (TSB, MGC #420205) をバッグに加えます。次に、花のサンプルを 1 分間、手でほぐして均質にします。続いて、1 mL の均質化された花/TSB の混合物を 1.5 mL のスナップキャップ付きチューブに移します。この処理を試験対象の 3 個の花のサンプルそれぞれについて繰り返しました。

SenSATIVAx 試薬を使用し DNA 抽出物を Bravo Platform で処理しました。同じ 3 個の花のサンプルを手動でも処理しました。

その後、Bravo で MGC PathoSEEK 全酵母およびカビ検出アッセイ (MGC #420103)、全大腸菌群検出アッセイ (MGC #420107)、2-色アスペルギルスマルチプレックス検出アッセイ (MGC #420130)、サルモネラ菌および STEC 大腸菌マルチプレックス検出アッセイ v2 (MGC #420120) を使用し、全酵母とカビ、全大腸菌群数、アスペルギルス、サルモネラ菌、志賀毒素産生性大腸菌の汚染について各サンプルを qPCR で試験しました。qPCR は Agilent AriaMx qPCR 装置で実行しました。結果は表 1 を参照してください。

表 1. 花サンプルでの手動と自動での PathoSEEK 結果の比較

| マトリックス | ターゲット  | Cq 値  |       | ターゲット       | Cq 値      |           |
|--------|--------|-------|-------|-------------|-----------|-----------|
|        |        | Bravo | 手動    |             | Bravo     | 手動        |
| 花      | 大麻 DNA | 22.24 | 20.88 | 全酵母とカビ      | NoCq      | NoCq      |
| 花      | 大麻 DNA | 22.11 | 21.17 | 全酵母とカビ      | NoCq      | NoCq      |
| 花      | 大麻 DNA | 21.39 | 20.36 | 全酵母とカビ      | NoCq      | NoCq      |
| 花      | 大麻 DNA | 22.34 | 20.37 | 全大腸菌群       | NoCq      | NoCq      |
| 花      | 大麻 DNA | 21.83 | 21.24 | 全大腸菌群       | NoCq      | NoCq      |
| 花      | 大麻 DNA | 21.51 | 20.10 | 全大腸菌群       | NoCq      | NoCq      |
| 花      | 大麻 DNA | 17.58 | 18.20 | サルモネラ菌/STEC | NoCq/NoCq | NoCq/NoCq |
| 花      | 大麻 DNA | 17.60 | 18.18 | サルモネラ菌/STEC | NoCq/NoCq | NoCq/NoCq |
| 花      | 大麻 DNA | 17.64 | 18.03 | サルモネラ菌/STEC | NoCq/NoCq | NoCq/NoCq |
| 花      | 大麻 DNA | 17.54 | 18.20 | アスペルギルス MPX | NoCq      | NoCq      |
| 花      | 大麻 DNA | 17.58 | 18.16 | アスペルギルス MPX | NoCq      | NoCq      |
| 花      | 大麻 DNA | 17.48 | 18.09 | アスペルギルス MPX | NoCq      | NoCq      |

### MIP の試験

Medicinal Genomics SenSATIVAx の MIP 用 SOP で定義されているように、1 g のグミおよびチョコレートサンプルを計量して個別の 15 mL チューブに移した後、7 mL の MIP 溶液 A を加えました。次に、MIP サンプルを溶液になるまでボルテックスして均質化しました。続いて、MIP 溶液 A で均質化された 500 µL のチョコレートまたはグミを 1.5 mL のスナップキャップ付きチューブに移します。内部 SCCG コントロールを加えて、サンプルを遠心分離しました。このサンプルの一部を新しい 1.5 mL スナップキャップ付きチューブに移し、同量のクロロホルムを加えました。ボルテックスの後、サンプルを再度遠心分離して、上澄みの一部を 96 ウェル抽出プレートに移して、MIP 溶液 B を加えました。このプロセスは、試験対象のそれぞれ 3 個のグミおよびチョコレートサンプルで並列して実行しました。SenSATIVAx 試薬を使用し、DNA 抽出の残

りの操作を Bravo Platform で処理しました。同じ 3 個の MIP のサンプルを手動でも処理しました。

その後、Bravo で MGC PathoSEEK 全酵母およびカビ検出アッセイ (MGC #420103)、全大腸菌群検出アッセイ (MGC #420107)、2-色アスペルギルスマルチプレックス検出アッセイ (MGC #420130)、サルモネラ菌および STEC 大腸菌マルチプレックス検出アッセイ v2 (MGC #420120) を使用し、全酵母とカビ、全大腸菌群数、アスペルギルス、サルモネラ菌、志賀毒素産生性大腸菌の汚染について各サンプルを qPCR で試験しました。qPCR は AriaMx qPCR 装置で実行しました。結果は表 2 を参照してください。

表 2. MIP サンプルでの手動と自動での PathoSEEK 結果の比較

| マトリックス      | ターゲット  | Cq 値  |       | アッセイ        | Cq 値        |             |
|-------------|--------|-------|-------|-------------|-------------|-------------|
|             |        | Bravo | 手動    |             | Bravo       | 手動          |
| グミ          | 大麻 DNA | 26.00 | 26.44 | 全酵母とカビ      | NoCq        | NoCq        |
| グミ          | 大麻 DNA | 26.01 | 26.38 | 全酵母とカビ      | NoCq        | NoCq        |
| グミ          | 大麻 DNA | 26.16 | 26.60 | 全酵母とカビ      | NoCq        | NoCq        |
| チョコレート      | 大麻 DNA | 27.17 | 27.44 | 全酵母とカビ      | NoCq        | NoCq        |
| チョコレート      | 大麻 DNA | 27.57 | 27.47 | 全酵母とカビ      | NoCq        | NoCq        |
| ポジティブコントロール | 大麻 DNA | 38.78 | NoCq  | 全酵母とカビ      | 10.78       | 10.73       |
| ネガティブコントロール | 大麻 DNA | 36.79 | 39.95 | 全酵母とカビ      | NoCq        | NoCq        |
| グミ          | 大麻 DNA | 25.68 | 26.45 | 全大腸菌群       | NoCq        | NoCq        |
| グミ          | 大麻 DNA | 25.54 | 26.50 | 全大腸菌群       | NoCq        | NoCq        |
| グミ          | 大麻 DNA | 26.05 | 26.65 | 全大腸菌群       | NoCq        | NoCq        |
| チョコレート      | 大麻 DNA | 26.88 | 27.05 | 全大腸菌群       | 32.81       | 33.13       |
| チョコレート      | 大麻 DNA | 27.19 | 27.16 | 全大腸菌群       | 30.89       | 32.81       |
| ポジティブコントロール | 大麻 DNA | NoCq  | NoCq  | 全大腸菌群       | 10.81       | 10.66       |
| ネガティブコントロール | 大麻 DNA | NoCq  | NoCq  | 全大腸菌群       | NoCq        | NoCq        |
| グミ          | 大麻 DNA | 25.53 | 25.82 | サルモネラ菌/STEC | NoCq/NoCq   | NoCq/NoCq   |
| グミ          | 大麻 DNA | 25.51 | 26.19 | サルモネラ菌/STEC | NoCq/NoCq   | NoCq/NoCq   |
| グミ          | 大麻 DNA | 26.15 | 26.76 | サルモネラ菌/STEC | NoCq/NoCq   | NoCq/NoCq   |
| チョコレート      | 大麻 DNA | 26.15 | 26.62 | サルモネラ菌/STEC | NoCq/NoCq   | NoCq/NoCq   |
| チョコレート      | 大麻 DNA | 28.35 | 28.98 | サルモネラ菌/STEC | NoCq/NoCq   | NoCq/NoCq   |
| ポジティブコントロール | 大麻 DNA | NoCq  | NoCq  | サルモネラ菌/STEC | 14.83/10.35 | 14.53/10.14 |
| ネガティブコントロール | 大麻 DNA | NoCq  | NoCq  | サルモネラ菌/STEC | NoCq/NoCq   | NoCq/NoCq   |
| グミ          | 大麻 DNA | 25.45 | 26.20 | アスペルギルス     | NoCq        | NoCq        |
| グミ          | 大麻 DNA | 25.53 | 26.19 | アスペルギルス     | NoCq        | NoCq        |
| グミ          | 大麻 DNA | 26.18 | 26.96 | アスペルギルス     | NoCq        | NoCq        |
| チョコレート      | 大麻 DNA | 26.36 | 26.98 | アスペルギルス     | NoCq        | NoCq        |
| チョコレート      | 大麻 DNA | 28.27 | 28.75 | アスペルギルス     | NoCq        | NoCq        |
| ポジティブコントロール | 大麻 DNA | NoCq  | NoCq  | アスペルギルス     | 10.26       | 9.90        |
| ネガティブコントロール | 大麻 DNA | 38.26 | NoCq  | アスペルギルス     | NoCq        | NoCq        |

## 結論

Bravo Automated Liquid Handling Platform での Medicinal Genomics SenSATIVAx 植物/微生物 DNA 精製キットおよび PathoSEEK 微生物安全試験ソリューションキットの自動化により、複数のマトリックスの堅牢かつ柔軟で効率的な DNA 抽出および qPCR セットアップワークフ

ローが提供されることが示されました。94 個のサンプルを 1 時間以内に抽出し、全 96 ウェルプレートでの qPCR 反応を約 10 分で設定できます。直観的なユーザーインターフェースが設定プロセス全体をガイドするため、シームレスな設定とメソッドの実行が可能になります。

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2021  
Printed in Japan, July 9, 2021  
5994-3636JAJP  
DE44368.6257060185