

# 纳米技术在血液筛查中的应用与未来发展方向



王小慧

军事医学科学院野战输血研究所



## 国家科技部印发“十三五”国家基础研究专项规划

### 2. 加强战略性前瞻性重大科学问题研究

#### (2) 纳米科技

——围绕纳米科学重大基础问题,新型纳米制备与加工技术,纳米表征与标准,**纳米生物医药**,.....加强基础研究与应用研究的衔接,推动纳米科技产业发展。

### 3. 加强面向培育变革性技术的科学研究

.....围绕重要科学前沿或我国科学家取得原创突破、**学科交叉创新带动**的特征明显的、.....。

# 纳米材料与纳米技术在输血医学领域的应用

病原灭活

病原检测

血安全  
病原灭活/检测  
纳米器件

输血血型学  
(改造、兼容、鉴定)

血液保存  
(纳米微囊)

细胞治疗  
血细胞载药

纳米药物

血液代用品

血液代用品  
(人工红细胞等)

RBC

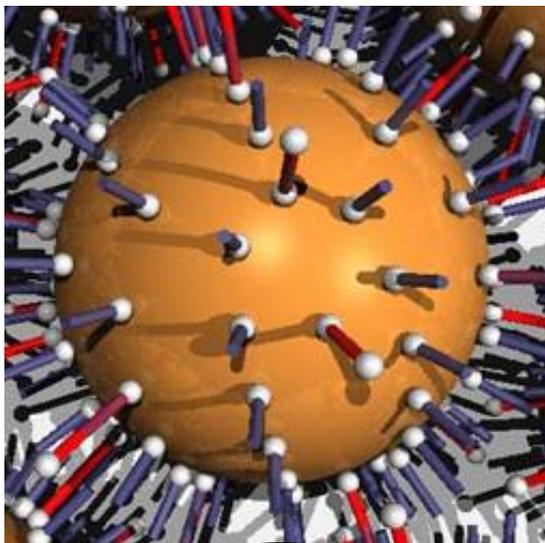
PLT

免疫细胞

纳米探针与  
分子成像

干细胞

细胞治疗与止血  
(纳米疫苗、  
止血材料)

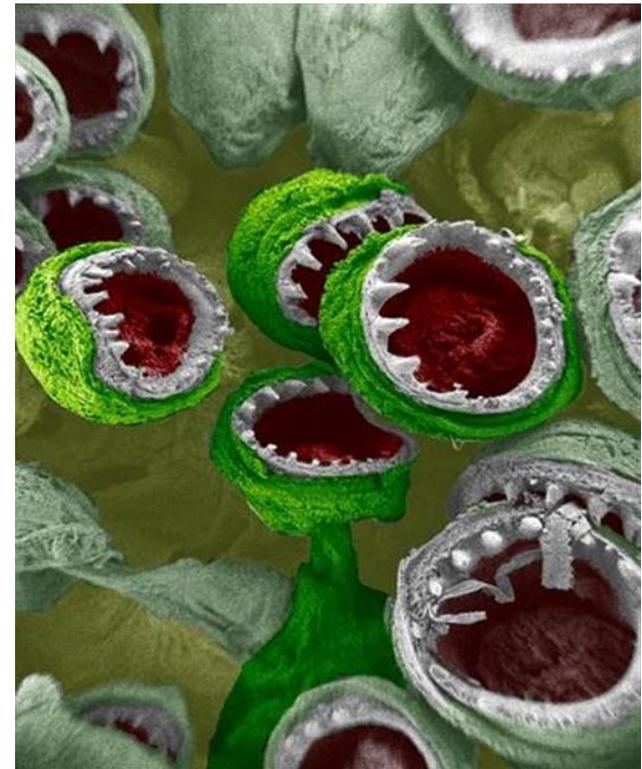


# 主要内容

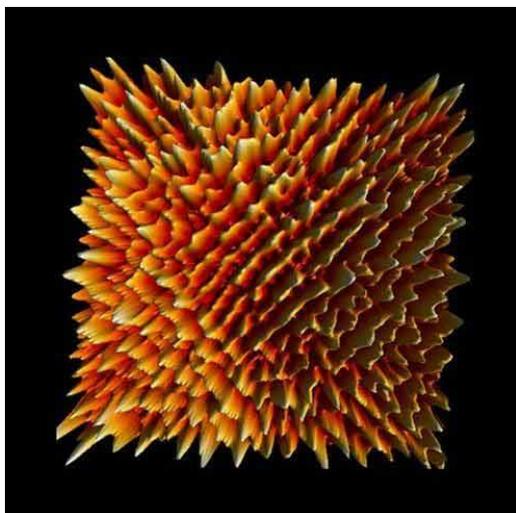
- 纳米材料与纳米技术简介
- 血液传染病筛查概况
- 纳米技术在“样本处理/准备”中的应用
- 纳米技术在“信号放大”中的应用
- 纳米技术在“读取形式/设备”中的应用
- 近年来标志性科研成果与未来发展方向

# 纳米材料

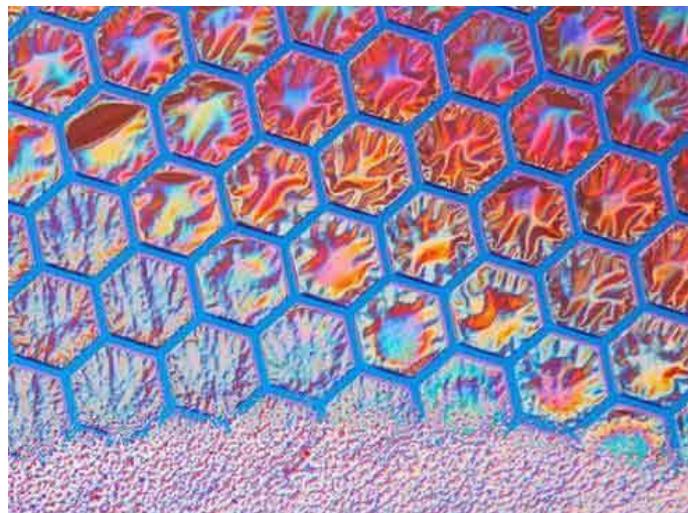
- 与细菌、病毒等病原体接近的尺寸
- 大的比表面积
- 可调的表面化学性质
- 独特的光学、电学、磁学性质
- 较好的生物相容性



# 纳米技术



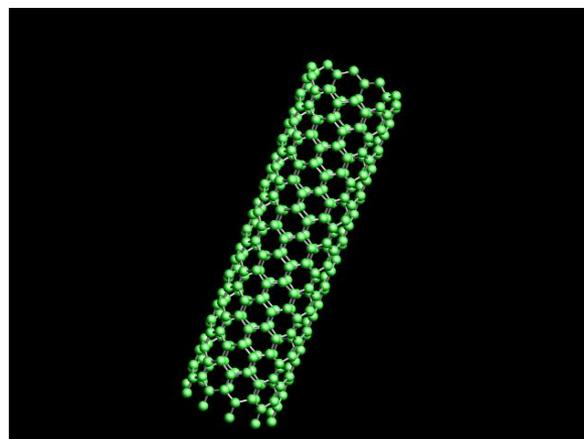
金晶体的原子力显微镜照片



耐用薄膜六角型结构

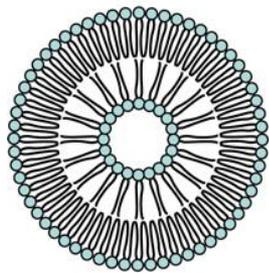
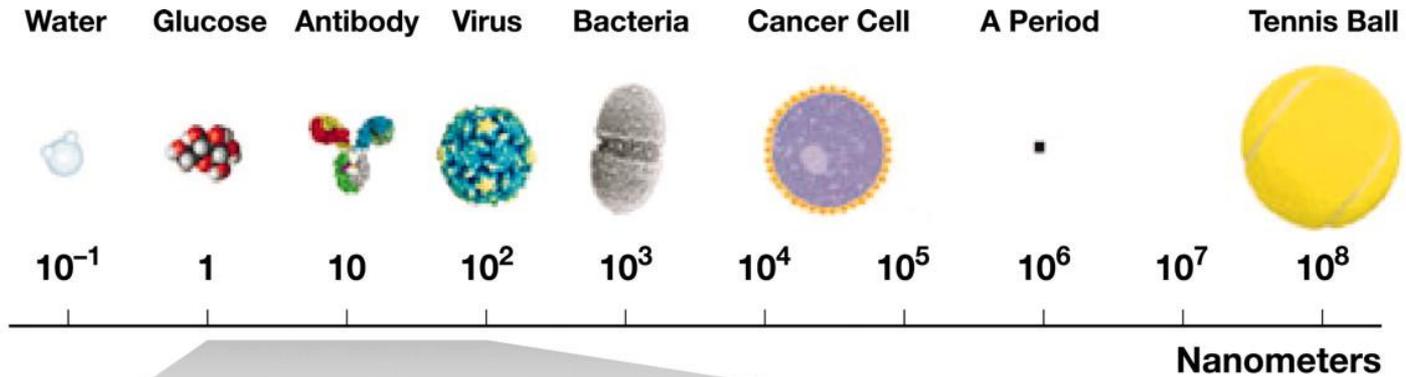


二氧化硅纳米线的扫描电镜照片

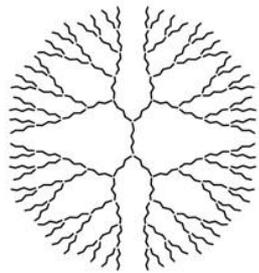


碳纳米管的分子结构模拟

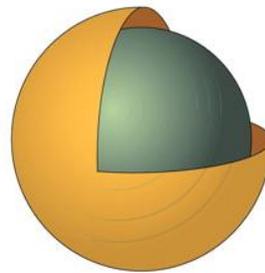
# 纳米尺度



Liposome



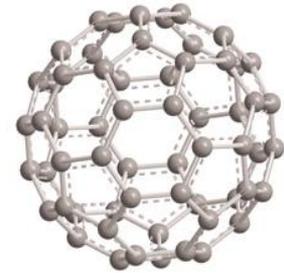
Dendrimer



Gold Nanoshell



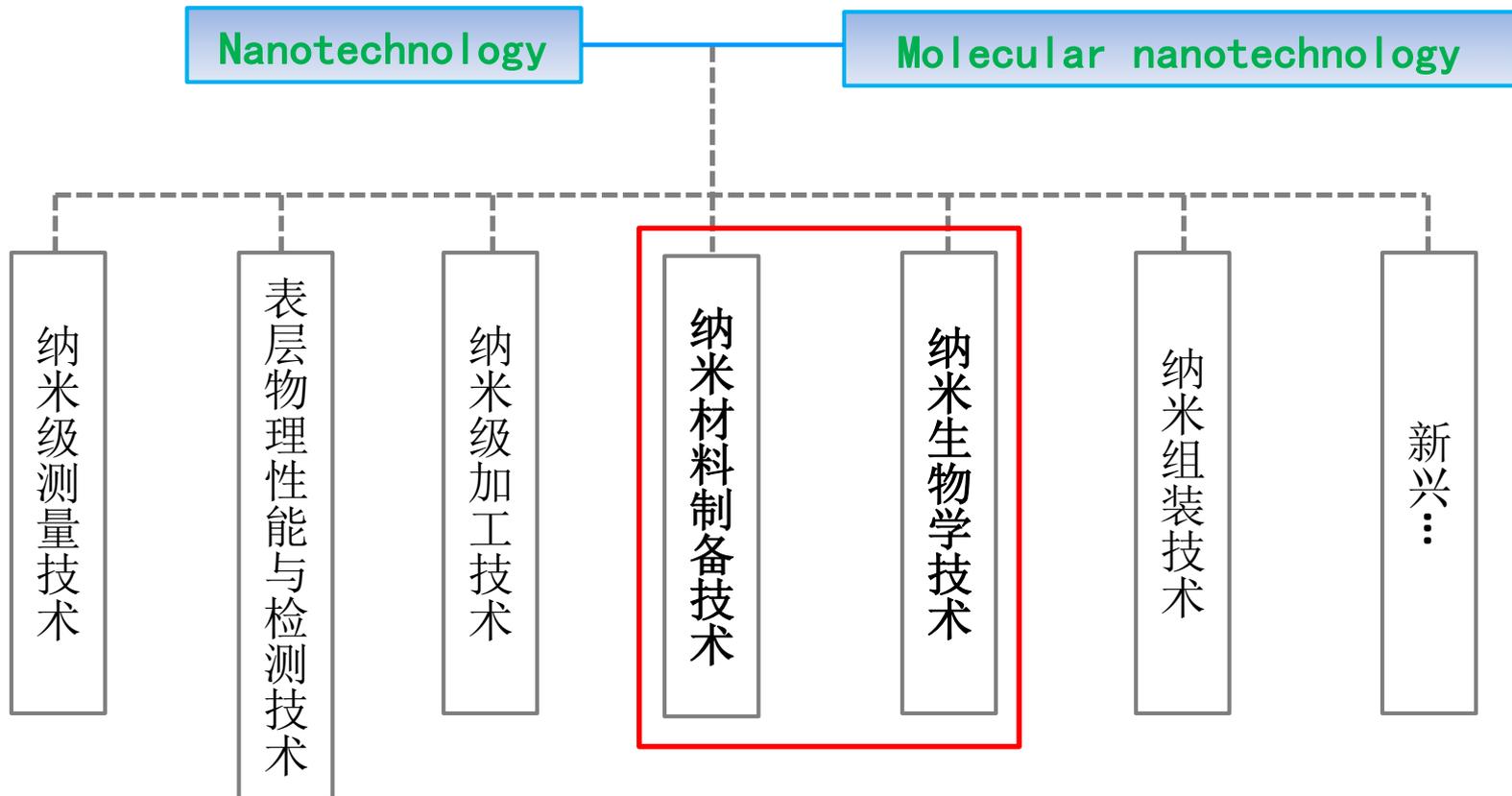
Quantum Dot



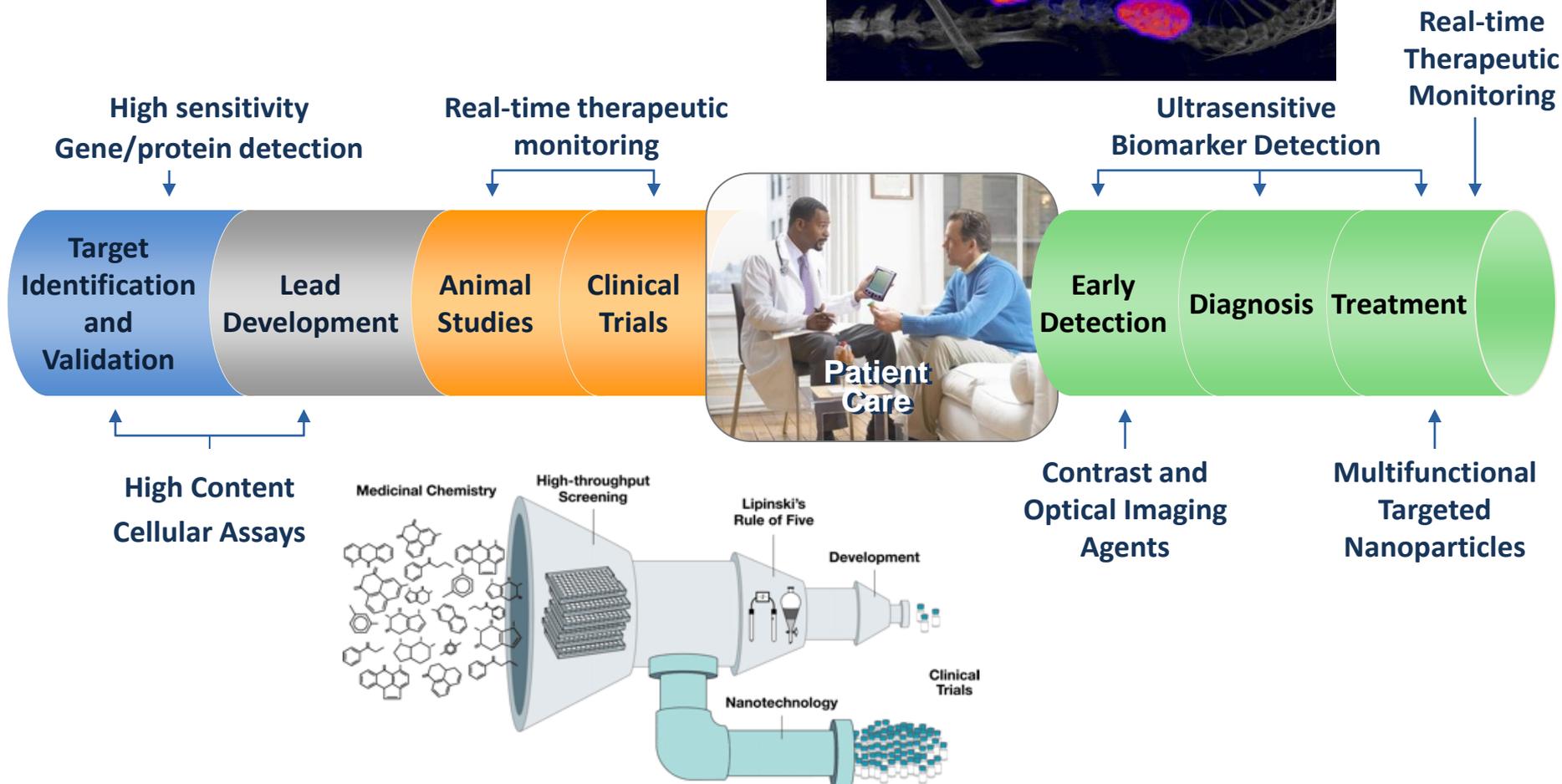
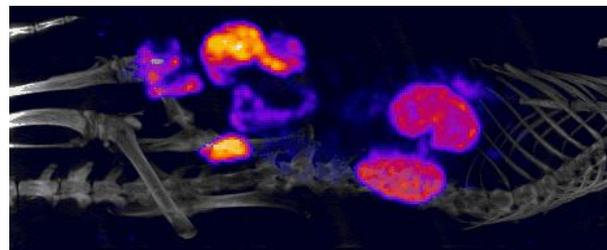
Fullerene

# 纳米技术

- 对原子和分子的结构进行三维位置控制，以制造具有原子精度的材料和技术。



# 纳米技术在疾病诊断中的广泛应用



# 主要内容

- 纳米材料与纳米技术简介
- 血液传染病筛查概况
- 纳米技术在“样本前处理”中的应用
- 纳米技术在“信号转换/扩增”中的应用
- 纳米技术在“读取形式/设备”中的应用
- 近年来标志性科研成果与未来发展方向

# 输血风险：

细菌

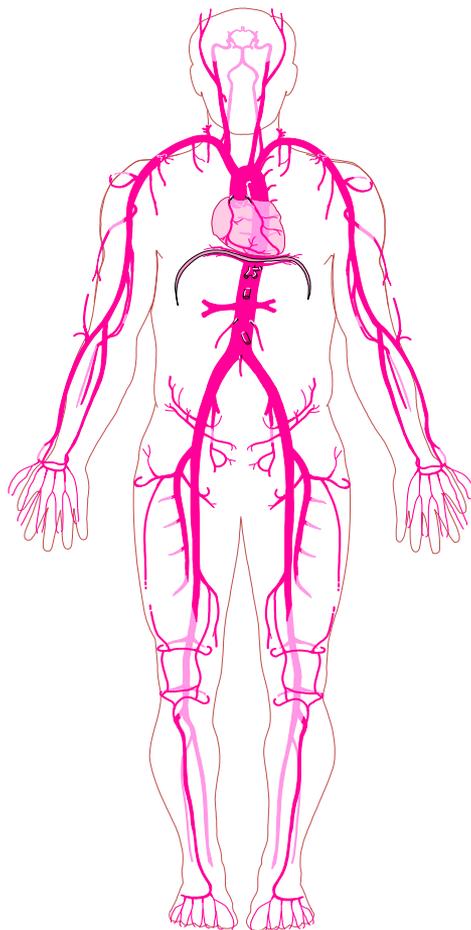
(来自采集过程)

白细胞

(免疫反应与其他  
输血不良反应)

新发/突发 (未知)

病毒

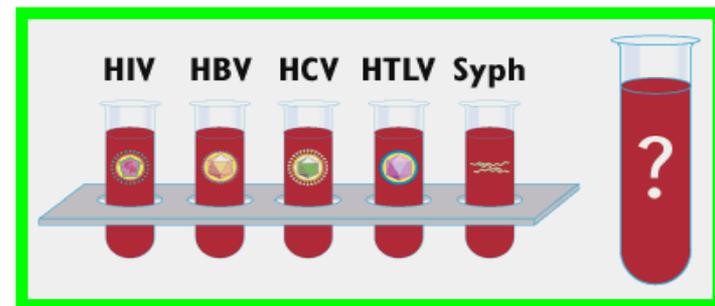


已知病原体

(检测资源匮乏时)

窗口期

(现有检测方法的  
局限)



## 目前干预的病原体：

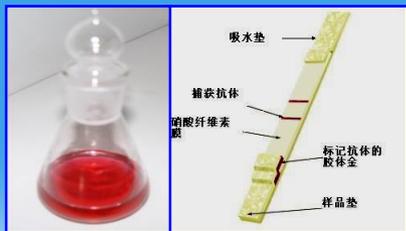
- 需要质疑和检测的内容
  - 乙型肝炎病毒，丙型肝炎病毒，艾滋病毒，人类嗜T细胞病毒，梅毒螺旋体等
- 只需要检测的内容
  - 西尼罗河病毒，克氏锥虫，巨细胞病毒，细菌等
- 只需要质疑的内容
  - 克雅氏病，变种克雅氏病，甲肝，疟疾，巴贝西虫，利什曼原虫等
- 需要质疑假设可产生影响的内容
  - 疱疹病毒-8，热带传染病，紧急情况下的新发突发传染病等

## 目前血液传染病常见检测方法

- 微生物培养法：最常用，耗时长；
- 显微镜观察法：光学显微镜/荧光显微镜；
- 生化法：酶学分析、血浆蛋白检验等；
- 免疫检测法：免疫层析、酶免、放免、荧光免疫分析等；
- 分子诊断：聚合酶链式扩增、基因芯片等。

### 免疫层析

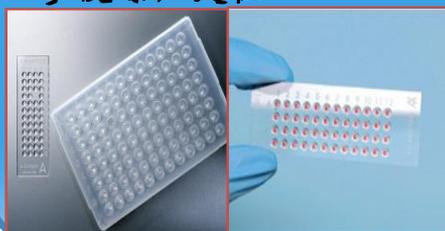
可快速检测，灵敏度低，粗略定量



高通量、多通道

### ELISA

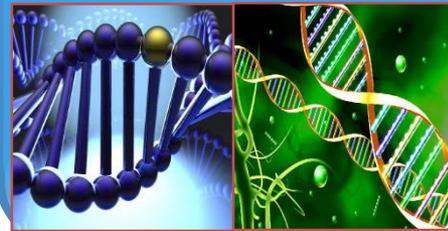
灵敏度(ng级)、特异性尚可，检测周期长且多步洗涤，定性



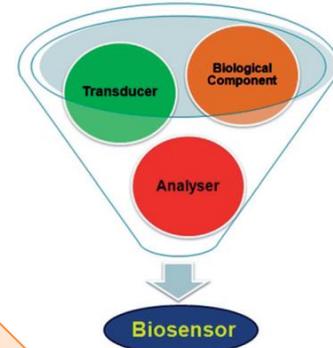
高灵敏、准确定量

### PCR扩增

高灵敏度，但费时且仪器昂贵，熟练操作



快速、集成、POCT



## 纳米技术在传染病检测中的应用形式

**前处理：** 样本准备，收集、裂解、纯化等（血液/唾液/汗液/尿液）

**信号转换或扩增：** 免疫反应转换纳米电/光/磁学性能，芯片、微流控等

**结果读取：** 肉眼观察、光学传感、电化学等

要求：无污染、纯度高

应用形式：

- 磁珠、纳米棒等

要求：信号放大、干扰低

应用形式：

- SERS、SPR、荧光、上转换磷光、BCA等

要求：数字化、智能化

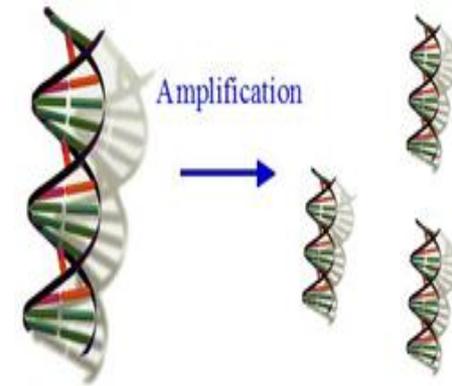
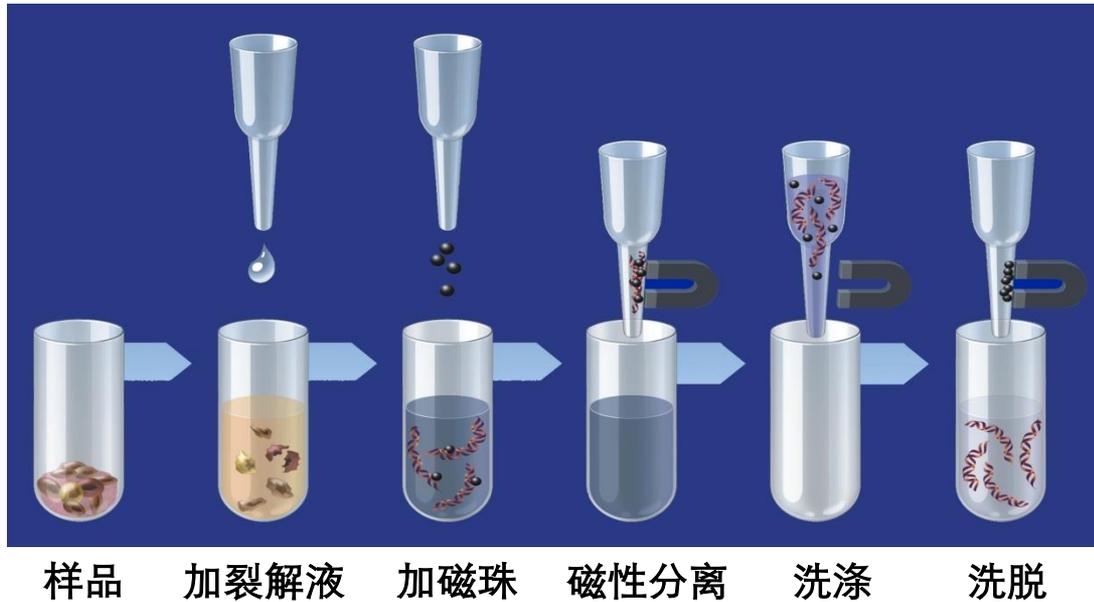
应用形式：

- LFA、分子信标、微纳电子技术等

# 主要内容

- 纳米材料与纳米技术简介
- 血液传染病筛查概况
- 纳米技术在“样本前处理”中的应用
- 纳米技术在“信号转换或扩增”中的应用
- 纳米技术在“结果读取”中的应用
- 近年来标志性科研成果与未来发展方向

## 核酸提取纯化：磁珠法



### 磁珠法的总原则：

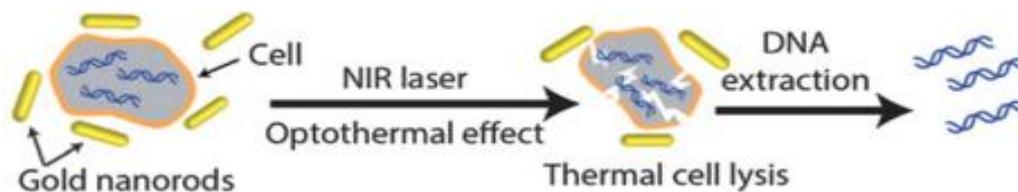
——确保核酸一级结构的完整性；尽量除去非核酸大分子物质；确保不被其他核酸分子污染；提取后的样品中不过多含有PCR抑制剂。

### 磁珠法的优势在于：

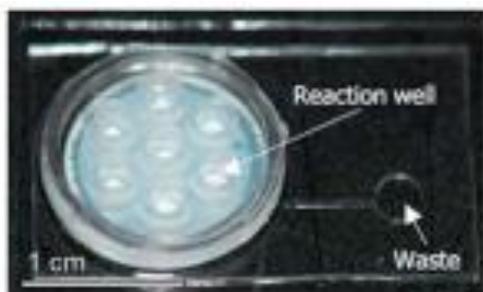
- 适用于不同性质的样品，可以相对容易地从粘滞的样本中分离核酸；
- 易实现自动化，特别适合大规模核酸提取系统。

# 热裂解与反应器芯片

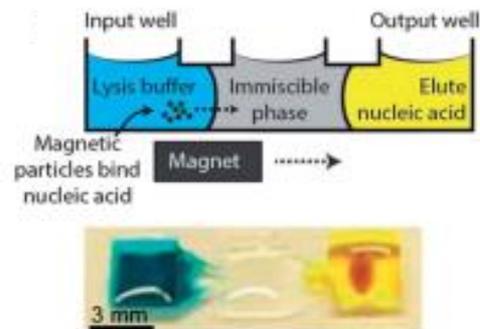
GNRs近红外热裂解提取DNA:



*Lab Chip, 2008, 8, 810–813*



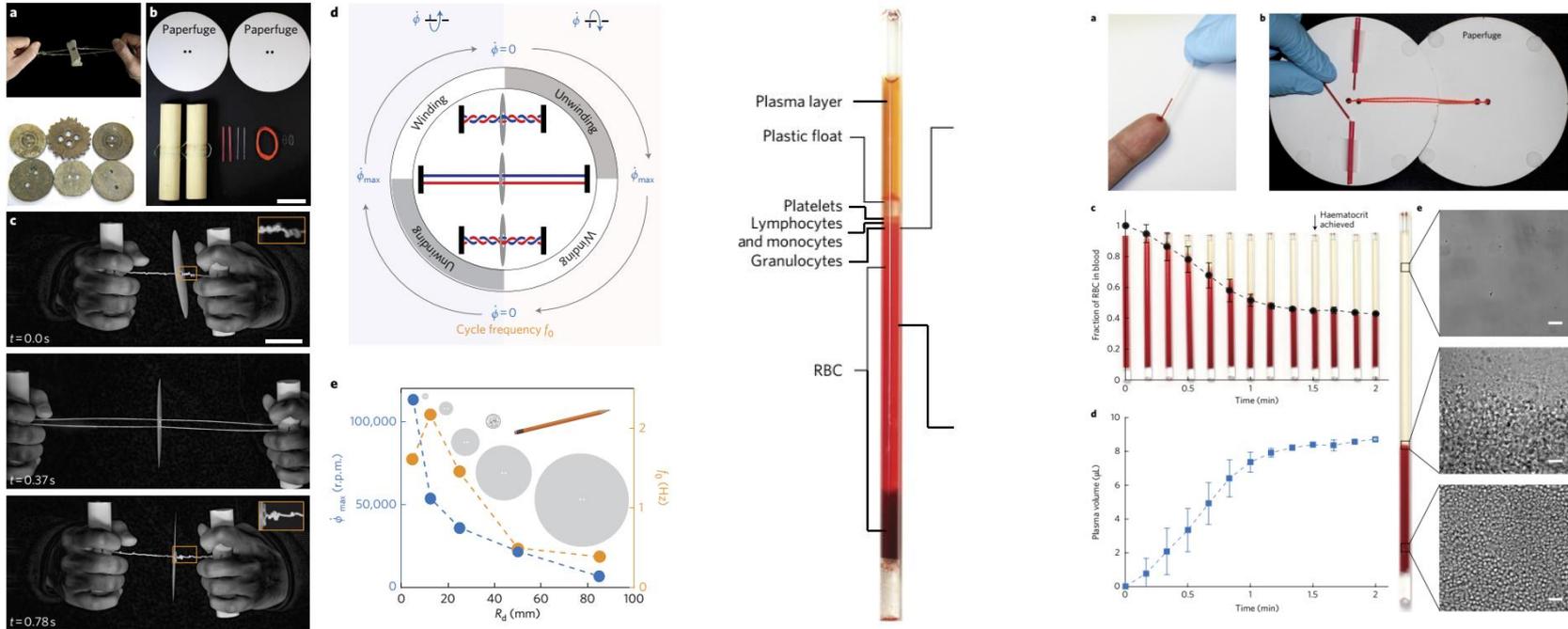
*Lab Chip, 2013, 13, 1325–1332*



*Lab Chip, 2011, 11, 1747–1753*

# 人力驱动纸片离心机

## Hand-powered ultralow-cost paper centrifuge



NATURE BIOMEDICAL ENGINEERING 1, 0009 (2017) | DOI: 10.1038/s41551-016-0009

转速达到30000g, 1.5min对血液多种成分进行离心分层。

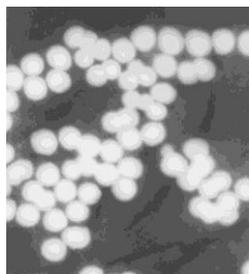
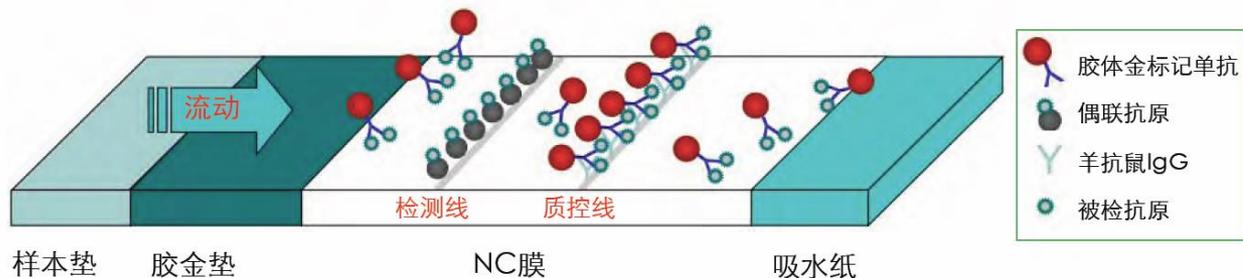
# 主要内容

- 纳米材料与纳米技术简介
- 血液传染病筛查概况
- 纳米技术在“样本前处理”中的应用
- 纳米技术在“信号转换/扩增”中的应用
- 纳米技术在“读取形式/设备”中的应用
- 近年来标志性科研成果与未来发展方向

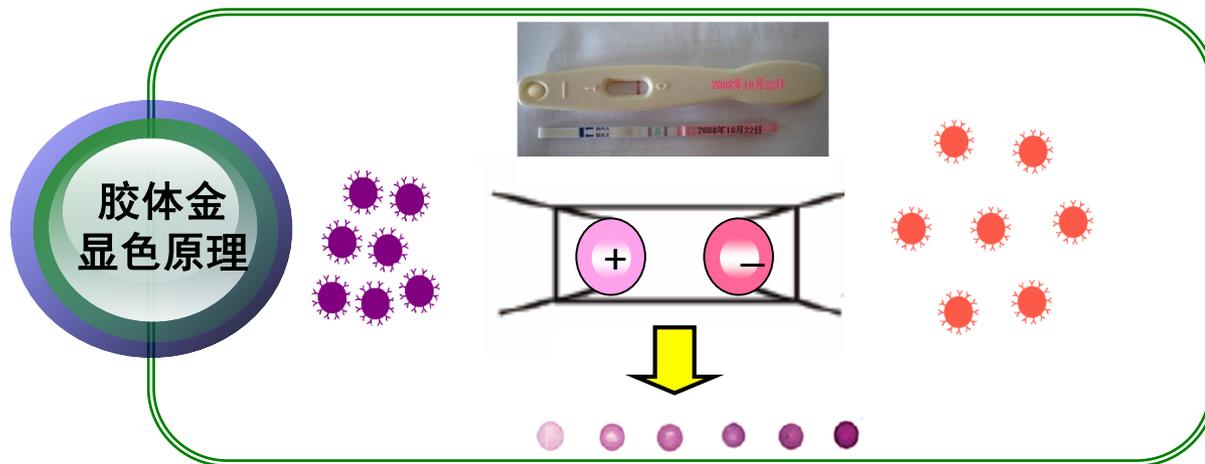
# 血源性病原体快速检测

## ✓ 免疫层析检测：胶体金标记

胶体金免疫层析竞争法检测原理示意图

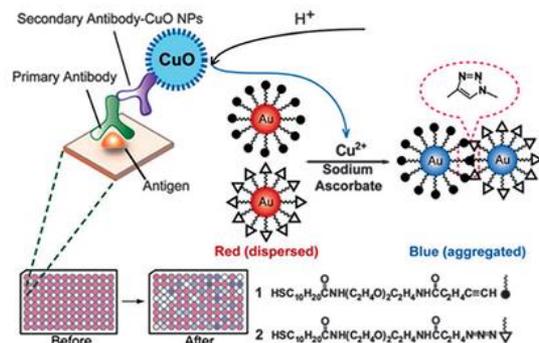


金纳米颗粒

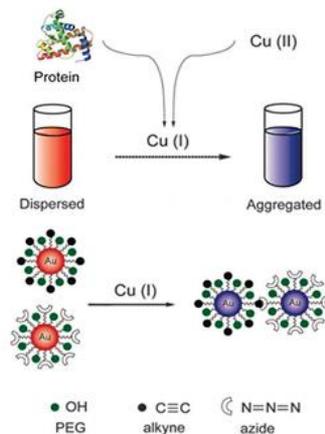


# 金纳米颗粒应用于其他比色检验原理

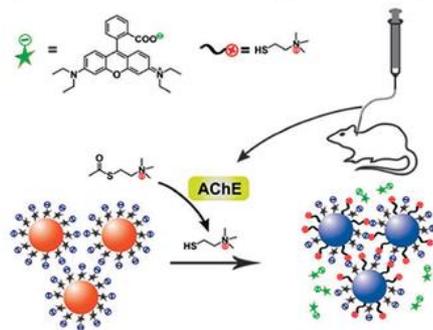
(a) AuNP-based ELISA



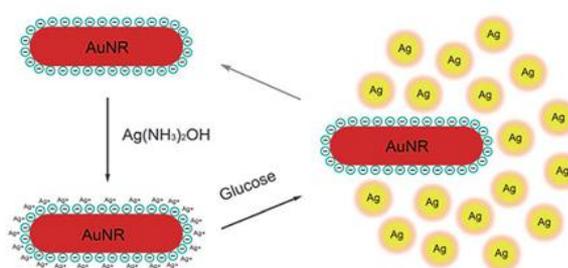
(b) AuNP-based protein assay



(c) AuNP-based enzyme assay



(d) AuNR-based glucose assay



# 系列新型纳米标记物



图 不同颜色的彩色微球

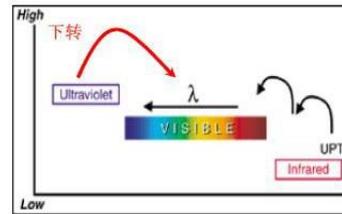


图 上转与下转磷光比较

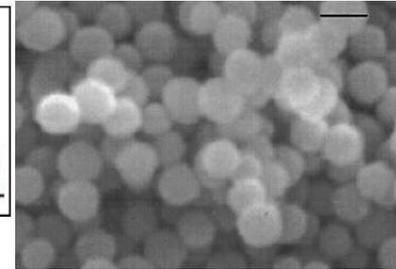


图 上转磷光粒子扫描电镜图

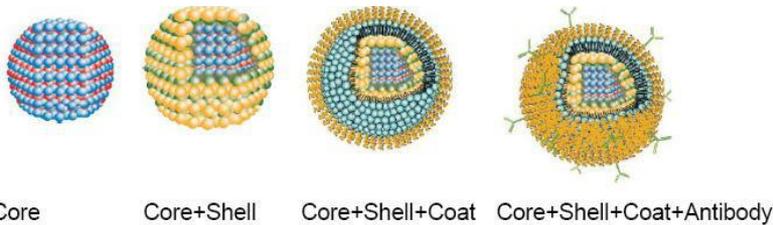


图 量子点结构示意图



图 不同长径比金纳米棒

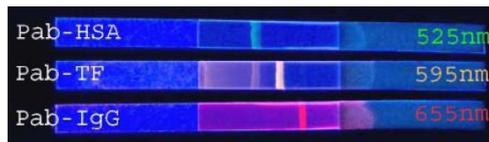
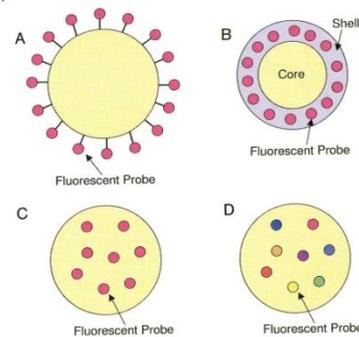
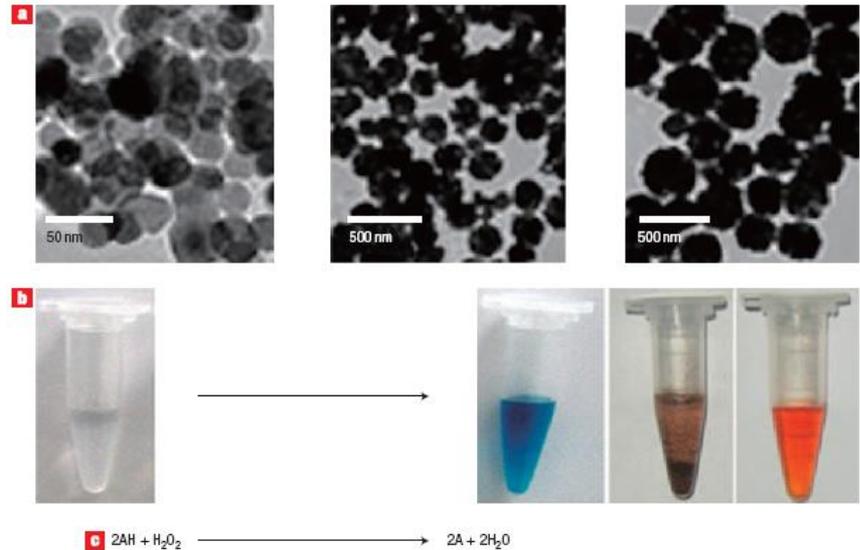


图 多元检测

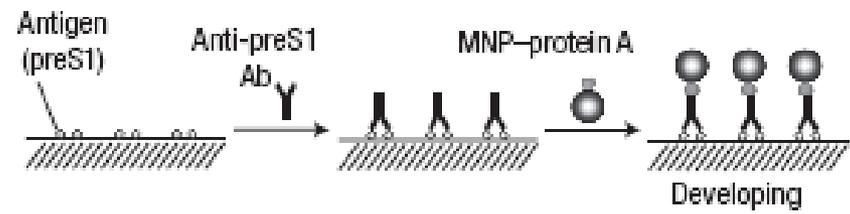


信号转换

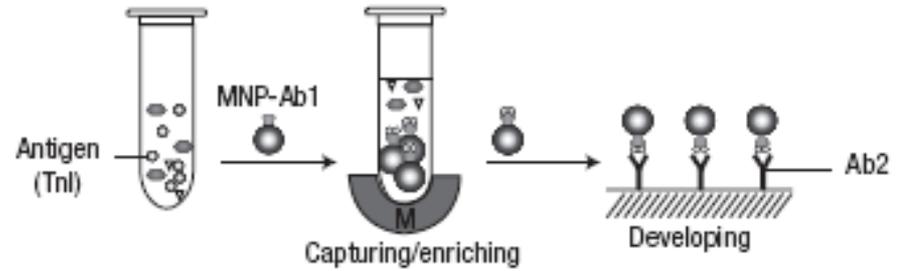
# 氧化铁纳米粒子具有类酶的催化活性



模式1：仅代替酶标抗体检测



模式2：捕获、分选与检测多功能



# 纳米压印技术结合SPR提升灵敏度

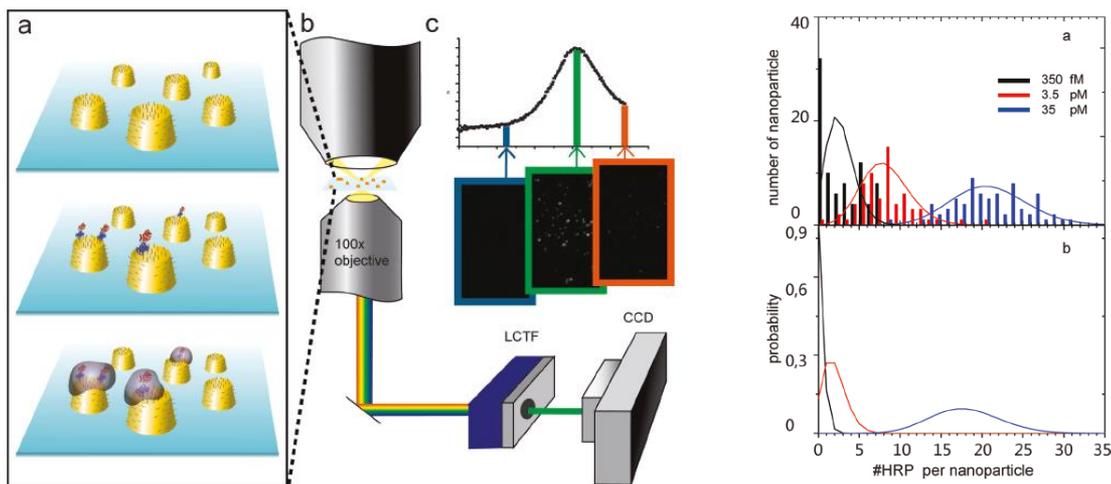
NANO LETTERS

LETTER

pubs.acs.org/NanoLett

## Plasmon-Enhanced Colorimetric ELISA with Single Molecule Sensitivity

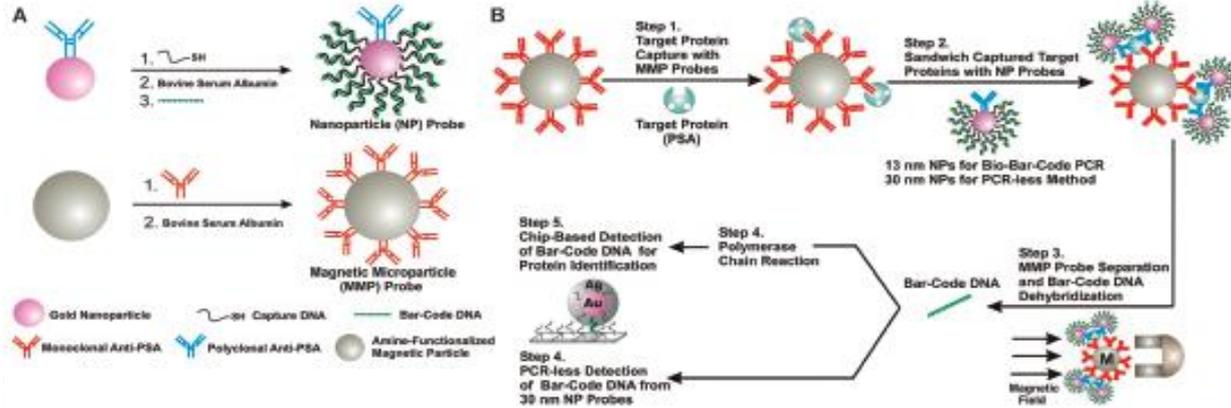
Si Chen,<sup>†</sup> Mikael Svedendahl,<sup>†</sup> Richard P. Van Duyne,<sup>‡</sup> and Mikael Käll<sup>\*,†</sup>



60nm的玻璃纳米柱规则阵列与55nm的金属薄膜制成增强SPR效应。

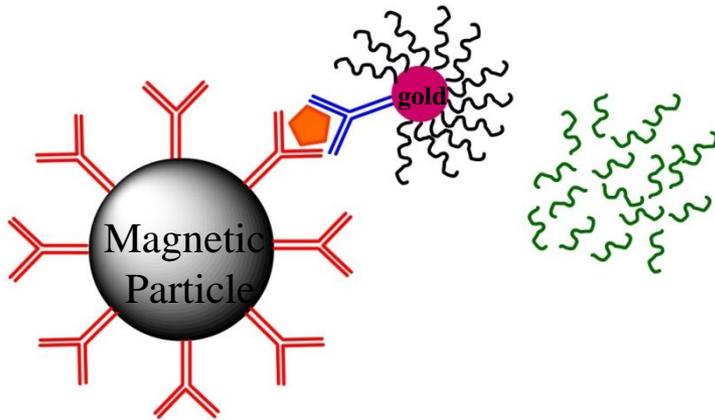
信号转换

# 生物条形码(BCA)检测技术——抗体检测

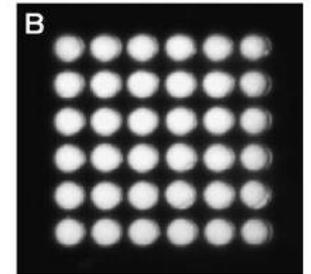
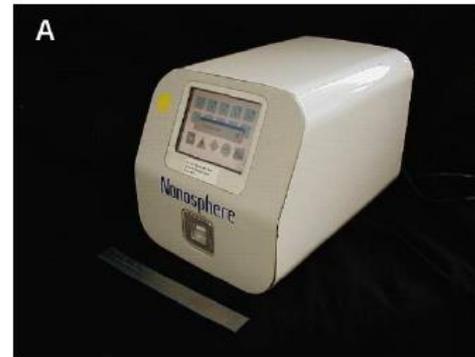


C. A. Mirkin et.al., 2003 VOL 301, 1884-1886, SCIENCE

信号放大原理:

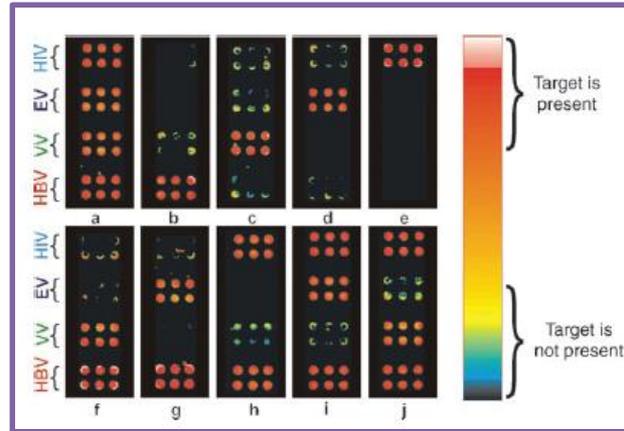
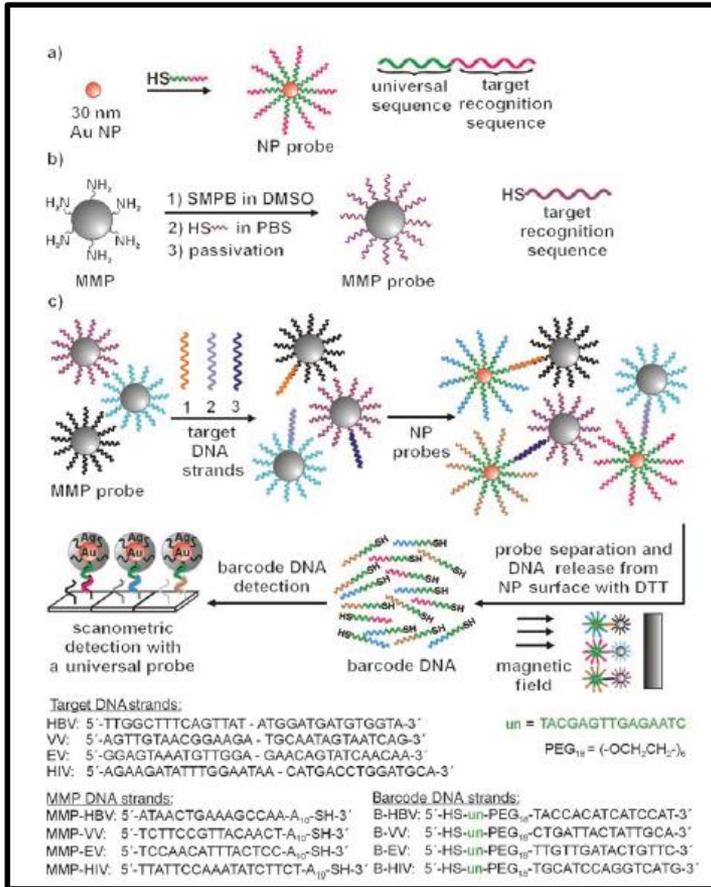


信号读取:



\$ 60

## 生物条形码(BCA)检测技术——核酸检测



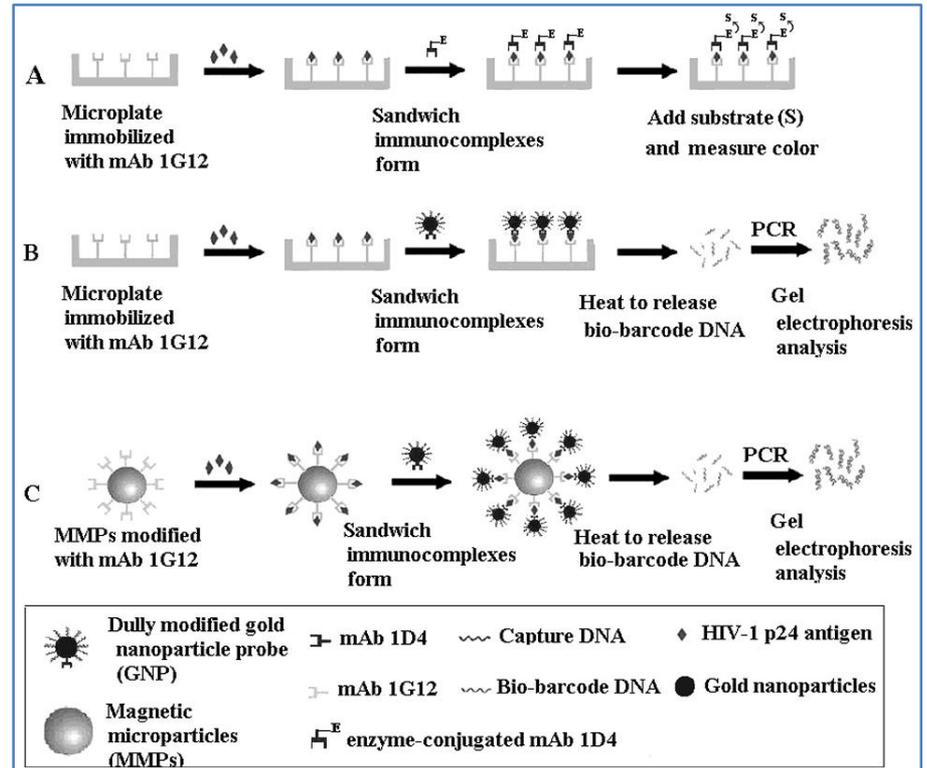
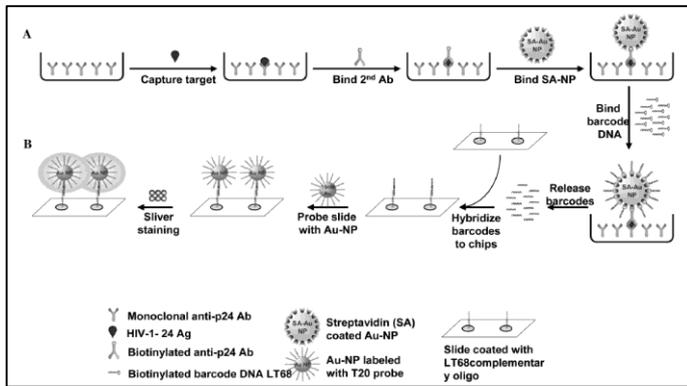
多种纳米标记物:

GNPs: 10-100 nm

Silica bead: nm — μm

PS microsphere: nm — μm

# 生物条形码(BCA)检测技术——检测HIV p24抗原



*J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2007, 46(2): 231-237.

*Virology Journal* 2012, 9:180

# 核酸层析快速现场检测技术平台

## Ideal Test

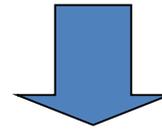
- **Affordable**
- **Sensitive**
- **Specific**
- **User-friendly**
- **Rapid/Robust**
- **Equipment-free**
- **Deliverable**

——From “WHO”

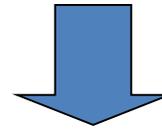
核酸恒温扩增技术  
(LAMP/NASBA/NEMA)



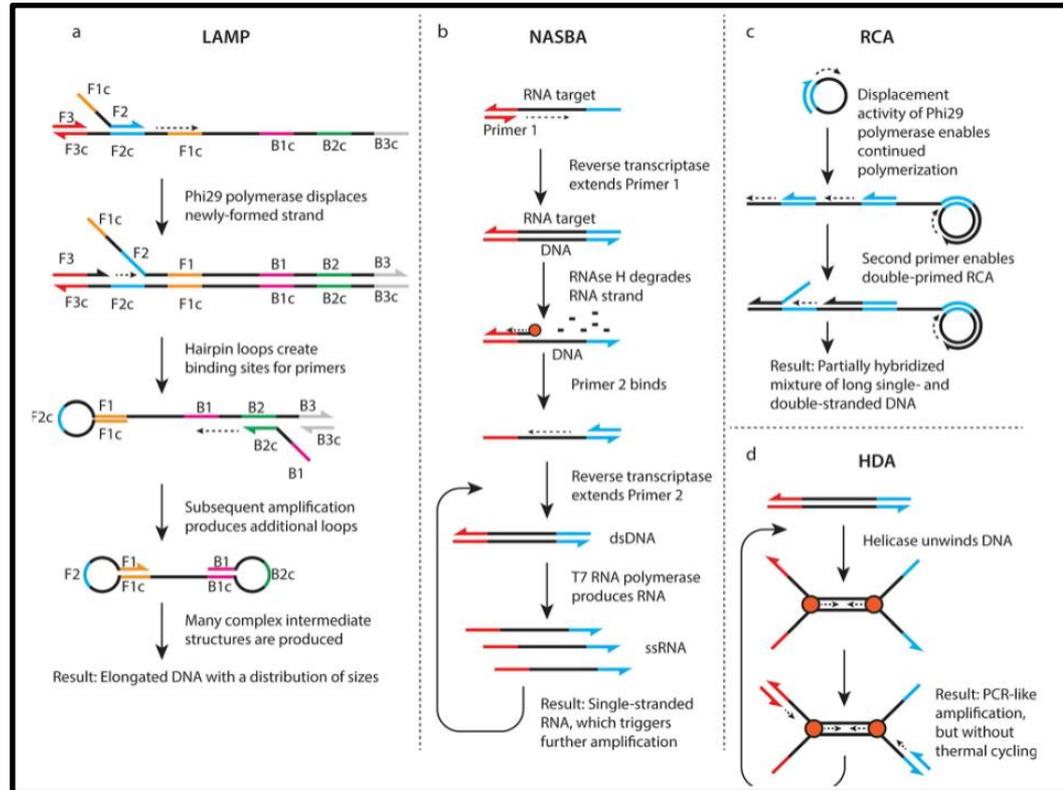
无仪器核酸层析快速检测  
(通用型防污染装置)



确信 (*Assured*) 的结果



## 多种等温扩增方法原理



*Nanoscale, 2013, 5, 10141*

LAMP: malaria, HIV, multiplexed detection of bacteria;(POCT化: 浊度仪; 克服假阳性: 序列特异性荧光探针, 比如分子信标)

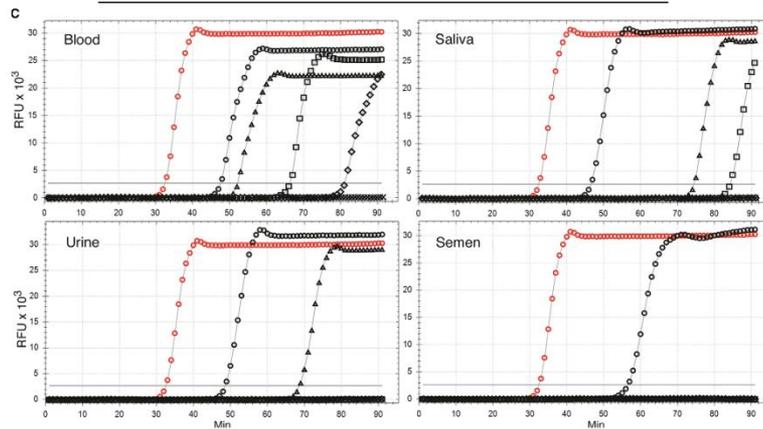
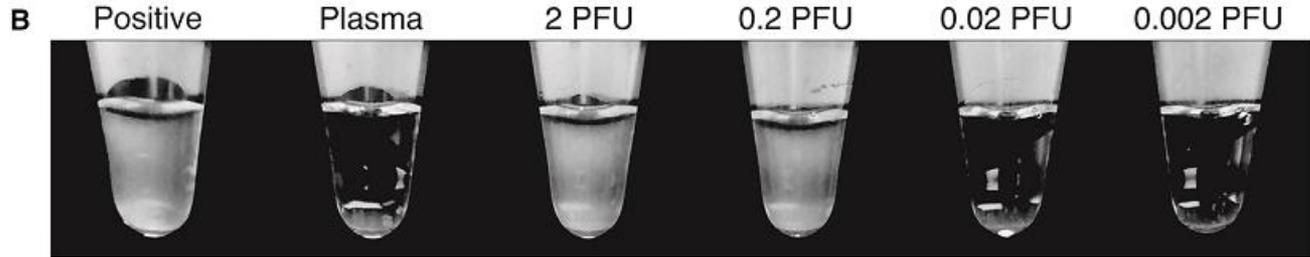
# LAMP浊度分析法检测寨卡病毒

SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE | RESEARCH ARTICLE

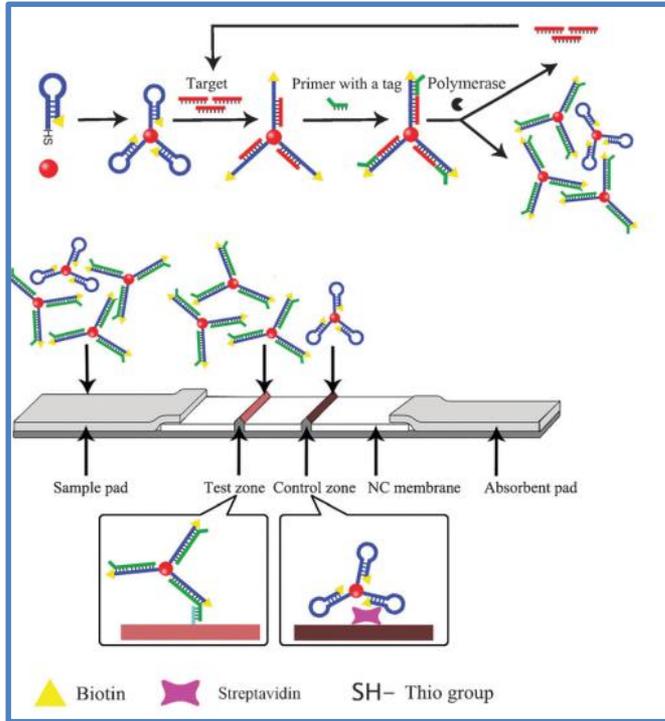
## ZIKA VIRUS

### Rapid and specific detection of Asian- and African-lineage Zika viruses

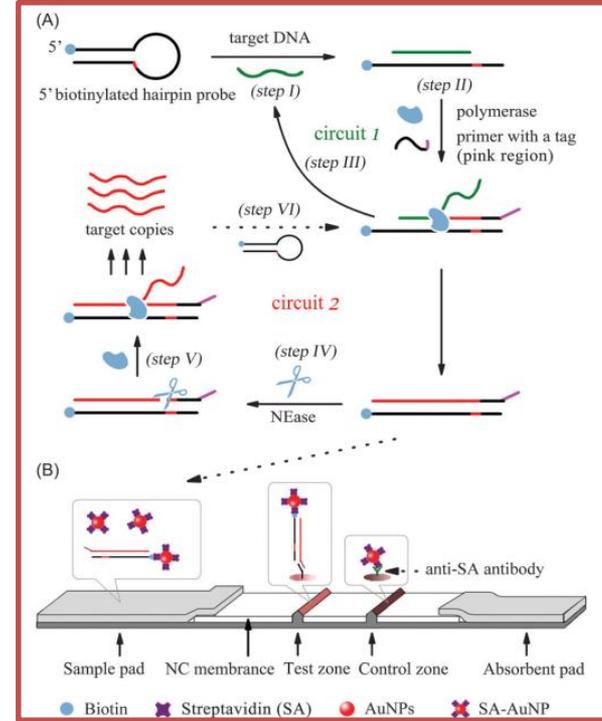
2017 © The Authors,  
some rights reserved;  
exclusive licensee  
American Association  
for the Advancement  
of Science.



## 基于分子信标 (beacon) 的核酸层析检测



*Chem. Commun.*, 2012, **48**, 236–238



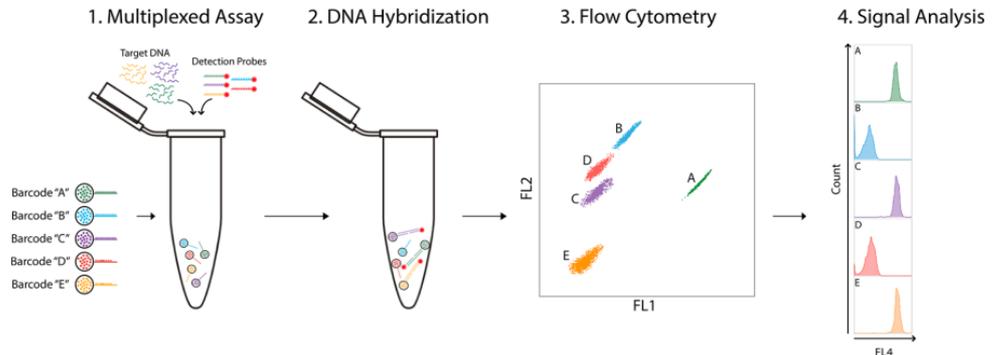
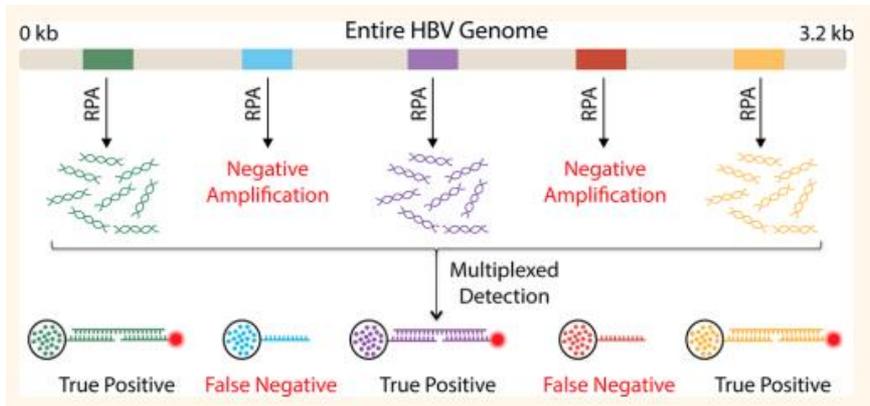
*Chem. Commun.*, 2013, **49**, 5165

# 多色量子点条形码技术应用于临床HBV诊断

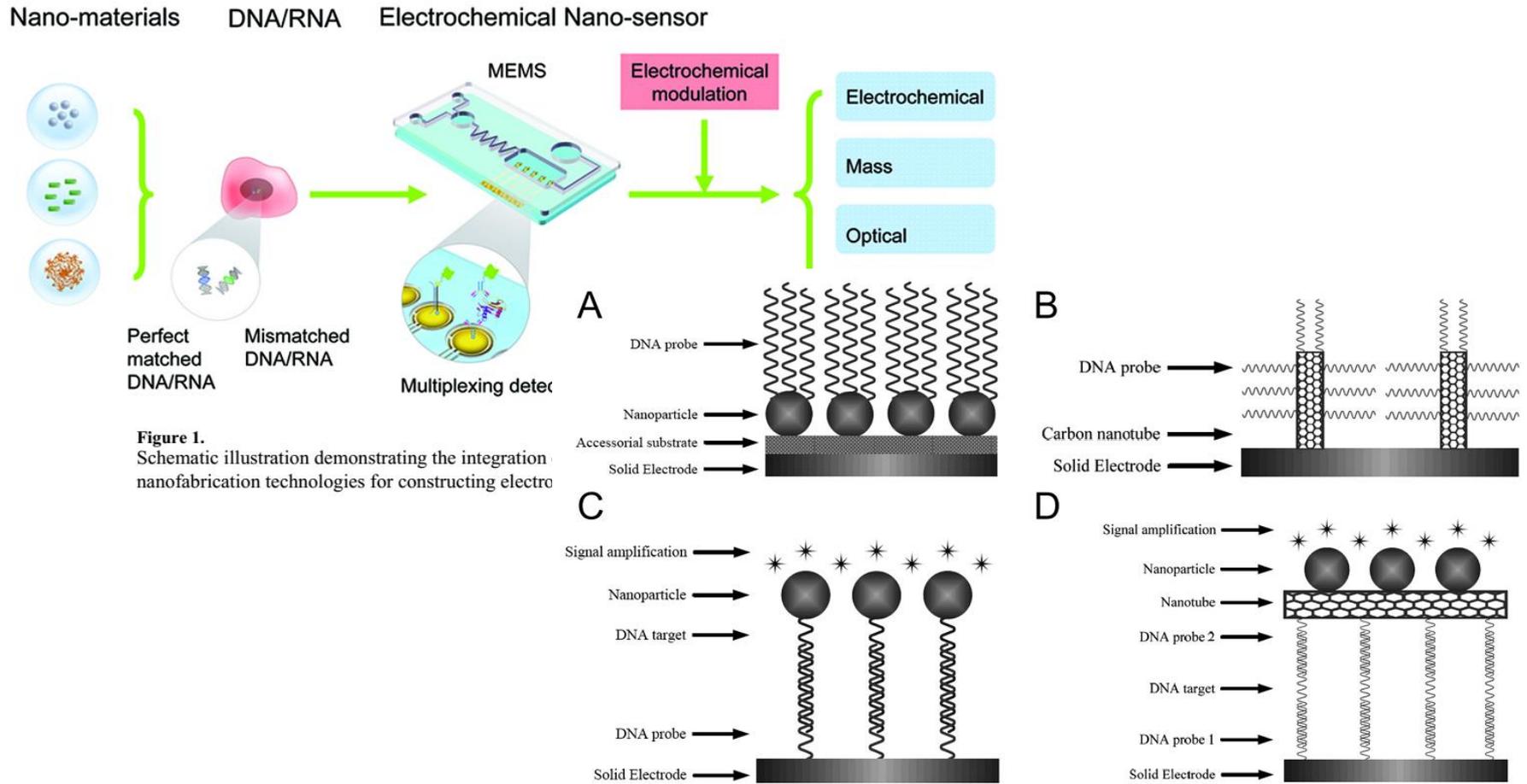


www.acsnano.org

## Clinical Validation of Quantum Dot Barcode Diagnostic Technology

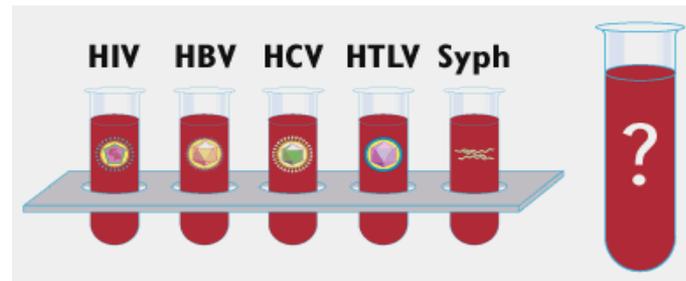
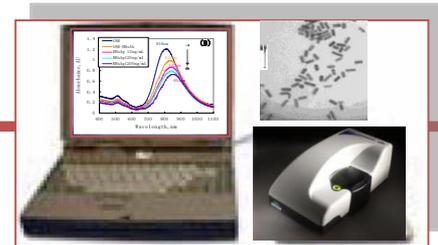
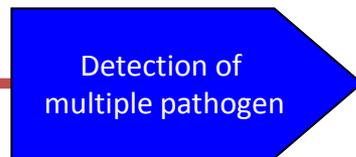
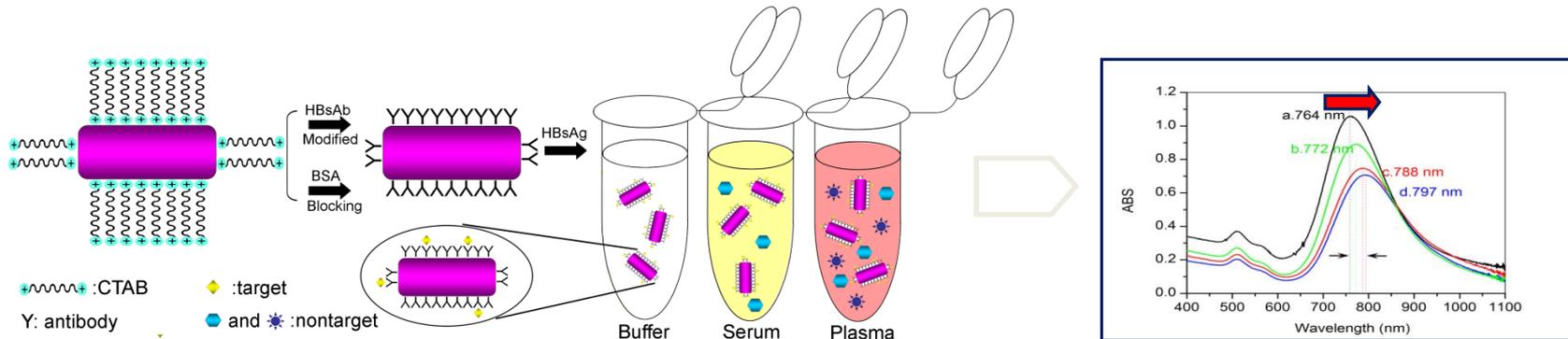


## 核酸检测中的电化学传感

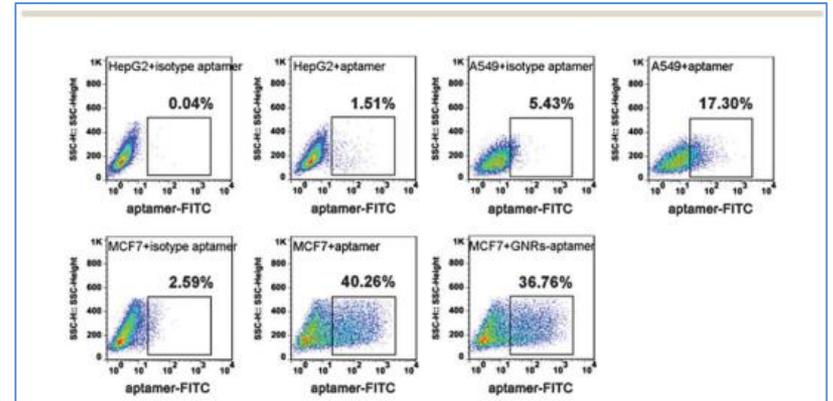
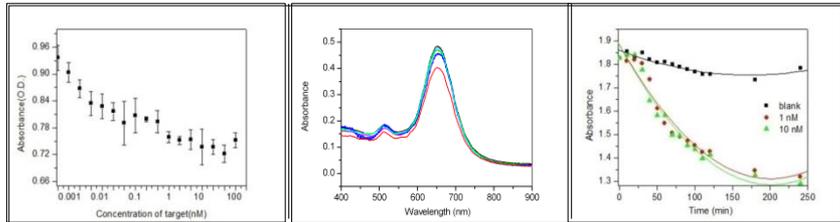
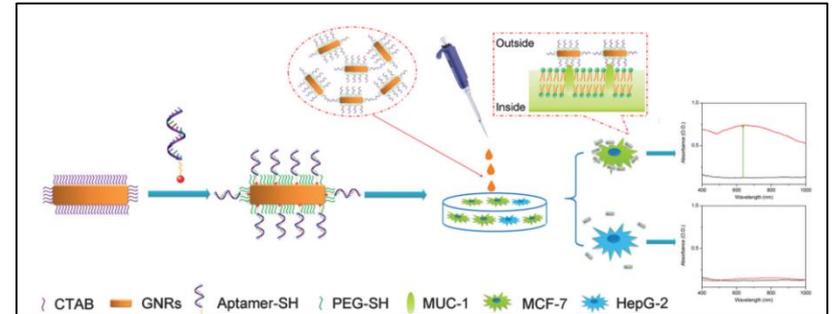
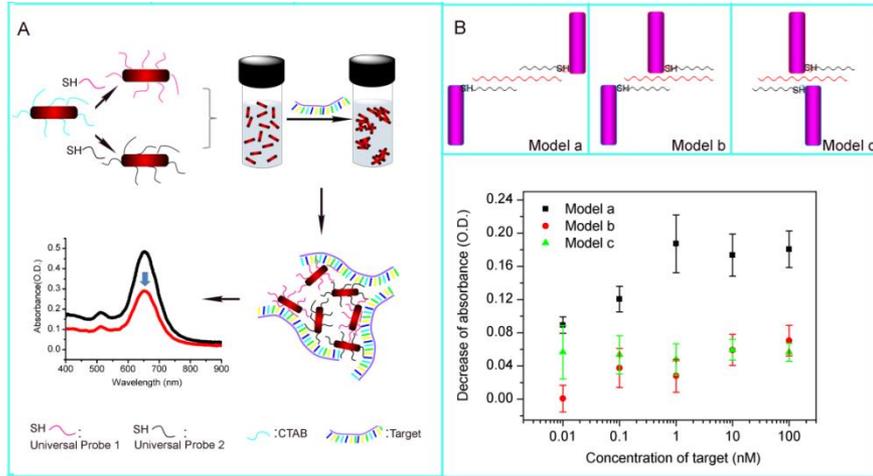


**Figure 1.** Schematic illustration demonstrating the integration nanofabrication technologies for constructing electrochemical nano-sensors.

## 基于金纳米棒LSPR性质的免疫传感器



## 基于金纳米棒LSPR性质的核酸传感器



◆ Wang X<sup>#</sup>, et. al. *Analyst*. 137(18), p4267-4273, 2012.

◆ Wang X<sup>#</sup>, et. al. *Anal. Biochem.* 428: p119-125, 2012.

◆ Wang X\*, Zhan L\*. *Chem. Commun.* 2016,

52(20): 3959-3961.

# 主要内容

- 纳米材料与纳米技术简介
- 血液传染病筛查概况
- 纳米技术在“样本前处理”中的应用
- 纳米技术在“信号转换/扩增”中的应用
- 纳米技术在“读取形式/设备”中的应用
- 近年来标志性科研成果与未来发展方向

# 热示差技术提升LFA灵敏度水平

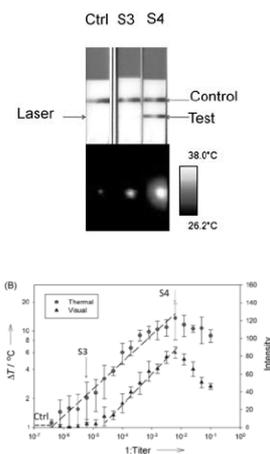
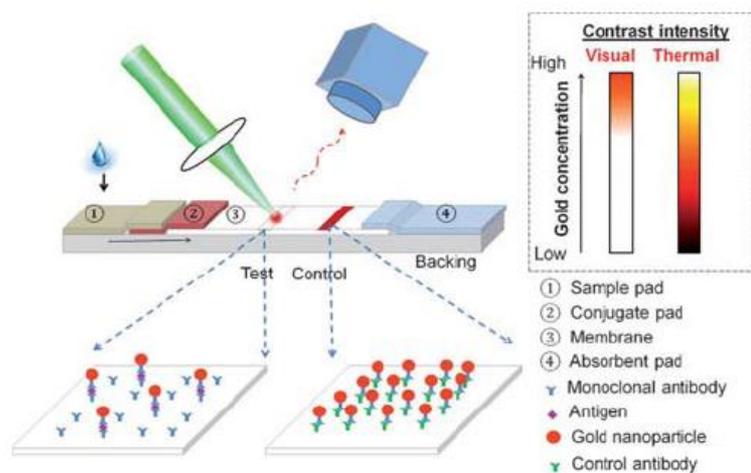
Angewandte  
Zuschriften

Bioassays

DOI: 10.1002/ange.201200997

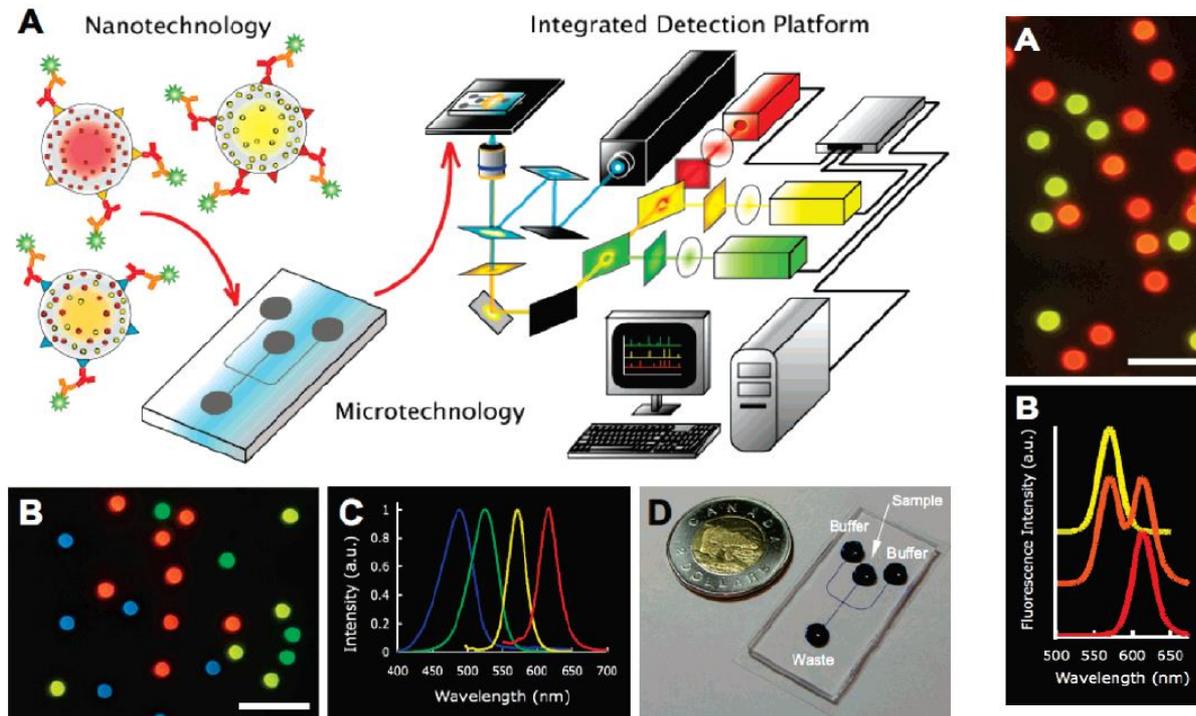
## Significantly Improved Analytical Sensitivity of Lateral Flow Immunoassays by Using Thermal Contrast\*\*

Zhenpeng Qin, Warren C. W. Chan, David R. Boulware, Taner Akkin, Elissa K. Butler, and John C. Bischof\*



结果读取

# 多色量子点结合微流通道检测血液传染病



荧光量子点结合微流控技术检测HBV、HCV和HIV

结果读取

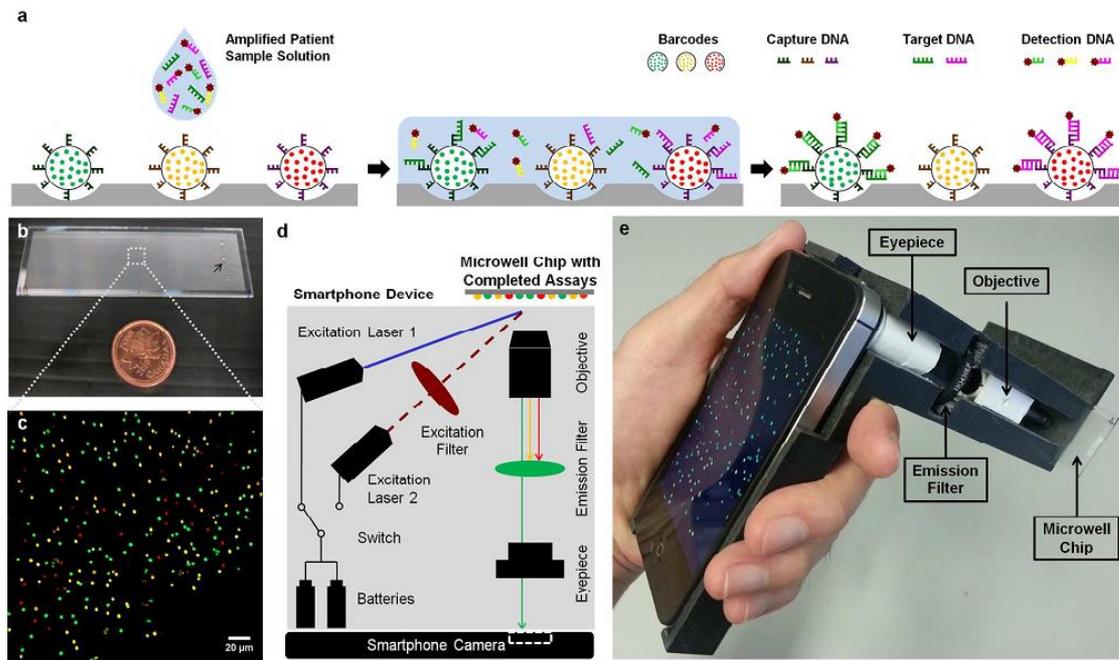
# “手机”结合“多色量子点条形码”检测多种血液传染病

ACS NANO

Subscriber access provided by NEW YORK UNIV

Article

## An Integrated Quantum Dot Barcode Smartphone Optical Device for Wireless Multiplexed Diagnosis of Infected Patients

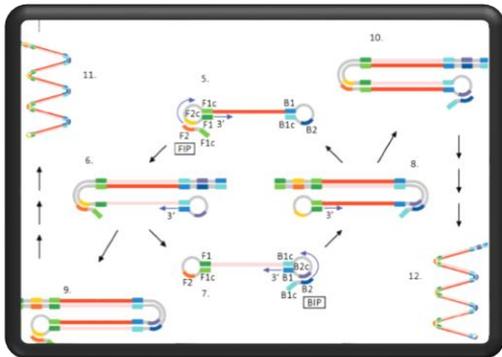


结果读取

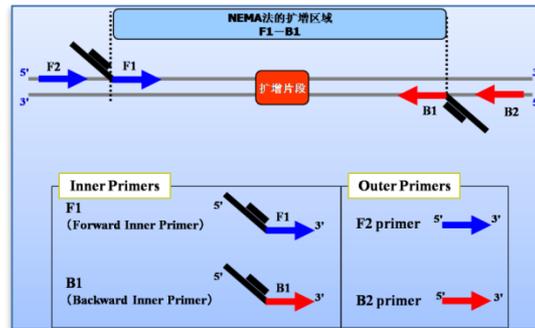
W. C. W. Chan et. al., ACS Nano, DOI: 10.1021/nn5072792, 2015

## 通用型核酸层析检测平台的建立

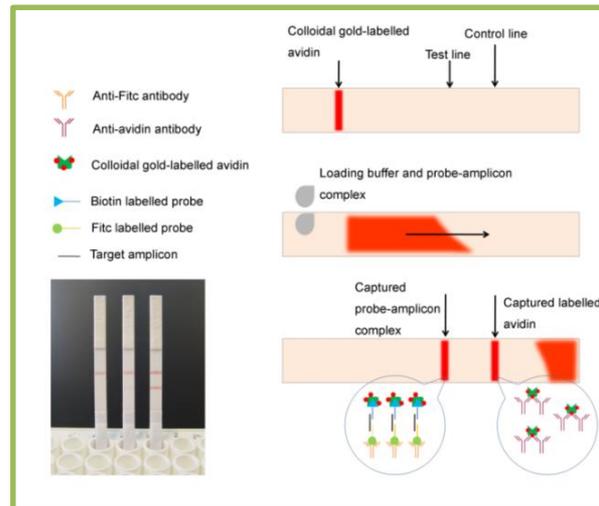
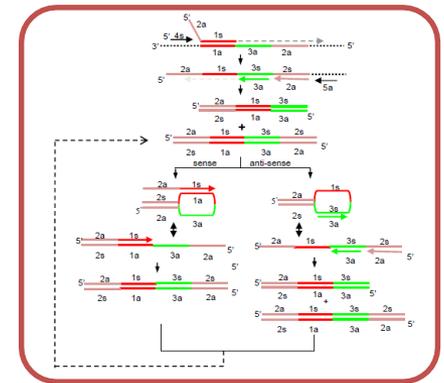
基于环介导(LAMP)的等温扩增:



基于切刻内切酶介导 (NEMA) 的恒温扩增:



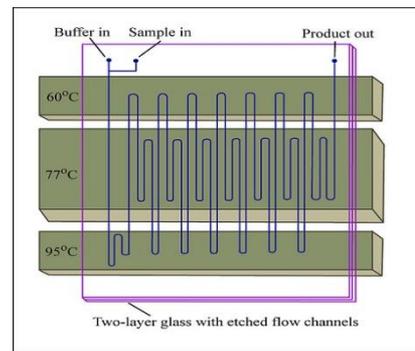
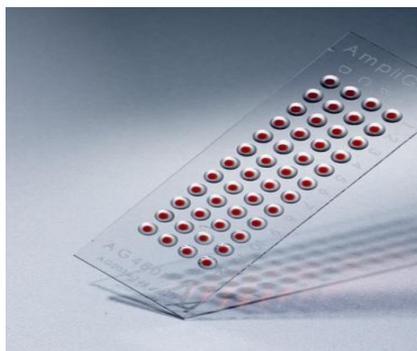
恒温核酸交叉引物扩增法 (CPA):



# 主要内容

- 纳米材料与纳米技术简介
- 血液传染病筛查概况
- 纳米技术在“样本前处理”中的应用
- 纳米技术在“信号转换/扩增”中的应用
- 纳米技术在“读取形式/设备”中的应用
- 近年来标志性科研成果与未来发展方向

# 未来发展方向之一——“精准检验”



## 三代PCR 技术比较

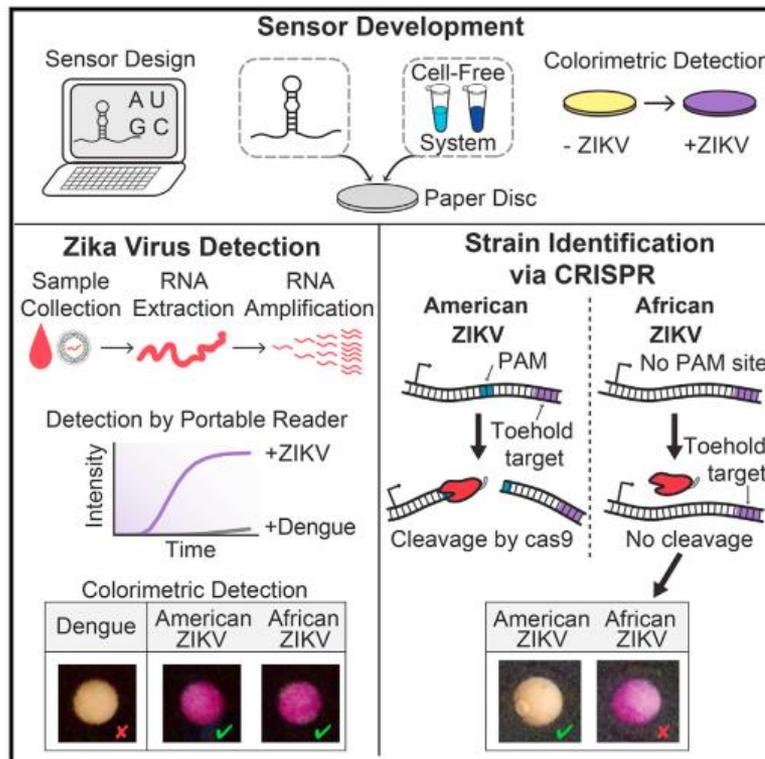
类别	热循环仪PCR	微量反应片PCR	微流控芯片PCR
反应器	微管	微量反应片	毛吸管
反应体积 (μL)	几十	几个	几个~十几个
一个循环时间 (min)	5	1左右	<1
扩增效率	高	较高	较高

# 未来发展方向之一——“精准检验”

Resource

## Cell

### Rapid, Low-Cost Detection of Zika Virus Using Programmable Biomolecular Components



美国哈佛大学维斯生物启发工程研究所 ( Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering ) 合成生物学家James Collins博士领导的国际小组开发出一种低成本的基于试纸的快速诊断系统，该系统能够毒株特异性地检测寨卡病毒 ( Zika virus, ZIKV ) ，而且它可能很快被用来在现场筛查血液、尿液或唾液样品。

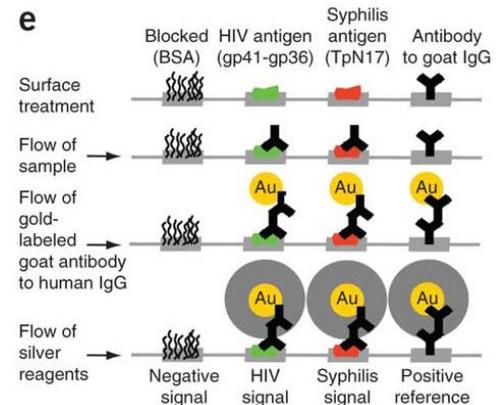
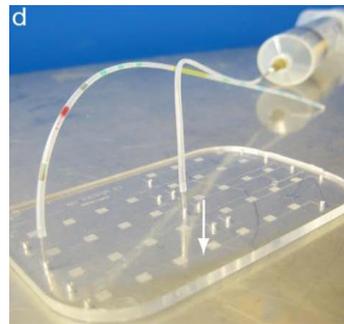
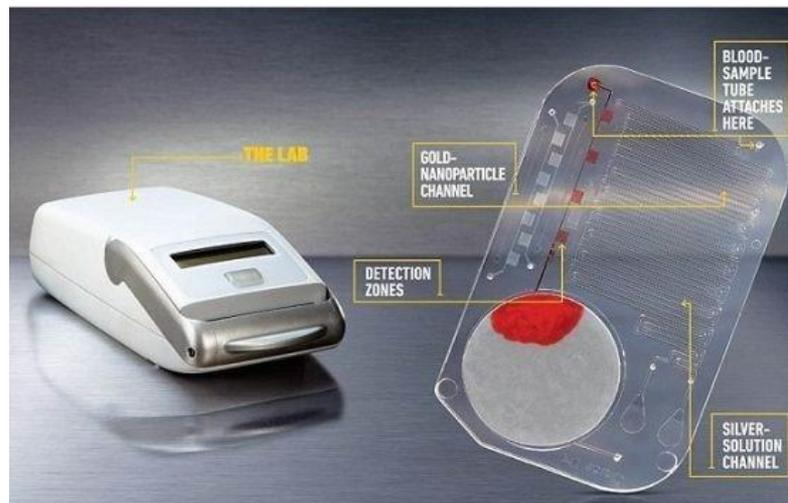
# 未来发展方向之一——集成化/POCT

TECHNICAL REPORTS

nature  
medicine

微流控技术集成检测多种血液传染病

Microfluidics-based diagnostics of infectious diseases in the developing world



mchip生产成本只有1美元，包含10个感应区域，只需针刺微量血样就可以在15分钟内诊断出是否感染了HIV病毒或梅毒。

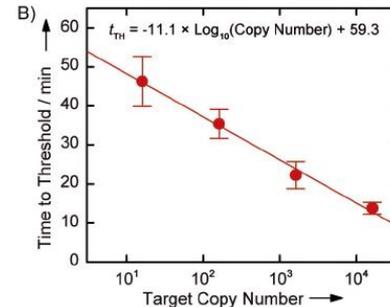
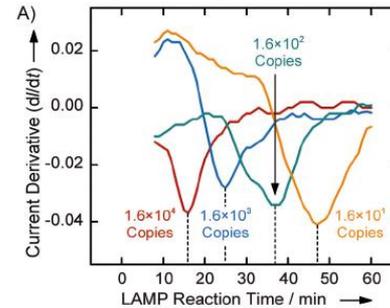
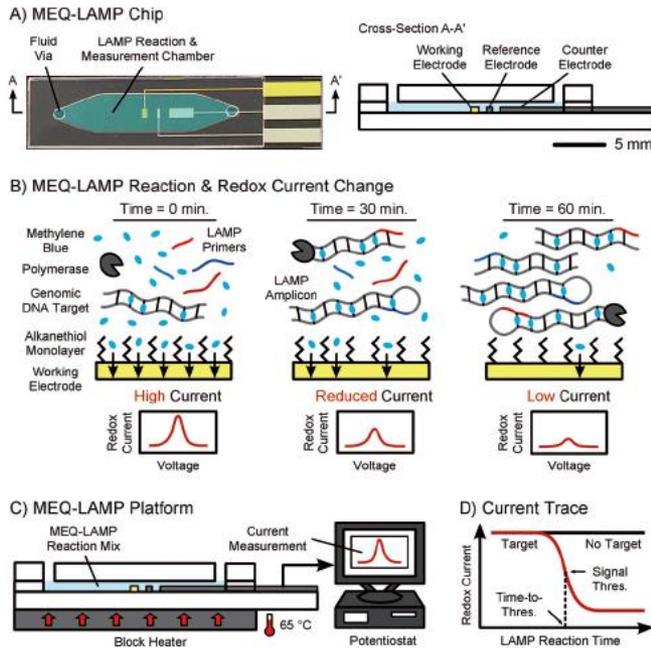
## 未来发展方向之一——更便捷

Angewandte  
International Edition  
Chemie

DOI: 10.1002/anie.201109115

### Point-of-Care Diagnostics

### Rapid, Sensitive, and Quantitative Detection of Pathogenic DNA at the Point of Care through Microfluidic Electrochemical Quantitative Loop-Mediated Isothermal Amplification\*\*\*



# 未来发展方向之一——更便捷

## Lab on a Chip

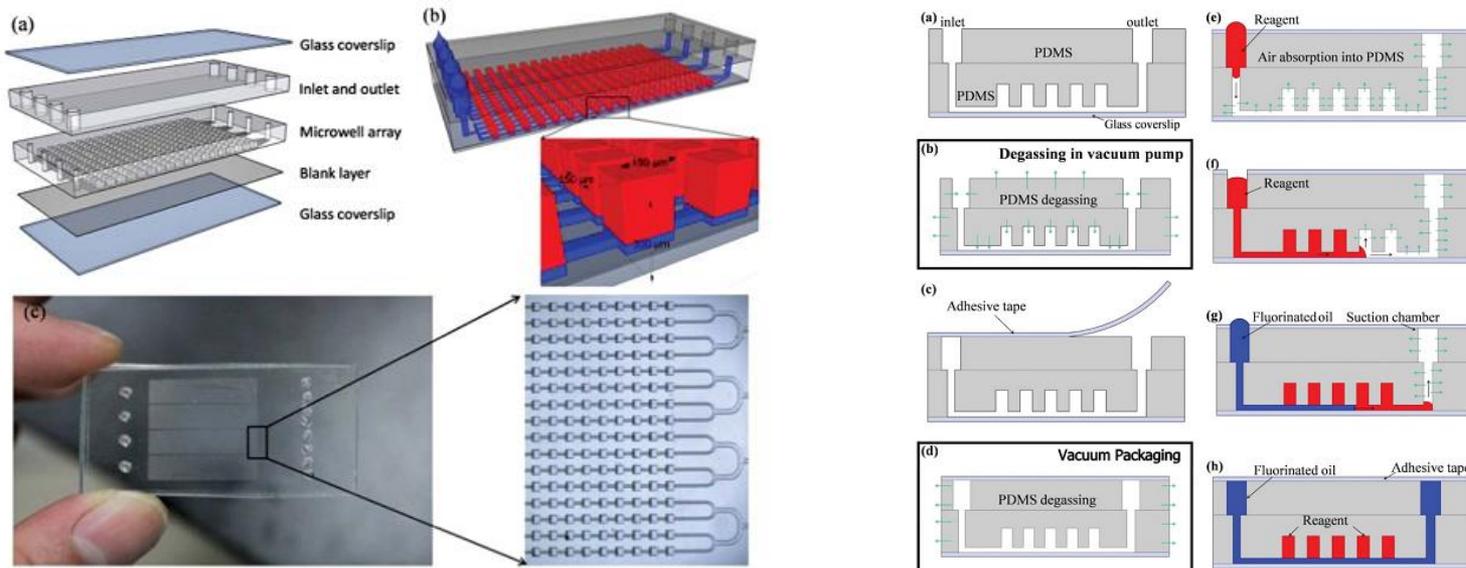
Dynamic Article Links 

Cite this: *Lab Chip*, 2012, 12, 4755–4763

[www.rsc.org/loc](http://www.rsc.org/loc)

### PAPER

## Self-priming compartmentalization digital LAMP for point-of-care†



自驱动数字化微流控结合LAMP

# 未来发展方向之一——更便捷

## 纸上DNA诊断：离子浓差极化法

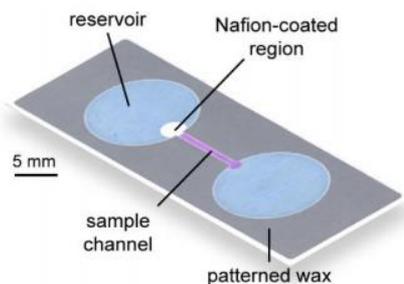
**J | A | C | S**  
JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY

Subscriber access provided by UNIV LAVAL

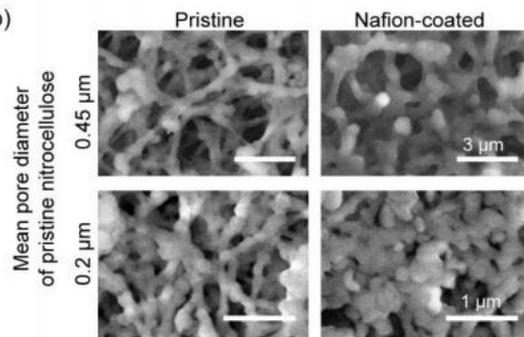
Article

### Direct DNA Analysis with Paper-based Ion Concentration Polarization

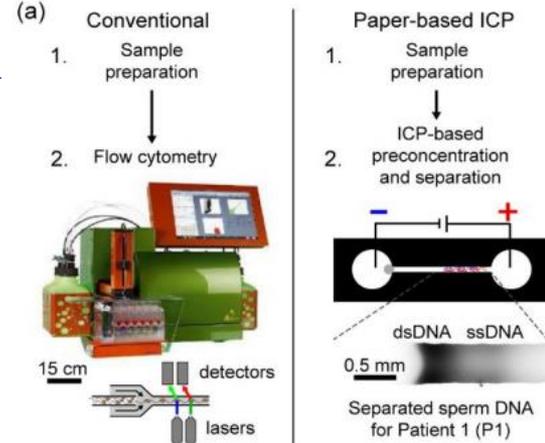
(a)



(b)



(a)



# 纳米技术在血液病原检测中未来发展方向



**致谢！**



**敬请批评指正！**

**Tel: 13439883606**

*Thanks*