

Преимущества и ограничения метода петлевой амплификации

Advantages and limitations of the loop amplification method

В статье Ю.А. Макаровой, А.А. Зотикова, Г.А. Беляковой и др. «Изотермическая петлевая амплификация: эффективный метод экспресс-диагностики в онкологии», опубликованной во 2-м номере журнала «Онкоурология» за 2018 г., рассмотрен современный молекулярно-биологический метод амплификации ДНК или РНК — изотермическая петлевая амплификация (LAMP). Отмечено, что в этом методе амплификация нуклеиновых кислот (НК) происходит при постоянной температуре (около 65 °С) с использованием 4 или 6 праймеров. Метод имеет высокую специфичность, чувствительность и быстроту выполнения, не нуждается в использовании дорогостоящих приборов. LAMP успешно применяется для диагностики вирусов, бактерий и других патогенов, в том числе в составе пищевых продуктов, а также для детекции однонуклеотидных полиморфизмов. Создана модификация LAMP, предназначенная для детекции метастазов, получившая название OSNA (one-step nucleic acid amplification). Уделено внимание механизму LAMP, дизайну праймеров и диагностике онкологических заболеваний с помощью OSNA. Приведены данные литературы по сравнению методики OSNA и гистологического исследования при детекции метастатического поражения лимфатических узлов при различных видах рака, демонстрирующие неплохое сходство результатов.

Считается, что LAMP менее чувствительна к примесям при выделении НК, чем полимеразная цепная реакция (ПЦР). Однако примеси, влияющие на реакцию при ПЦР и LAMP, могут просто быть различными [1, 2], и их

возможное воздействие на чувствительность LAMP необходимо учитывать, особенно при анализе образцов, которые ранее не изучались с помощью этого метода. Кроме того, особенности образования осадка также могут влиять на оценку количества детектируемых НК при визуальной детекции результатов [3]. Следует также иметь в виду возможность резкого падения чувствительности LAMP при малом содержании НК в образце [4].

Широкому распространению LAMP в диагностических целях в значительной мере может препятствовать сложность конструирования праймеров, от качества которых зависят результаты анализов. Такая проблема в дальнейшем может разрешаться путем создания коммерческих наборов [5]. Некоторые авторы отмечают возможность контаминации образцов во время реакции или при открытии пробирок для детекции, что особенно существенно при выявлении патогенных микроорганизмов. Для решения этой проблемы разрабатываются системы, не требующие открывания пробирок. Такие системы, использующие флуоресцентно меченые праймеры, открывают дорогу для устранения еще одного ограничения LAMP — отсутствия мультиплектности реакции [6].

Следует отметить, что LAMP прежде всего диагностический метод и не является заменой ПЦР в других сферах. Например, продукт амплификации, полученный методом LAMP, невозможно клонировать. Вместе с тем этот метод постепенно находит свое место и развивается как с точки зрения непосредственно технологии, так и в аппаратном плане [7].

*Н.В. Апанович, к.м.н.; А.В. Карпунин, д.б.н.
(ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»)*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCE

1. Francois P., Tangomo M., Hibbs J. et al. Robustness of a loop-mediated isothermal amplification reaction for diagnostic applications. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2011;62(1):41–8. PMID: 21276085. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2011.00785.x.
2. Nixon G., Garson J.A., Grant P. et al. Comparative study of sensitivity, linearity, and resistance to inhibition of digital and nondigital polymerase chain reaction and loop mediated isothermal amplification assays for quantification of human cytomegalovirus. *Anal Chem* 2014;86(9):4387–94. PMID: 24684191. DOI: 10.1021/ac500208w.
3. Thiessen L.D., Keune J.A., Neill T.M. et al. Development of a grower-conducted inoculum detection assay for management of grape powdery mildew. *Plant Pathol* 2016;65(2):173–352. DOI: 10.1111/ppa.12421.
4. Thiessen L.D., Neill T.M., Mahaffee W.F. Development of a quantitative loop-mediated isothermal amplification assay for the field detection of *Erysiphe necator*. *Peer J* 2018;6:e4639. PMID: 29692952. DOI: 10.7717/peerj.4639.
5. Abdullahi U.F., Naim R., Taib W.R.W. et al. Loop-mediated isothermal amplification (lamp), an innovation in gene amplification: bridging the gap in molecular diagnostics; a review. *IJCT* 2015;8(17):1–12. DOI: 10.17485/ijct/2015/v8i17/55767.

6. Ball C.S., Light Y.K., Koh C. et al. Quenching of unincorporated amplification signal reporters in reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification enabling bright, single-step, closed-tube, and multiplexed detection of RNA viruses. *Anal Chem* 2016;88(7):3562–8. PMID: 26980448. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b04054.
7. Biswal D. Advances in loop-mediated isothermal amplification (LAMP) technology and its necessity to detect helminth infections: an overview. *Biomarkers J* 2016;2(2):1–5. DOI: 10.21767/2472-1646.100015.