

“用于跨境传染病现场快速检测的高通量 碟片式数字 PCR 系统研发” 成果 登记公示信息

成果名称:	用于跨境传染病现场快速检测的高通量碟片式数字 PCR 系统研发
完成单位:	深圳市检验检疫科学研究院,香港中文大学
完成人员:	顾大勇,何建安,张然,叶健忠,董瑞玲,赵纯中,叶颖,刘秀卿,周洪钟,何世平,崔丽丽,邓炜
研究起止日期:	2019-10-31 至 2022-10-31
主要应用行业:	卫生和社会工作
高新技术领域:	生物医药与医疗器械
评价单位:	深圳市科技创新委员会
评价日期:	2023-12-21
成果简介:	<p>1、课题来源与背景:</p> <p>本项目为深港创新圈 A 类项目,由深港双方同时申请并分别在深圳和香港获得立项资助。本项目总投入 400 万元,其中财政科技补助经费 200 万元,已按照经费预算应用于项目的开展,单位自筹资金 200 万元均应用于本项目相关设备及材料的采购。</p> <p>2、技术原理及性能指标:</p> <p>项目组依据课题申报书的研究计划进行跨境传染病现场快速检测的高通量碟片式数字 PCR 系统的研发工作,开展碟片式微流控微芯片的设计和制造、基于离心力驱动高效液滴发生的碟片式数字 PCR 系统的建立、基于高通量碟式微液滴数字 PCR 平台的 PCR 反应条件优化、对临床样本的测试分析等方面的研究。</p>

(1) 基于离心力驱动高效液滴发生的碟片式数字 PCR 系统的建立

本项目首次建立一种基于离心力驱动高效液滴发生的碟片式数字 PCR 系统。该数字 PCR 系统主要包括以下几个组成部分:离心泵式导热油循环传热系统, 温度控制系统, 荧光图像采集系统, 转速调节显示模块等。采用直流电机搭建碟片式微流控芯片转台, 围绕系统集成化、微型化、便携化等特点设计平台的各部分 1/8 要素, 实现更加紧凑的热控制元件与光学检测装置的搭载, 以及集成化的离心驱动器和温度控制、电源管理等电子模块的嵌入。根据图像处理的结果编写分析程序, 成功建立基于泊松最小二乘拟合算法的宽动态计算方法及相关程序。

(2) 碟片式微流控微芯片的设计和制造

设计并制造了基于阶梯式乳化液滴产生技术的微流控芯片, 微流控芯片由毛细管、玻璃腔室的 PDMS 芯片与 PCR 胶带压紧封装而成。通过实验确定了通道尺寸, 毛细管尺寸和离心力大小, 保证了在高达 2000rpm 的转速下可以产生大量 (>15000 个) 直径在 120 μm 附近的均一性较强的液滴。

(3) 基于多重体积单分散液滴发生技术的数字 PCR 检测技术研究

①采用实验室合成质粒, 对开发的数字 PCR 检测系统的性能进行验证分析。

②通过收集病原体微生物样本, 进行核酸提取, 进行实际样本的检测效果验证和优化, 成功实现了对四大类口岸跨境传染病病原微生物核酸样品的快速检测。建立了 21 种口岸跨境传染病

病原微生物数字 PCR 检测方法。测试了该检测技术的分析灵敏度，特异性以及重复性，并初步将该检测技术用于临床样本的病原体检测分析。

3、技术的创造性与先进性：

本项目研制了一种基于离心力驱动高效液滴发生的碟片式数字 PCR 系统，并结合微流控芯片技术，开发相应的宽动态、高分辨的核酸绝对定量检测新平台，努力克服目前国内核酸分子诊断严重依赖昂贵进口 qPCR 或 dPCR 仪器耗材的弊端。其创新点体现在：

(1) 集成化及低成本：利用离心力驱动的油水两相阶梯乳化液滴发生技术同步高效生产体积大小不一的多重体积单分散液滴，可摆脱传统商品化仪器在线分区及终点检测操作流程复杂依赖精密动力源的弊端。整个检测系统可完全实现进样，分区，反应，检测集成一体化，并减低了数字 PCR 的设备成本和耗材成本。开发适配于芯片的帕尔贴热电半导体温控系统以及微型光学传感器，同时编写相关的图像处理及数据分析程序，摆脱传统定量方法对昂贵仪器的依赖。

(2) 高效、快速及高通量：采用离心驱动的多通道阶梯乳化微流控微滴生成芯片来实现扩增体系溶液的快速分割，并实现高通量与自动化，而自动生成的单层液滴阵列则为终点荧光成像提供了有利条件，单次检测即可记录所有生成液滴的荧光信号强度，通过特定算法判定阴性阳性信号强度阈值，可实现真正意义上的快速绝对定量检测。

(3) 宽动态范围：针对该方法建立基于多重体积阵列及多

点泊松最小二乘拟合的定量数学模型,采用多点泊松最小二乘拟合取代传统的极大似然估计法对分子数进行计算,可获得更高的定量精密度,同时提高定量动态范围与定量分辨率。

4、技术的成熟程度,适用范围和安全性:

本项目基于自主知识产权的技术上,通过联合深港两地的研发机构,研制基于离心力驱动高效液滴发生的碟片式数字 PCR 系统,并结合微流控芯片技术,开发相应的宽动态、高分辨的核酸绝对定量检测新平台。平台具有高灵敏高通量,操作简便,携带方便,并能够在有限的样本中筛查多种传染病独特等特点,检测速度将现有方法需时一天的时效,缩减成两小时内。这个快速的现场检查系统执行"样品到结果"检测,可由跨境工作人员方便地操作,只需加进样品便能进行检查,减少实验室内用人手检测的误差,加强可靠性。本项目研究的快速现场检查系统后期实现成果的转化后,势必为研究人员和业界取得实战经验,同时可在全球未来竞争高尖端病原体分子诊断新领域上的相关产业占一席之地。

5、应用情况及存在的问题:

本研究取得了阶段性成果,但还有更多需要完善的地方,今后可以在以下几个方面继续开展深入研究:

(1) 进一步扩大本系统可检测病原体的数量,提高检测方法的适用性。

(2) 本研究研发的数字 PCR 系统检测仍需要人工操作完成进样,扩增,读取等步骤,自动化程度仍需提高以减小操作过程中的误差及变异,避免检测失效。

	<p>(3) 本系统中的碟片式导热油循环加热系统的循环加热降温速率可进一步改造提升, 或通过增加系统功率, 进而提升升降温速率,</p> <p>6、历年获奖情况:</p> <p>无</p>
--	--