

Детектування генетично модифікованих рослин з використанням технологій LAMP (реакція ампліфікації, що опосередкована через петлю)

Б. В. Сорочинський

Український інститут експертизи сортів рослин, вул. Генерала Родимцева, 15, м. Київ, 03041, Україна,
e-mail: bsorochinsky@gmail.com

Мета. Проаналізувати світовий досвід застосування реакції ампліфікації, що опосередкована через петлю (LAMP), для детектування генетично модифікованих рослин. **Результати.** Наведено загальну інформацію щодо сучасного стану поширення генетично модифікованих рослин. Попри значне поширення генетично модифікованих рослин, ставлення до них у суспільстві й досі залишається дещо настороженим. Приблизно 50 країн запровадили обов'язкове маркування ГМ кормів та продуктів за умови, що їхній уміст перевищує певне порогове значення. Для того, щоб виконати вимоги до маркування, потрібно розробити та стандартизувати ефективні й чутливі методи визначення відомих генетичних модифікацій у різноманітній рослинній сировині, харчовій продукції та кормах для тварин. Найпоширенішими підходами до детектування генетично модифікованих організмів (ГМО) є визначення специфічних білків, що синтезуються у трансгенних рослинах, та детектування нових привнесених генів. Методи визначення ГМО, засновані на аналізі нуклеїнових кислот, є поширенішими, оскільки мають більшу чутливість та специфічність порівняно з аналізом білкового складу. Основним методом аналізу нуклеїнових кислот, що зараз використовується для детектування ГМО, є метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Альтернативою методу ПЛР убачається реакція ампліфікації, що опосередкована через петлю (LAMP), яка може відбуватися за постійної температури й тому не потребує використання коштовного обладнання. Проаналізовано наукові публікації, що стосуються використання реакції LAMP для детектування генетично модифікованих рослин. Описано переваги та недоліки методів полімеразної ланцюгової реакції та ампліфікації, що опосередкована через петлю. **Висновки.** Основним критерієм для застосування того чи іншого методу аналізу ГМО є, насамперед, його чутливість, тривалість реакції, доступність та простота виконання, вартість реагентів і обладнання, а також можливість здійснювати одночасне детектування якомога більшої кількості зразків.

Ключові слова: генетично-модифіковані організми; мішені для детектування; ПЛР; LAMP; межа чутливості.

Вступ

Генетично модифіковані (ГМ) рослини, що створені, насамперед, завдяки використанню технологій рекомбінантних ДНК, широко використовують в усьому світі, починаючи з 1996 року. У 2019 році 29 країн вирощували біотехнологічні рослини на площі 190,4 млн га [1]. Найбільшими виробниками генетично модифікованих рослин залишилися США (загальна площа посівів – 71,5 млн га), Бразилія (52,8 млн га), Аргентина (24 млн га), Канада (12,5 млн га) та Індія (11,9 млн га). На глобальному світовому ринку у 2019 р. частка ГМ рослин ріпаку становила 79% від загаль-

ної площі посівів цієї культури, сої, кукурудзи та бавовнику – 74, 31 та 27% відповідно [1]. Лідером серед біотехнологічних рослин за показником загальної площі посівів була соя, яку культивували на 91,9 млн га (при цьому, площа посівів у 2019 р. скоротилась на 4% порівняно з 2018-м), далі йдуть кукурудза (60,9 млн га), бавовник (25,7 млн га) та ріпак (10,1 млн га). Міжнародна служба моніторингу за використанням аграрних біотехнологій [International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA)] припускає, що рівень використання основних ГМ сільгоспкультур уже досягнув свого насичення [1]. Цілком імовірно, що подальшу експансію на ринок насіння вищезгаданих культур світові виробники біотехнологічних рослин будуть здійснювати з використанням уже інших технологій, відмітних від рекомбінантних

Borys Sorochynskyi
<https://orcid.org/0000-0002-6167-4071>

ДНК, насамперед із застосуванням технологій редагування геному.

Окрім згаданих раніше чотирьох основних біотехнологічних культур (ріпак, соя, кукурудза та бавовник), варто згадати й про інші генетично модифіковані рослини, що культивуються в промислових масштабах. Зокрема, це люцерна (площа посівів у 2019 р. становила 1,3 млн га), цукрові буряки (473 тис. га), цукрова тростина (20 тис. га), папайя (12 тис. га), соняшник (3,5 тис. га), картопля (2,265 тис. га), баклажани (1,931 тис. га), а також кабачки, яблука та ананаси, які вирощували на площах, менших ніж 1 тис. га. Загалом, база даних ISAAA містить інформацію про більш ніж 300 різних ГМ-подій рослин, що отримали дозвіл на використання з тією, чи іншою метою (<https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/default.asp>). Аналізуючи перелік авторизованих ГМ рослин, потрібно пам'ятати, що приватні й державні дослідницькі центри активно продовжують працювати над створенням нових генно-інженерних сортів для багатьох видів рослин – рису, бананів, картоплі, пшениці, гірчиці, нуту, гороху, дині, льону, сливи тощо, які матимуть різноманітні нові корисні властивості та поліпшену харчову цінність.

Додатково до країн, що вирощували ГМ рослини, у 2019 році 42 країни світу (26 країн-членів ЄС та 16 інших) також імпортували біотехнологічні рослини для використання їх як харчових продуктів, кормів для тварин та для переробляння. Тобто, у 2019 р. генетично модифіковані рослини були схвалені й використовувалися з різною метою загалом у 71 країні світу [1].

Попри значне поширення генетично модифікованих рослин, ставлення до них у суспільстві залишається дещо настороженим. Останнє виявляється у продовженні дискусій щодо можливих ризиків для людини та тварин від використання ГМ рослин і отриманої з їх застосування продукції. Також приблизно 50 країн запровадили обов'язкове маркування ГМ кормів та продуктів за умови, що їхній уміст перевищує певне порогове значення [2]. Наприклад, поріг для маркування ГМ-умісної продукції в ЄС становить 0,9%, у Південній Кореї – 3, у Японії – 5% [2–4]. Зауважимо, що маркування ГМО жодним чином не стосується питання їхньої безпечності й має на меті лише інформування споживача.

Результати досліджень

Для того, щоб виконати вимоги до маркування, потрібно розробити та стандартизувати ефективні й чутливі методи визначення бага-

тьох відомих генетичних модифікацій у різноманітній рослинній сировині, харчовій продукції та кормах для тварин. Найпоширеніші методи визначення ГМО (генетично модифікованих організмів) засновані на детектуванні специфічних білків, що синтезуються в трансгенних рослинах завдяки експресії нових генів у їхньому геномі, та на детектуванні власне привнесених генів через аналіз певних нуклеотидних послідовностей ДНК, що виділена з генетично модифікованого організму. Розроблені імуноферментні методи детектування дають змогу визначати білки, що кодуються в трансгенних рослинах такими генами, як *cp4-epsps*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry2A*, *cry2Ab*, *cry3A*, *cry9C*, *nptII*, *pat*, *gox*, *cpti* [5]. На жаль, цей перелік не перекриває повністю весь список ГМ рослин, наявних сьогодні на ринку.

Методи визначення ГМО, засновані на аналізі нуклеїнових кислот, є поширенішими, оскільки мають ліпші чутливість і специфічність порівняно з аналізом білкового складу, та дають змогу виявити значно більшу кількість генетично модифікованих рослин. Для детектування та моніторингу трансгенної ДНК вибирають чотири основні ділянки в геномі нового організму: специфічні нуклеотидні послідовності, притаманні універсальним елементам та маркерним генам, які були вбудовані в генетичну касету, використану для трансформації; власне нові привнесені гени; ділянка геному на межі між універсальними елементами та привнесеними новими генами; межа між нуклеотидною послідовністю в геномі-господаря та інтегрованими новими генами [6]. Використання методів, що детектують ці чотири ділянки в геномі, дає змогу провести скринінг того чи іншого зразка на наявність у ньому генетичних модифікацій; визначити специфічний привнесений ген; установити використану для трансформації конструкцію або ж ідентифікувати ГМ-подію. Ураховуючи швидку появу нових ГМ-подій, найпоширенішими методами лабораторного аналізу є рутинний скринінг і визначення присутності нового гена або ж елементів використаної конструкції.

Починаючи з 90-х рр. 20 ст., більшість детектувальних лабораторій почала активно використовувати методи аналізу ДНК, що засновані на використанні полімеразної ланцюгової реакції [ПЛР, Polymerase Chain Reaction (PCR)]. Відтоді полімеразна ланцюгова реакція, завдяки якій можна отримувати велику кількість копій певних ділянок геному, стала рутинним методом молекулярної біології, біотехнології та геноміки. ПЛР широко застосовується як у фундаментальних дослідженнях,

так і для розв'язання різноманітних практичних питань, зокрема й для детектування ГМО. Серед різноманітних варіантів ПЛР, що використовують для детектування генетично модифікованих організмів, варто згадати кількісну ПЛР [quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR)], мультиплексну ПЛР (multiplex PCR) та крапельну цифрову ПЛР [digital drop PCR (ddPCR)]. Особливу увагу привертає мультиплексна ПЛР, оскільки в такій реакції можливе одночасне детектування декількох мішеней. У публікації [7] наведено інформацію про використання мультиплексної ПЛР для одночасного детектування від 4 до 9 різних мішеней:

- 4-плексна ПЛР (детектується таксонспецифічний ген лектину сої (*lec*), ген зеїну кукурудзи, елементспецифічні послідовності 35s промотора вірусу мозаїки цвітної капусти і *nos* термінатора (термінатора гена нопалінсинтази);

- 5-плексна ПЛР [детектуються таксонспецифічний ген алкогольдегідрогенази (*adh*) кукурудзи та ГМ події GA21, MON810, NK603, Bt11];

- 6-плексна ПЛР [детектуються таксонспецифічний ген *acpr1* (ген бавовника, що кодує білок-переносник ацильного залишку) та ГМ події Bollgard, Bollgard II, RR, 3006-210-23, 281-24-231];

- 8-плексна ПЛР для детектування 8 різних ГМ-подій (Bt176, Bt11, HN1, RRS, T25, MON88913, MIR604 та MON1445);

- 9-плексна ПЛР, що дає змогу визначати елементспецифічні гени *bar* (ген фосфінотрицин-N-ацетилтрансферази із *Streptomyces serevisea*), *chy* (ген папайїну в папайї), *pAct* (частина гена актину рису), *cp4-epsps* (ген енолпірувілшикимат-3-фосфат синтази *Agrobacterium tumefaciens*, *cry1Ab* (ген дельтаендотоксину *Bacillus thuringiensis*) та ГМ події GT73, OXY235;

- 9-плексна ПЛР, де визначають таксонспецифічний ген *hmg* (ген високомобільного білка кукурудзи) та ГМ-події T25, GA21, TC1507, MON863, MON810, NK603, Bt176, Bt11.

Додаткову інформацію про деякі інші розроблені варіанти мультиплексної ПЛР для детектування ГМ рослин можна знайти в огляді [5]. Подальшого вдосконалення методів одночасного аналізу кількох різних ДНК-мішеней досягли завдяки розробленню т. зв. МРІС-технологій (multiplex Microdroplet PCR Implemented Capillary gel electrophoresis). Використання такого підходу дало змогу одночасно детектувати від 8 до 24 різних ГМ-подій [8].

Основною перевагою молекулярних методів детектування, основаних на аналізі нуклеїнових кислот, є їхня висока специфічність та чутливість. Серед недоліків цих методів варто насамперед згадати потребу в складному обладнанні, що не завжди доступне для лабораторій з обмеженими фінансовими ресурсами. Переваги та недоліки деяких методів визначення ГМО, що ґрунтуються на використанні полімеразної ланцюгової реакції, наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Переваги та недоліки різних варіантів ПЛР, які використовуються для визначення ГМО [9]

Метод	Мішень для детектування	Переваги	Недоліки
Традиційна ПЛР	ДНК / РНК	Відносно дешевий метод	Проведення аналізу займає багато часу, вимагає використання термоциклера
Гніздова (нестед) ПЛР	ДНК / РНК	Високоспецифічний метод аналізу	Висока вартість, проведення аналізу потребує багато часу та використання термоциклера
ПЛР в умовах реального часу (Real-time PCR, RT PCR)	ДНК / РНК	Дає змогу встановити відносну кількість аналізованої ДНК у зразка, що вивчається; немає потреби в подальшому розділенні отриманих ампліконів	Проведення аналізу займає багато часу. Потребує використання високоочищеного генетичного матеріалу та спеціального ампліфікатора
Цифрова крапельна ПЛР (ddPCR)	ДНК / РНК	Високочутливий метод, не чутливий до домішок, дає змогу визначити абсолютну кількість ДНК	Дуже висока вартість аналізу, вимагає використання спеціального обладнання

Потреба в складному високовартісному обладнанні для проведення ПЛР спонукала до розроблення методів ампліфікації, що можуть бути реалізовані за постійної температури і тому є альтернативою полімеразній ланцюговій реакції. Ідеться, насамперед, про ізотермічні методи ампліфікації, що реалізуються

за постійної температури. Основна їх перевага в тому, що для проведення таких реакцій немає потреби в складному обладнанні – потрібен лише звичайний лабораторний термостат або водяна баня. Серед методів ізотермічної ампліфікації нуклеїнових кислот варто згадати ізотермічну ампліфікацію із заміщенням

ланцюга [strand-displacement amplification (SDA)] [10]; хеліказалежну ізотермічну ампліфікацію ДНК [helicase-dependent amplification system (HAD)] [11]; ампліфікацію у процесі циклічного прокатування [rolling circle amplification (RCA)] [12]; ампліфікацію, що опосередкована через петлю [loop-mediated amplification (LAMP)]; спонтанну реплікацію послідовностей (Self-sustained sequence replication (3SR)) [13] та метод ампліфікації нуклеїнових кислот, що оснований на особливостях їхнього сіквенсу [nucleic acid sequence-bases amplification (NASBA)] [14] і є подальшим удосконаленням методу 3SR; ампліфікацію за допомогою Q-реплікази тощо.

Методи ізотермічної ампліфікації можна поділити на дві групи, залежно від того, як відбувається денатурація нуклеїнової кислоти, – за допомогою ферментів, або спонтанно, завдяки специфічними праймерам чи пробам. Вони є простими з погляду виконання, тож частину з них можна застосовувати навіть у польових умовах, оскільки, як уже зазначалося, основною відмінністю ізотермічних методів ампліфікації нуклеїнових кислот від полімеразної ланцюгової реакції є те, що реакція може відбуватися за постійної температури. Основною метою цієї статті є аналіз досвіду застосування реакції LAMP для детектування генетично модифікованих рослин.

Метод ампліфікації ДНК, що опосередкована через петлю, уперше розроблений япон-

ськими вченими у 2000 р. [15] і ґрунтується на унікальній особливості ДНК-полімерази з бактерії *Bacillus stearothermophilus* (Geobacillus), у якої крім, власне, ДНК-полімеразної, є також висока ревертазна активність. Зазвичай, саму реакцію проводять за температури в діапазоні 55–65 °С. Реакцію LAMP уперше описано з використанням чотирьох праймерів, однак надалі встановлено, що використання додаткової пари праймерів для формування петлі значно підвищує чутливість методу [16].

LAMP-дослідження можна реалізувати досить швидко, оскільки у цій реакції ампліфікації, на відміну від ПЛР, немає окремих етапів денатурації, гібридизації та синтезу. Водночас саму ампліфікацію через петлю можна розбити на такі умовні стадії, як ініціація, циклічна ампліфікація та елонгація. Для реакції ампліфікації, що опосередкована через петлю, потрібна ДНК-полімераза, що має властивість заміщати ланцюг у процесі синтезу (*Bst* ДНК-полімераза *B. stearothermophilus*), прямий та зворотний внутрішні праймери [Forward Inner Primer (FIP) та Backward Inner Primer, (BIP)] та зовнішні праймери (F3, B3), що розпізнають на мішені шість різних областей (рис. 1). Два праймери потрібно для того, щоб сформувати петлю (looping primers), а дві пари інших – для синтезу лінійних тяжів нуклеїнової кислоти (stripping primers).

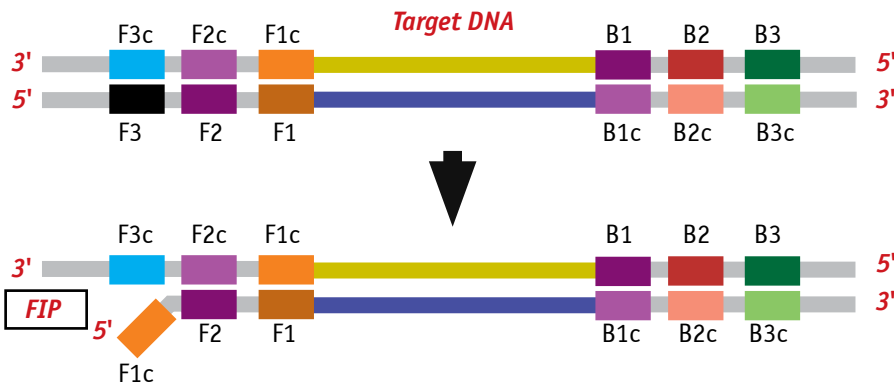


Рис. 1. Опис праймерів, що використовуються в LAMP

[Внутрішні праймери FIP та BIP відповідають регіонам F2 (B2) та F1c (B1c). Зовнішні праймери розробляють для регіонів F3 та B3. Праймери для формування петлі розробляють для регіонів між F1c (B1c) та F2c (B2c) (http://www.premierbiosoft.com/tech_notes/Loop-Mediated-Isothermal-Amplification.html)]

На початку реакції праймери, що формують петлю, гібридизуються з ділянками F2 або B2 для того, щоб почався синтез комплементарних ланцюгів ДНК (Рис. 2, етап 2). Після цього з локусами F3 або B3 гібридизуються праймери, потрібні для синтезу лінійних тяжів нуклеїнової кислот, і розпочинається ампліфікація комплементарних ланцю-

гів ДНК, що надалі призводить до вивільнення синтезованих ланцюгів молекули (етап 3).

На цьому етапі одонитковий ланцюг молекули нуклеїнової кислоти вже має таку нуклеотидну послідовність, що дає змогу сформувати структуру у вигляді петлі (етап 4). Ділянки F1 та B1 на 5'-кінці відіграють роль праймерів для генерування дволанцюгової

петлі (етап 5). Ділянки, що містять петлю (F1 та B1), є одноланцюговими, тому нові праймери, які генерують петлю, можуть згібридуватися з цими ділянками. У результаті формується новий комплементарний ланцюг ДНК (етап 6, етап 7 та етап 8). На 5'-кінці формується петля (етап 9), подібно до того, як це відбувалося на етапі 4. Синтез

молекули від ділянок F2 та B2, і синтез, зумовлений праймерами, які генерують структуру у вигляді петлі, відбувається поперемінно (етапи 9, 10 та 11). Як наслідок, це призводить до утворення великого за розміром продукту реакції, що містить послідовності нуклеотидів, які відповідають мішені (етап 11).

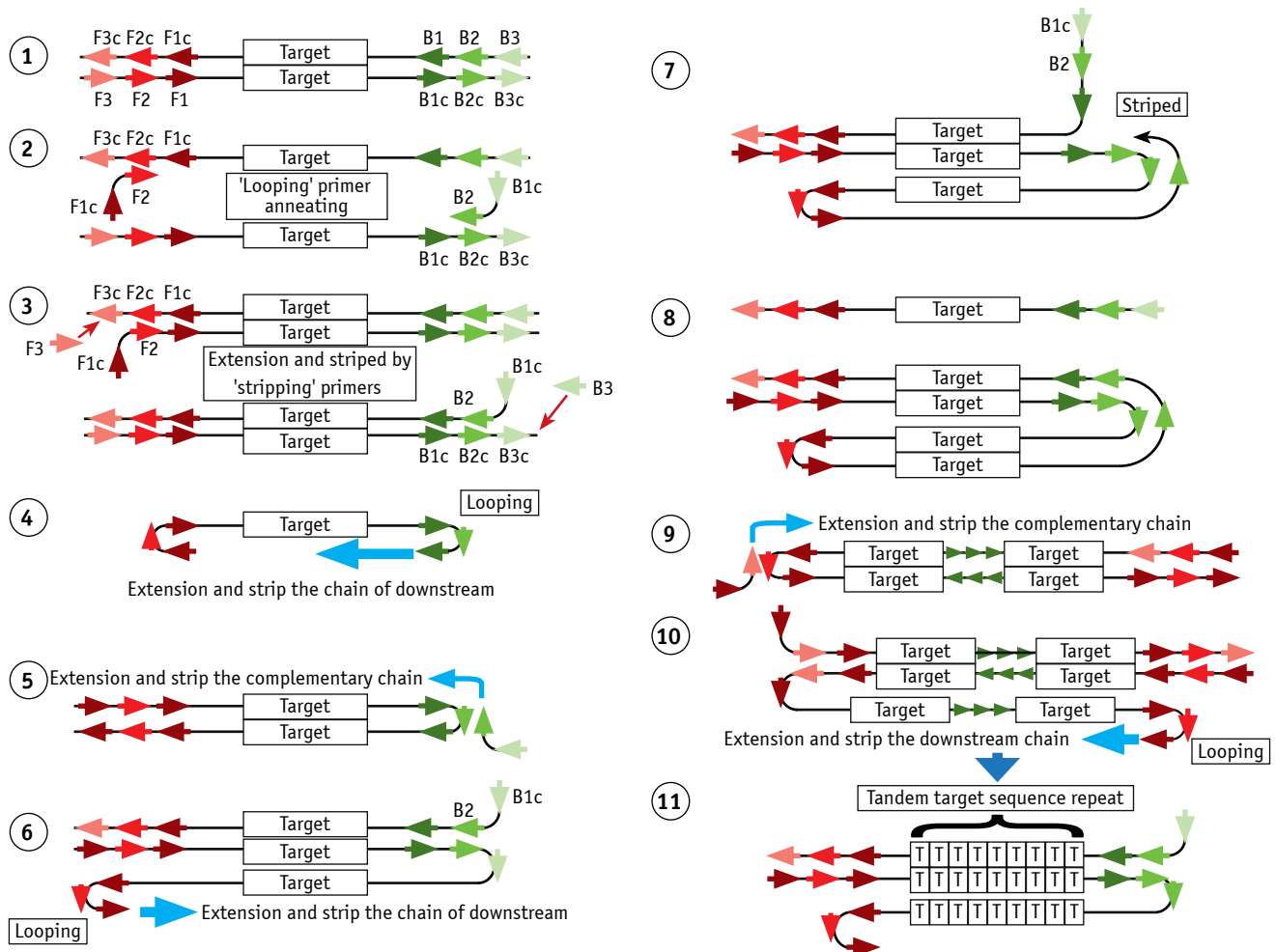


Рис. 2. Схема ампліфікації ДНК, що опосередкована через петлю [17]

Подальше вдосконалення методу LAMP було спрямовано на розроблення його варіантів, що дають змогу детектувати РНК. Як результат, розроблено умови для постановки LAMP разом зі зворотною транскрипцією (RT-LAMP). Зворотня транскриптаза додається в реакційну суміш для того, щоб забезпечити зворотною транскрипцію, що здійснюється з участю праймерів, що формують петлю, та праймерів, які потрібні для синтезу лінійних тяжів нуклеїнової кислоти. Насамперед RT-LAMP використовують для детектування РНК-вмісних вірусів, тоді як «традиційну» LAMP успішно використовують для визначення різноманітних ДНК-вмісних патогенних мікроорганізмів (вірусів, бактерій, грибів) та паразитів, для визначення

статі в ембріонів у дослідженнях з вивчення ракових захворювань [18].

За допомогою методу LAMP можна детектувати дуже малу кількість цільової ДНК. Важливим є і те, що реакція ампліфікації може відбуватися й за наявності сторонніх нуклеїнових кислот. Ці обставини роблять метод цілком придатним і для детектування ГМО. Як і в разі з ПЛР, застосування LAMP для виявлення ГМО можна реалізувати декількома шляхами: рутинний скринінг для визначення наявності ГМО завдяки детектуванню універсальних і найпоширеніших регуляторних елементів, як-от 35s промотор і *nos* термінатор, та ідентифікація ГМ-події, для чого потрібні свої специфічні праймери.

У науковій літературі опубліковано результати детектування багатьох трансгенних рослин методом ізотермічної ланцюгової реакції, що опосередкована через петлю (табл. 2).

Таблиця 2

Приклади використання LAMP для детектування різних ГМ рослин

ГМ культура	Мішень для детектування	Література
Бавовник, ГМ-події MON531, MON15985	<i>sad1</i> ген, <i>35s</i> промотор, FMV промотор, ген <i>aadA</i> , ген <i>nptII</i> , ген <i>uid</i>	[19–21]
Кукурудза, ГМ-події MON810, NK603, Bt11, DAS-59122-7, T25, BT176, TC1507, MON863, MON89034, MIR604	<i>35s</i> промотор, ген <i>cp4epsps</i> , ген <i>pat</i> , ген маннозо-6 ізомерази, нуклеотидна послідовність між вбудованими генами <i>cry1Ab</i> та <i>cry1Ac</i> , ген <i>cry2Ab</i> , ген <i>cry3A</i> , конструкція – специфічна послідовність, ген фітази	[22–27]
Картопля, ГМ-подія EH92-527-1	ГМ-подія – специфічна послідовність	[28]
Цукрова тростина	ген <i>bar</i> , ген <i>cry1Ac</i>	[29]
Соя, ГМ-події GTS 40-3-2, MON89788, DP305423×GTS 40-3-2 s	ГМ-подія – специфічна послідовність	[30, 31]
Ріпак олійний, ГМ-подія RF3	ГМ-подія – специфічна послідовність	[32]
Пшениця, ГМ-події B73-6-1, MS8	ГМ-подія – специфічна послідовність	[32, 33]
Рис, ГМ-події TT51-1, KMD1, KF6, T1C-19 10 DAS-59122-7 4, T25	ГМ-подія – специфічна послідовність	[34, 35]

Мінімальна чутливість методу LAMP в експериментах різних авторів (покликання на них наведено в таблиці 2) була надзвичайно високою і давала змогу визначати до від 10 до 4 копій цільового гена.

У дослідженні [32] описано структуру праймерів та умови реакції для детектування методом LAMP універсальних елементів [на прикладі референтного матеріалу трансгенної сої зі стійкістю до Раундапу (Раундап Реді соя)], що часто використовують для створення генетичних конструкцій, як-от *35s* промотор вірусу мозаїки цвітної капусти, а також промотора та термінатора гена нопалін синтази з *Agrobacterium* spp. Крім того, автори показали можливість детектування трансгенних MS8 та RF3 ліній олійного ріпака (*Brassica napus* L.), використовуючи праймери, що афінні до ГМ-події специфічного локусу. Було встановлено, що межа чутливості методу LAMP за визначення як *nos* термінатора, так і *35s* промотора, становила 0,01% і є значно нижчою від визначеної межі для маркування (0,9%), що задекларована в нормативних документах Європейського Союзу.

У публікації [36], у якій аналізували комерціалізовані ГМ рослини, показано, що чутливість методу LAMP становить 10 еквівалентів гаплоїдного геному (ЕГП) для *fmv35s* промотора, *cry1Ac* гена та *pat* гена. Водночас, у разі детектування *35s* промотора вірусу мозаїки цвітної капусти, *bar* гена, *nos* термінатора, генів *cp4-epsps* та *nptII*, межа чутливості методу відповідала 5 ЕГП. Автори успішно підтвердили потенціал методу LAMP для скринінгових досліджень, використовуючи зразки комерціалізованих сортів ГМ ріпака, сої та кукурудзи.

У роботі [34] показано можливість візуального детектування ампліконів, що синтезувалися в реакції циклічної ампліфікації, опосередкованої через петлю. Для цього до реакційної суміші було додано інтеркалювальні барвники, як-от асиметричний ціаніновий барвник SYBR green або HNB (hydroxynaphthol blue, гідроксинафтол блакитний), які, зв'язуючись із синтезованими в реакції фрагментами подвійного ланцюжка ДНК, можуть змінювати свій колір. Такий підхід робить не потрібним електрофоретичний аналіз продуктів ампліфікації і значно скорочує час дослідження. У цитованій роботі весь експеримент тривав загалом приблизно 1 год, а в деяких, процитованих раніше в таблиці 2 публікаціях, час проведення реакції LAMP був навіть меншим за 1 год. Автори застосували розроблену методику для детектування ГМ-подій рису KMD1, TT51-1 та KF6. Отримані результати дали змогу зробити висновок, що метод LAMP був більш чутливим та специфічним порівняно з традиційною ПЛР і може бути використаним навіть у польових умовах [34].

Автори статті [28] оприлюднили результати досліджень, де методами LAMP та традиційної ПЛР визначали *bar* ген у трансгенній цукровій тростині. Показано, що використання LAMP дало змогу детектувати трансген у 100 випадках зі 100 досліджених зразків (100%) та у 97 випадках зі 100 досліджених зразків (97%) у разі застосування ПЛР.

Ураховуючи високу чутливість методу ізотермічної ампліфікації, що опосередкована через петлю, логічним є порівняння всіх його переваг та недоліків з методом полімеразної ланцюгової реакції (табл. 3).

Таблиця 3

Порівняльний аналіз методів ПЛР та LAMP [37]

Метод	Час для аналізу	Метод детектування продуктів реакції	Використання УФ-випромінювання	Потреба в обладнанні для детектування	Вартість аналізу	Зручність для користувача	Потреба високого ступеня очищення ДНК
ПЛР	3 год	Гель електрофорез	Так	Так	Висока	Висока	Так
LAMP	60 хв	Візуальний аналіз або гель електрофорез	Ні або так	Ні або так	Низька	Дуже висока	Ні

Спроби вдосконалити умови проведення ізотермічної ампліфікації, що опосередкована через петлю, тривають постійно. Зокрема, описано спробу використати замість досить кошовної *Bst* ДНК-полімерази з *B. stearothermophilus* іншу – *Bsm* ДНК-полімеразу, що має подібні властивості, але є дешевшою і доступнішою для користувача [38]. Оpubліковано приклад створення портативного девайсу, який здатен упродовж певного часу підтримувати постійну температуру, що робить можливим подальше використання LAMP як експрес-методу для аналізу в польових умовах [39]. Тривають також спроби створення біосенсорів, заснованих на використанні LAMP [40], та пошук нових стабільних барвників для детектування синтезованих у реакції фрагментів нуклеїнової кислоти [24].

Варто зазначити, що вдосконалення наявних та розроблення нових методів для детектування ГМО, стосується не лише ізотермічної ампліфікації, що опосередкована через петлю. Можна згадати про впровадження капілярного електрофорезу для аналізу ампліконів; використання «пептидних нуклеїнових кислот» [ПНК – це синтетичні гомологи нуклеїнової кислоти, які містять стандартні нуклеотиди ДНК, але поліамідний ланцюг у цьому разі замінено на N-(2-аміноетил)-гліцинові одиниці, а пари нуклеотидів з'єднуються між собою метиленкарбонільними зв'язками. Нейтральний ланцюг у такому вигляді не має здатності до відштовхування під час гібридизації. Таким чином пояснюється той факт, що ПНК може зв'язатися з ДНК чи РНК з високим ступенем специфічності]; розроблення різноманітних біосенсорів; застосування технології мікроматриць і розроблення ДНК-чипів; використання технологій секвенування нового покоління (new genome sequencing (NGS) для детектування ГМО тощо [5, 8, 41].

Висновки

Основними критеріями для застосування того чи іншого методу аналізу ГМО є, насамперед, його чутливість, тривалість реакції,

доступність та простота виконання, вартість реагентів і обладнання, а також можливість здійснювати одночасне детектування якомога більшої кількості зразків і технології. Технології LAMP повністю відповідають багатьом із зазначених вимог.

Використана література

1. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2019: Biotech Crops Drive Socio-Economic Development and Sustainable Environment in the New Frontier. *ISAAA Brief No. 55*. Ithaca, NY : ISAAA. 2019. 22 p.
2. Broeders S. R., De Keersmaecker S. C., Roosens N. H. How to deal with the upcoming challenges in GMO detection in food and feed. *J. Biomed. Biotechn.* 2012. Vol. 2012. Art. 402418. doi: 10.1155/2012/402418
3. European Parliament. Commission regulation (EC) No 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. *Off. J. Eur. Union*. 2003. Vol. L 268. P. 24–28.
4. Bean C. E. Japan Biotechnology MAFF's Biotech food labeling standards (revised). *GAIN Report JA2010*. USDA : GAIN, 2002. 21 p.
5. Fraiture M.-A., Herman Ph., Taverniers I. et al. Current and New Approaches in GMO Detection: Challenges and Solutions. *Bio-Med Res. Int.* 2015. Vol. 2015. Art. 392872. doi: 10.1155/2015/392872
6. Holst-Jensen A., Rønning S., Løvseth A., Berdal K. PCR technology for screening and quantification of genetically modified organisms (GMOs). *Anal. Bioanal. Chem.* 2003. Vol. 375, Iss. 8. P. 985–993. doi: 10.1007/s00216-003-1767-7
7. Salisu I. B., Shahid A. A., Yaqoob M. et al. Detection of Genetically Modified Organisms Through Genomics Approaches. *Comprehensive Foodomics*. Elsevier, 2021. P. 245–256. doi: 10.1016/b978-0-08-100596-5.22706-6
8. Guo J., Yang L., Chen L. et al. MPIC: A High-Throughput Analytical Method for Multiple DNA Targets. *Anal. Chem.* 2011. Vol. 83, Iss. 5. P. 1579–1586. doi: 10.1021/ac103266w
9. Baldi P., La Porta N. Molecular Approaches for Low-Cost Point-of-Care Pathogen Detection in Agriculture and Forestry. *Front. Plant Sci.* 2020. Vol. 11. Art. 570862. doi: 10.3389/fpls.2020.570862
10. Walker G., Fraiser M., Schram J. et al. Strand displacement amplification – an isothermal, *in vitro* DNA amplification technique. *Nucl. Acids Res.* 1992. Vol. 20, Iss. 7. P. 1691–1696. doi: 10.1093/nar/20.7.1691
11. Barreda-García S., Miranda-Castro R., de-Los-Santos-Álvarez N. et al. Helicase-dependent isothermal amplification: a novel tool in the development of molecular-based analytical systems for rapid pathogen detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 2018. Vol. 410, Iss. 3. P. 679–693. doi: 10.1007/s00216-017-0620-3
12. Gu L., Yan W., Liu L. et al. Research Progress on Rolling Circle Amplification (RCA)-Based Biomedical Sensing. *Pharmaceuticals*. 2018. Vol. 11, Iss. 2. Art. 35. doi: 10.3390/ph11020035

13. Mueller J., Pütz B., Höfler H. Self-sustained sequence replication (3SR): an alternative to PCR. *Histochem. Cell Biol.* 1997. Vol. 108, Iss. 4–5. P. 431–437. doi: 10.1007/s004180050183
14. Compton J. Nucleic acid sequence-based amplification. *Nature.* 1991. Vol. 350, Iss. 6313. P. 91–92. doi: 10.1038/350091a0
15. Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2000. Vol. 28, Iss. 12. Art. e63. doi: 10.1093/nar/28.12.e63
16. Nagamine K., Hase T., Notomi T. Accelerated reaction by loop mediated isothermal amplification using loop primers. *Mol. Cell Probes.* 2002. Vol. 16, Iss. 3. P. 223–229. doi: 10.1006/mcpr.2002.0415
17. Sakurai A., Shibasaki F. Updated values for molecular diagnosis for highly pathogenic avian influenza virus. *Viruses.* 2012. Vol. 4, Iss. 8. P. 1235–1257. doi: 10.3390/v4081235
18. Fu S., Qu G., Guo Sh. et al. Applications of Loop-Mediated Isothermal DNA Amplification. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2011. Vol. 163, Iss. 7. P. 845–850. doi: 10.1007/s12010-010-9088-8
19. Randhawa G. J., Singh M., Morisset D. et al. Loop-mediated isothermal amplification: rapid visual and real-time methods for detection of genetically modified crops. *J. Agric. Food Chem.* 2013. Vol. 61, Iss. 47. P. 11338–11346. doi: 10.1021/jf4030085
20. Randhawa G., Chhabra R., Bhoge R. K. Singh M. Visual and Real-Time Event-Specific Loop-Mediated Isothermal Amplification Based Detection Assays for Bt Cotton Events MON531 and MON15985. *J. AOAC Int.* 2015. Vol. 98, Iss. 5. P. 1207–1214. doi: 10.5740/jaoacint.14-269
21. Singh M., Bhoge R., Randhawa G. Loop-Mediated Isothermal Amplification for Detection of Endogenous *Sad1* Gene in Cotton: An Internal Control for Rapid Onsite GMO Testing. *J. AOAC Int.* 2018. Vol. 101, Iss. 5. P. 1657–1660. doi: 10.5740/jaoacint.18-0016
22. Zahradnik C., Kolm C., Martzy R. et al. Detection of the 35S promoter in transgenic maize via various isothermal amplification techniques: a practical approach. *Anal. Bioanal. Chem.* 2014. Vol. 406, Iss. 27. P. 6835–6842. doi: 10.1007/s00216-014-7889-2
23. Takabatake R., Kagiya Yu., Minegishi Ya. et al. Development and evaluation of rapid screening detection methods for genetically modified crops using loop-mediated isothermal amplification. *Food Chem.* 2018. Vol. 252. P. 390–396. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.12.036
24. Hardinge P., Kiddle G., Tisi L., Murray J. Optimised LAMP allows singlecopy detection of 35Sp and NOST in transgenic maize using Bioluminescent Assay in Real Time (BART). *Sci. Rep.* 2018. Vol. 8, Iss. 1. Art. 17590. doi: 10.1038/s41598-018-36207-4
25. Chen L., Guo J., Wang Q. et al. Development of the visual loop-mediated isothermal amplification assays for seven genetically modified maize events and their application in practical samples analysis. *J. Agric. Food Chem.* 2011. Vol. 59, Iss. 11. P. 5914–5918. doi: 10.1021/jf200459s
26. Huang X., Chen L., Xu J. et al. Rapid visual detection of phytase gene in genetically modified maize using loop-mediated isothermal amplification method. *Food Chem.* 2014. Vol. 156. P. 184–189. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.01.102
27. Li F. W., Yan W., Long L. K. et al. Development and Application of Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays for Rapid Visual Detection of *cry2Ab* and *cry3A* Genes in Genetically-Modified Crops. *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15, Iss. 9. P. 15109–15121. doi: 10.3390/ijms150915109
28. Tu Y.-K., Lin Y.-Ch., Feng Yu-W. et al. Visual, sensitive and rapid event-specific detection of genetically modified potato EH92-527-1 by loop-mediated isothermal amplification method. *Biosci. Biotech. Biochem.* 2020. Vol. 84, Iss. 1. P. 43–52. doi: 10.1080/09168451.2019.1661766
29. Zhou D., Wang C., Li Z. et al. Detection of Bar Transgenic Sugarcane with a Rapid and Visual Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay. *Front. Plant Sci.* 2016. Vol. 7. Art. 279. doi: 10.3389/fpls.2016.00279
30. Cheng N., Shang Y., Xu Y. et al. On-site detection of stacked genetically modified soybean based on event-specific TM-LAMP and a DNAzyme -lateral flow biosensor. *Biosens. Bioelectron.* 2017. Vol. 91. P. 408–416. doi: 10.1016/j.bios.2016.12.066
31. Guan X. Y., Guo J. C., Shen P. et al. Visual and Rapid Detection of Two Genetically Modified Soybean Events Using Loop-Mediated Isothermal Amplification Method. *Food Analyt. Meth.* 2010. Vol. 3, Iss. 4. P. 313–320. doi: 10.1007/s12161-010-9132-x
32. Lee D., La M. M., Allnutt T., Powell W. Detection of Genetically Modified Organisms (GMOs) Using Isothermal Amplification of Target DNA Sequences. *BMC Biotechnol.* 2009. Vol. 9, Iss. 1. Art. 7. doi: 10.1186/1472-6750-9-7
33. Cheng Y., Zhang M. H., Hu K. et al. Loop-Mediated Isothermal Amplification for the Event-Specific Detection of Wheat B73-6-1. *Food Analyt. Meth.* 2013. Vol. 7, Iss. 2. P. 500–505. doi: 10.1007/s12161-013-9718-1
34. Chen X. Y., Wang X. F., Jin N. et al. Endpoint Visual Detection of Three Genetically Modified Rice Events by Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Int. J. Molec. Sci.* 2012, Vol. 13, Iss. 11. P. 14421–14433. doi: 10.3390/ijms131114421
35. Zhang M., Liu Y. N., Chen L. et al. One Simple DNA Extraction Device and Its Combination with Modified Visual Loop-Mediated Isothermal Amplification for Rapid On-Field Detection of Genetically Modified Organisms. *Anal. Chem.* 2013. Vol. 85, Iss. 1. P. 75–82. doi: 10.1021/ac301640p
36. Wang C., Li R., Quan Sh. et al. GMO detection in food and feed through screening by visual loop-mediated isothermal amplification assays. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. Vol. 407, Iss. 16. P. 4829–4834. doi: 10.1007/s00216-015-8652-z
37. Almasi M., Aghapour-oghaghkandi M., Bagheri K. et al. Comparison and evaluation of two diagnostic methods for detection of *npt II* and *GUS* genes in *Nicotiana tabacum*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2016. Vol. 175, Iss. 8. P. 3599–3616. doi: 10.1007/s12010-015-1529-y
38. Постоєнко В. О., Сорочинський Б. В., Салачова М. А. та ін. Оптимізація умов проведення ізотермічної ампліфікації нуклеїнових кислот вірусу пташиного грипу H5N1. *Наук.-техн. бюл. Ін-ту біол. тварин і Держ. наук.-досл. центр ін-ту вет. препар. та корм. добавок.* 2013. Вип. 14, № 3–4. С. 325–330.
39. Wu H., Zhang X., Wu B. et al. Rapid on-site detection of genetically modified soybean products by real-time loop-mediated isothermal amplification coupled with a designed portable amplifier. *Food Chem.* 2020. Vol. 323. Art. 126819. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126819
40. Ahmed M., Saito M., Hossain M. et al. Electrochemical genosensor for the rapid detection of GMO using loop-mediated isothermal amplification. *Analyst.* 2009. Vol. 134, Iss. 5. P. 966–972. doi: 10.1039/b812569d
41. Секан А. С., Сорочинський Б. В. Сучасні методи молекулярного аналізу генетично модифікованих рослин. *Biotechnol. Acta.* 2011. Т. 4, № 1. С. 106–114.

References

1. ISAAA. (2019). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2019: Biotech Crops Drive Socio-Economic Development and Sustainable Environment in the New Frontier. *ISAAA Brief No. 55*. Ithaca, NY: ISAAA.
2. Broeders, S. R. M., De Keersmaecker, S. C. J., & Roosens, N. H. C. (2012). How to Deal with the Upcoming Challenges in GMO Detection in Food and Feed. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2012, Art. 402418. doi: 10.1155/2012/402418
3. European Parliament (2003). Commission regulation (EC) No 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. *Off. J. Eur. Union.*, L 268, 24–28.
4. Bean, C. E. (2015). Japan Biotechnology MAFF's Biotech food labeling standards (revised). *GAIN Report JA2010*. USDA: GAIN.
5. Fraiture, M.-A., Herman, P., Taverniers, I., De Loose, M., Deforce, D., & Roosens, N. H. (2015). Current and New Approaches in GMO

- Detection: Challenges and Solutions. *BioMed Res. Int.*, 2015, Art. 392872. doi: 10.1155/2015/392872
6. Holst-Jensen, A., Rønning, S. B., Løvseth, A., & Berdal, K. G. (2003). PCR technology for screening and quantification of genetically modified organisms (GMOs). *Anal. Bioanal. Chem.*, 375(8), 985–993. doi: 10.1007/s00216-003-1767-7
 7. Salisu, I. B., Shahid, A. A., Yaqoob, A., Olawale, A. S., Amin, A. B., & Sunusi, M. (2021). Detection of Genetically Modified Organisms Through Genomics Approaches. In *Comprehensive Foodomics* (pp. 245–256). Elsevier. doi: 10.1016/b978-0-08-100596-5.22706-6
 8. Guo, J., Yang, L., Chen, L., Morisset, D., Li, X., Pan, L., & Zhang, D. (2011). MPIC: A High-Throughput Analytical Method for Multiple DNA Targets. *Anal. Chem.*, 83(5), 1579–1586. doi: 10.1021/ac103266w
 9. Baldi, P., & La Porta, N. (2020). Molecular Approaches for Low-Cost Point-of-Care Pathogen Detection in Agriculture and Forestry. *Fron. Plant Sci.*, 11, Art. 570862. doi: 10.3389/fpls.2020.570862
 10. Walker, G. T., Fraiser, M. S., Schram, J. L., Little, M. C., Nadeau, J. G., & Malinowski, D. P. (1992). Strand displacement amplification – an isothermal, in vitro DNA amplification technique. *Nucl. Acids Res.*, 20(7), 1691–1696. doi: 10.1093/nar/20.7.1691
 11. Barreda-García, S., Miranda-Castro, R., de-los-Santos-Álvarez, N., Miranda-Ordieres, A. J., & Lobo-Castañón, M. J. (2017). Helicase-dependent isothermal amplification: a novel tool in the development of molecular-based analytical systems for rapid pathogen detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, 410(3), 679–693. doi: 10.1007/s00216-017-0620-3
 12. Gu, L., Yan, W., Liu, L., Wang, S., Zhang, X., & Lyu, M. (2018). Research Progress on Rolling Circle Amplification (RCA)-Based Biomedical Sensing. *Pharmaceuticals*, 11(2), Art. 35. doi: 10.3390/ph11020035
 13. Mueller, J. D., Pütz, B., & Höfler, H. (1997). Self-sustained sequence replication (3SR): an alternative to PCR. *Histochem. Cell Biol.*, 108(4–5), 431–437. doi: 10.1007/s004180050183
 14. Compton, J. (1991). Nucleic acid sequence-based amplification. *Nature*, 350(6313), 91–92. doi: 10.1038/350091a0
 15. Notomi, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucl. Acids Res.*, 28(12), e63. doi: 10.1093/nar/28.12.e63
 16. Nagamine, K., Hase, T., & Notomi, T. (2002). Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Mol. Cell. Probes*, 16(3), 223–229. doi: 10.1006/mcpr.2002.0415
 17. Sakurai, A., & Shibasaki, F. (2012). Updated Values for Molecular Diagnosis for Highly Pathogenic Avian Influenza Virus. *Viruses*, 4(8), 1235–1257. doi: 10.3390/v4081235
 18. Fu, S., Qu, G., Guo, S., Ma, L., Zhang, N., Zhang, S., Gao, S., & Shen, Z. (2010). Applications of Loop-Mediated Isothermal DNA Amplification. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 163(7), 845–850. doi: 10.1007/s12010-010-9088-8
 19. Randhawa, G. J., Singh, M., Morisset, D., Sood, P., & Žel, J. (2013). Loop-Mediated Isothermal Amplification: Rapid Visual and Real-Time Methods for Detection of Genetically Modified Crops. *J. Agric. Food Chem.*, 61(47), 11338–11346. doi: 10.1021/jf4030085
 20. Randhawa, G. J., Chhabra, R., Bhoge, R. K., & Singh, M. (2015). Visual and Real-Time Event-Specific Loop-Mediated Isothermal Amplification Based Detection Assays for Bt Cotton Events MON531 and MON15985. *J. AOAC Int.*, 98(5), 1207–1214. doi: 10.5740/jaoacint.14-269
 21. Singh, M., Bhoge, R. K., & Randhawa, G. (2018). Loop-Mediated Isothermal Amplification for Detection of Endogenous *Sad1* Gene in Cotton: An Internal Control for Rapid Onsite GMO Testing. *J. AOAC Int.*, 101(5), 1657–1660. doi: 10.5740/jaoacint.18-0016
 22. Zahradnik, C., Kolm, C., Martzy, R., Mach, R. L., Krška, R., Farnleitner, A. H., & Brunner, K. (2014). Detection of the 35S promoter in transgenic maize via various isothermal amplification techniques: a practical approach. *Anal. Bioanal. Chem.*, 406(27), 6835–6842. doi: 10.1007/s00216-014-7889-2
 23. Takabatake, R., Kagiya, Y., Minegishi, Y., Yeasmin, S., Futo, S., Noguchi, A., Kondo, K., Mano, J., & Kitta, K. (2018). Development and evaluation of rapid screening detection methods for genetically modified crops using loop-mediated isothermal amplification. *Food Chem.*, 252, 390–396. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.12.036
 24. Hardinge, P., Kiddle, G., Tisi, L., & Murray, J. A. H. (2018). Optimised LAMP allows single copy detection of 35Sp and NOST in transgenic maize using Bioluminescent Assay in Real Time (BART). *Sci. Rep.*, 8(1), Art. 17590. doi: 10.1038/s41598-018-36207-4
 25. Chen, L., Guo, J., Wang, Q., Kai, G., & Yang, L. (2011). Development of the Visual Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays for Seven Genetically Modified Maize Events and Their Application in Practical Samples Analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 59(11), 5914–5918. doi: 10.1021/jf200459s
 26. Huang, X., Chen, L., Xu, J., Ji, H.-F., Zhu, S., & Chen, H. (2014). Rapid visual detection of phytase gene in genetically modified maize using loop-mediated isothermal amplification method. *Food Chem.*, 156, 184–189. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.01.102
 27. Li, F., Yan, W., Long, L., Qi, X., Li, C., & Zhang, S. (2014). Development and Application of Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays for Rapid Visual Detection of *cry2Ab* and *cry3A* Genes in Genetically-Modified Crops. *Int. J. Molec. Sci.*, 15(9), 15109–15121. doi: 10.3390/ijms150915109
 28. Tu, Y.-K., Lin, Y.-C., Feng, Y.-W., Tseng, Y.-Y., & Chen, H.-W. (2020). Visual, sensitive and rapid event-specific detection of genetically modified potato EH92-527-1 by loop-mediated isothermal amplification method. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 84(1), 43–52. doi: 10.1080/09168451.2019.1661766
 29. Zhou, D., Wang, C., Li, Z., Chen, Y., Gao, S., Guo, J., Lu, W., Su, Y., Xu, L., & Que, Y. (2016). Detection of Bar Transgenic Sugarcane with a Rapid and Visual Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay. *Fron. Plant Sci.*, 7, Art. 279. doi: 10.3389/fpls.2016.00279
 30. Cheng, N., Shang, Y., Xu, Y., Zhang, L., Luo, Y., Huang, K., & Xu, W. (2017). On-site detection of stacked genetically modified soybean based on event-specific TM-LAMP and a DNazyme-lateral flow biosensor. *Biosens. Bioelectron.*, 91, 408–416. doi: 10.1016/j.bios.2016.12.066
 31. Guan, X., Guo, J., Shen, P., Yang, L., & Zhang, D. (2010). Visual and Rapid Detection of Two Genetically Modified Soybean Events Using Loop-mediated Isothermal Amplification Method. *Food Analyt. Meth.*, 3(4), 313–320. doi: 10.1007/s12161-010-9132-x
 32. Lee, D., La Mura, M., Allnutt, T. R., & Powell, W. (2009). Detection of genetically modified organisms (GMOs) using isothermal amplification of target DNA sequences. *BMC Biotechnol.*, 9(7), Art. 7. doi: 10.1186/1472-6750-9-7
 33. Cheng, Y., Zhang, M., Hu, K., Sun, F., Tao, R., Gao, X., & Luan, F. (2013). Loop-Mediated Isothermal Amplification for the Event-Specific Detection of Wheat B73-6-1. *Food Analyt. Meth.*, 7(2), 500–505. doi: 10.1007/s12161-013-9718-1
 34. Chen, X., Wang, X., Jin, N., Zhou, Y., Huang, S., Miao, Q., Zhu, Q., & Xu, J. (2012). Endpoint Visual Detection of Three Genetically Modified Rice Events by Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Int. J. Molec. Sci.*, 13(12), 14421–14433. doi: 10.3390/ijms131114421
 35. Zhang, M., Liu, Y., Chen, L., Quan, S., Jiang, S., Zhang, D., & Yang, L. (2012). One Simple DNA Extraction Device and Its Combination with Modified Visual Loop-Mediated Isothermal Amplification for Rapid On-Field Detection of Genetically Modified Organisms. *Anal. Chem.*, 85(1), 75–82. doi: 10.1021/ac301640p
 36. Wang, C., Li, R., Quan, S., Shen, P., Zhang, D., Shi, J., & Yang, L. (2015). GMO detection in food and feed through screening by visual loop-mediated isothermal amplification assays. *Anal. Bioanal. Chem.*, 407(16), 4829–4834. doi: 10.1007/s00216-015-8652-z
 37. Almasi, M. A., Aghapour-ojaghkandi, M., Bagheri, K., Ghazvini, M., & Hosseini-dehabadi, S. M. (2015). Comparison and Evaluation of Two Diagnostic Methods for Detection of *npt II* and *GUS* Genes in *Nicotiana tabacum*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 175(8), 3599–3616. doi: 10.1007/s12010-015-1529-y
 38. Postoenko, V. O., Sorochynsky, B. V., Sapachova, M. A., Karpulenko, M. S., Karcymon, V. V., & Gerilovich, A. P. (2003). Optimization of conduct isothermal amplification of nucleic acids of avian influenza virus H5N1. *Naukovo Tekhnichnii Bulletin Instytutu biologii tvaryn ta Derzhavnogo kontrolnogo instytutu*

- veterynarnykh preparativ ta kormovih dobavok* [Scientific and Technical Bulletin of the Institute of animal biology and State control institute of veterinary drugs and feed additives], 13(3–4), 325–330. [in Ukrainian]
39. Wu, H., Zhang, X., Wu, B., Qian, C., Zhang, F., Wang, L., Ye, Z., & Wu, J. (2020). Rapid on-site detection of genetically modified soybean products by real-time loop-mediated isothermal amplification coupled with a designed portable amplifier. *Food Chem.*, 126819. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126819
40. Ahmed, M. U., Saito, M., Hossain, M. M., Rao, S. R., Furui, S., Hino, A., Takamura, Y., Takagi, M., & Tamiya, E. (2009). Electrochemical genosensor for the rapid detection of GMO using loop-mediated isothermal amplification. *Analyst*, 134(5), 966–972. doi: 10.1039/b812569d
41. Sekan, A. S., & Sorochynskiy, B. V. (2011). Current methods for molecular analysis of genetically modified plants. *Biotechnol. Acta*, 4(1), 106–114. [in Ukrainian]

UDC 57.088

Sorochynskiy, B. V. (2021). Detection of genetically modified plants using LAMP (loop-mediated amplification) technologies. *Plant Varieties Studying and Protection*, 17(1), 51–59. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.17.1.2021.228209>

Ukrainian Institute for Plant Variety Examination, 15 Henerala Rodymtseva St., Kyiv, 03041, Ukraine, e-mail: bsorochinsky@gmail.com

Purpose. Analysis of the current state and experience on the loop-mediated amplification (LAMP) use to detect genetically modified plants. **Methods.** Literature search and analysis. **Results.** General information on the current state and use of the genetically modified plants is provided. Despite the wide distribution of genetically modified plants, the attitude towards them in society continues to remain somewhat wary. About 50 countries have introduced mandatory labeling of GM feed and products, provided that their content exceeds a certain threshold. In order to meet labeling requirements, effective and sensitive methods for detecting known genetic modifications in a variety of plant materials, food products and animal feed must be developed and standardized. The most common approaches to the detection of genetically modified organisms (GMOs) are the determination of specific proteins synthesized in transgenic plants and the detection of new introduced genes. Methods for the determination of GMOs based on the analysis of nucleic acids

are more common, since such methods have greater sensitivity and specificity than the analysis of protein composition. Polymerase chain reaction (PCR) method is the main method of nucleic acid analysis, which is now wide used for the detection of GMOs. Loop-mediated amplification (LAMP), which can occur at a constant temperature and therefore does not require the use of expensive equipment may be an alternative to the PCR. Scientific articles about the use of the loop-mediated amplification (LAMP) for the detection of genetically modified plants were analyzed. Advantages and disadvantages of the polymerase chain reaction and loop-mediated amplification are compared. **Conclusions.** The main criteria for applying a method of GMO detection analysis are as follows: its sensitivity, time of reaction, availability and ease to use, cost of reagents and equipment, and the possibility for simultaneous detection of many samples.

Keywords: *genetically modified organisms; targets for detection; PCR; LAMP; detection limit.*

*Надійшла / Received 12.02.2021
Погоджено до друку / Accepted 17.03.2021*