

## ■ LAMP 法

### PCR 法について

遺伝子増幅法としては PCR (Polymerase Chain Reaction) が有名です。シータス社のキャリー・マリスが発明者として 1993 年のノーベル化学賞を受賞しています。検出したい遺伝子配列の一部 20 塩基程度と、遺伝子の相補的配列の一部 20 塩基程度の二つのオリゴマー (プローブ) を組み合わせて、耐熱性 DNA 合成酵素でそれら配列の間の遺伝子領域を増幅する方法です。反応は 60~70°C 程度で行いますが、生じた二本鎖を一本鎖にするために 95°C 程度の高温で加熱する必要があるため、温度を変化させるサーマルサイクラーという装置が必要です。

### LAMP 法について

一方、LAMP 法は、65°C 程度の一定温度で遺伝子を増幅させることができ、また原理上、精度の高い方法として知られています。PCR が二つのオリゴマーを用いるのに対して、LAMP 法は 4 つのオリゴマーを用います。オリゴマーを構成する塩基配列は、6 つの特定の塩基配列をターゲットとしています。また、用いられている DNA 合成酵素 (Bst DNA polymerase) は二本鎖を引き剥がしながら新たな鎖を合成する酵素ですので、PCR ほどの高温にする必要はありません。4 本のうち、2 本は PCR 用のプローブとほぼ同じ比較的長いオリゴマーですが、その中にターゲットとなる 1 つの相補的な塩基配列ともう一つの塩基配列を含みます、残りの二つは、それぞれの塩基配列を含みます。そのため、反応によって作られた一本鎖 DNA の両端はループを形成します。そのループ端からさらに合成が始まります。それが進むと一定の繰り返し配列を持った長さの異なる DNA が合成されます。その合成の際に DNA 伸長の原料となる三リン酸塩基から切り出された二リン酸 (ピロリン酸) マグネシウムの白色結晶が析出してきます。その濁りを検出することで、検出対象となる遺伝子があるかどうかを判別できます。詳しくは図をご参照ください。この図では主鎖に着目してあります。ループ構造からの伸長以外に、ループ構造部分にプローブが結合して伸長する場合もありますので、反応物は複雑になります。

論文 : Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al., Loop-mediated Isothermal Amplification of DNA, *Nucleic Acids Res.*, 2000, 28, E63.

総説 : LAMP (Loop-mediated isolation amplification) 法の原理と応用, モダンメディア 60 巻 7 号 2014 [医学検査のあゆみ-23] 2014

弊社では、LAMP 法による浴槽水などのレジオネラ菌の分析を行っています。詳しくはレジオネラ属菌検査をご覧ください。

## LAMP 法による遺伝子増幅システム図

