

Разработка LAMP-теста для скрининга культур эукариотических клеток, культивируемых in vitro, на микоплазменную контаминацию

Научный руководитель – Богомазова Александра Никитична

Ульянов Артём Денисович

Студент (бакалавр)

Российский университет дружбы народов, Медицинский факультет, Москва, Россия

E-mail: mysteriousvolleysar@gmail.com

Культивирование эукариотических клеток in vitro сопряжено с риском их контаминации микоплазмами нескольких видов *Mycoplasma arginini*, *M. fermentans*, *M. hominis*, *M. hyorhina*, *M. orale* и *Acholeplasma laidlawii* [1]. Микоплазменная контаминация приводит к искажению результатов экспериментов, снижению воспроизводимости и, нередко, к значительным финансовым потерям. В связи с этим клеточные культуры регулярно проходят проверку на наличие микоплазм. Наиболее популярный метод скрининга микоплазменной контаминации основан на выявлении ДНК микоплазм с помощью ПЦР. Технология LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) представляет собой перспективную альтернативу для скрининга, т. к. она позволяет амплифицировать ДНК значительно быстрее и при постоянной температуре, что исключает необходимость использования дорогостоящего оборудования, такого как термоциклеры [1]. Целью настоящего исследования было изучить видовую представленность микоплазм в клеточных культурах, разработать тест на основе LAMP для скрининга микоплазменной контаминации и оценить его чувствительность.

В рамках исследования мы выделили тридцать один образец микоплазмы из клеточных культур, культивировавшихся в четырех лабораториях трех московских институтов. Для видовой идентификации использовали секвенирование по Сэнгеру участка гена 16S рРНК. Это позволило нам определить, что во всех проанализированных образцах содержится *M. hyorhina*. Мы выбрали праймеры для LAMP к консервативному участку гена 23S рРНК, которые позволяют выявлять ДНК микоплазм *M. hyorhina*, а также *M. arginini*, *M. fermentans*, *M. hominis*, *M. orale*.

Для оценки чувствительности разработанного LAMP-теста мы провели эксперименты с рекомбинантной плазмидой, содержащей фрагмент гена 23S rRNA. Мы провели также искусственное заражение микоплазмой *M. hominis* клеток аденокарциномы простаты LnCap, культивируемых in vitro, чтобы определить чувствительность LAMP-теста к различному уровню заражения клеточных культур и при различных методах выделения ДНК. Результаты этих экспериментов будут доложены на конференции.

Таким образом, разработанная нами LAMP-система может служить эффективным решением для быстрого и надёжного выявления микоплазменного загрязнения в клеточных культурах.

Источники и литература

- 1) Soheily, Z., Soleimani, M., & Majidzadeh-Ardebili, K. (2018). Detection of mycoplasma contamination of cell culture by a loop-mediated isothermal amplification method. Cell Journal (Yakhteh), 21(1), 43.