

每當凜冬來臨，各種病毒病原體愈發蠢蠢欲動，走了新冠病毒來了黴漿菌，時不時A型流感也來搗亂。時下使用智能手錶檢測心率、血氧已經非常普及，那麼有沒有更好的方式能夠及時發現各種病毒的來襲呢？放心，全球的科學家正火熱的研究各種新鮮好玩的可穿戴感測器。

其中多功能微量盤檢測儀（Multi-mode Reader），在開發過程中扮演了至關重要的角色？下面內容，就讓我們看看高端玩家的玩機指南吧！

ARTICLES

<https://doi.org/10.1038/s41587-021-00950-3>nature
biotechnology

Wearable materials with embedded synthetic biology sensors for biomolecule detection

Peter Q. Nguyen ^{1,2,10}, Luis R. Soenksen ^{1,3,4,10}, Nina M. Donghia¹, Nicolaas M. Angenent-Mari^{1,4,5}, Helena de Puig^{1,4}, Ally Huang^{1,4,5}, Rose Lee¹, Shimyn Slomovic¹, Tommaso Galbersanini⁶, Geoffrey Lansberry ¹, Hani M. Sallum ¹, Evan M. Zhao¹, James B. Niemi¹ and James J. Collins ^{1,4,5,7,8,9} 

無細胞冷凍乾燥-穿戴技術（wearable freeze-dried, cell-free, wFDCF）

來自哈佛大學Wyss生物啟發工程研究所和麻省理工學院的研究人員共同開發了一種基於CRISPR 技術的可穿戴合成生物學感應器；無引入活體工程細菌的情況下，只需簡單的水溶液接觸，即可啟動生物感測器，進而檢測環境中的病原體和毒素，並發出螢光訊號。更棒的是，研究團隊將這一技術整合到可穿戴口罩中，以檢測患者呼吸中，以及空氣中是否存在 SARS-CoV-2 病毒，且此技術的檢測限可以與實驗室方法 qPCR 媲美。

在這項研究中，Agilent BioTek SynergyNEO HTS 多功能微量盤檢測儀用於wFDCF感測器紡織物材料的高通量篩選，以及驗證感測器用於RNA檢測的有效性。

Snynergy NEO 平台的高通量篩選

研究團隊設計了基於比色法訊號輸出的 wFDCF 感測器，由三層皮膚安全材料製成的有機矽彈性體逐層組裝而成，並將感測器嵌入其中，組裝好的傳感器具有彈性和柔韌性以支援可穿戴設計。液態樣本在最上層的孔洞進入後透過毛細管作用進入反應室，LacZ β -半乳糖苷酶能夠水解氯酚紅- β -d-半乳糖苷（CPRG），當病原接觸後會發生黃到紫色的變化。通過這樣的巧妙設計，研究團隊測試了不同的感測器模型檢測小分子或病毒RNA（圖1）。

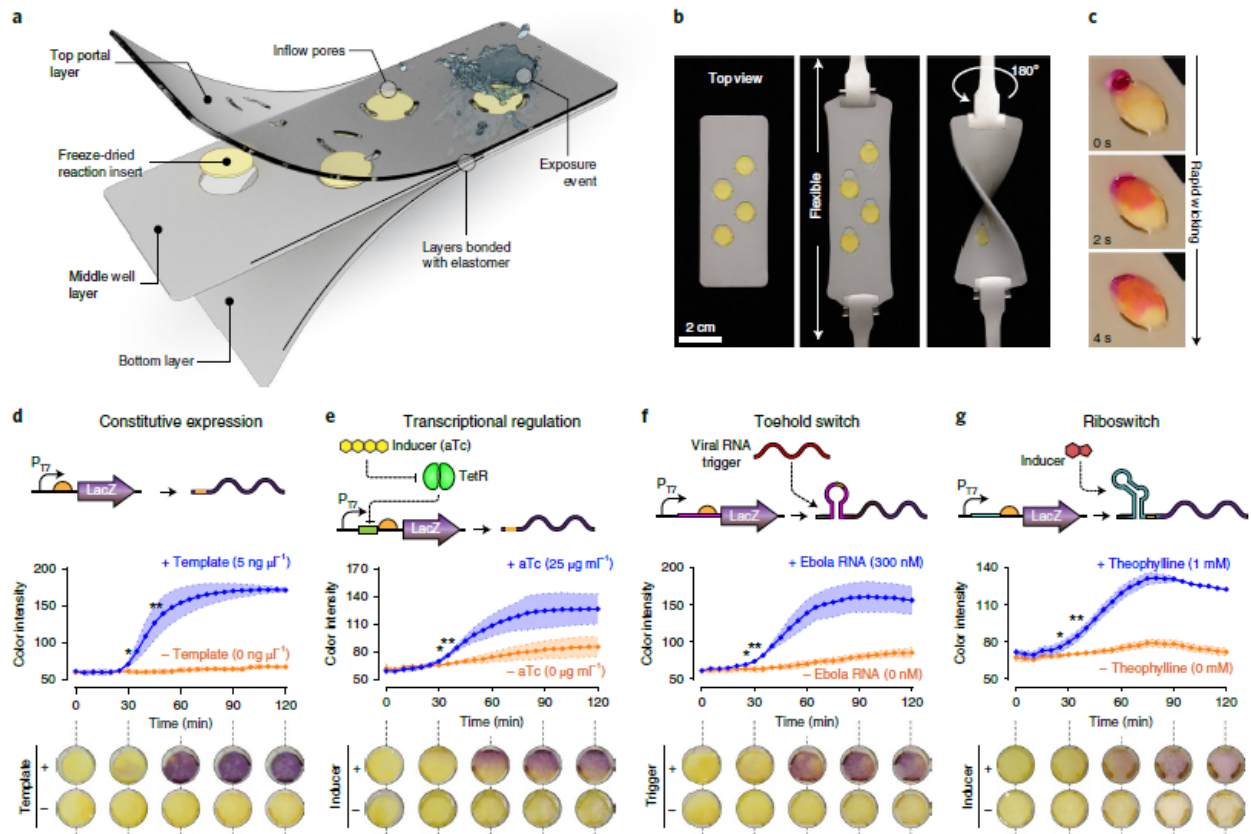


圖 1：比色法信號輸出的 wFDCF 感測器設計示意圖

篩選實驗流程簡介

1. 將 103 種織物樣本進行前處理，包含去除顆粒、清洗等，每種織物分為 BSA 封閉處理和未處理兩組，乾燥處理後用打孔器製成 2mm 的樣本，每個樣本設置三個重複，移入 384 孔板底部，對照組選擇 Whatman No.4 號濾紙。
2. 每孔內加入等量的 0.6mg/mL CPRG LacZ 範本的 PURExpress 蛋白合成液，微孔板密封後整板冷凍乾燥。
3. 加入 ddH₂O 至初始反應體積。
4. 使用 Synergy NEO 多功能微量盤檢測儀在 37°C 的條件下，對樣本 384 孔板進行長達 12 小時的動態吸光值偵測（OD_{420nm}），比較每種紡織物 FDCF 感測器的反應效果。

資料處理和篩選結果

動力學呈色反應結束後在微孔板中可觀察到明顯的顏色變化，SynergyNEO Gen5 軟體能夠自動生成動力學資料結果，及後續的統計和分析（圖2）。通過 OD420吸收光強度、平均反應速率、到達最大信號時間、滯後時間（LagTime）等參數並整合紡織物密度和自發螢光等變數，設計篩選評分，最後研究團隊選擇使用 85% 的聚酯纖維和 15% 的聚醯胺纖維織物用於後續的感測器的載體（圖3）。

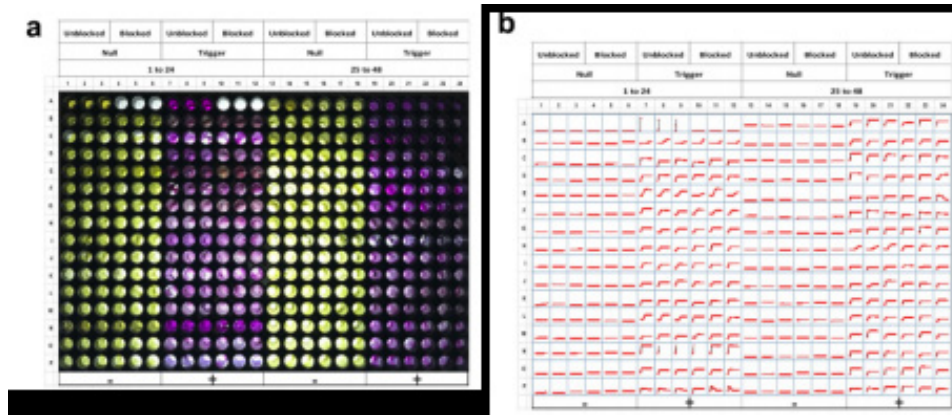


圖 2：SynergyNEO 用於篩選 FDCF 適配的紡織物結果

Normalized FDCF Fabric Aggregated Functionality Scoring

Score = Average (A, B, C, D, E, F)

- A = Normalized FDCF LacZ Colorimetric Intensity in Fabric
 - B = Normalized Max FDCF LacZ Reaction Rate in Fabric
 - C = Normalized Time to Max FDCF LacZ Reaction Rate in Fabric
 - D = Normalized Lag Time of FDCF LacZ Reaction Rate in Fabric
 - E = Normalized In-Fabric Fiber Density
 - F = Normalized In-Fabric Autofluorescence Intensity
- * Grade 4 Whatman Filter Paper Disc Score

Unblocked
5% BSA Blocked

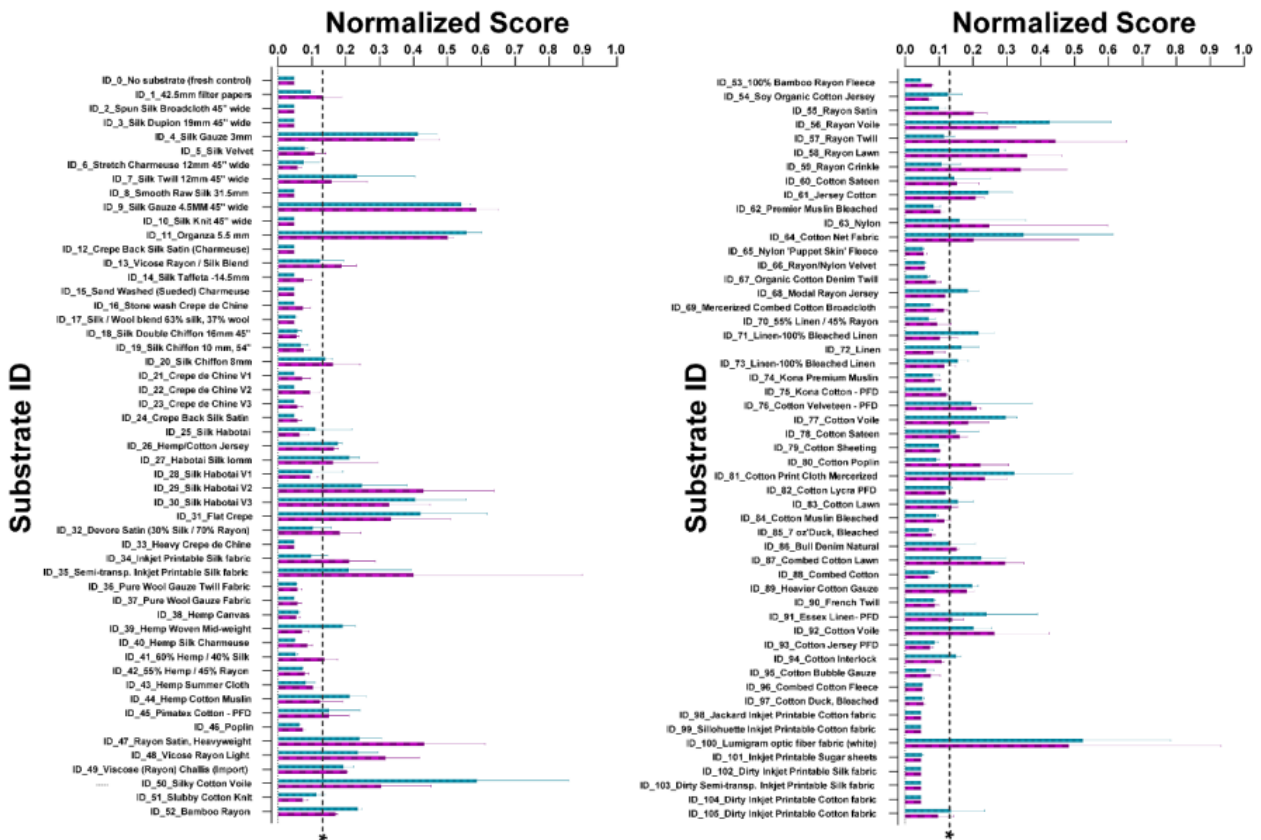


圖 3：wFDCF 比色紡織品篩選的評分結果

SynergyNEO 驗證 CRISPR-wFDCF 用於 RNA 直接檢測的有效性

CRISPR 技術用於基因編輯領域已經是非常成熟和熱門的技術，除了基因編輯，這項技術在分子檢測領域也是大放異彩，在 COVID-19 爆發不久，CRISPR 領域知名科學家張鋒於 2020 年發表了使用 CRISPR 診斷工具檢測新型冠狀病毒 COVID-19 的 SHERLOCK 技術，詳細介紹了標本提取和檢測的方案。隨後，麻塞諸塞州劍橋市的夏洛克生物科學公司（Sherlock Biosciences）獲得了美國食品和藥物管理局（FDA）的緊急使用授權（EUA），用於檢測 COVID-19 病毒的 SHERLOCK CRISPR SARS-CoV-2 試劑盒，便是 FDA 首次授權使用 CRISPR 技術。

安捷倫 BioTek Synergy Neo2 是當時市場上唯一被批准用於 SHERLOCK SARS-CoV-2 診斷測試的微孔板讀盤機。

由於 SHERLOCK 技術具有靈敏度高，回應速度快、單基對解析度、冷凍乾燥相容性和應對任意 DNA/RNA 序列的可調整設計性等優點，該研究團隊將此技術融入到 wFDCF 的設計中，研究團隊開發了一種可以檢測呼出氣溶膠中 SARS-CoV-2 的口罩，只需按下口罩外側的按鈕，啟動感測器內三種不同的生物反應，第一種反應用於破壞新冠病毒的蛋白外殼，暴露其內部的 RNA；第二個反應是一個常溫 PCR 擴增步驟，特異性擴增新冠病毒的刺突蛋白（S 蛋白）的基因片段；最後第三個反應使用基於 CRISPR-Cas13a 的 SHERLOCK 技術來檢測病毒的 S 基因，被啟動的 Cas13a 將螢光-DNA 探針分子切成兩個更小的片段，在口罩內部的 LAF 視窗會顯示出肉眼可見的條帶（圖 4）。

除此之外，研究團隊還繼續開發了光纖網路集成的 wFDCF 感測器，能夠更客觀的分析螢光訊號，並可通過手機 APP 即時查看該信號。

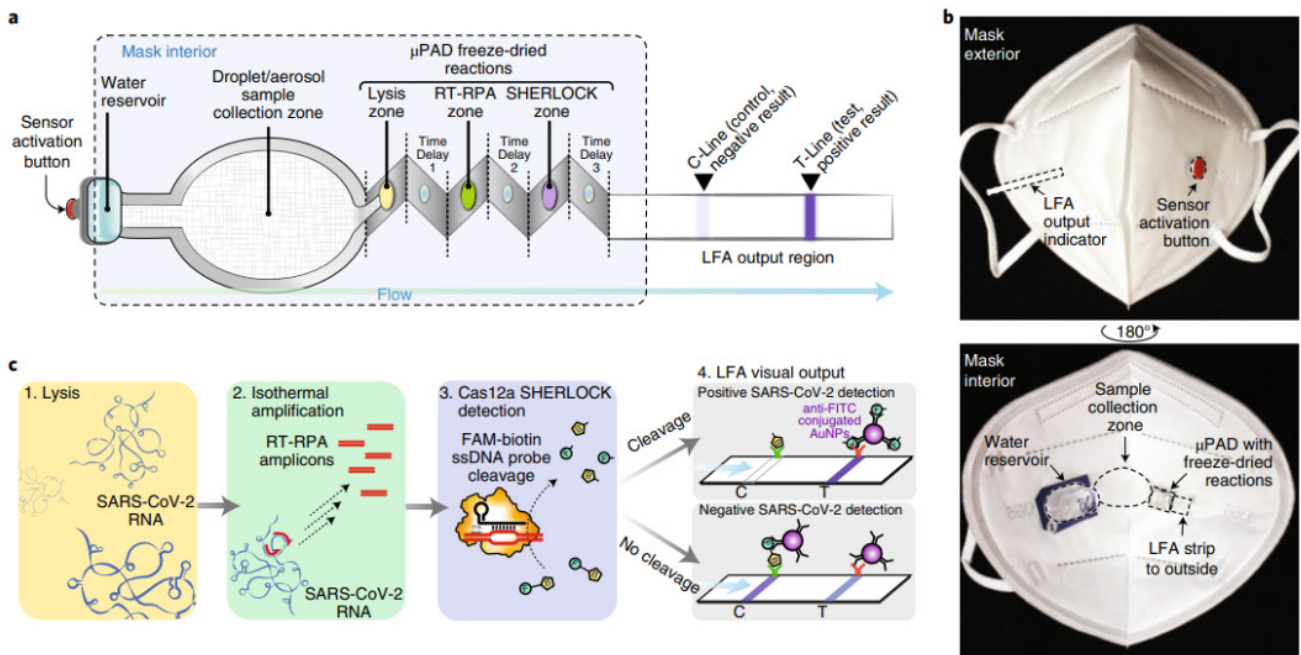


圖 4：口罩式用於檢測 SARS-Cov-2 的集成化可穿戴設備設計

為了驗證這種融合 SHERLOCK 技術的 wFDCF 的有效性，使用 Synergy NEO 測試了 CRISPR-Cas13a 系統直接檢測病毒 RNA 的效果。

檢測流程簡介

1. 製備 A CRISPR-Cas13a-MRSA SHERLOCK RNA 紡織品冷凍乾燥樣本：反應系統包含可以被 Cas13a 切割的螢光探針底物 RNaseAlert，按前述操作轉入微孔盤中並進行冷凍乾燥。
2. 使用含有 20nM mecA RNA transcript trigger 的 ddH₂O 水化處理微孔板中的冷凍乾燥的紡織品生物感測器。
3. 將微孔板置入 Synergy NEO 中，在 30°C 條件檢測螢光信號的動力學變化 (Ex.470 nm/Em. 528nm, 30mins)。
4. 微孔板檢測結果和可穿戴設備的螢光顯色反應進行平行對比。

檢測結果分析

對可穿戴設備的螢光顯色成像結果的信號強度做均一化處理後，其動力學曲線（圖 5 綠色曲線）和微孔板螢光強度曲線（圖 5 紅色曲線）一致，此結果提示基於此 Cas13a 酶體系的 wFCDF 感測器的可穿戴設備平臺具有良好的病毒 RNA 檢測效果。

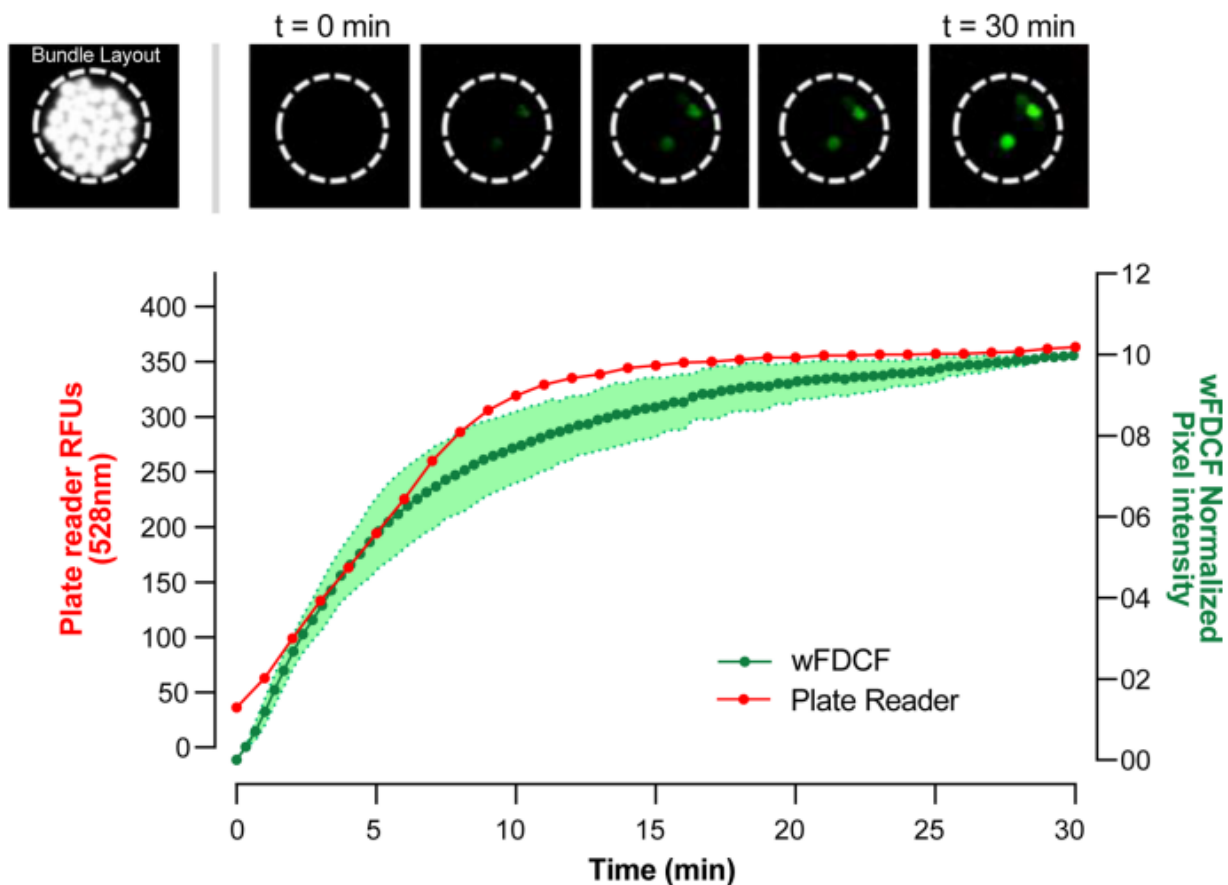


圖 5：wFCDF CRISPR-Cas13a 生物感測器直接檢測 RNA 的效果驗證

Synergy Neo2 多功能微量盤檢測儀推薦

Synergy Neo2 是安捷倫微孔盤檢測系列中的頂級旗艦款，不僅融合了 Synergy 家族獨特的 Hybrid 技術，具有獨立的光路，確保在所有檢測模式下均能保證出色的性能。並配備連續可調的四光柵系統，並搭載雙平行 PMT 檢測的高速高靈敏螢光濾片光學模組，並且支援 TRF 雷射檢測和 Alpha 雷射檢測。

SynergyNeo2 主要優勢

檢測模式全面，包含全波長吸收光、螢光強度檢測、冷光檢測、FP、TRF、HTRF、TR-FRET、FRET、BRET、AlphaLISA 和 alphasgreen 檢測模式。

獨特Hybrid 光路：卓越的檢測性能保證

超快速：最高可配置 4 個 PMT 用於高速測量

輔助檢測功能豐富：包含先進的環境控制技術，溫控至 70°C（這項功能在包括本文提到的 SHERLOCK 在內的恒溫 PCR 技術中非常重要）和變速振盪，以支援活細胞分析。

自動化對接友好：BioStack Neo 可提供無需人力操作的自動化功能、高通量和條碼標記的濾光片模組，可以簡化工作流程和降低出錯率。

軟體功能強大：Gen6 軟體提供了全面的微量板檢測儀控制、強大的資料分析功能和LIMS 功能。

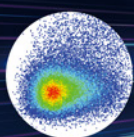
應用範圍廣泛：涵蓋基礎研究到藥物發現的多個領域應用。

參考文獻

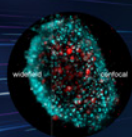
1. Wearable materials with embedded synthetic biology sensors for biomolecule detection. <https://doi.org/10.1038/s41587-021-00950-3>
2. SHERLOCK: nucleic acid detection with CRISPR nucleases. <https://www.nature.com/articles/s41596-019-0210-2>

THE FUTURE LAB | FUTURE CMC

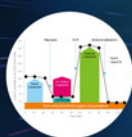
進階與您一同邁入新未來



Multi-color Flow



Confocal Live Image



Energy Metabolism



Bioreactor



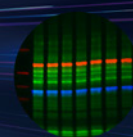
Organ Chip



Digital PCR



Multiplex Assay



IP Western



進階生物科技股份有限公司

台北總公司 02-26959935 免付費專線 0800251302 傳真 02-26958373

www.level.com.tw



進階官網



FB 粉絲團