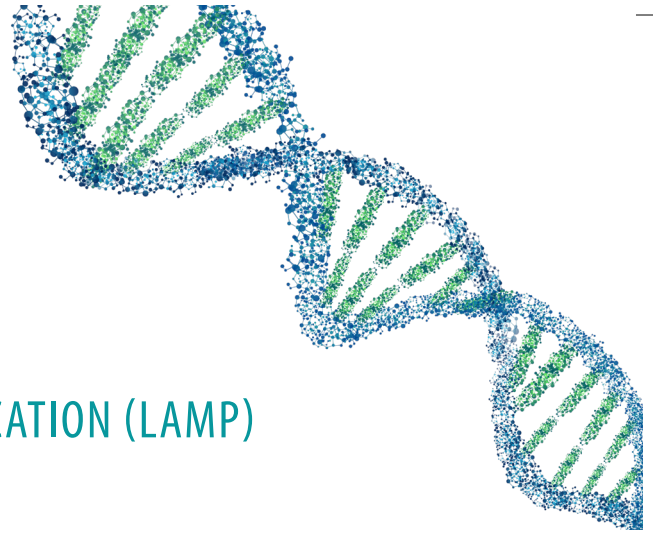


## BÖLÜM 8

### LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP)



H. Esra AĞEL<sup>1</sup>

Moleküler biyoloji ve biyoteknoloji alanındaki gelişmelere paralel olarak, nükleik asit temelli yöntemler hastalık etkenlerinin belirlenmesinde rutin laboratuvar ve hatta sahada uygulanabilen tanı teknikleri haline gelmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] yöntemi yoğun olarak kullanılıyor olmasına karşın hedef bölgenin çoğaltılmasında ısı döngü cihazına gereksinim olması, bu tekniğin sahanın gerektirdiği koşullara uyarlanarak kullanılmasını kısıtlamaktadır<sup>1</sup>. Son yıllarda tanı teknolojileri, yüksek hassasiyette ve doğrulukta ancak ciddi bir laboratuvar alt yapısı ve kompleks cihaz gerektiren testlerden, nispeten daha düşük hassasiyetteki ancak hasta başı uygulamalarında kullanılacak tanı yöntemlerine doğru yönelim içerisinde<sup>2</sup>.

Hasta başı testler [point of care test (POCT)] donanımlı laboratuvarlar dışında uygulanabilen, kullanımı kolay, taşınabilen cihazlarla çok hızlı sonuç veren, laboratuvar eğitimi ve tecrübesi olan veya olmayan personel tarafından uygulanabilen testlerdir<sup>3,4</sup>. Yirmi birinci yüzyıla gelinceye kadar, nükleik asit (NA) tabanlı patojen tespit yöntemleri, PCR yöntemi

ile kompleks cihazlara ve tam donanımlı laboratuvarlara bağımlı olmuştur. Ancak 2000 yılında Notomi ve arkadaşlarının geliştirmiş olduğu basit, hızlı, özgül ve düşük maliyetli [loop-mediated isothermal amplification (LAMP)] yöntemi, NA temelli tanı çalışmalarına farklı bir boyut kazandırmıştır<sup>5,6</sup>.

#### Moleküler Tanı Yöntemi Olarak LAMP'in Avantajları

Salgına neden olan hastalıkların kontrolü amacıyla, karantina uygulamalarında her bölgede ayrı birer laboratuvar kurulamayacağı ve yeterince uzman personel görevlendirilemeyeceği için, patojenlerin tanısının hızlı ve doğru bir şekilde yapılabileceği daha ucuz, kullanımı kolay ve sahaya uygun şekilde yerinde tanı koyabilen hasta başı POCT yöntemleri geliştirilmiştir<sup>7,8</sup>. Amplifikasyon teknikleri arasında LAMP, etkin bir tanı testi olarak öne çıkmaktadır. LAMP'in en önemli avantajı, diğer herhangi bir nükleik asit amplifikasyon tekniğinden farklı olarak çok kısa sürede sonuçlanmasıdır, örneğin PCR için en az 90 dakika süre gerekirken, LAMP sadece 30 dakika içerisinde gerçekleştirilebilmektedir. LAMP'in

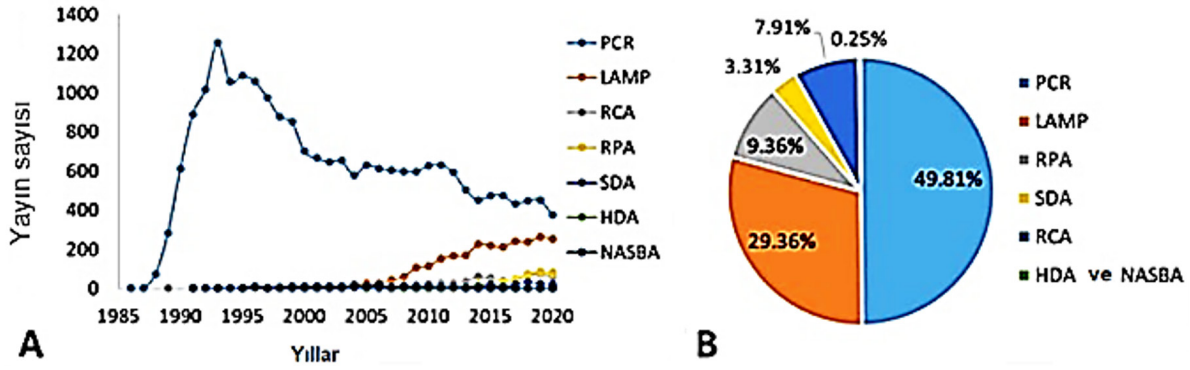
<sup>1</sup> Dr., TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Sensör ve Sistem Teknolojileri, Gebze, KOCAELİ, esra.agel@tubitak.gov.tr

## LAMP'in Kullanım Potansiyeli

LAMP, kısa sürede yüksek miktarda ampikon üretmesi ve gözle değerlendirilebilir sonuçlar alınmasını sağlaması gibi özellikleri nedeni ile çığır açan bir nükleik asit amplifikasyon yöntemidir.

Son yıllarda mikrobiyolojik enfeksiyonların, insan, hayvan ve bitki hastalıklarının tespiti için bir teşhis aracı olarak kullanılmış ve ayrıca COVID-19

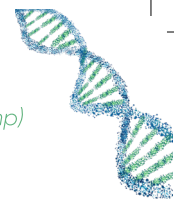
pandemisi sırasında çok sayıda araştırma makalesine konu olmuştur<sup>20,39</sup>. Bunun dışında LAMP, yüksek özgüllüğe sahip olduğu için örneğin Down sendromu ve talasemi gibi fetüsteki genetik hastalıkların erken teşhisinde de uygulanabilir. LAMP ile mikroakışkan sensörlerle uygulandığı pek çok çalışmada mevcuttur. Özetle, LAMP, DSÖ tarafından önerilen tüm kriterleri karşıladığı için ideal bir saha tarama yöntemi olabilir.



Şekil 11. NA temelli tanı yöntemleri ile yapılan çalışmaların yıllara göre değişimi<sup>39</sup>.

## Kaynaklar

- Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* 2000;28(12): E63.
- Broadhurst MJ, Brooks TJG, Pollock NR. Diagnosis of Ebola Virus Disease: Past, Present, and Future. *Clin Microbiol Rev* 2016;29(4): 773-93.
- Vazgeçer, B., Temiz, A. Salmonella izolasyonu ve tanımlanması. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2005;3(4): 1-27
- Mabey D, Peeling RW, Ustianowski A, Perkins MD. Diagnostics for the developing world. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(3): 231-40.
- Notomi T, Mori Y, Tomita N, Kanda H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects. *J Microbiol* 2015;53(1): 1-5.
- Mori Y, Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *J Infect Chemother* 2009;15(2): 62-9.
- Becherer L, Borst N, Bakheit M, Frischmann S, Zengerle R, Stetten F von. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) – review and classification of methods for sequence-specific detection. *Anal Methods* 2020;12(6): 717-46.
- Mori Y, Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *J Infect Chemother* 2009;15(2): 62-9.
- Fang X, Liu Y, Kong J, Jiang X. Loop-Mediated Isothermal Amplification Integrated on Microfluidic Chips for Point-of-Care Quantitative Detection of Pathogens. *Anal Chem* 2010;82(7): 3002-6.
- Chander Y, Koelbl J, Puckett J, Moser MJ, Klingele AJ, Liles MR, et al. A novel thermostable polymerase for RNA and DNA loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Front Microbiol* 2014;5: 395.
- Nie X. Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA for Detection of Potato virus Y. *Plant Dis* 2005;89(6): 605-10.
- Peyrefitte CN, Boubis L, Coudrier D, Bouloy M, Grandadam M, Tolou HJ, et al. Real-time reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of rift valley Fever virus. *J Clin Microbiol* 2008;46(11): 3653-9.
- Mabey D, Peeling RW, Ustianowski A, Perkins MD. Diagnostics for the developing world. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(3): 231-240.
- Kaneko H, Kawana T, Fukushima E, Suzutani T. Tolerance of loop-mediated isothermal amplification to a culture medium and biological substances. *J Biochem Biophys Methods* 2007;70(3): 499-501.
- Tomita N, Mori Y, Kanda H, Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products. *Nat Protoc* 2008;3(5): 877-82.
- Mansour SMG, A. Haytham, Chase CCL, Cepica A. Loop-mediated isothermal amplification for diagnosis of 18 World Organization for Animal Health (OIE) notifiable viral diseases of ruminants, swine and poultry. *Animal Health Research Reviews* 2015; (1-18).
- Arifin MI. Development of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and a polymerase chain reaction (PCR) assays for diagnosis of *Fasciola hepatica* in animal faeces and comparison with traditional diagnostic methods. undefined [Internet]. 2016 [a.yer 26 Mayıs 2022]; Erişim adresi: [https://www.semanticscholar.org/paper/Development-of-a-loop-mediated-isothermal-\(LAMP\)-a-Arifin/243d92418458fabfc445c88e2baba553d7f3c319](https://www.semanticscholar.org/paper/Development-of-a-loop-mediated-isothermal-(LAMP)-a-Arifin/243d92418458fabfc445c88e2baba553d7f3c319).



18. Mori Y, Nagamine K, Tomita N, Notomi T. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;289(1): 150-4.
19. Moehling TJ, Choi G, Dugan LC, Salit M, Meagher RJ. LAMP Diagnostics at the Point-of-Care: Emerging Trends and Perspectives for the Developer Community. *Expert Rev Mol Diagn* 2021;21(1): 43-61.
20. De Paz HD, Brotons P, Muñoz-Almagro C. Molecular isothermal techniques for combating infectious diseases: towards low-cost point-of-care diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2014;14(7): 827-43.
21. Moehling TJ, Choia G, Duganb LC, Salitc M, Meagher RJ. LAMP Diagnostics at the Point-of-Care: Emerging Trends and Perspectives for the Developer Community. *Expert Review of Molecular Diagnostics* 2021;21(1): 43-61.
22. LAMP primer designing software PrimerExplorer [Internet]. [a.yer 26 Mayıs 2022]. Erişim adresi: <https://primerexplorer.jp/e/>
23. Torres C, Vitalis EA, Baker BR, Gardner SN, Torres MW, Dzenitis JM. LAVA: An Open-Source Approach To Designing LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) DNA Signatures. *BMC Bioinformatics* 2011;12(1): 240.
24. Mori Y, Kitao M, Tomita N, Notomi T. Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantifying template DNA. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 2004;59(2): 145-57.
25. Gill P, Ghaemi A. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2008;27(3): 224-43.
26. Parida M, Sannarangaiah S, Dash PK, Rao PVL, Morita K. Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases. *Rev Med Virol* 2008;18(6): 407-21.
27. Li JJ, Xiong C, Liu Y, Liang JS, Zhou XW. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP): Emergence As an Alternative Technology for Herbal Medicine Identification. *Front Plant Sci* 2016;7: 1956.
28. Hansen S, Abd El Wahed A. Point-Of-Care or Point-Of-Need Diagnostic Tests: Time to Change Outbreak Investigation and Pathogen Detection. *Trop Med Infect Dis* 2020;5(4): E151.
29. Zhou J, Liao Y, Li H, Lu X, Han X, Tian Y, et al. Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Trichosporon asahii* in experimental and clinical samples. *Biomed Res Int* 2015;2015: 732573.
30. Zhao Y, Chen F, Li Q, Wang L, Fan C. Isothermal Amplification of Nucleic Acids. *Chem Rev* 2015;115(22): 12491-545.
31. Üvey M, Ünal N. İnfeksiyonların tanısında en çok kullanılan izotermal amplifikasyon yöntemleri. Isothermal amplification methods most used in the diagnosis of infections [Internet]. 2018 [a.yer 26 Mayıs 2022]; Erişim adresi: <http://acikerisim.aku.edu.tr/xmlui/handle/11630/5289>.
32. Monis PT, Giglio S, Saint CP. Comparison of SYTO9 and SYBR Green I for real-time polymerase chain reaction and investigation of the effect of dye concentration on amplification and DNA melting curve analysis. *Anal Biochem* 2005;340(1): 24-34.
33. Dukes JP, King DP, Alexandersen S. Novel reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of foot-and-mouth disease virus. *Arch Virol* 2006;151(6): 1093-106.
34. Soliman H, El-Matbouli M. An inexpensive and rapid diagnostic method of Koi Herpesvirus (KHV) infection by loop-mediated isothermal amplification. *Virol J* 2005;2: 83.
35. Wahed AAE, El-Deeb A, El-Tholoth M, Kader HAE, Ahmed A, Hassan S, et al. A Portable Reverse Transcription Recombinase Polymerase Amplification Assay for Rapid Detection of Foot-and-Mouth Disease Virus. *PLOS ONE* 2013;8(8): e71642.
36. Tanner NA, Zhang Y, Evans TC. Visual detection of isothermal nucleic acid amplification using pH-sensitive dyes. *BioTechniques* 2015;58(2): 59-68.
37. Yang W, Junfei D, Yongsheng L, Jifei Y, Qian H, Yunwen O, et al. Development of a Potential Penside Colorimetric LAMP Assay Using Neutral Red for Detection of African Swine Fever Virus. *Front Microbiol* 2021;12: 1-11.
38. Mori Y, Kitao M, Tomita N, Notomi T. Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantifying template DNA. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 2004;59(2): 145-57.
39. Than Linh Q. Rapid Detection of Pathogens Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) for Point-of-Care Diagnosis. Kgs. Lyngby, Denmark: DTU Bioengineering; 2021.
40. Ocwieja KE, Sherrill-Mix S, Liu C, Song J, Bau H, Bushman FD. A reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay optimized to detect multiple HIV subtypes. *PLoS One* 2015;10(2): e0117852.
41. Odari EO, Maiyo A, Lwembe R, Gurtler L, Eberle J, Nitschko H. Establishment and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the semi-quantitative detection of HIV-1 group M virus. *J Virol Methods* 2015;212: 30-8.
42. Tanner NA, Zhang Y, Evans TC. Simultaneous multiple target detection in real-time loop-mediated isothermal amplification. *Biotechniques* 2012;53(2): 81-9.
43. Liu J, Mazumdar D, Lu Y. A simple and sensitive "dipstick" test in serum based on lateral flow separation of aptamer-linked nanostructures. *Angew Chem Int Ed Engl* 2006;45(47): 7955-9.
44. Jaroenram W, Kiatpathomchai W, Flegel TW. Rapid and sensitive detection of white spot syndrome virus by loop-mediated isothermal amplification combined with a lateral flow dipstick. *Mol Cell Probes* 2009;23(2): 65-70.
45. Rigano LA, Malamud F, Orce IG, Filippone MP, Marano R, Amaral AM, et al. Rapid and sensitive detection of *Candidatus Liberibacter asiaticus* by loop mediated isothermal amplification combined with a lateral flow dipstick. *BMC Microbiology* 2014;14: 86.
46. Górska A, Paczosa-Bator B, Szłósarczyk M, Piech R. Highly sensitive voltammetric determination of captopril on renewable amalgam film electrode. *Talanta* 2022;237: 122937.
47. Olabarria G, Eletxigerrab U, Rodriguez A, Bilbao A, Berganza J, Merino S. Highly sensitive and fast *Legionella* spp. in situ detection based on a loop mediated isothermal amplification technique combined to an electrochemical transduction system. *Talanta* 2020;217(1-8).
48. Ramírez-Chavarría RG, Castillo-Villanueva E, Alvarez-Serna BE, Carrillo-Reyes J, Ramírez-Zamora RM, Buitrón G, et al. Loop-mediated isothermal amplification-based electrochemical sensor for detecting SARS-CoV-2 in wastewater samples. *J Environ Chem Eng* 2022;10(3): 107488.
49. Ravan H, Yazdanparast R. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method in conjunction with an enzyme-linked immunosorbent assay for specific detection of *Salmonella* serogroup D. *Anal Chim Acta* 2012;733: 64-70.
50. Sun YL, Yen CH, Tu CF. Visual Detection of Canine Parvovirus Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification Combined with Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Lateral Flow Dipstick. *J Vet Med Sci* 2014;76(4): 509-16.