ДИЗАЙН ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

© Л.У. Ахметзянова, Т.М. Давлеткулов, И.М. Губайдуллин

www.lianab@mail.ru, russian.lolik@gmail.com, irekmars@mail.ru

УДК 51-76

DOI: 10.33184/mnkuomsh2t-2021-10-06.55.

В данной работе представлены результаты разработки компьютерной программы, которая позволяет подбирать (моделировать) праймеры с учетом рекомендуемых условий подбора для проведения петлевой изотермической амплификации (Loop-mediated isothermal AMPlification). Программа написана на языке программирования Python с использованием биоинформатической библиотеки biopython.

Ключевые слова: дизайн праймеров, LAMP, изотермическая петлевая амплификация, Python.

Design of primers for loop-mediated isothermal amplification

This paper presents the software which allows user to do primer design (primer modeling) for taking into account the recommended selection conditions for loop-mediated isothermal amplification. The authors used the Python programming language with biopython library.

Keywords: primer design, LAMP, loop mediated isothermal amplification, Python.

Петлевая изотермическая амплификация (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP) – это способ амплификации нуклеиновых кислот, который заключается в использовании для амплификации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) или рибонуклеиновой кислоты (РНК) в изотермических условиях [1]. Для успешного проведения LAMP необходимо правильно подобрать праймеры. Праймеры – это короткие искусственно созданные нуклеотидные последовательности комплементарные целевым участкам ДНК [2]. Чаще всего используют наборы из шести праймеров, схема расположения которых представлена на рисунке 1 [3].

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-37-90091).

Ахметзянова Лиана Ульфатовна, ассистент, УГНТУ, аспирант, ИНК УФИЦ РАН (Уфа, Россия); Liana Akhmetzianova (Ufa State Petroleum Technological University, Institute of Petrochemistry and Catalysis, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia)

Давлеткулов Тимур Маратович, студент, УГНТУ (Уфа, Россия); Timur Davletkulov (Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russia)

Губайдуллин Ирек Марсович, д.ф.-м.н., заведующий лабораторией математической химии, ИНК УФИЦ РАН, профессор, УГНТУ (Уфа, Россия); Irek Gubaydullin (Institute of Petrochemistry and Catalysis, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russia)

Рис. 1: Схема расположения праймеров при LAMP

Комплект праймеров содержит внешние (F3, B3), внутренние (F2, F1c, B1c, B2, имеют удвоенную длину (FIP, BIP)) и петлевые (LoopF, LoopB) праймеры.

Дизайн праймеров для LAMP представляет собой нетривиальную задачу из-за большого количества праймеров и длины генома, и поэтому требует разработки специальных компьютерных программ. Однако существующие программы не обладают достаточным функционалом для эффективного компьютерного моделирования [4, 5]. Кроме того, они позволяют проводить подбор праймеров исключительно для стандартного проведения LAMP, не предусматривающего повышенной специфичности проведения этой реакции. Нами разработана специальная компьютерная программа, реализованная на языке программирования Python с использованием библиотеки biopython, позволяющей работать с последовательностями ДНК, РНК.

Входными параметрами являются: файл в формате FASTA, в котором хранится нуклеотидная последовательность генома для проведения LAMP, длина целевого участка (нуклеотиды), диапазон длины праймеров (нуклеотиды), GC-состав (%), температура плавления ($^{\circ}\text{C}$). Программа формирует праймеры согласно заданным начальным условиям и группирует их по наборам. Наборы формируются с учетом заданных начальных условий подбора праймеров и ключевых параметров: отсутствие гомо- и гетеродимеров, минимальная разница температур плавления и GC-состава среди праймеров в наборе. Выходными данными программы являются: оптимальные наборы праймеров, их позиции присоединения к геному, температура плавления, GC-состав и энергия Гиббса. Для проведения конкретного лабораторного эксперимента пользователь может выбрать подходящий набор из представленных.

В дальнейшем планируется учитывать термодинамические характеристики праймеров, а также добавить необходимый ключевой параметр гибридизационный зонд с самостоятельным местом отжига, который будет служить дополнительным идентификатором амплификации искомой последовательности, тем самым, исключая ложные результаты.

Литература

1. *Notomi T.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA // *Nucleic Acids Research*, 2000. V.28 № 12. — E63.
2. *Гарафутдинов Р.Р., Мавзютов А.Р., Алексеев Я.И., Воробьев А.А., Ни-копоров Ю.М., Чубукова О.В., Матиниязов Р.Т., Баймиев Ан.Х., Максимов И.В., Кулуев Б.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В.* Бетакоронавирусы человека и их высокочувствительная детекция с помощью ПЦР и прочих методов амплификации // *Биомика*, 2020. Т.12. № 1. — 121-179.
3. *Хафизов К.Ф., Петров В.В., Красовитов К.В., Золкина М.В., Акимкин В.Г.* Экспресс-диагностика новой коронавирусной инфекции с помощью реакции петлевой изотермической амплификации // *Вопросы вирусологии*, 2021. Т.66. № 1. — 17-28.
4. *PrimerExplorer*. URL: <https://primerexplorer.jp/e/>
5. *NEB LAMP Primer Design Tool*. URL: <https://lamp.neb.com/>