

环介导等温扩增技术的改良及其在检测中的应用进展

蔡树东^{1,2},吴 双^{2*},赵维芯³,成大荣¹,朱善元²,顾玲玲¹

(1. 扬州大学 兽医学院,江苏 扬州 225009; 2. 江苏农牧科技职业学院,江苏 泰州 225300;
3. 扬州大学 旅游与烹饪学院,江苏 扬州 225009)

摘要: 环介导等温扩增(LAMP)技术是一种具有特异性强、灵敏度高、快速简便、扩增高效等优点的等温核酸扩增方法。近年来,该技术在许多方面得到了进一步的改进和发展,主要体现在多重LAMP技术的实现以及LAMP技术与其他技术的联合应用方面。对LAMP技术在细菌检测、病毒检测、寄生虫检测、真菌和支原体检测、动物胚胎性别鉴定、转基因食品检测以及肿瘤基因检测中的应用进展进行了综述,并对LAMP技术的应用前景进行了展望,为今后LAMP技术的发展及应用提供参考。

关键词: 环介导等温扩增; 应用; 检测

中图分类号: Q78 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2016)08-0007-05

Progress on Improvement and Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification Method

CAI Shudong^{1,2}, WU Shuang^{2*}, ZHAO Weixin³, CHENG Darong¹, ZHU Shanyuan², GU Lingling¹

(1. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;
2. Jiangsu Animal Husbandry and Veterinary College, Taizhou 225300, China;
3. College of Tourism and Cooking, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The loop-mediated isothermal amplification (LAMP) is a kind of isothermal nucleic acid amplification method with high specificity, high sensitivity, fast and efficient amplification etc. Since its inception, the technology has been further improved and developed, mainly reflecting in multiplex LAMP and its combination with other technologies aspects. This paper primarily summarized its application in bacteria detection, virus detection, parasite detection, fungus and mycoplasma detection, sexing of animal embryos, genetically modified food detection and tumor gene detection in recent years, and looked into its application prospect, so as to provide reference for the development and application of LAMP technology.

Key words: loop-mediated isothermal amplification; application; detection

环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification,LAMP)是Notomi等^[1]发现的一种恒温核酸扩增技术,与传统的PCR技术相比,省去了PCR反应的变性、温度循环等一系列繁琐的过程,

节省了反应时间,而且灵敏性比常规PCR高10倍以上。LAMP技术通过2对特异性引物对目的序列的6个区域退火杂交,利用Bst DNA聚合酶的催化作用,在恒温条件下(60~65℃)温育30~60 min,

收稿日期:2015-12-12

基金项目:江苏农牧科技职业学院科研项目(NSFPT201501);江苏省高等学校大学生创新创业训练计划项目-校企合作基金项目(201512806029H)

作者简介:蔡树东(1991-),男,甘肃武威人,在读硕士研究生,研究方向:预防兽医微生物学。

E-mail:1769507537@qq.com

*通讯作者:吴 双(1983-),女,江苏徐州人,副教授,博士,主要从事动物传染病防控和流行病学研究。

E-mail:jswushuang@sina.cn

实现对目标序列的批量扩增^[2-5]。其反应结果可直接通过肉眼观察是否有白色焦磷酸镁沉淀产生进行判断,也可通过添加羟基萘酚蓝(HNB)、溴化乙锭(EB)、钙黄绿素或 SYBR Green I 等荧光染料进行显色观察。

常规 PCR 和实时定量 PCR 技术是目前应用最广泛的分子生物学检测方法,但由于 PCR 方法操作繁琐,耗时长且对仪器设备要求较高,不适合临床快速检测。而 LAMP 技术具有特异性强、灵敏度高、产物易检的优点且不需要昂贵的仪器和检测试剂,尤为适合基层和现场病原体检测。近年来,关于 LAMP 技术的研究已经取得了较大的进展,其方法也逐步得以改进,因此对 LAMP 技术方法的改进以及临床应用进行综述,并对其发展前景进行展望,旨在为 LAMP 技术的发展及应用提供参考。

1 LAMP 技术的改良

LAMP 技术自建立以来,已被广泛应用于细菌检测、病毒检测、转基因检测以及肿瘤检测和动物胚胎性别鉴定等方面。随着 LAMP 技术的不断改进与发展,逐渐向多重 LAMP 检测方向发展,也有研究者将 LAMP 技术与其他技术进行联合,开发了多种有效的检测方法。

1.1 多重 LAMP 技术

多重 LAMP 检测技术能在同一反应体系和同一反应条件下,实现对多个目标基因的快速检测。姜侃等^[6]针对沙门菌的 *invA* 基因和金黄色葡萄球菌的 *nuc* 基因设计 LAMP 引物,建立了食品中沙门菌和金黄色葡萄球菌多重 LAMP—熔解曲线检测方法。结果显示,该方法不但特异性好,而且对目标菌的检测灵敏度高($10 \text{ fg}/\mu\text{L}$)。袁向芬等^[7]建立了猪瘟病毒和猪繁殖与呼吸综合征病毒的双重 RT-LAMP 检测方法,发现该方法的灵敏度与荧光定量 RT-PCR 相当,比常规 RT-PCR 高 10 倍。赵军等^[8]针对蜡样芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的 *nhe*、*nuc* 基因设计了 2 套 LAMP 引物,并建立了同时检测 2 种菌的二重 LAMP 检测方法,结果表明,该二重 LAMP 检测方法检测限达 $10 \text{ fg}/\mu\text{L}$ 。陈兵等^[9]建立了禽流感病毒(AIV)、新城疫病毒(NDV)和传染性法氏囊病毒(IBDV)3 种病毒的实时荧光多重反转录环介导等温扩增(multiplex real-time reverse transcription-LAMP, mRT-LAMP)检测方法,结果表明,建立的 mRT-LAMP 检测方法可对 AIV、NDV、IBDV 同时进行筛选检测,灵敏度可达到 10 拷贝,与

单重 LAMP 检测的灵敏度相当。王彩霞等^[10]建立了同时检测贝类派琴虫和包纳米虫的双重 LAMP 方法,并且采用酶切试验验证了双重 LAMP 检测方法的准确性。

1.2 LAMP 技术与其他技术的联合应用

国内外学者将 LAMP 技术与其他技术进行联合,并研发了多种高效的检测方法。Marciniak 等^[11]将滚环扩增技术与 LAMP 技术相结合,成功实现了对长为 31 bp 短片段核酸的快速检测。Fang 等^[12]在微孔道芯片的基础上,应用 LAMP 技术成功检测了假性狂犬病毒。Wang 等^[13]在检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌时,成功将磁珠芯片与 LAMP 技术相结合。Seetang-Nun 等^[14]在检测白斑综合症病毒(WSSV)时,联合应用了纳米金颗粒标记的 DNA 探针和 LAMP 技术,2 种技术的结合使得检测限低至 200 拷贝。Ravan 等^[15]将 LAMP 技术和酶联免疫吸附试验技术结合,建立了检测沙门菌血清组 DNA 的检测方法,结果表明,其检测限可达 $4 \text{ cfu}/\text{mL}$ 。翁琳等^[16]将 LAMP 技术与基因芯片进行结合,对肺炎衣原体进行检测,结果表明,LAMP 技术联合基因芯片技术具有高灵敏性和高特异性,可快速准确地检测肺炎衣原体。王瑞娜等^[17]将环介导等温扩增技术与横向流动试纸条检测技术联合,建立了一种可用于单核细胞增生李斯特菌检测的方法。

2 LAMP 技术的应用

LAMP 技术已经被广泛应用于病原体检测、转基因食品检测、动物胚胎性别的鉴定及肿瘤的基因检测等领域^[18-23],具有很高的应用价值。

2.1 细菌检测

Nakamura 等^[24]建立了百日咳博德特氏菌的 LAMP 检测方法,为新生婴儿百日咳的快速诊断提供一种有效的手段。Song 等^[25]建立了布鲁氏菌的 LAMP 检测方法,并对 4 种布鲁氏菌和 29 株非布鲁氏菌进行检测,结果表明,该 LAMP 方法不仅特异性强,而且其最低检测限低至 $3.81 \text{ cfu}/\text{mL}$ 。李佳桐等^[26]针对沙门菌 *STN* 基因设计了 LAMP 引物,并建立了检测沙门菌的 LAMP 检测方法,其检测限为 $10 \text{ cfu}/\text{mL}$,比常规 PCR 的灵敏度高 10 倍。刘哲等^[27]以产气荚膜梭菌的 α 毒素全基因序列为保守序列设计 LAMP 引物,建立了产气荚膜梭菌 LAMP 检测方法,通过与常规 PCR 法灵敏性比较发现,LAMP 法灵敏性是 PCR 法的 1 000 倍。刘亚娟等^[28]根据猪传染性胸膜肺炎放线杆菌(APP) *ApxIVA* 基因的保守序列设计引物建立了快速检测 APP 的 LAMP 检测方法,并用建立的 LAMP 方法和 SN/T 1447—

2011 标准公布的方法对 36 份临床样品进行检测分析,结果表明,2 种方法的符合率为 100%。此外,一些研究者还应用 LAMP 方法成功检测到了炭疽芽孢杆菌、霍乱弧菌、水中军团菌、迟钝爱德华菌、牙龈卟啉单胞菌、热带念珠菌、奔马赭霉暗色丝孢霉等病原微生物。

2.2 病毒检测

2.2.1 DNA 病毒 张侃等^[29]针对猪伪狂犬病病毒(PRV)gB 基因设计引物,建立了 PRV 的 LAMP 检测方法,并与常规 PCR 方法进行比较,发现其与常规 PCR 方法检出率一致,但其最低检测限仅为 10 拷贝/ μL ,灵敏性是常规 PCR 方法的 100 倍。Yang 等^[30]成功建立了人乳头瘤病毒(HPV)和人类疱疹病毒 2 型(HSV-2)的 LAMP 检测方法,结果表明,2 种方法具有相同的反应温度和时间,而 LAMP 检测 HPV 灵敏度为 10 拷贝/ μL ,检测 HSV-2 的灵敏度为 100 拷贝/ μL 。此外,研究者们还成功建立了 HIV-1 型病毒^[31]、乙肝病毒^[32]等 DNA 病毒的 LAMP 检测方法。

2.2.2 RNA 病毒 Hosaka 等^[33]应用一步法 RT-LAMP 检测方法对 HIV-1 的 pol (integrase) 基因进行了检测,整个反应仅需要 35 min 即可完成,且灵敏度达到 120 拷贝/ μL 。Chen 等^[34]利用 RT-LAMP 法检测了猪繁殖与呼吸综合征病毒,发现 RT-LAMP 检测技术较普通 RT-PCR 技术更快速更灵敏。钟璟皓等^[35]建立了马尔堡病毒的 LAMP 可视化检测方法,并与常规 PCR、实时荧光定量 PCR 进行对比,结果表明,LAMP 法的灵敏度高于常规 PCR 和实时荧光定量 PCR。罗思思等^[36]针对 H7 和 N9 亚型 AIV 的 HA、NA 基因建立了 RT-LAMP 检测方法,并进行了特异性试验和灵敏性检测,结果表明,该方法具有良好的特异性,其灵敏度为 10 拷贝/ μL 。Geng 等^[37]建立了人类冠状病毒 NL63 的 RT-LAMP 检测方法,并对该方法的特异性和敏感性进行了评价,结果表明,该方法具有较高的特异性,其灵敏度为 1 600 拷贝/ μL 。此外,一些研究者也建立了甘蔗花叶病毒(SCMV)、高粱花叶病毒^[38]等 RNA 病毒的 RT-LAMP 检测方法。

2.3 寄生虫检测

LAMP 技术的开发为寄生虫病检测提供了较为准确便捷的方法。Kumagai 等^[39]针对 28S 核糖体分别设计了用于检测日本血吸虫的 LAMP 引物和常规 PCR 引物,并分别对感染了日本血吸虫的钉螺进行检测,发现 2 种方法具有相同的灵敏度,检测下限均为 100 fg/ μL 。Niu 等^[40]和 Kikuchi 等^[41]利用 LAMP 方法分别建立了大豆根结线虫和松材线虫的快速检

测法,大大提高了检测效率。Adao 等^[42]对 121 名女性阴道拭子中阴道毛滴虫进行 LAMP 检测,结果表明,利用 LAMP 法的检出率为 42.06%,而利用传统检测方法和常规 PCR 方法的检出率分别为 8.26% 和 7.44%,而且 LAMP 方法灵敏度比常规 PCR 高出 10 倍。

2.4 真菌和支原体检测

邓显文等^[43]建立了鸡滑液支原体(MS)的 LAMP 可视化检测方法,结果显示,该方法的敏感性可达到 100 拷贝/ μL ,是常规 PCR 方法的 10 倍。Suwancharoen 等^[44]对收集的 533 份牛尿样中钩端螺旋体进行 LAMP 检测和常规检测,发现 LAMP 检测法不仅具有较强的特异性,而且其准确性也高于常规检测方法。因此,LAMP 在真菌和支原体检测中具有很好的应用前景。

2.5 动物胚胎性别鉴定

近年来,LAMP 技术在动物胚胎性别鉴定方面也得到了应用,且准确率也很高。Khamlor 等^[45]利用 LAMP 技术检测牛胚胎性别,结果显示,在 63 °C 下反应 1 h 便可实现扩增,且准确性高达 100%。潘宏等^[46]建立了 LAMP 法快速鉴定水牛早期胚胎性别体系,为预知水牛性别胚胎移植奠定了基础。该技术操作简单、准确率高、用时短,适合养殖场现场操作,为畜牧业发展带来巨大经济效益。

2.6 转基因检测

Chen 等^[47]利用 LAMP 方法检测 7 种转基因玉米品系,并成功用建立的方法对样品中的转基因玉米成分进行了检测。在国内,研究者们也建立了转基因玉米 Bt176、MON89034 和 MON863 的 LAMP 检测体系^[48],并成功实现对样品的检测。Zhou 等^[49]建立了转基因甘蔗中 cryIAc 基因的 LAMP 检测方法,结果显示,该方法检测甘蔗基因组 DNA 的最低检测限为 1.0 ng/ μL 。张明哲等^[50]采用 LAMP 技术对转基因水稻 Bt63 进行检测,结果显示,LAMP 技术检测转基因水稻 Bt63 特异性好,并且灵敏度达到 0.01%。由于该技术不需要复杂仪器操作,其将会在检验检疫等一线工作中起到重要作用,成为转基因检测的一种有效手段。

2.7 肿瘤检测

Livingstone 等^[51]采用了 LAMP 技术对口咽部鳞癌中人乳头瘤病毒进行检测,结果显示,LAMP 方法的灵敏性和特异性分别达常规 PCR 方法的 99.4% 和 93.2%。Hao 等^[52]采用 RT-LAMP 法检测乳腺癌患者前哨淋巴结转移,并与食品和药物管理局批准的乳腺淋巴结试验(BLN)以及常规病理检查进行比较,结果显示,该 RT-LAMP 方法灵敏度

高、特异性强,为临床检测提供了较好的方法。

3 小结与展望

LAMP 是近年来新研发的一种核酸等温扩增技术,虽然其原理复杂,但操作十分简单,而且优势突出,该扩增技术所需设备简单廉价,扩增效率极高,耗时短。此外,LAMP 具有特异性强、灵敏度高以及产物检测可视化等优点。尽管 LAMP 技术的优势已被研究领域广泛接受,但仍然需要对 LAMP 技术进一步改进与完善,例如,在引物的设计与筛选、产物的特异性检测和分离以及反应试剂的保存运输方面。通过科学技术不断地改进和发展,LAMP 技术会在更多领域发挥更重要的应用价值。

参考文献:

- [1] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(12):E63.
- [2] 夏楚才,陈水波,苏华,等.副溶血性弧菌分子检测与分型研究进展 [J]. 现代农业科技, 2012(22):277-278,280.
- [3] 许紫建,杨兵,苏霞,等.空肠弯曲菌环介导等温扩增检测方法的建立和优化 [J]. 华北农学报, 2013, 28(3):222-226.
- [4] 许春英,李逢慧,罗超.环介导等温扩增技术检测建兰花叶病毒 [J]. 现代农业科技, 2009(8):11-12,14.
- [5] 张毅,胡定金.环介导等温扩增技术检测克氏螯虾样品中的副溶血性弧菌 [J]. 河南农业科学, 2013, 42(3):128-130.
- [6] 姜侃,张慧,汪新,等.多重 LAMP—熔解曲线法检测食品中两种食源性致病菌 [J]. 食品与机械, 2015(2):87-92.
- [7] 袁向芬,吴绍强,吕继洲,等.猪瘟病毒和猪繁殖与呼吸综合征病毒双重 RT - LAMP 检测方法的建立与应用 [J]. 中国兽医学报, 2015, 45(7):721-728.
- [8] 赵军,陈泽平,李桢,等.二重 LAMP 检测鸡蛋污染致病菌 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(4):107-116.
- [9] 陈兵,孙洁,陈书琨,等.三种家禽病毒多重 RT - LAMP 检测方法的建立与应用 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2016(1):2-5.
- [10] 王彩霞,冯春燕,王巧黎,等.同时检测贝类派琴虫和包纳米虫的双重 LAMP 方法的建立 [J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(8):1935-1942.
- [11] Marciniak J, Kummel A, Esener S, et al. Coupled rolling circle amplification loop-mediated amplification for rapid detection of short DNA sequences [J]. Biotechniques, 2008, 45(3):275-280.
- [12] Fang X, Liu Y, Kong J, et al. Loop-mediated isothermal amplification integrated on microfluidic chips for point-of-care quantitative detection of pathogens [J]. Anal Chem, 2010, 82(7):3002-3006.
- [13] Wang C H, Lien K Y, Wu J J, et al. A magnetic bead-based assay for the rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by using a microfluidic system with integrated loop-mediated isothermal amplification [J]. Lab Chip, 2011, 11(8):1521-1531.
- [14] Seetang-Nun Y, Jaroenram W, Sriurairatana S, et al. Visual detection of white spot syndrome virus using DNA-functionalized gold nanoparticles as probes combined with loop-mediated isothermal amplification [J]. Mol Cell Probes, 2013, 27(2):71-79.
- [15] Ravan H, Yazdanparast R. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method in conjunction with an enzyme-linked immunosorbent assay for specific detection of *Salmonella serogroup D* [J]. Anal Chim Acta, 2012, 733:64-70.
- [16] 翁琳,杨俊发,柴晓宇,等. LAMP 联合基因芯片技术在肺炎衣原体检测中的应用 [J]. 中国当代医学, 2014, 21(27):4-6.
- [17] 王瑞娜,周前进,陈炯.环介导等温扩增联合横向流动试纸条快速检测单核细胞增生李斯特菌的研究 [J]. 中国兽医学报, 2014, 34(10):1615-1621,1633.
- [18] 胡兴娟,沈飚,江玲丽,等.海产品中霍乱弧菌实时浊度 LAMP 检测方法的建立 [J]. 河南农业科学, 2014, 43(10):127-130.
- [19] 王永,兰青阔,赵新,等.抗虫转 *Bt* 基因水稻外源转基因成分环介导等温扩增技术检测方法的建立及应用 [J]. 天津农业科学, 2013, 18(1):7-10.
- [20] 王树芬,王德国,薛白,等.可视化 LAMP 快速检测猪伪狂犬病毒 [J]. 河南农业科学, 2013, 41(6):140-143.
- [21] 呼斯乐,白晨,张惠忠,等.转基因作物检测技术研究进展 [J]. 内蒙古农业科技, 2014(5):98-101.
- [22] 辛言言,刘洪义,杨长志,等.番茄黑环病毒 RT - LAMP 检测方法的建立 [J]. 河南农业科学, 2015, 44(4):88-92.
- [23] 陈金松,黄丛林,张秀海,等.环介导等温扩增技术检测含有 *CaMV35S* 的转基因玉米 [J]. 华北农学报, 2011, 26(4):8-14.
- [24] Nakamura A, Sakano T, Nakayama T, et al. Neonatal pertussis presenting as acute bronchiolitis: Direct detection of the *Bordetella pertussis* genome using loop-mediated isothermal amplification [J]. European journal of pediatrics, 2009, 168(3):347-349.
- [25] Song L Y, Li J T, Hou S P, et al. Establishment of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for rapid detection of *Brucella* spp. and application to milk and blood samples [J]. Sci Verse Sci Direct, 2012, 90(3):292-297.
- [26] 李佳桐,王楠,金贞爱,等.沙门氏菌 LAMP 检测方法的建立 [J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(3):91-94.
- [27] 刘哲,马晓燕,张会彦,等.环介导等温扩增技术快速

- 检测产卵期囊膜梭菌的研究 [J]. 中国食品学报, 2012, 12(4):168-174.
- [28] 刘亚娟, 聂福平, 杨俊, 等. 猪传染性胸膜肺炎放线杆菌 LAMP 方法的建立 [J]. 中国兽医学报, 2016, 36(2):200-205.
- [29] 张侃, 蒋菲, 张跃伟, 等. 羟基萘酚蓝在伪狂犬病病毒环介导等温扩增检测方法中的应用 [J]. 农业生物技术学报, 2011, 19(6):1075-1080.
- [30] Yang J F, Zhao C Z, Lu K X. Development and application of a rapid detection system for human papillomavirus and Herpes simplex virus-2 by loop-mediated isothermal amplification assay [J]. Microb Pathog, 2016, 8 (97): 178-182.
- [31] Odari E O, Maiyo A, Lwembe R, et al. Establishment and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the semi-quantitative detection of HIV-1 group M virus [J]. J Virol Methods, 2015, 212: 30-38.
- [32] Nyan D C, Ulitzky L E, Cehan N, et al. Rapid detection of hepatitis B virus in blood plasma by a specific and sensitive loop-mediated isothermal amplification assay [J]. Clin Infect Dis, 2014, 59(1):16-23.
- [33] Hosaka N, Ndembu N, Ishizaki A, et al. Rapid detection of human immunodeficiency virus type1 group M by a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay [J]. J Virol Methods, 2009, 157(2):195-199.
- [34] Chen C M, Cui S, Zhang C F, et al. Development and validation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for detection of PRRSV [J]. Virus Genes, 2010, 40(1):76-83.
- [35] 钟璟皓, 韩一芳, 张晨, 等. 马尔堡病毒 LAMP 可视化快速检测方法的建立 [J]. 中国病原生物学杂志, 2016, 11(4):320-324.
- [36] 罗思思, 谢芝勋, 谢丽基, 等. H7 亚型和 N9 亚型禽流感病毒 RT-LAMP 可视化检测方法的建立 [J]. 畜牧兽医学报, 2015, 46(7):1176-1183.
- [37] Geng H, Wang S, Xie X, et al. Visual detection of human coronavirus NL63 by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification [J]. Bing Du Xue Bao, 2016, 32(1):56-61.
- [38] Keizerweerd A T, Chandra A, Grisham M P, et al. Development of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the detection of Sugarcane mosaic virus and Sorghum mosaic virus in sugarcane [J]. J Virol Methods, 2015, 212:23-29.
- [39] Kumagai T, Furushima-Shimogawara R, Ohmae H, et al. Detection of early and single infections of *Schistosoma japonicum* the intermediate host snail, *Oncomelania hupensis*, by PCR and loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay [J]. Am J Trop Med Hyg, 2010, 83(3): 542-548.
- [40] Niu J, Guo Q, Jian H, et al. Rapid detection of *Meloidogyne* spp. by LAMP assay in soil and roots [J]. Crop Protect, 2011, 30(8):1063-1069.
- [41] Kikuchi T, Aikawa T, Oeda Y, et al. A rapid and precise diagnostic method for detecting the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by loop-mediated isothermal amplification [J]. Phytopathology, 2009, 99 (12): 1365-1366.
- [42] Adao D E, Rivera W L. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the rapid detection of the sexually-transmitted parasite, *Trichomonas vaginalis* [J]. Ann Parasitol, 2016, 62(1):25-31.
- [43] 邓显文, 谢芝勋, 谢志勤, 等. 鸡滑液支原体 LAMP 快速可视化检测方法的建立 [J]. 中国预防兽医学报, 2014, 36(1):46-49.
- [44] Suwancharoen D, Sittiwicheanwong B, Wiratsudaku A. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification method (LAMP) for pathogenic *Leptospira* spp. detection with leptospires isolation and real-time PCR [J]. J Vet Med Sci, 2016. doi:10.1292/jvms.15-0702.
- [45] Khamlor T, Pongpiachan P, Parnpai R, et al. Bovine embryo sex determination by multiplex loop-mediated isothermal amplification [J]. Theriogenology, 2015, 83: 891-896.
- [46] 潘宏, 段亚萍, 李敏玲, 等. LAMP 法在水牛早期胚胎性别鉴定中的应用 [J]. 南方农业学报, 2015, 46(6): 1106-1110.
- [47] Chen L L, Guo J C, Wang Q D, et al. Detection of the visual loop-mediated isothermal amplification assays for seven genetically modified maize events and their application in practical samples analysis [J]. J Agric Food Chem, 2011, 59:5914-5918.
- [48] 凌莉, 刘静宇, 易敏, 等. 转基因玉米 Bt176 品系特异性环介导等温扩增检测方法的研究 [J]. 食品工业科技, 2013(3):310-313.
- [49] Zhou D, Guo J, Xu L, et al. Establishment and application of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) system for detection of *cryIAc* transgenic sugarcane [J]. Sci Rep, 2014, 4:4912.
- [50] 张明哲, 陈曦, 徐俊锋. 环介导等温扩增技术在转基因水稻 Bt63 检测中的应用 [J]. 生物技术通报, 2014 (2):69-74.
- [51] Livingstone D M, Rohatensky M, Mintchev P, et al. Loop mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection and subtyping of human papillomaviruses (HPV) in oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC) [J]. J Clin Virol, 2016, 75:37-41.
- [52] Hao X, Liu Y, Li X, et al. An intra-operative RT-LAMP method allows rapid and reliable detection of sentinel lymph node metastasis in breast cancer patients [J]. Virchows Arch, 2015, 466(2):169-176.