

Выявление патогена ЦНС *Streptococcus agalactiae* методом изотермической амплификации LAMP, совмещенным с детекцией дезоксирибозимными сенсорами

Шуб Арина Сергеевна

Студент (магистр)

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Saint Petersburg, Россия

E-mail: arinaserh@yandex.ru

Заболееваемость инфекциями центральной нервной системы (ЦНС), в том числе менингитами, в последние годы возросла. Воспаление при менингите может стать причиной смерти. Основные патогенные бактерии, участвующие в менингите, варьируются в зависимости от возраста и степени иммунокомпромисса. Так, частым возбудителем менингита у новорожденных является *Streptococcus agalactiae* [2]. Для выявления данного патогена используют полимеразную цепную реакцию и микробиологические исследования образцов спинномозговой жидкости и крови [1]. Эти методы подразумевают наличие дорогостоящего оборудования или занимают много времени. Следовательно, разработка быстрого и доступного метода для детекции ДНК *S. agalactiae* является актуальной задачей.

Целью исследования являлась оптимизация изотермической амплификации LAMP (loop-mediated isothermal amplification) с последующей инкубацией продукта с бинарными ДНК-зимными сенсорами для выявления ДНК *S. agalactiae*.

Для получения бактериальной ДНК использовался метод фенол-хлороформной очистки. Изотермическая LAMP амплификация проводилась в течение 60 мин при температуре 65 °С. Был оптимизирован состав реакционной смеси: 10x буфер для *bst* полимеразы (SibEnzyme), 12 mM MgSO₄ (SibEnzyme), 0,8 mM этиленгликоль, 1,4 mM dNTP (Evrogen), *bst* полимеразы, прямой (F3) и обратный (B3) наружные праймеры (конечная концентрация 0,02 mM), прямой (FIP) и обратный (BIP) внутренние праймеры (конечная концентрация каждого 1,6 mM). Подбор праймеров осуществлялся с помощью программы Oligoanalyzer. 2% агарозный гель-электрофорез использовался для визуализации продуктов амплификации.

Дезоксирибозимные сенсоры были сконструированы с использованием программ mFold и NuPack. Инкубация ампликонов с сенсорами проводилась при температуре 55 °С в течение 60 мин, затем флуоресценция F-sub измерялась на планшетном ридере Tecan при длинах волн возбуждения и излучения - 480-525 нм. Результат представлялся в виде отношения сигнал/шум (ОСШ).

В ходе LAMP амплификации был получен продукт, ложноположительные результаты отсутствовали. После инкубации ДНКзимных сенсоров с полученным ампликоном получено ОСШ 2,8, что говорит об успешной детекции.

Подводя итог, можно сделать вывод, что изотермическая амплификация с последующей детекцией дезоксирибозимными сенсорами является отличным методом для point-of-care диагностики, предоставляя точный и быстрый результат. Дальнейшие планы включают разработку диагностикомов для детекции других патогенов ЦНС.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-75-10073) на базе научного центра SCAMT (Университет ИТМО) в рамках программы Приоритет 2030.

Источники и литература

- 1) Kalchev Y. Current methods for microbiological diagnosis of acute central nervous system infections //Folia Medica. 2022. Т. 64. № 5. С. 709-715.
- 2) Tavares T.. Group B streptococcal neonatal meningitis //Clinical Microbiology Reviews. 2022. Т. 35. № 2. С. e00079-21.