

高光谱定量干涉的生物传感方法与数字光流控系统

符荣鑫^{1, 2}, 张帅龙^{2, 3}, 黄国亮^{4, 5}, 周天启¹, 杨帆⁶, 毛则尹⁴, 邓安妮⁴

(1. 北京理工大学医学技术学院 北京 100081;

2. 北京理工大学集成声光电微纳系统教育部工程研究中心 北京 100081;

北京理工大学集成电路与电子学院 北京 100081;

4. 清华大学生物医学工程学院 北京 100084;

5. 生物芯片北京国家工程研究中心 北京 102206;

6. 北京理工大学机电学院 北京 100081)

Email: furongxin@bit.edu.cn

摘要: 传统的细菌检测方法通常需要耗时且费力的操作过程。本文提出了一种自干涉数字光流控平台, 该平台设计用于全集成、快速、高特异性和无标记的细菌基因分型。这使得特定扩增子在改良表面上的实时捕获成为可能, 而不会产生非特异性产物。此外, 我们引入了一种利用高光谱自干涉的无标记 DNA 单分子层检测方法, 能够在不需要额外标签或复杂仪器的情况下, 分析纳米尺度的特定扩增产物。这一进展为快速细菌诊断提供了合理的替代方案, 解决了以往在特异性和操作效率方面的挑战。

关键词: 数字微流控; 定量相位; 光流控生物传感器; 细菌分析

1、研究背景

细菌感染每年导致全球近 500 万人死亡^[1], 现有的检测方法要么不够精确, 要么耗时较长。尽管重组酶聚合酶扩增 (RPA) 等等温扩增方法速度快且实验要求较低, 但仍存在非特异性扩增和手动操作的问题^[2]。此外, 需要荧光标记的方法由于昂贵的探针而成本高昂。因此, 迫切需要一种集成的、成本效益高且高特异性的细菌检测方法。

2、研究内容

我们介绍了一种自干涉数字光流控 (SI-DOF) 平台, 用于全集成、快速和高特异性无标记细菌基因分型。SI-DOF 芯片的结构如图 1(a) 所示。储存电极用于储存样品、裂解缓冲液、四种 RPA 试剂、洗涤缓冲液和废液。嵌入芯片顶板内的四个硅片被战略性地放置, 以促进 RPA 扩增子的捕获。与类似技术不同, 本研究开发了一种不对称直接固相 RPA 方法^[3], 使得在液相等温扩增的同时, 扩增子能够实时特异性地捕获到硅表面上 (如图 1(b) 所示)。

此外, 我们提出了一种利用自干涉的无标记 DNA 单分子层检测技术^[4], 能够在不需要额外标签或复杂仪器的情况下, 解释纳米尺度的特异性扩增子。在 RPA 之后, 硅片表面的高光谱干涉信

号表现出红移，表明由于扩增子的积累导致表面厚度增加，如图 1(c) 和 (d) 所示。图 2(a) 显示了 SI-DOF 芯片上的样品处理步骤。通过四个主要步骤，我们探讨了四种细菌——白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌和近平滑念珠菌的自动化检测。本研究展示的成果在仅 50 分钟内使用 3 微升的最小样品体积检测到四种指标。如图 2(b) 所示，灵敏度达到了每微升单拷贝检测，并具有显著的物种区分特异性。这些发现展示了初始样品浓度与自干涉基底上观察到的光学长度增加之间的直接线性关系。

3、结论

在这项工作中，我们提出了一种基于高光谱自干涉和数字微流控的全集成无标记细菌检测平台，解决了传统等温扩增细菌检测方法中特异性不足和自动化问题，预计将在精准医学领域具有广泛的应用。

参考文献

- [1] Sharma A, Rodriguez-Morales A J, Traore T, et al. Globalisation of antibiotic-resistant bacteria at recurring mass gathering events[J]. *The Lancet*, 2023, 402(10398): e5-e7.
- [2] Pumford E A, Lu J, Spaczai I, et al. Developments in integrating nucleic acid isothermal amplification and detection systems for point-of-care diagnostics[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 170: 112674.
- [3] Jin X, Fu R, Du W, et al. Rapid, highly sensitive, and label-free pathogen assay system using a solid-phase self-interference recombinase polymerase amplification chip and hyperspectral interferometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(6): 2926-2933.
- [4] Fu R, Du W, Jin X, et al. Microfluidic biosensor for rapid nucleic acid quantitation based on hyperspectral interferometric amplicon-complex analysis[J]. *ACS sensors*, 2021, 6(11): 4057-4066.

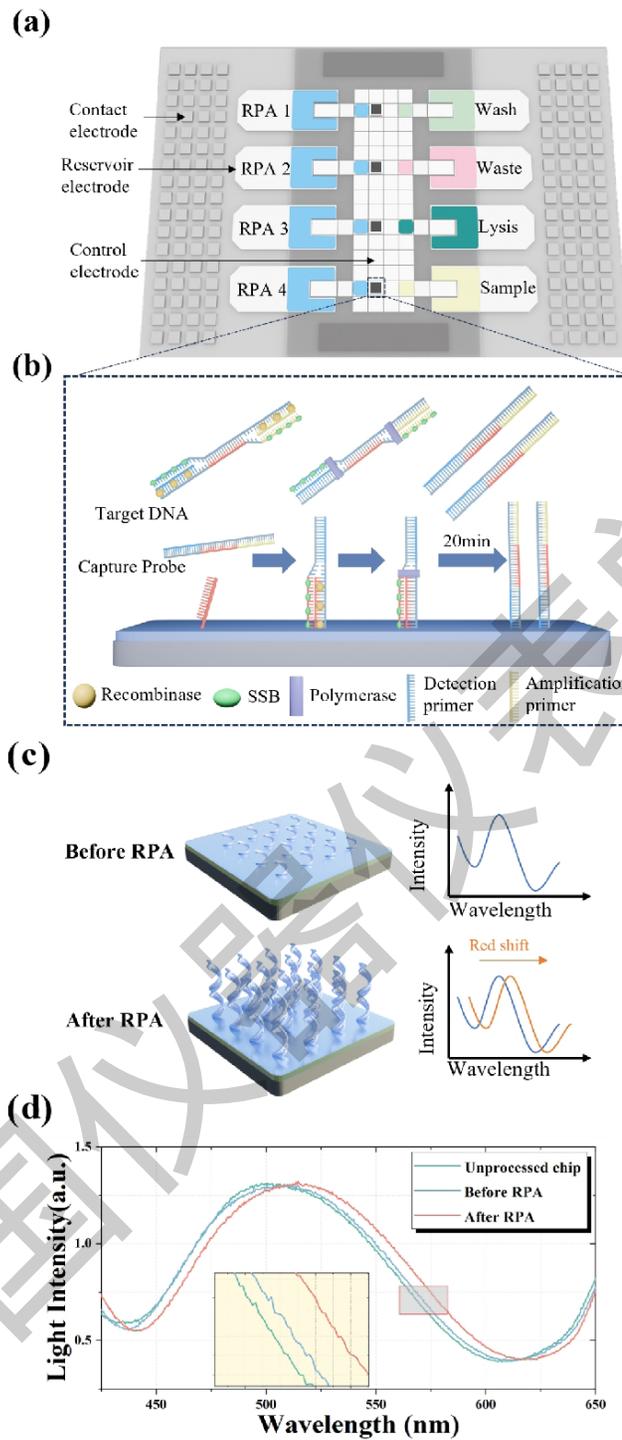


Figure 1. a) Structure of the SI-DOF chip. b) The reaction principle of solid-phase RPA occurring on silicon wafers (Embedded within the chip).c) Schematic self-interference spectra of silicon wafers before and after amplification process. d) Hyperspectral interference signal of the silicon wafer of clear wafer, modified wafer and the wafer captured specific amplicon.

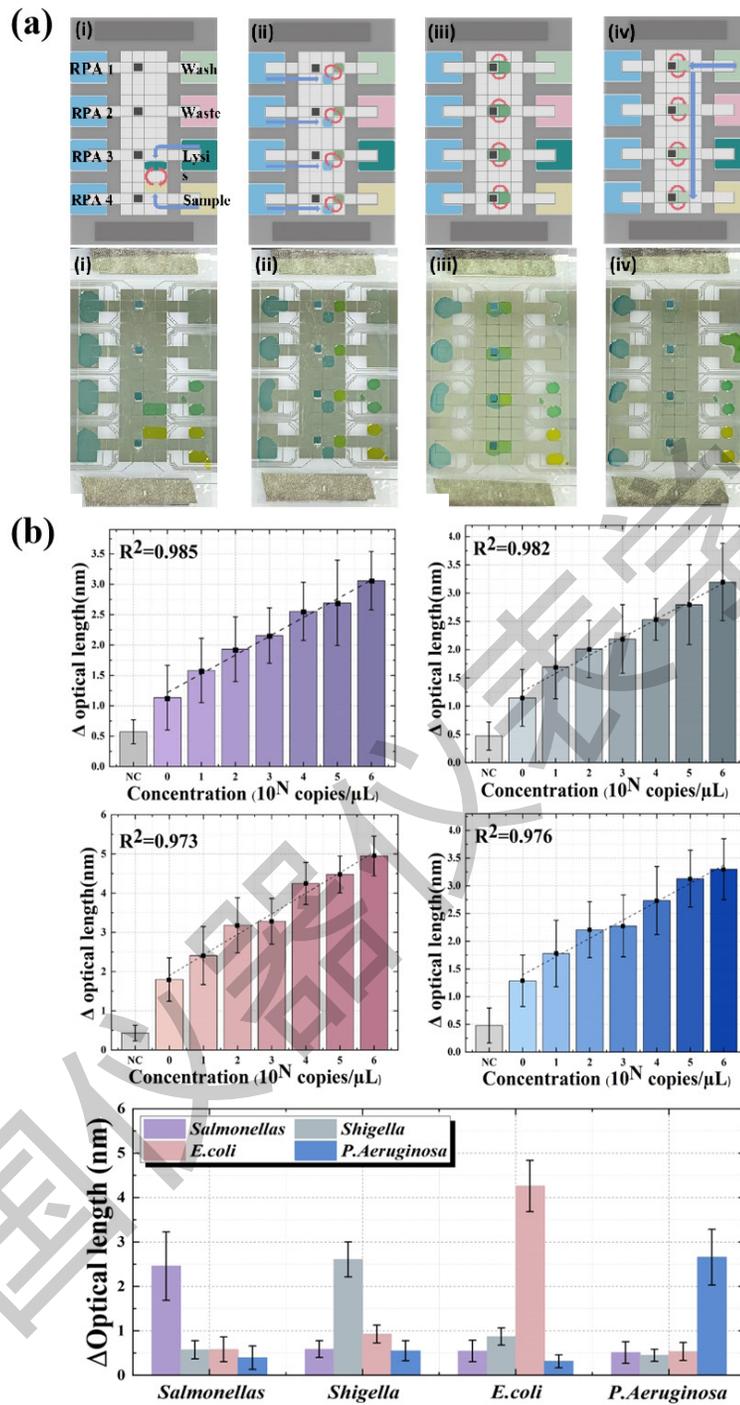


Figure 2. a) The process of on-chip sample processing. (i) Sample lysis. (ii) Solution-phase RPA (iii) Solid-phase RPA. (iv) Clean the self-interference surface by wash buffer. b) Detection with different sample concentrations for *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* and specificity test results for four Fungal species.