

## НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 577.113.5; 543.066

**ЛАТЕРАЛЬНЫЙ ПРОТОЧНЫЙ ГИБРИДИЗАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ  
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРАНСКРИПТОВ ГЕНОВ БЕТА-ЛАКТАМАЗ  
ТЕМ-ТИПА У БАКТЕРИЙ, РЕЗИСТЕНТНЫХ К АНТИБИОТИКАМ****Анна Андреевна Филиппова<sup>1</sup>, Ирина Петровна Андреева<sup>2</sup>, Галина  
Васильевна Преснова<sup>3</sup>, Мария Морисовна Уляшова<sup>4</sup>, Майя Юрьевна  
Рубцова<sup>5</sup>**<sup>1-5</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет**Автор, ответственный за переписку:** Майя Юрьевна Рубцова, [mrubtsova@gmail.com](mailto:mrubtsova@gmail.com)

**Аннотация.** Разработана методика латерального проточного анализа специфических мРНК бактериальных бета-лактамаз, включающая получение биотинилированной ДНК-мишени из фракции общей РНК культуры клеток и ее анализ на тест-полоске с иммобилизованными олигонуклеотидными зондами. При комплементарности структур ДНК-мишени и зонда в тестовой зоне полоски образуются дуплексы ДНК, которые взаимодействуют с конъюгатом стрептавидина с наночастицами золота. Метод применен для определения транскриптов генов бета-лактамаз TEM-типа, полученных из культуры клеток *E. coli* – продуцентов соответствующей рекомбинантной бета-лактамазы. Показано, что в латеральном проточном анализе наиболее эффективно выявляются одноцепочечные ДНК-мишени размером 330 оснований.

**Ключевые слова:** латеральный проточный анализ, бета-лактамазы, антибиотикорезистентность, мРНК, ДНК

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2023-64-2-112-120

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова 121041500039-8 «Молекулярный дизайн, структурно-функциональный анализ и регуляция ферментных систем, клеточных конструкций, бионаноматериалов: фундаментальные основы и приложения в технологии, медицине, охране окружающей среды».

**Для цитирования:** Филиппова А.А., Андреева И.П., Преснова Г.В., Уляшова М.М., Рубцова М.Ю. Латеральный проточный гибридный анализ для идентификации генов бета-лактамаз у бактерий, устойчивых к антибиотикам // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. Т. 64. № 2. С. 112–120.

## ORIGINAL ARTICLE

**LATERAL FLOW HYBRIDIZATION ASSAY FOR DETERMINATION  
OF TRANSCRIPTS OF TEM-TYPE BETA-LACTAMASE GENES  
IN BACTERIA RESISTANT TO ANTIBIOTICS****Anna A. Filippova, Irina P. Andreeva, Galina V. Presnova, Mariya M. Ulyashova,  
Maya Yu. Rubtsova**

Lomonosov Moscow State University, Chemistry Faculty

**Corresponding author:** Maya Yu. Rubtsova, [mrubtsova@gmail.com](mailto:mrubtsova@gmail.com)

**Abstract.** A technique for lateral flow hybridization analysis of specific bacterial beta-lactamase mRNAs has been developed, including the preparation of a biotinylated target DNA and its analysis on a test strip with immobilized oligonucleotide probes. When the DNA target and probe structures are complementary, DNA duplexes are formed in the test zone of the strip, which interact with the streptavidin conjugate with gold nanoparticles. The method was used to determine the transcripts of the TEM-type beta-lactamase genes isolated from the culture of *E. coli* – producers of the corresponding recombinant beta-lactamase. It has been shown that single-stranded DNA target of 330 bases was revealed most effectively in lateral flow analysis.

**Keywords:** lateral flow analysis, beta-lactamases, antibiotic resistance, mRNA, DNA

**Financial Support.** The work was carried out within the framework of the state task of Lomonosov Moscow State University 121041500039-8 “Molecular design, structural and functional analysis and regulation of enzyme systems, cellular structures, bionanomaterials: fundamentals and applications in technology, medicine, environmental protection”.

**For citation:** Filippova A.A., Andreeva I.P., Presnova G.V., Ulyashova M.M., Rubtsova M.Yu. Lateral Flow Hybridization assay for Determination of Transcripts of TEM-Type Beta-Lactamase Genes in Bacteria Resistant to Antibiotics // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. T. 64. № 2. P. 112–120.

Устойчивость бактерий к антибактериальным препаратам – глобальная проблема биологии и медицины [1, 2]. Разработка быстрых и недорогих методов диагностики резистентных к антибиотикам бактерий представляет собой одну из актуальных задач практического здравоохранения. Среди таких бактерий наиболее распространены грамотрицательные микроорганизмы, устойчивые к бета-лактамам антибиотикам (пенициллинам, цефалоспорином, карбапенемам и монобактамам) [3]. Основным механизмом их устойчивости к бета-лактамам является продукция ферментов – бета-лактамаз, гидролизующих амидную связь в бета-лактамом кольце антибиотика [4–6]. В дополнение к традиционным микробиологическим методам определения устойчивости бактерий по подавлению роста клеток в присутствии антибиотиков активно развиваются молекулярно-генетические методы обнаружения генов бета-лактамаз. Перспективной с точки зрения практического использования представляется технология латерального проточного анализа на тест-полосках, активно применяемая в иммунохимическом анализе [7]. Ее преимущество состоит в экспрессности, обусловленной использованием пористых носителей, проведением анализа в проточном режиме, а также в простоте проведения анализа, поскольку все необходимые компоненты заранее наносятся на полоску. В последние годы методы на основе латерального проточного анализа начали активно развиваться для определения нуклеиновых кислот вирусов, бактерий и

генов их устойчивости к антибиотикам [8–11]. В частности, разработаны несколько вариантов метода для идентификации генов клинически значимых бета-лактамаз [12–14]. Определение нуклеиновых кислот с использованием латерального проточного анализа основано на двух основных принципах. В первом определяемые нуклеиновые кислоты рассматриваются как объекты определения (аналиты) без учета особенностей их химического строения и структуры [10, 12]. В процессе амплификации в нуклеиновые кислоты вводят не менее двух меток, для определения которых используются специфичные к ним антитела. Антитела первого типа иммобилизуются на полоске, а в антитела второго типа вводится метка, например наночастицы золота, для выявления образовавшихся комплексов. В этом случае специфичность определения нуклеиновых кислот определяется специфичностью метода амплификации. Вторым принципом определения обеспечивает более высокую специфичность благодаря гибридизации продукта амплификации со специфичным олигонуклеотидным зондом, иммобилизованным на тест-полоске [15–18]. Эта технология может быть использована не только для идентификации генов бета-лактамаз, но и для характеристики уровня их экспрессии на основании определения специфичных мРНК бета-лактамаз в РНК-транскриптах бактериальных культур, что актуально при исследовании бактерий, имеющих гены нескольких бета-лактамаз.

Цель настоящей работы заключалась в разработке метода латерального проточного гибридного анализа транскриптов генов бета-лактамаз на примере сериновых бета-лактамаз ТЕМ-типа. В задачи работы входила оптимизация методики анализа и пробоподготовки ДНК-мишени из фракции общей РНК, выделяемой из культур бактериальных клеток.

### Экспериментальная часть

**Материалы.** В работе использовали золото-хлористоводородную кислоту, Твин 20 («Fluka», Швейцария), бычий сывороточный альбумин (БСА), цитрат натрия, казеин, фиколл, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон («Sigma», США), карбонат натрия, одно- и двузамещенные фосфаты натрия, сахарозу, хлорид натрия («Химмед», Россия), дезоксирибонуклеотидтрифосфаты, Taq ДНК-полимеразу, dUTP-11-биотин («Fermentas», Германия), стрептавидин («Имтек», Россия), рН-полоски Р-4536 с диапазоном определения рН от 5 до 9 ед. («Fisher», США). Для проведения обратной транскрипции использовали коммерческий набор ОТ («Евроген», Москва), включающий ревертазу MMLV-RT, набор праймеров Random-6, праймер Олиго(dT)<sub>15</sub>. Клетки *E. coli* выращивали на жидкой питательной среде LB (10 г/л бакто-триптон, 5 г/л дрожжевой экстракт, 5 г/л хлорид натрия, рН 7,5). Для изготовления тест-полосок использовали аналитическую нитроцеллюлозную мембрану 150-CNPH-N, стекловолоконную мембрану для нанесения конъюгата РТ-5, абсорбирующую мембрану AP045 («MDI», Индия).

**Получение конъюгата наночастиц золота со стрептавидином.** К 1 мл раствора коллоидного золота (рН 7,0), полученного методом Френса [19], добавляли по каплям 0,1 мл водного раствора стрептавидина (0,22 мг/мл), перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Затем к полученному раствору добавляли БСА, сахарозу и азид натрия до конечной концентрации 0,2; 10 и 0,01% соответственно. Избыток стрептавидина удаляли центрифугированием (30 мин, 11000 g, 4 °С). На мембрану для нанесения конъюгата наносили 15 мкл раствора конъюгата и высушивали в течение ночи при комнатной температуре.

**Приготовление тест-полоски.** На нитроцеллюлозную мембрану наносили по 0,5 мкл раствора специфического олигонуклеотидного зонда (5'-CTGACAACGATCGGAGGACCG-3') в 0,01 М фосфатном буфере рН 7,2 с 0,15 М NaCl для формирования тестовой зоны. На

контрольную зону полоски наносили зонд (5'-TCTAGACAGCCACTCATA-3'-биотин) на расстоянии 5 мм от тестовой зоны. Зонды имели ножку из 13 Т на 5'-конце и были модифицированы 5'-аминогруппой. Полоску высушивали в течение 1 ч при 60 °С или облучали УФ-излучением при длине волны 254 нм с использованием УФ-трансиллюминатора («VilberLourmat», Германия) в течение 30 мин. Блокирование мембраны проводили с помощью различных реагентов в течение 30 мин при комнатной температуре, затем отмывали 3 раза 0,01 М фосфатным буфером (рН 7,2), содержащим 0,15 М NaCl и 0,05% твин-20, а затем высушивали в течение ночи при комнатной температуре.

**Получение биотинилированной ДНК-мишени** проводили в три стадии: 1) выделяли фракцию общей РНК из культуры клеток *E. coli* (продуцентов бета-лактамазы ТЕМ-1), используя набор РНК-экстран («Синтол», Россия); 2) получали первую цепь кДНК в реакции обратной транскрипции (ОТ), используя набор фирмы «Евроген» (Россия) и набор праймеров (Random-6 и Олиго(dT)<sub>15</sub>); 3) амплифицировали биотинилированный фрагмент гена бета-лактамазы ТЕМ-1 в полимеразной цепной реакции (ПЦР) по методике, описанной ранее [20]. Амплификацию проводили в ДНК-амплификаторе «Mastercycler gradient» («Eppendorf», Германия) по следующему протоколу: начальная денатурация при 94 °С (4 мин), затем 25 циклов амплификации (30 с – денатурация при 94 °С, 40 с – отжиг праймеров при 65 °С, 45 с – элонгация при 72 °С), завершающий этап элонгации при 72 °С (8 мин). В качестве модельной ДНК-мишени использовали синтетический олигонуклеотидный зонд из 72 оснований (биотин-5'-TTTTTCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCC-TCCGATCGTTGTCAG-3'), комплементарный фрагменту 409–480 кодирующей последовательности гена бета-лактамазы ТЕМ-1.

**Латеральный проточный гибридный анализ биотинилированной ДНК.** На аналитическую мембрану тест-полоски наносили 1 мкл раствора биотинилированной ДНК (продукт реакции амплификации) сразу после мембраны РТ-5 с конъюгатом. Затем полоски помещали вертикально в лунки 96-луночного полистиролового планшета со 180 мкл 0,06 М цитратного буфера (рН 7,0) с добавлением 0,6 М NaCl и 0,1% Tween 20. Через 15 мин тест-полоски доставали, помещали на горизонтальную поверхность

и высушивали. Затем проводили сканирование тест-полосок на сканере «Epson Perfection V 700» («Seiko-Epson», Япония) с разрешением 600 точек на дюйм в 24-битном цвете (RGB) и анализировали полученные цифровые изображения с использованием программы Scion Image (<http://www.scioncorp.com>).

### Результаты и обсуждение

**Принцип определения специфичной мРНК** методом латерального проточного гибридизационного анализа на тест-полоске представлен на рис. 1. Особенность этой технологии состоит в использовании пористых мембранных носителей, что обеспечивает поток буферного раствора вдоль полоски при проведении анализа. Тест-полоска (рис. 1, а) включает несколько типов пористых мембранных носителей – аналитическую мембрану, плотно закрепленную на пластиковой подложке, мембраны для буфера и конъюгата и абсорбирующую мембрану, обеспечивающую

поток буферного раствора. На аналитической мембране размещаются две основные зоны анализа – тестовая и контрольная. В тестовой зоне иммобилизованы олигонуклеотидные зонды, последовательность которых комплементарна фрагменту определяемой последовательности ДНК, в контрольной зоне – контрольные олигонуклеотидные зонды, последовательность которых не встречается в бактериальных геномах. Для определения генов бета-лактамаз TEM-типа использовали олигонуклеотидный зонд из 21 основания, последовательность которого соответствует консервативному участку 409–429 кодирующей последовательности генов этого типа.

Пробоподготовка образца бактериальной культуры состояла из нескольких этапов: выделение фракции общей РНК; получение первой цепи кДНК в реакции ОТ с использованием ревертазы; амплификация определяемого гена (ДНК-

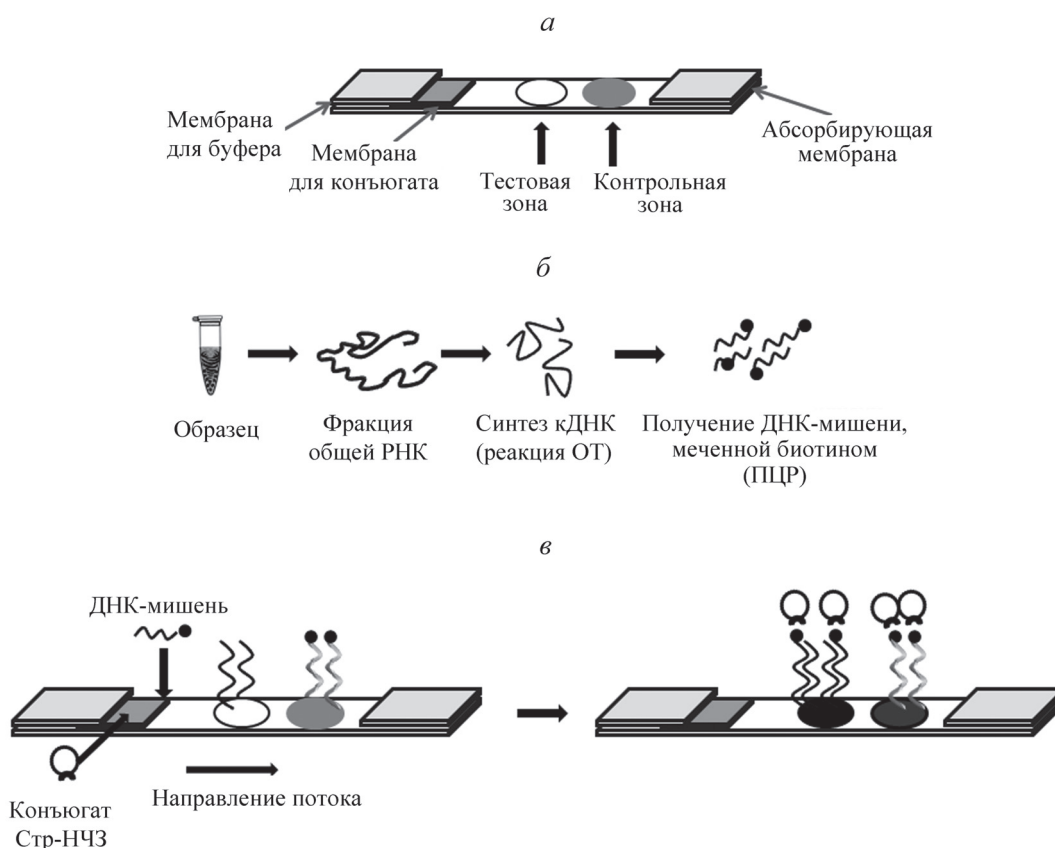


Рис. 1. Тест-полоска, включающая несколько типов пористых мембранных носителей (а); схема пробоподготовки биотинилированной ДНК-мишени из культуры бактериальных клеток (б); схема латерального проточного гибридизационного анализа ДНК-мишени на тест-полоске (в)

мишени) в реакции ПЦР с одновременным введением метки – биотина (рис. 1, б).

Определение ДНК-мишени (рис. 1, в) основано на ее гибридизации с иммобилизованным зондом, если их структуры комплементарны. Для выявления образовавшихся на носителе дуплексов ДНК, меченных биотином, используется конъюгат стрептавидина с наночастицами золота (НЧЗ), который адсорбируется на специальной мембране.

При анализе на тест-полоску наносят образец биотинилированной ДНК-мишени (рис. 1, в), затем ее погружают в буферный раствор, который начинает двигаться вдоль пористой мембраны под действием капиллярных сил. В потоке буфера происходит десорбция конъюгата стрептавидина с НЧЗ, далее он продвигается вдоль полоски вместе с ДНК-мишенью. При комплементарности структур ДНК-мишени и иммобилизованного олигонуклеотидного зонда в тестовой зоне образуются дуплексы ДНК, меченные биотином. При взаимодействии дуплексов и конъюгата стрептавидина с НЧЗ тестовая зона окрашивается, интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации ДНК-мишени. Избыток несвязавшегося конъюгата движется далее вдоль мембраны и взаимодействует с контрольным зондом в контрольной зоне, которая также окрашивается.

**Оптимизация условий латерального проточного гибридного анализа** заключалась в выборе размера НЧЗ для конъюгата со стрептавидином, а также методик иммобилизации олигонуклеотидных зондов и блокирования аналитической мембраны. В этих экспериментах в качестве модельной ДНК-мишени использовали меченный биотином на 5'-конце синтетический олигонуклеотидный зонд из 72 оснований, последовательность которого комплементарна фрагменту 409–480 кодирующей последовательности гена бета-лактамазы TEM-1.

На рис. 2, а представлены результаты определения интенсивности окрашивания тестовой зоны полоски с иммобилизованным специфичным олигонуклеотидным зондом после взаимодействия с конъюгатом стрептавидина с НЧЗ разного диаметра (25 и 35 нм). Аналитический сигнал и контрастность изображения в диапазоне исследованных концентраций ДНК-мишени (0,1–2,5 пмоль/мкл) были выше при использовании конъюгата стрептавидина с НЧЗ большего диаметра (35 нм).

Известно, что в условиях анализа ДНК-мишень является заряженной молекулой и может

неспецифически адсорбироваться на аналитической мембране. Для блокирования центров неспецифического связывания были исследованы различные блокирующие агенты: бычий сывороточный альбумин (БСА) (0,5%-й раствор), смесь растворов БСА и казеина (1:1), фиколл, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, смесь БСА, поливинилового спирта и поливинилпирролидона (1:1:1). Полоски погружали в раствор блокирующих агентов на 1 ч, затем отмывали и высушивали. После этого иммобилизовывали олигонуклеотидный зонд на мембране и пропускали ДНК-мишень (рис. 2, б). Наиболее высокая интенсивность окрашивания наблюдалась при блокировании мембраны в 0,5%-м растворе БСА. Далее сравнивали два варианта блокировки аналитической мембраны: после иммобилизации олигонуклеотидного зонда и до иммобилизации зонда. Затем проводили анализ, как описано выше, результаты представлены на рис. 2, в. При иммобилизации зонда после блокирования мембраны интенсивность окрашивания была в несколько раз выше по сравнению с иммобилизацией на нативной нитроцеллюлозной мембране. Вероятно, это связано с тем, что использованные в работе пористые носители оптимизированы для латерального проточного анализа белков, поэтому белки адсорбируются на них лучше, чем олигонуклеотидные зонды.

Далее были исследованы несколько способов иммобилизации олигонуклеотидных зондов на поверхности нитроцеллюлозной мембраны: адсорбция при комнатной температуре, адсорбция с прогреванием при температуре 60 °С и адсорбция под действием УФ-облучения. Адсорбция молекул олигонуклеотидов происходит за счет гидрофобных и электростатических взаимодействий. Вследствие возникновения механического напряжения при прогревании мембранного носителя в его структуре могут происходить определенные изменения, в результате чего молекулы олигонуклеотидов лучше распределяются в порах носителя. Под действием УФ-облучения иммобилизация происходит вследствие нековалентных взаимодействий олигонуклеотидов с поверхностью носителя [21]. На рис. 2, г представлены результаты определения интенсивности окрашивания тестовой зоны полоски с иммобилизованным разными способами зондом после пропуска модельной ДНК-мишени. Наиболее высокая интенсивность окрашивания соответствовала зонду, иммобилизованному с использованием УФ-облучения.

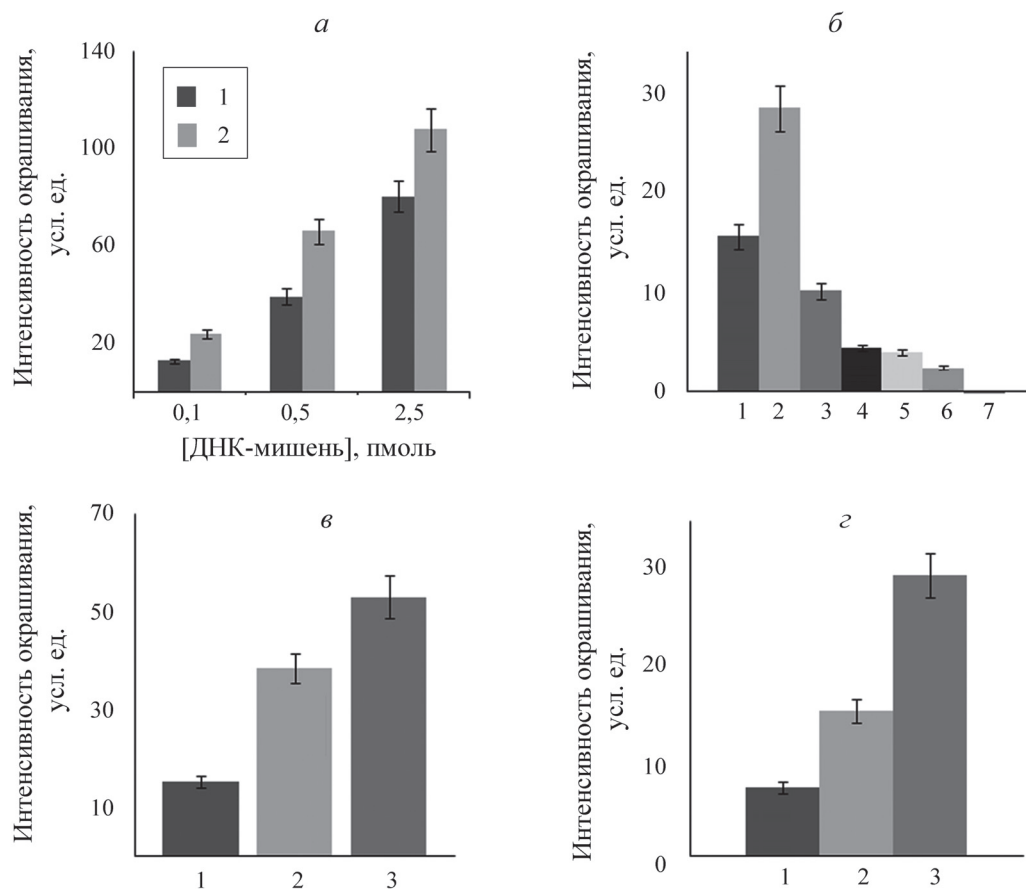


Рис. 2. Зависимость интенсивности окрасивания тестовой зоны от: *а* – размера (мм) диаметра НЧЗ в конъюгате (1 – 25, 2 – 35); *б* – типа блокирующего реагента (1 – необработанная мембрана, 2 – БСА, 3 – фиколл, 4 – смесь БСА и казеина (1:1)), 5 – поливиниловый спирт; 6 – смесь БСА, фиколла и поливинилового спирта, 7 – поливинилпирролидон); *в* – порядка блокирования мембраны (1 – необработанная мембрана, 2 – блокирование после иммобилизации зонда, 3 – блокирование до иммобилизации зонда); *г* – способа иммобилизации олигонуклеотидного зонда (1 – адсорбция (1 ч), 2 – адсорбция с прогреванием (60 °С, 1 ч), 3 – адсорбция с УФ-облучением (40 мин))

**Оптимизация пробоподготовки образца культуры клеток *E. coli* для определения транскриптов генов бета-лактамаз.**

Для определения специфичных мРНК бета-лактамаз ТЕМ-типа использовали лабораторный штамм *E. coli* – продуцент рекомбинантной бета-лактамазы ТЕМ-1. Клетки культивировали до концентрации  $5 \cdot 10^8$  клеток/мл, затем из них выделяли фракцию общей РНК и получали первую цепь кДНК в реакции обратной транскрипции с использованием набора праймеров случайного состава и Олиго(dT)<sub>15</sub>. Полученный образец амплифицировали методом ПЦР с использованием специфичных праймеров.

При оптимизации латерального гибридного анализа необходимо учитывать свойства ДНК, которая представляет собой заряженный биополимер. Эффективность гибридизации ДНК-мишени с иммобилизованным зондом при про-

пускании по пористой мембране будет зависеть от ее конформации. Известно, что конформация ДНК в растворе зависит от ее структуры, наличия внутренних комплементарных фрагментов, молярности буфера и концентрации соли. В условиях анализа конформация двухцепочечной ДНК является глобулярной, одноцепочечной, более вытянутой. Мы изучили гибридизацию на тест-полоске двухцепочечных и одноцепочечных фрагментов генов бета-лактамаз ТЕМ-типа разной длины. Двухцепочечные фрагменты гена бета-лактамазы ТЕМ-1 размером от 150 до 600 п.о. были получены из образца кДНК методом ПЦР с использованием набора праймеров. Их структура и размер амплифицируемого фрагмента гена представлены в таблице. Все ампликоны содержали в себе участок, комплементарный иммобилизованному олигонуклеотидному зонду. Результаты амплификации приведены на рис. 3, во всех случаях

## Характеристика праймеров ПЦР для получения фрагментов гена бета-лактамаз TEM-типа

Размер ампликона ПЦР, п.о.	Расположение прямого праймера относительно последовательности полноразмерного гена бета-лактамазы TEM-1	Расположение обратного праймера относительно последовательности полноразмерного гена бета-лактамазы TEM-1
150	370–396	495–520
330	370–396	675–700
430	270–295	675–700
600	100–125	675–700

наблюдала синтез фрагментов гена ожидаемых размеров, при этом выход фрагментов с длиной менее 300 п.о. был более низким, что соответствует закономерностям реакции ПЦР. Полученные двухцепочечные фрагменты гена бета-лактамазы TEM-1 были протестированы в латеральном проточном гибридизационном анализе, однако окрашивания тестовой зоны не наблюдали ни для одного образца, в то время как контрольные зоны окрашивались.

Далее были получены одноцепочечные фрагменты генов бета-лактамазы TEM-1 с использованием ассиметричной ПЦР, которая проводится в условиях избытка одного праймера. В результате преимущественно синтезируется одна цепь гена, но в меньшем количестве по сравнению с классической ПЦР, поскольку количество синтезируемого продукта увеличивается в арифметической прогрессии. Четыре одноцепочечных фрагмента гена бета-лактамазы TEM-1 разного

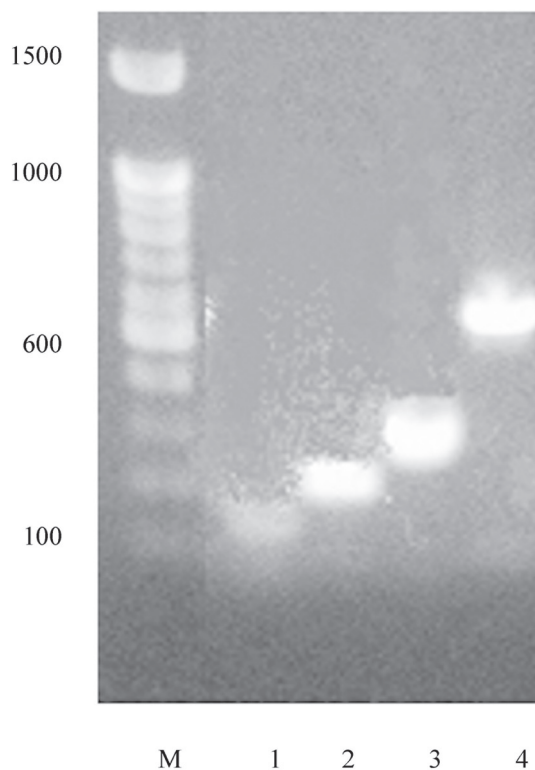


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов ПЦР разной длины, полученных из клеток *E. coli* – продуцентов бета-лактамазы TEM-1: М – набор маркеров с числом п.о.: 1 – 150, 2 – 330, 3 – 430, 4 – 600)

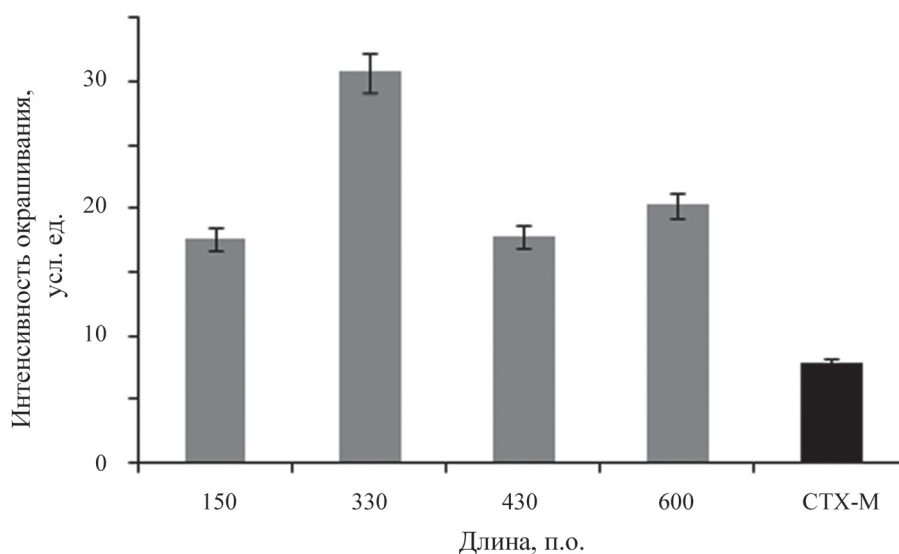


Рис. 4. Результаты латерального проточного гибридационного анализа ДНК-мишеней разной длины, полученных из образцов транскриптов бета-лактамазы TEM-1

размера были протестированы разработанным методом латерального проточного анализа на тест-полосках. Для всех продуктов наблюдали окрашивание тестовой зоны полоски одновременно с окрашиванием контрольной зоны. Количественная обработка результатов определения ДНК-мишеней в тестовой зоне представлена на рис. 4. Интенсивность окрашивания тестовой зоны для всех образцов достоверно отличалась от фонового сигнала. Сигнал максимальной интенсивности был получен для фрагмента гена длиной 330 п.о., что может быть связано с более благоприятной конформацией этого фрагмента, обеспечивающей более эффективную гибридизацию с иммобилизованным зондом и последующее выявление конъюгатом. Специфичность анализа была подтверждена анализом ДНК-мишени, представляющей собой фрагмент гена родственного фермента – сериновой бета-лактамазы СТХ-М-типа. Для этого гена наблюдали незначительный сигнал перекрестной гибридизации, однако он достоверно отличался от сигналов, наблюда-

емых при гибридизации фрагментов гена бета-лактамазы TEM-типа.

Таким образом, нами разработана методика определения специфичной мРНК бета-лактамаз TEM-типа методом латерального проточного гибридационного анализа на тест-полоске и показана возможность ее использования для определения экспрессирующихся генов бета-лактамаз у клеток *E. coli*. Использование дополнительной стадии гибридизации ДНК-мишени со специфичными зондами, иммобилизованными на тест-полоске, позволяет увеличить специфичность и селективность метода, что важно при определении генов бета-лактамаз, имеющих структурное сходство, но различающихся по биохимическим свойствам. Подобный подход может быть в дальнейшем реализован в формате мультиплексного латерального проточного анализа для одновременного определения нескольких типов генов бета-лактамаз с использованием олигонуклеотидных зондов разной специфичности.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eichenberger E.M., Thaden J.T. // *Antibiotics*. 2019. Vol. 8. P. 37.
2. Aslam B., Khurshid M., Arshad M.I., Muzammil S., Rasool M., Yasmeen N., Shah T., Chaudhry T.H., Rasool M.H., Shahid A., Xueshan X., Baloch Z. // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021. Vol. 25. P. 771510.
3. Lima L.M., da Silva B.N.M., Barbosa G., Barreiro E.J. // *Eur. J. Med. Chem.* 2020. Vol. 208. P. 112829.
4. Bonomo R.A. // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2017. Vol. 7. P. a025239.
5. Bush K. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2018. Vol. 62. P. e0107618.
6. Egorov A.M., Ulyashova M.M., Rubtsova M.Y. // *Acta naturae*. 2018. Vol. 10. P. 33.
7. Wong R.C., Tse H.Y. // *Lateral Flow Immunoassay*. 2009. P. 75.



8. Hu Y.G., Huang X.H., Guo L.Q., Shen Z.C., Lv L.X., Li F.X., Zhou Z.H., Zhang D.F. // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2021. Vol. 31. P. 1672.
9. Kim J.M., Park J.S., Yoon T.H., Park J., Park K.S. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2021. Vol. 413. P. 5003.
10. Deng J., Pei J., Gou H., Ye Z., Liu C., Chen J. // *J. Virol. Meth.* 2015. Vol. 213. P. 98.
11. Tu Y., Zeng X., Li H., Zheng R., Xua Y., Li Q. // *J. Microbiol. Meth.* 2016. Vol. 122. P. 23.
12. Xu H., Tang H., Li R., Xia Z., Yang W., Zhu Y., Liu Z., Lu G., Ni S., Shen J. // *Infect. Drug Resist.* 2022. Vol. 15. P. 685.
13. Ayfan A.K.S., Macdonald J., Harris P.N.A., Heney C., Paterson D.L., Trembizki E., Wang C.Y.T., Whiley D.M., Zowawi H.M., Irwin A.D. // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2021. Vol. 40. P. 2447.
14. Hu S., Niu L., Zhao F., Yan L., Nong J., Wang C., Gao N., Zhu X., Wu L., Bo T., Wang H., Gu J. // *Sci. Rep.* 2019. Vol. 9 P. 17888.
15. Yu Q., Zhang J., Qiu W., Li K., Qian L., Zhang X., Liu G. // *Microchim. Acta.* 2021. Vol. 188 P. 133.
16. Ang G.Y., Yu C.Y., Chan K.G., Singh K.K.B., Yean Y.C. // *J. Microbiol. Meth.* 2015. Vol. 118. P. 99.
17. Pohlmann C., Dieser I., Sprinz M. // *Analyst.* 2014. Vol. 139. P. 1063.
18. Филиппова А.А., Рубцова М.Ю., Андреева И.П., Преснова Г.В., Уляшова М.М., Егоров А.М. // *Актуальная биотехнология.* 2018. Т. 3. С. 134.
19. Frens G. // *Nature Phys. Sci.* 1973. Vol. 241. P. 20–22.
20. Rubtsova M.Yu., Ulyashova M.M., Edelstein M.V., Egorov A.M. // *Biosens. Bioelectron.* 2010. Vol. 26. P. 1252.
21. Калачиков С.М., Адаричев В.А., Дымшиц Г.М. // *Биорг. химия.* 1992. Т. 18. С. 52.

### Информация об авторах

Филиппова Анна Андреевна – вед. инженер кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ (iiffii@mail.ru);

Андреева Ирина Петровна – науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (imtek1@mail.ru);

Преснова Галина Васильевна – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (gpresnova@gmail.com);

Уляшова Мария Морисовна – науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (mmulyashova@gmail.com);

Рубцова Майя Юрьевна – вед. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (mrubtsova@gmail.com).

### Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 05.09.2022;  
одобрена после рецензирования 12.10.2022;  
принята к публикации 14.10.2022.