

甲型流感H1N1等重大病原体新一代LAMP基因诊断芯片

方雪恩 孔继烈，复旦大学化学系

- 环介导的等温核酸扩增技术 (Loop-Mediated Isothermal Amplification, LAMP) 是2000年开发的一种新的核酸等温扩增技术。该技术依赖能够识别靶序列上6个特异区域的引物和一种具有链置换特性的DNA聚合酶，在等温条件下高速、高效、高特异地扩增靶序列。但是LAMP方法由于其信号的不可区分性和引物的复杂性很难像PCR那样实现多重目标物的同时检测。微流控技术概念提出于90年代初，是未来生命科学、化学与信息科学发展的重要技术平台。该技术可以将分析装备微型化、芯片化、集成化和高通量化，使分析效率成百千倍提高，试样和试剂消耗成百千倍下降。本工作整合环介导等温核酸扩增技术和微流控芯片技术,建立多重、定量的LAMP微芯片模块，并将其应用于甲型流感病毒H1N1的分型。

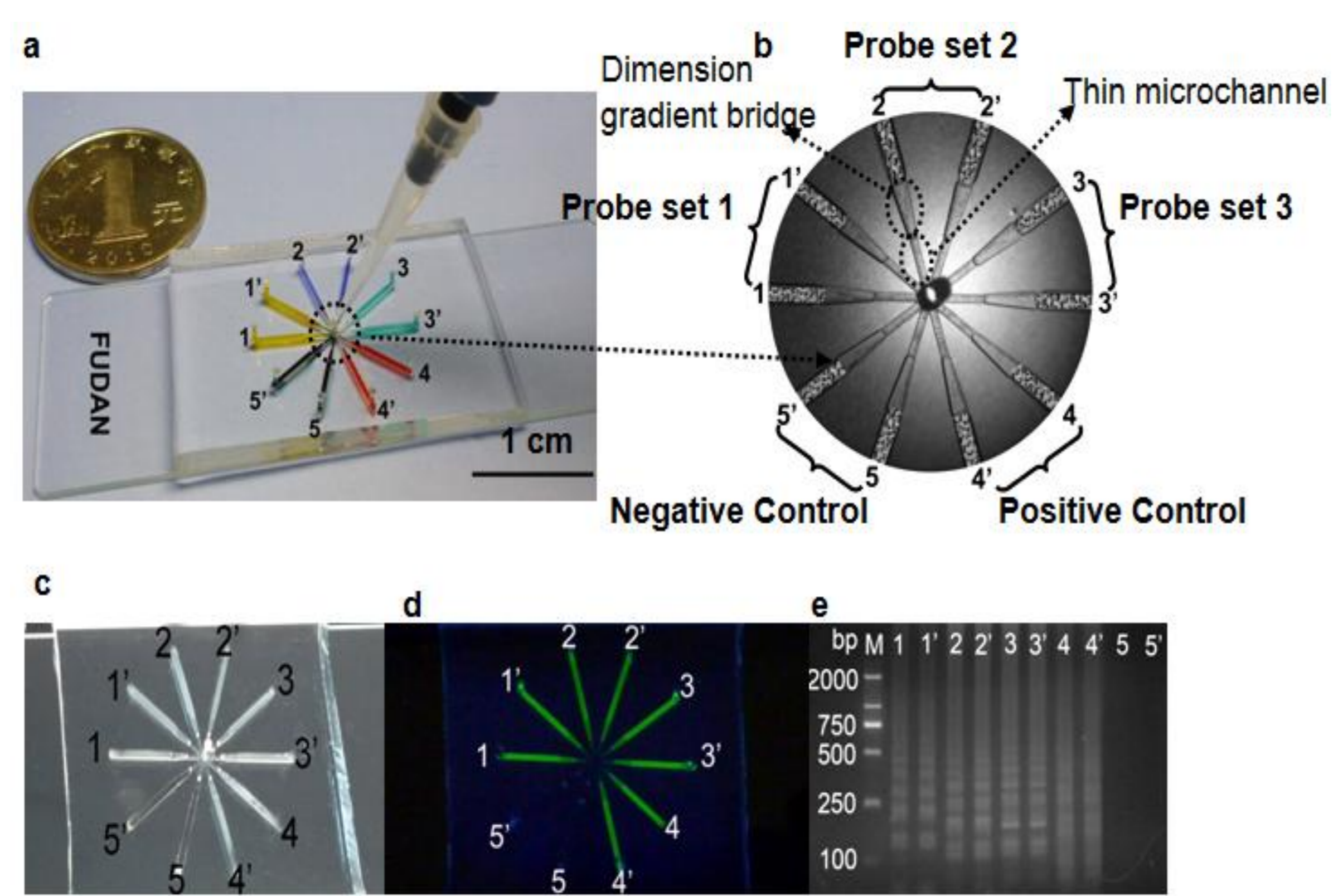


图1 多重定性微流控LAMP芯片

(a)多重定性芯片实物照片和示意图；(b)LAMP芯片白色沉淀读出方式；(c)LAMP芯片绿色荧光读出方式；(d)LAMP芯片凝胶电泳读出方式

- 本项目工作以甲型流感病毒，季节性甲流病毒和2009年猪源性甲流病毒为研究对象,分别针对三种病毒的核酸保守区，设计了三套特异性LAMP探针。通过单因素试验优化了甲流LAMP反应体系，利用软光刻和光纤传感器技术制作了多重定性/定量微流控芯片，最终成功建立了甲型流感病毒的LAMP微流控分型芯片（图1）。

- 此多重分型LAMP芯片操作简便，价格便宜，不依赖昂贵仪器，仅需要4 μ L 的样品，可以在45 min 至60 min内区分出被检样品中所含的甲型流感病毒的类型。同时该芯片检测体系可以扩展到其它任意病原体的核酸床边快速检测分型，对于某些重要病原体的防控具有十分重大的意义（图2）。

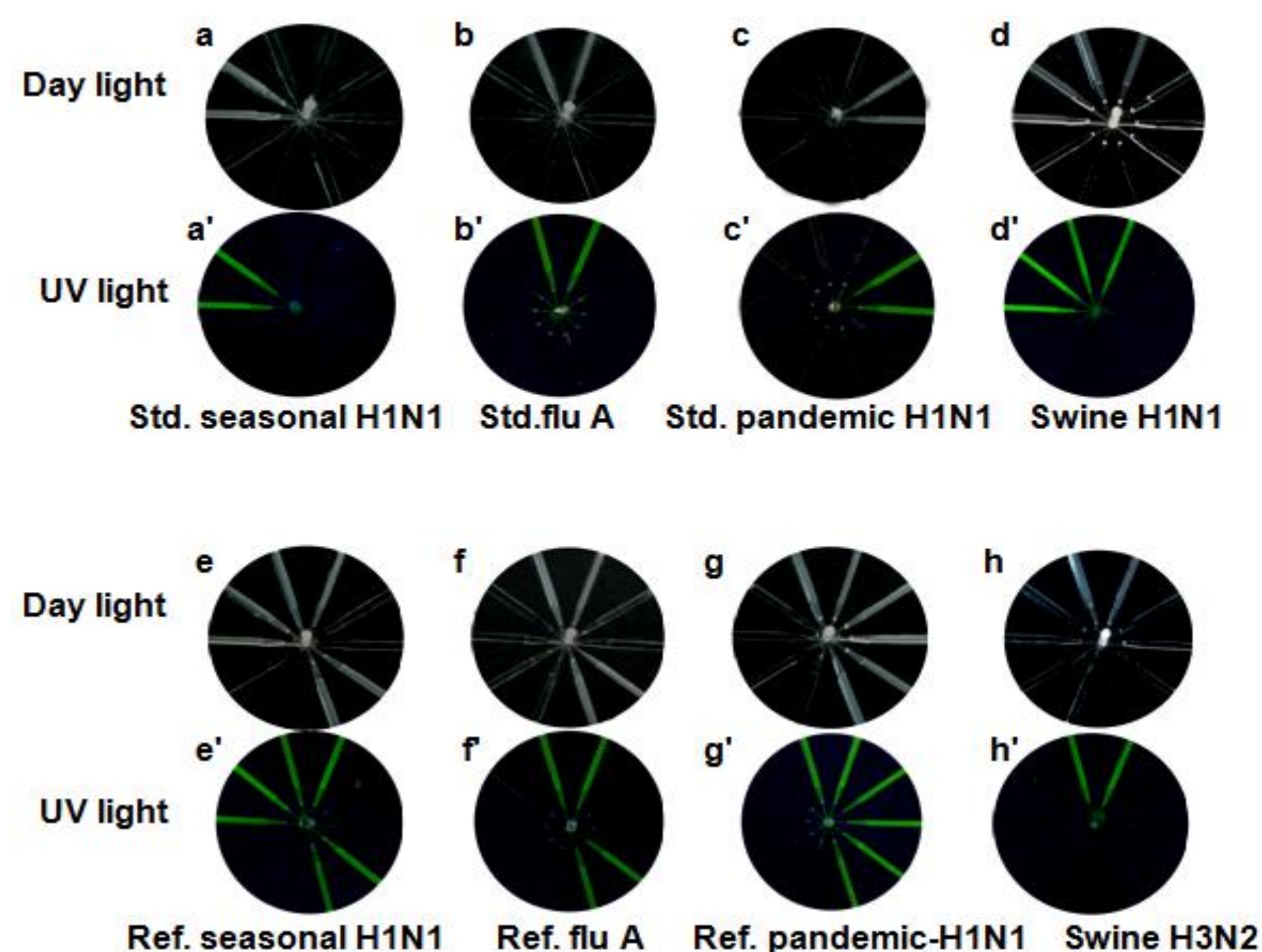


图2 多重定性微流控LAMP芯片的应用

(a-c) 三种甲流标准株；(e-g)三种甲流参考株；(d,h)猪流感病毒H2N3,H1N1.

世界卫生组织称，LAMP方法有望在2015年前在快速检测领域取代PCR，而多重LAMP概念的提出具有很强的前瞻性和创新性，其低成本性，高特异、灵敏度和高集成性有望使其在传染病防控、疾病诊断、食品安全等重大领域得到应用，尤其适合口岸快速检测，市场潜力巨大。

联系人：
方雪恩，13564989659
复旦大学化学系
上海市邯郸路220号，200433