

基于纳米光子技术检测 SARS-CoV-2 研究进展^{*}

杨旭^{a,b} 张泽英^{a,b} 苏萌^{*,a,b} 宋延林^{*,a,b}

(^a 中国科学院化学研究所绿色印刷重点实验室 北京 100190)

(^b 中国科学院大学 北京 100049)

摘要 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)的大规模爆发导致全球性大面积人员感染甚至死亡,严重影响了人们的正常生活.全球化贸易和便捷交通极大加速了疫情的传播速度,使疫情防控困难重重.因此,快速准确地诊断感染者和筛查无症状感染者有重要意义.目前使用最广泛的 SARS-CoV-2 检测方法是逆转录聚合酶链式反应(Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR),但是存在样品储运繁琐、检测步骤复杂等问题,需要专业人员和设备,难以满足疫情常态化形势下快速、简便、高效、大规模检测的要求.近年来,随着纳米光子学的快速发展和纳米制备技术的不断完善,基于纳米光子学技术检测生物标志物的研究已成为新的研究热点.最新研究的利用纳米光子结构检测生物标志物新方法,包括表面等离子共振(Surface Plasmon Resonance, SPR)、表面增强拉曼散射(Surface Enhanced Raman Scattering, SERS)、回音壁模式(Whispering Gallery Mode, WGM)与比色法,特异性强、检测速度快、简单高效.这些检测技术为高灵敏快速生物检测提供了新的平台.本综述对近年来发展的纳米光子学生物检测技术进行了总结与概述,阐述了纳米光子学检测生物标志物的机制,并分析其用于 SARS-CoV-2 检测的可能性.针对目前纳米光子结构制造困难的问题,提出了利用纳米绿色印刷微纳制造技术大面积制备纳米光子结构的新思路,为实现疫情的精准有效防控提供理论和技术基础.

关键词 纳米光子学; 生物标志物检测; SARS-CoV-2; 纳米绿色印刷

Research Progress on Nano Photonics Technology-based SARS-CoV-2 Detection^{*}

Yang, Xu^{a,b} Zhang, Zeying^{a,b} Su, Meng^{*,a,b} Song, Yanlin^{*,a,b}

(^a Key Laboratory of Green Printing, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences (ICCAS), Beijing 100190, China)

(^b University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract The worldwide outbreak of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has resulted in the infection even death of people all over the world, which has gravely affected our daily life. Globalization of trade and convenient transportation immensely accelerate the propagation of the epidemic, which brings severe difficulties to prevent the epidemic. Therefore, rapid and accurate diagnosis of infected persons and screening of asymptomatic persons play an important role. At present, the most widely used method for the detection of SARS-CoV-2 is reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), which still has some problems including complicated sample storage and transportation, complex operations and so on. These shortcomings cause the hindrances to achieve fast, simple, efficient diagnostic testing under the normalization of the epidemic. In the past few years, with the development of nanotechnology, bio-sensing methods based on nano photonics have become a research hotspot. Label-free optical methods have been widely explored for bio-sensing including virus detection, such as surface plasmon resonance (SPR), surface enhanced Raman scattering (SERS), whispering gallery mode (WGM) and colorimetry. These approaches offer available alternatives to improve the speed, sensitivity, and accuracy of optical bio-sensing, owing to the enhanced interaction between the nanostructure and the biomarkers. This review summarizes these nano photonics-based bio-sensing technologies for the detection of SARS-CoV-2. Moreover, the detection mechanism of biomarkers by nano photonics is explained, and the further development trends are discussed. In view of the difficulties in manufacturing nano photonics structures, a new strategy of large-area preparation of nano photonics structures using nano green printing technology is proposed, which provides theoretical and technical support for accurate and effective

^{*} Dedicated to the 10th anniversary of the Youth Innovation Promotion Association, CAS.

^{*} E-mail: sumeng1988@iccas.ac.cn; ylsong@iccas.ac.cn; Tel.: 010-62553912; Fax: 010-62553912

Received October 21, 2021; published December 22, 2021.

Project supported by National Key R&D Program of China (No. 2018YFA0208501), National Natural Science Foundation of China (Nos. 51803217, 51773206, 91963212, 51961145102, 22075296), Youth Innovation Promotion Association CAS (No. 2020032), Beijing National Laboratory for Molecular Sciences (No. BNLMSC-CCXM-202005), and Beijing Nova Program from Beijing Municipal Science & Technology Commission (Nos. Z201100006820037, Z211100002121001).

^{*} 庆祝中国科学院青年创新促进会十年华诞.

项目受国家重点研发计划(No. 2018YFA0208501)、国家自然科学基金(Nos. 51803217, 51773206, 91963212, 51961145102, 22075296)、中国科学院青年创新促进会(No. 2020032)、北京分子科学国家研究中心(No. BNLMSC-CCXM-202005)和北京市科技新星计划(Nos. Z201100006820037, Z211100002121001)资助.

prevention and control of the epidemic diseases.

Keywords nano photonics; biomarkers detection; SARS-CoV-2; nano green printing

1 引言

截至 2021 年 10 月 10 日, 新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 的大流行已导致全球二点三七亿人次的感染, 造成了四百八十余万人的死亡^[1], 这些数字还在不断地快速上升. 同时, SARS-CoV-2 也极大地影响了人们的工作和日常生活. 病毒的精准检测和无症状感染者的快速筛查是疫情防控的重要手段, 目前 SARS-CoV-2 的主流检测方法是逆转录聚合酶链式反应 (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)^[2], 存在耗时长、检测过程复杂等问题, 难以满足疫情常态化新形势下 SARS-CoV-2 即时快速检测的需求.

近年来, 随着纳米光子学的快速发展和纳米制备技术的不断完善, 基于纳米尺度微结构与光子相互作用的检测方式得到迅速发展, 纳米光子学生物标志物检测器件已成为新的研究热点^[3-5]. 利用表面等离子共振技术 (Surface Plasmon Resonance, SPR)^[6-8]、表面增强拉曼散射 (Surface Enhanced Raman Scattering, SERS)^[9-12]、回音壁模式 (Whispering Gallery Mode, WGM)^[13-15] 等纳米光子学原理的生物标志物检测器件, 与结合纳米光子学的比色法生物检测器件凭借各自的独特优势, 已被广泛用来检测细菌、病毒、核酸、蛋白质等生物标志物. 其高灵敏度、操作简便、检测结果精确的优点满足 SARS-CoV-2 检测的要求, 为即时检测和大规模筛查无症状感染者提供了新的途径.

2 SPR 技术

表面等离子共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 技术从 20 世纪末被发现以来^[16], 凭借其高度灵敏、无需标记、快速响应的优势, 被广泛应用于细菌^[17-18]、病毒^[19-22]、DNA^[23-24] 等生物标志物的检测中, 目前已发展为一种重要的实时检测生物标志物的纳米光子学技术.

SPR 技术的原理是: 当入射光的波矢与表面等离子体的波矢匹配时, 即在某个入射角, 会发生从入射光到表面等离子体的能量转移, 因而反射光的强度明显降低, 利用反射光强度的变化, 实时监测金属-电介质界面的生物化学信号. 近年来, 在 SPR 技术的基础上发展出了可视化的 SPR 成像技术^[23,25], 利用 CCD 相机收集反射光的强度分布, 将一维光谱信息转化为二维图像信息. 但在单颗粒成像时, SPR 图像存在“V”型衍射斑的问题, 图像质量不高. 通过去卷积算法^[23,26-27]或多方位角照射^[28-30]的方法可以提高成像分辨率. 此外, SPR 技术同样可以借助光谱仪等仪器实现定量检测, 金属-电介质界面的生物标志物会改变环境折射率, 从而改变共振波

长或共振角度. 通过检测共振波长或共振角度的偏移量, 即可给出定量的检测结果.

无论是病毒的抗体检测, 还是核酸检测, SPR 技术都拥有很高的灵敏度和特异性, 是检测 SARS-CoV-2 早期无症状感染者的一种潜在方式. 2016 年, 羊小海课题组^[31]先在金层上修饰抗 C 反应蛋白 (C-Reactive Protein, CRP) 适配体, 用以捕获样品中的 CRP, 而后加入修饰抗 CRP 的金纳米颗粒 (Au NP), 构建了适配体-CRP-Au NP 的三明治检测结构 (图 1(a)), 样品中的 CRP 会导致表面等离子共振角发生变化, 且改变值与 CRP 的浓度存在定量关系, 检测下限可达 10 pmol/L. Lee 等^[32]在压印的聚氨酯丙烯酸酯纳米栅上沉积金纳米层, 构筑金属-电

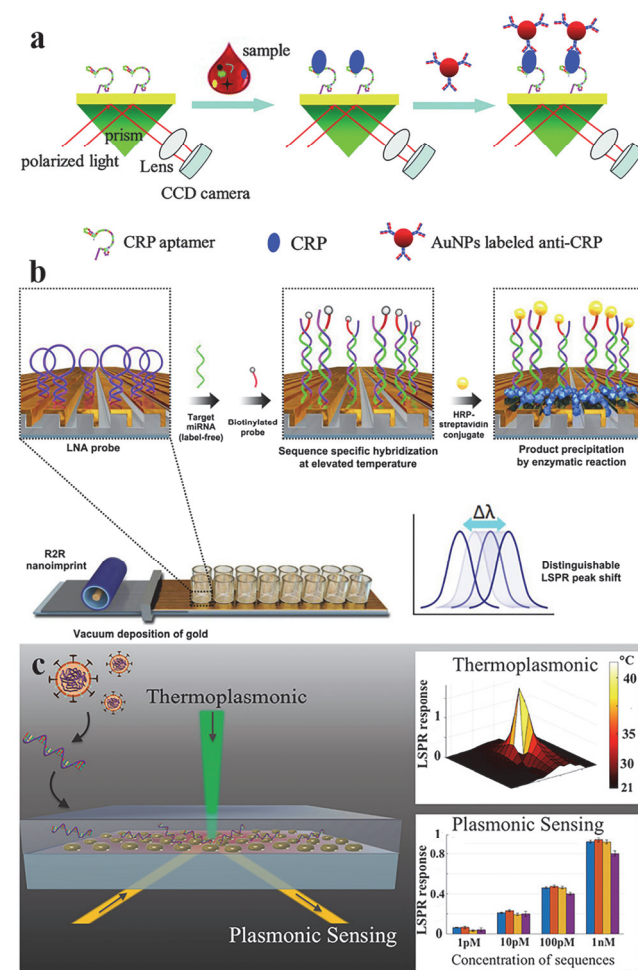


图 1 SPR 技术进行生物标志物检测: (a) SPR 技术检测 CRP^[31]; (b) SPR 技术检测目标 microRNA^[32]; (c) SPR 技术检测 SARS-CoV-2^[20]
Figure 1 Biomarkers detection by SPR technology: (a) detection of CRP by SPR technology^[31]; (b) detection of microRNA by SPR technology^[32]; (c) detection of SARS-CoV-2 by SPR technology^[20]
 Reproduced with permission^[31], Copyright 2016 Royal Society of Chemistry. Reproduced with permission^[32], Copyright 2018 Elsevier. Reproduced with permission^[20], Copyright 2020 American Chemical Society

介质界面,接着在金层上修饰核酸探针,与检测样品中的目标 microRNA 结合,引发后续反应,导致局域表面等离子共振峰移动,实现了 microRNA 的超灵敏检测(图 1(b)).

类似地,王京课题组^[20]在二维金纳米岛阵列上修饰用于检测 SARS-CoV-2 的互补单链 DNA 片段,并结合等离子热效应构建了新型等离子生物传感器(图 1(c)),将 SARS-CoV-2 核酸检测的灵敏度提高至 0.22 pmol/L,并提升了核酸检测的速率.此外,利用 SPR 成像技术,还可以对生物标志物在界面的动力学过程进行研究^[21,33].刘贤伟课题组^[21]利用 SPR 成像技术,分析了单个 SARS-CoV-2 假病毒的界面动力学过程,发现静电力是病毒与界面相互作用的主要因素,高的离子强度会增强界面对病毒的吸附和病毒在界面的扩散速度,负电荷表面可以抑制单个 SARS-CoV-2 颗粒的吸附.这些界面动力学研究成果对 SARS-CoV-2 的环境防控具有指导意义,可在一定程度上降低 SARS-CoV-2 物传人的风险.

然而,SPR 技术通常需要专业的仪器设备和检测人员,这限制了其广泛应用于 SARS-CoV-2 的即时检测.未来需要进一步研究便携化仪器设备,例如光纤集成的生物标志物检测设备等^[34-35];或是结合深度学习算法,对检测数据进行全自动的学习与处理,解决专业检测人员不足的问题,利用机器学习对外泌体^[36]、纳米颗粒^[37]等生物标志物进行粒径识别、数字计数、位置跟踪等研究也值得高度关注.

3 SERS 技术

表面增强拉曼散射(Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS)是拉曼散射技术中的重大突破,它解决了传统拉曼散射信号微弱的关键问题,促使拉曼技术能真正用于细菌^[38]、病毒^[39-42]、小分子^[43-44]等生物信号的特异性检测.自 1974 年, Fleischmann 等^[45]在金属电极上发现小分子强烈的振动谱后,灵敏度高、特异性强的 SERS 技术就快速发展起来.

SERS 技术通过指数级增强小分子特异但微弱的拉曼光谱强度,实现了小分子检测,其增强原理大致分为化学增强机制和电磁增强机制两种.化学增强机制是指通过检测分子和 SERS 活性基底的相互作用,发生电荷转移,从而增大检测分子的散射截面,导致拉曼信号有 $10 \sim 10^3$ 倍的增强;而电磁增强机制是指激发局域表面等离子共振产生局域电磁增强,对拉曼散射信号进行 $10^4 \sim 10^8$ 倍的增强.这些增强能放大原本微弱的拉曼“指纹”谱,使生物标志物的检测得以实现^[9].

要利用 SERS 技术实现高效的 SARS-CoV-2 实时检测,一个关键因素是活性基底的设计.首先, SERS 活性基底材料除了常见的贵金属金^[46-47]、银^[48],还发展出了石墨烯^[49-50]、金属氧化物^[51-53]等非贵金属材料,金基底

的生物相容性好、比较稳定,但拉曼增强能力不如银基底;银基底的拉曼增强效果最好,但易发生氧化而不稳定;石墨烯、金属氧化物等材料的拉曼增强效果一般,但与检测物的亲合能力强.因此,结合不同材料的特点,复合材料的 SERS 活性基底可进一步提升生物标志物检测器件的性能^[54-56].

经过研究人员的探索, SERS 技术已实现超灵敏、特异性检测包括 SARS-CoV-2 在内的生物标志物,给疾病的诊断和监控提供帮助. Kim 等^[57]在金纳米片上修饰了 CRP 的抗体,用以捕获检测样品中的 CRP,而后用修饰 CRP 抗体的 Au NP 以确认 CRP 结合在 SERS 活性基底上(图 2(a)),这样的三明治夹心结构实现了特异且灵敏的 CRP 检测,最低检测浓度可达 10^{-17} mol/L.类似地,杨勇课题组^[41]在金纳米针阵列上修饰了人体血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2),利用 ACE2 与 SARS-CoV-2 刺突糖蛋白(Spike protein, S)的结合能力,特异性捕获液态样品中的 SARS-CoV-2,而后用机器学习算法快速处理获取的 SERS 图谱,5 min 即可得到液态样品中 SARS-CoV-2 的检测结果(图 2(b)).Jadhav 等^[58]则结合微流控设备,提出了两种在生物流体中快速检测 SARS-CoV-2 的 SERS 便携模型(图 2(c)),用垂直排列的碳纳米管富集 SARS-CoV-2,用金/银纳米颗粒增强拉曼信号,用机器学习算法处理数据,快速给出检测结果,这一集成微流控和 SERS 的设备是大规模筛查无症状感染者潜在方式,也有望实现快速进入车站、机场的 SARS-CoV-2 检测.

SERS 技术真正用于 SARS-CoV-2 检测面临的重要问题是活性基底的大规模可重复制备. SERS 的增强效果与活性基底的结构密切相关,纳米阵列的间距稍有改变,拉曼信号增强效果就大幅度变化,这给 SARS-CoV-2 的定量检测带来不小的困难.随着微纳结构制造技术的提高和检测时加入统一的内标, SERS 技术将有望应用于 SARS-CoV-2 的早期精准检测.

4 WGM 光学微腔

耳语回廊模式(Whispering Gallery Mode, WGM)又称回音壁模式,具有回音壁模式的光学微腔凭借微小体积、超长光子寿命和灵敏生物传感特性,已被广泛应用于细菌^[59-60]、病毒^[61-62]、活细胞^[63-64]、蛋白质^[65]、离子^[66]、纳米颗粒^[67-68]等信号的检测, WGM 光学微腔的快速发展有望解决 SARS-CoV-2 等新型病毒的现场即时检测等问题.

北京天坛皇穹宇的围墙就是一种回音壁模式,声波沿着光滑的围墙进行传播,极小的传播损耗使声波近乎无损地传至远端.而当光波被限制在空腔边界上时,会发生类似的现象,光波在空腔边界发生连续的全反射,传播损耗小、光子寿命长、光波间产生的干涉还有共振

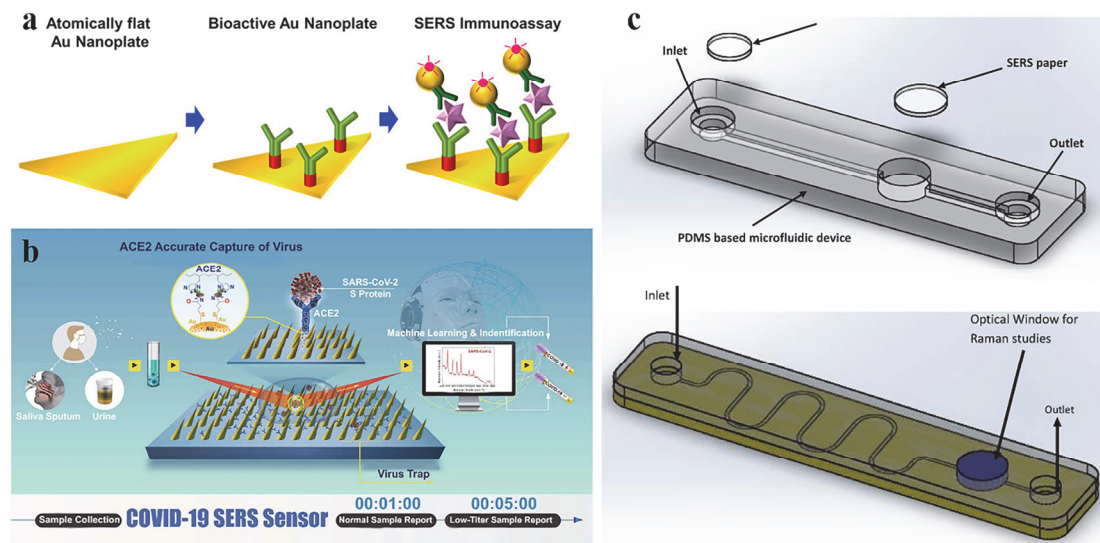


图2 SERS 技术检测生物标志物: (a) SERS 技术检测 CRP^[57]; (b) SERS 技术检测 SARS-CoV-2^[41]; (c) SERS 即时检测模型^[58]

Figure 2 Biomarkers detection by SERS technology: (a) detection of CRP by SERS technology^[57]; (b) detection of SARS-CoV-2 by SERS technology^[41]; (c) SERS real-time detection of SARS-CoV-2 model^[58]

Reproduced with permission^[57], Copyright 2019 American Chemical Society. Reproduced with permission^[41], Copyright 2021 Springer. Reproduced with permission^[58], Copyright 2021 Elsevier

增强的效果, 具有这一现象的微腔就被称为 WGM 光学微腔。具体地, 当入射光沿光学微腔传播一周后产生的光程差是其波长的整数倍时, 便会发生干涉增强, 这一波长也被称之为谐振波长。通过近场耦合技术, 可以将自由空间中的光耦合至球形、环形、圆盘等 WGM 光学微腔内, 用于生物标志物的检测。

WGM 光学微腔中的传播损耗小、光子寿命长, 增强了光波与物质的相互作用, 使其对周围的环境极其敏感。当 WGM 光学微腔周围的生物标志物大小或者其浓度发生变化时, 谐振波长便会发生移动、分裂或展宽^[14]。谐振波长的移动与生物标志物的尺寸、折射率、黏附位置密切相关, 例如检测的生物标志物折射率高, 会使 WGM 光学微腔周围的有效折射率增大, 谐振波长发生红移; 谐振波长的分裂是由于生物标志物的引入, 原本的顺时针模式和逆时针模式兼并解除, 并形成两个新的模式, 谐振波长分裂大小与线宽变化大小即可反映生物标志物的尺寸等信息; 谐振波长的展宽则是分裂的一个补充, 其不再要求分裂效应大于展宽效应, 有更强的抗噪声能力, 灵敏度也更高。

近年来, WGM 光学微腔检测病毒颗粒的应用研究展示了强大功能。杨兰团队^[61]设计了掺杂铒的二氧化硅圆环状 WGM 光学微腔(图 3(a)), 实现了单个病毒的检测。当单个病毒颗粒出现在 WGM 光学微腔表面时, 会引起谐振波长的分裂, 实验成功检测到空气中直径约 120 nm 的甲型流感病毒颗粒, 这对检测直径相近的 SARS-CoV-2 有指导作用。为进一步提升 WGM 光学微腔检测病毒颗粒的灵敏度, Baten 等^[62]设计了旋转对称的硅纳米柱阵列作为 WGM 光学微腔, 用以检测单个病

毒颗粒, 实验发现谐振波长的偏移与病毒颗粒的大小存在线性关系, 为更灵敏的 WGM 光学微腔设计提供了新的结构和思路。丁晖团队^[69]利用 WGM 光学微腔特异性检测了 SARS-CoV-2, 他们通过自组装二氧化硅纳米小

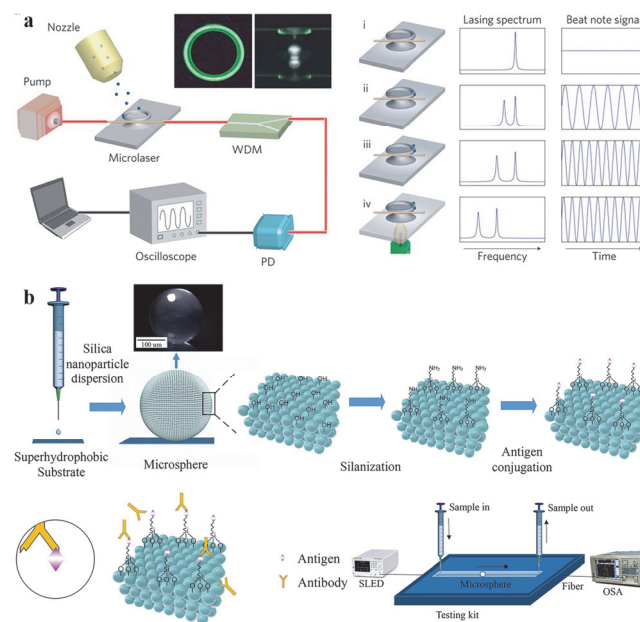


图3 WGM 光学微腔检测病毒颗粒: (a) WGM 光学微腔检测纳米颗粒^[61]; (b) WGM 光学微腔检测 SARS-CoV-2^[69]

Figure 3 Detection of virus particles by WGM optical microcavity: (a) detection of nanoparticles by WGM optical microcavity^[61]; (b) detection of SARS-CoV-2 by WGM optical microcavity^[69]

Reproduced with permission^[61], Copyright 2011 Nature Publishing Group. Reproduced with permission^[69], Copyright 2021 Wiley

球构建了光子晶体微球,而后在微球表面修饰 SARS-CoV-2 的 N 蛋白,当送检样品中有特异性抗体时,谐振波长会发生红移,抗体浓度在 $1\sim 100\ \mu\text{g/mL}$ 时,红移率与抗体浓度成正比,非特异性抗体则不会产生谐振波长的红移(图 3(b)).

WGM 光学微腔真正大规模运用于 SARS-CoV-2 等新型病毒的检测还面临一些问题.一是新结构的设计,除了传统的环形 WGM 光学微腔,设计出灵敏度更高、品质因子更高的 WGM 光学微腔是一直追求的目标.另一个是特异性检测,如何在不影响 WGM 光学微腔性能的前提下,引入特异性捕获分子,实现病毒的特异性探测.

5 比色法

比色法(Colorimetry)是指利用检测设备中可视化的颜色变化,反映相关生物化学信号的一种方法,可以借助荧光分子、纳米金颗粒等标记探针,直观地检测病毒^[70-71]、蛋白质^[72]等生物标志物.比色法的方式有很多,RT-PCR 作为目前 SARS-CoV-2 的核心检测方法,正是比色法的一种.

针对 RT-PCR 技术中扩增过程复杂、耗时的问题,近年来发展出逆转录环介导等温扩增技术(Reverse Transcription Loop-mediated isothermal Amplification,

RT-LAMP),该技术不需要温度循环,在 $60\sim 65\ ^\circ\text{C}$ 的范围内,即可完成扩增过程,更简便、更快速实现病毒检测. Miyamoto 等^[73]发展了一种 LAMP 技术检测双链 DNA 的体系(图 4(a)),无色结晶紫与双链 DNA 发生反应后,转变为结晶紫变为蓝紫色,在特定波长的吸光度与双链 DNA 的浓度存在定量关系,这一检测方式简单直观,并且整个检测过程可以在一个封闭试管内完成,降低了环境干扰,提升了检测准确度.类似地, Yoon 团队^[74]设计了一种纸质微流控芯片,用于简单快速地检测寨卡病毒(图 4(b)),检测样品由毛细管力驱动至扩增部分,而后加入 RT-LAMP 反应液,在 $68\ ^\circ\text{C}$ 的加热板上加热 $15\ \text{min}$ 后,即可通过智能手机拍照分析,得到样品中寨卡病毒的检测结果,这对 SARS-CoV-2 的快速即时检测提供了一种思路. Maeng 课题组^[75]利用 RT-LAMP 技术,实现了 SARS-CoV-2 的高特异性即时检测,解决了 RT-PCR 技术需低温运输、扩增复杂、检测耗时的问题,虽然整个体系的检出限还需提高,但已具备了大规模检测 SARS-CoV-2 的条件.

近年来,基于金纳米颗粒(Au NP)的比色法具有特异性强、灵敏度高、结果直观等特点,发展迅速.丁莉芸课题组^[76]利用 Au NP 的比色法实现了胃癌的早期诊断(图 4(c)),将胃癌生物标志物 microRNA-148a 的 RNA 探针修饰在 Au NP 表面,如若检测样品中存在

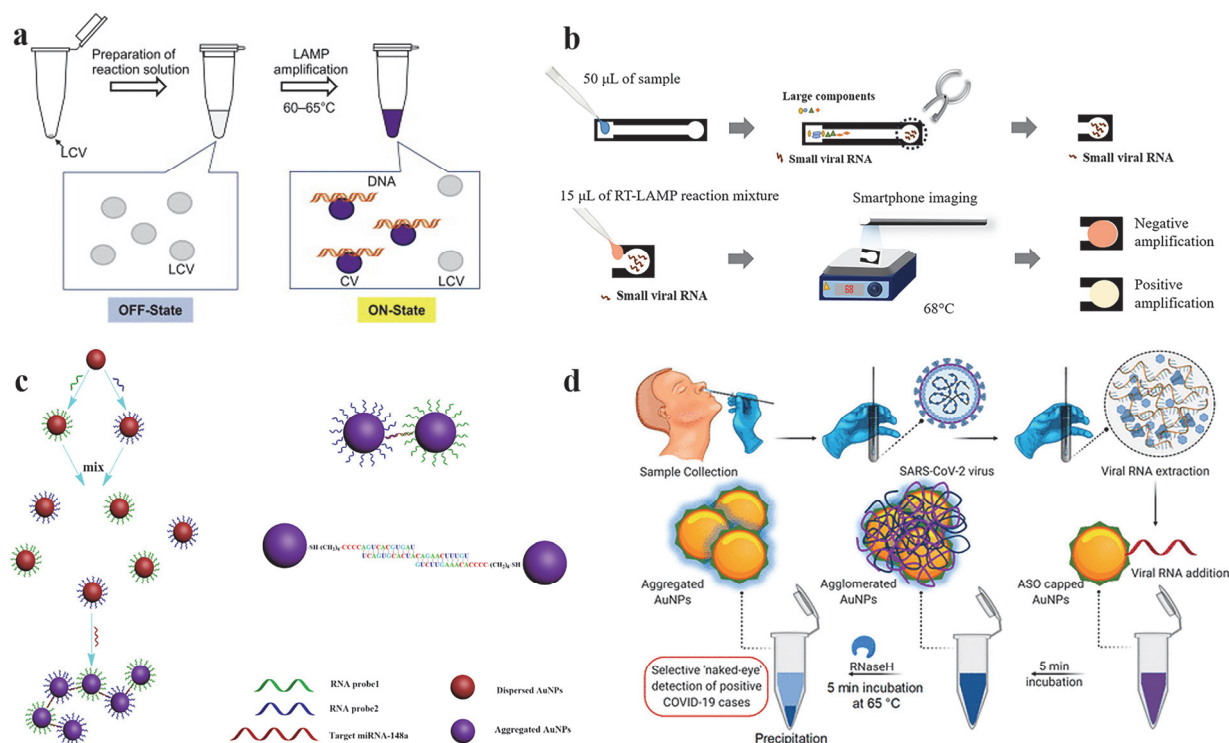


图 4 比色法检测生物标志物: (a)比色法测定双链 DNA^[73]; (b)比色法测定寨卡病毒^[74]; (c)比色法测定胃癌生物标志物 microRNA-148a^[76]; (d)比色法测定 SARS-CoV-2^[77]

Figure 4 Biomarkers detection by colorimetry: (a) detection of dsDNA by colorimetry^[73]; (b) detection of Zika virus by colorimetry^[74]; (c) detection of gastric cancer biomarker microRNA-148a by colorimetry^[76]; (d) detection of SARS-CoV-2 by colorimetry^[77]

microRNA-148a, 单个 Au NP 会被聚集成簇, 从而改变 Au NP 的表面等离子效应, 吸光光谱发生明显变化, 在特定波长的吸光度变化值与 microRNA-148a 的浓度有定量关系. 这种简单直观的检测方法同样适用于 SARS-CoV-2 的检测. Pan 团队^[77]通过巯基在 Au NP 表面修饰了 SARS-CoV-2 的反义寡核苷酸, 当检测样品中存在 SARS-CoV-2 的 RNA 时, 单个 Au NP 发生聚集成簇的过程, 使用核糖核酸酶剪除 RNA 链后, 溶液中产生肉眼可观测的沉淀, SARS-CoV-2 的核酸检出限达 0.18 ng/ μ L(图 4(d)). 这一方法无需复杂的检测分析设备, 检测结果肉眼可见, 适合 SARS-CoV-2 的即时筛查工作或是居家自行检测. Velotta 等^[78]在 Au NP 表面修饰了识别 SARS-CoV-2 三种膜蛋白的抗体, 当检测样品中存在 SARS-CoV-2 病毒颗粒时, 修饰抗体的 Au NP 便会结合在病毒颗粒表面, 使混合溶液的消光光谱几分钟内发生红移, 实验将波长为 560 nm 处的光学密度变化与实时 PCR 技术的循环阈值进行比较, 发现此体系可以检测到循环阈值为 36.5 的病毒载量, 这说明结合 Au NP 的比色法灵敏度很高, 适用于 SARS-CoV-2 的早期筛查工作.

通过纳米绿色印刷的方式制备生物检测芯片, 同样

可以实现生物标志物的灵敏检测^[79-82]. 宋延林团队^[83]最近设计了一种基于纳米绿色印刷技术的介电纳米链芯片, 可用于无标记的光学可视化检测 SARS-CoV-2 病毒颗粒. 如图 5 所示, 研究人员先利用微模板印刷制备了一维纳米链阵列(图 5(a)). 这些纳米链的表面具有大量的羧基可以偶联特异性的抗体, 进而能够快速地捕获血清或痰液里的 SARS-CoV-2 病毒颗粒. 当病毒颗粒吸附在纳米链上时会改变纳米链散射光的颜色. 利用智能手机能够在 15 min 内完成 SARS-CoV-2 病毒颗粒的定量检测(图 5(b)). 实验结果表明, 病毒的吸附会提高纳米链短波长处共振峰的强度和改变长波长处共振峰的位置(图 5(c)). 研究人员制备了不同尺寸的纳米链, 利用二氧化硅纳米颗粒进一步优化了纳米链在可见光区域的光学响应, 将手机可视化检测的检出限降低到约 1 PFU $\cdot\mu$ L⁻¹. 此外, 基于共振诱导的近场增强, 这些打印的纳米链还可以用来实时地监测病毒颗粒的浓度. 在病毒颗粒浓度从 0 到 1.0 $\times 10^5$ PFU $\cdot$ mL⁻¹ 范围内表现出不同的颜色响应(图 5(d)). 这一方法摆脱了复杂的试剂与设备, 特异性强、灵敏度高、成本低, 有望成为快速检测病毒携带者和大范围筛查无症状感染者检测方法.

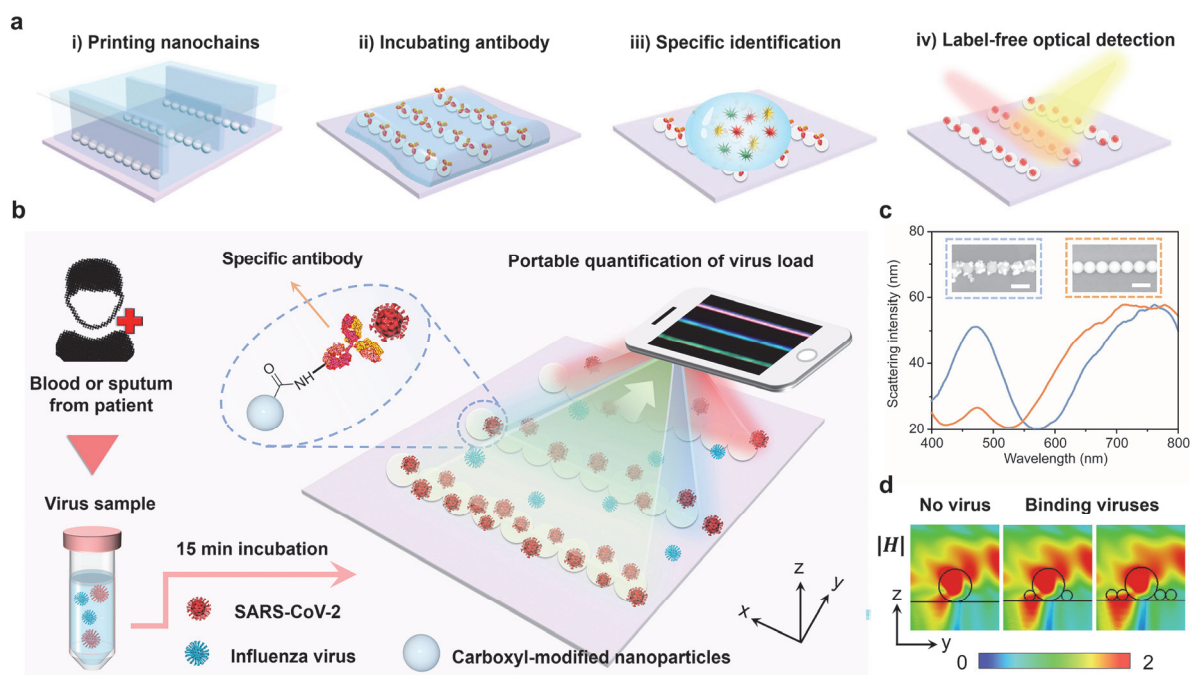


图 5 利用印刷的纳米链直接比色检测生物液体中病毒颗粒^[83]: (a) 病毒检测流程图. i) 羧基修饰的纳米粒子通过模板印刷技术自组装成纳米链阵列. ii, iii) 通过羧基和氨基的偶联, 将特异性的抗体固定在纳米链上, 快速识别目标病毒. iv) 在白光(黄色)斜照射下, 吸附的病毒颗粒会改变纳米链散射光的颜色(红色); (b) 病毒颗粒的定量监测: 利用手机可以直接观察到纳米链的颜色变化; (c) 纳米链与 SARS-CoV-2 假病毒颗粒结合前(橙色曲线)和结合后(蓝色曲线)的散射光谱; (d) 纳米链结合不同数量的病毒后的磁场分布

Figure 5 Colorimetric detection of viruses directly from biological fluids using a printed nanochain assay^[83]: (a) Flowchart of virus detection. i) The carboxyl-modified nanoparticles are self-assembled into nanochain arrays through the template-assisted printing technique. ii, iii) Specific antibodies are immobilized on nanochains on basis of the coupling of the carboxylic and amino groups for rapid identification of target viruses. iv) Under oblique illumination of white light (indicated by the yellow beam), the color of scattered light (indicated by the red beam) changes with the viruses binding to nanochains; (b) Quantitative monitoring of virus particles: the color change of nano chains can be directly observed by mobile phone; (c) Measured scattering spectra of nanochains before (orange curve) and after (blue curve) binding pseudotyped SARS-CoV-2 viral particles; (d) Side view of magnetic field distribution of nanochains in response to binding different number of viruses
Reproduced with permission^[83], Copyright 2021 Wiley

比色法检测技术方法简单, 无需昂贵的仪器设备, 检测结果直观, 省去了复杂的数据处理. 但比色法不如前三种检测方式灵敏, 多数研究还停留在半定量检测阶段, 如何实现灵敏的比色法定量检测是一个亟待解决的问题.

6 小结

利用纳米光子结构进行生物标志物检测的技术灵敏度高、检测速度快、特异性强, 各种检测方式凭借各自优势(图6), 为 SARS-CoV-2 等新型病毒的大范围快速即时检测提供了新的可能(表1). 目前, SPR 技术、SERS 技术、WGM 技术与比色法都展现出高效检测 SARS-CoV-2 的潜力, 但是, 大多数技术都依赖于纳米光子结构的有效构筑, 受到以光刻为代表微纳制造技术的严重制约, 限制了纳米光子检测技术的实际应用. 纳米绿色印刷微纳制造技术通过结合大面积印刷制造的普适性和高精度自组装技术的简便性, 为印刷纳米光子检测芯片提供了有效的技术平台, 基于印刷光子结构可实现单颗粒病毒的高效特异性识别检测. 今后, 随着纳米光子学结构和理论的进一步探索, 纳米制备技术的不断完善, 纳米光子生物检测技术将会发展为便携、低价、高效的生物标志物即时检测新方法.

表1 基于纳米光子学的 SARS-CoV-2 检测技术

Table 1 Detection technologies of SARS-CoV-2 based on nano photonics

检测方式	检测原理	检出限	检测时间
SPR	利用等离子光热效应放大 SARS-CoV-2 引起的局域等离子共振峰移动信号 ^[20] .	0.22 pmol/L	15 min
SERS	金纳米针阵列特异性捕获 SARS-CoV-2 颗粒并大大增强其拉曼信号 ^[41] .	10^{-17} mol/L ^[41]	5 min ^[41]
	金纳米孔表面特异性捕获 SARS-CoV-2 颗粒后, SERS 峰的强度发生改变 ^[42] .	10 PFU/mL ^[42]	15 min ^[42]
WGM	监测 SARS-CoV-2 引起的 WGM 光学微腔谐振波长偏移 ^[69] .	1 μ g/mL	25 min
比色法	利用 Au NP 的聚集或近场增强等, 使体系颜色发生肉眼可见的改变 ^[77-78] .	0.18 ng/mL ^[77]	10 min ^[77]
	一维纳米链特异性捕获 SARS-CoV-2 颗粒后, 共振峰位置与强度发生改变, 显示不同颜色 ^[83] .	$C_t=36.5$ ^[78] C_t (PCR 循环阈值) 1 PFU/mL ^[83]	3 min ^[78] 15 min ^[83]

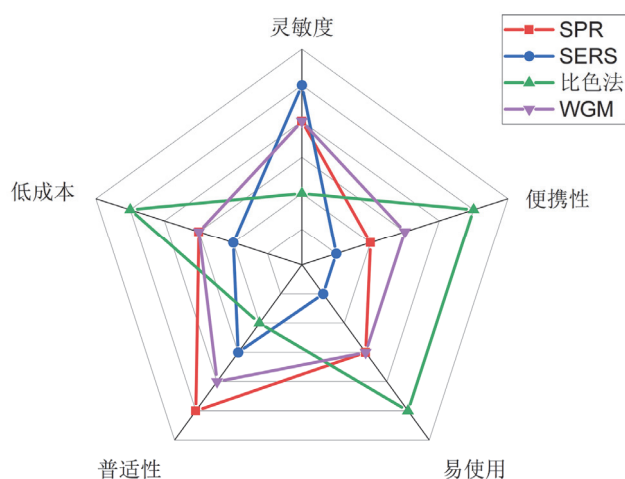


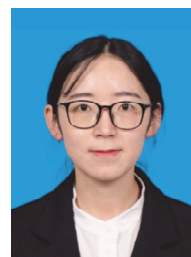
图6 雷达图比较了 SPR、SERS、WGM 和比色法作为光学检测技术在灵敏度、诊断可行性、操作简单性、设备成本和普适性方面的优缺点

Figure 6 The radar chart compares the advantages and disadvantages of SPR, SERS, WGM and colorimetry as optical detection technology in sensitivity, diagnostic feasibility, simplicity of operation, equipment cost and universality

作者简介



杨旭, 博士研究生. 2020 年 7 月于中国科学院大学获理学学士学位. 现为中科院化学研究所宋延林研究员课题组直博生, 研究方向为微纳结构的绿色印刷与生物标志物的灵敏检测.



张泽英, 2016 年于兰州大学获得学士学位, 2021 年于中科院化学所获得博士学位. 目前在中科院化学所宋延林研究员课题组开展博士后研究, 主要从事于微纳结构的精细组装及其光学性质探究和生物检测.



苏萌, 博士, 中国科学院化学研究所副研究员, 北京市科技新星, 中国科学院青年创新促进会会员。2017 年在中国科学院化学研究所获得博士学位, 同年入选“博士后创新人才支持计划”, 现任中国科学院化学研究所副研究员。提出了墨滴调控自成形的印刷微纳图案化方法, 实现了纳米级图案和器件的印刷制造。已发表学术论文 70 余篇, 申请/授权发明专利 15 项, 参与起草制定国际标准 1 项。



宋延林, 中国科学院化学研究所研究员、绿色印刷重点实验室主任、博士生导师, 中国科学院大学长江学者特聘教授, 杰青。主要从事光电功能材料、纳米材料与绿色印刷技术研究。已发表 SCI 收录论文 400 余篇, 被他人引用 20,000 余次, 并多次被 Nature, Science 等作为研究亮点报道。主持和参加编写英文专著 10 部, 中文专著 2 部; 获授权中国发明专利 100 余项, 美国、日本、欧盟、韩国等授权发明专利 26 项。

References

- [1] Johns Hopkins University & Medicine, COVID-19 Dashboard [DB/OL]. [2021-10-10]. <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
- [2] Carter, L. J.; Garner, L. V.; Smoot, J. W.; Li, Y.; Zhou, Q.; Saveson, C. J.; Sasso, J. M.; Gregg, A. C.; Soares, D. J.; Beskid, T. R.; Jerve, S. R.; Liu, C. *ACS Cent. Sci.* **2020**, *6*, 591
- [3] Daaboul, G. G.; Lopez, C. A.; Yurt, A.; Goldberg, B. B.; Connor, J. H.; Ünlü, M. S. *IEEE J. Ssl. Top. Quant.* **2011**, *18*, 1422.
- [4] Tym, C.; Zhou, J.; Tadmety, A.; Burklund, A.; Zhang, J. X. *J. Cell. Mol. Bioeng.* **2020**, *13*, 313.
- [5] Taha, B. A.; Al Mashhadany, Y.; Bachok, N. N.; Bakar, A. A.; Hafiz Mokhtar, M. H.; Dzulkefly Bin Zan, M. S.; Arsad, N. *Diagnostics* **2021**, *11*, 1119.
- [6] Tokel, O.; Inci, F.; Demirci, U. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 5728.
- [7] Nguyen, H. H.; Park, J.; Kang, S.; Kim, M. *Sensors* **2015**, *15*, 10481.
- [8] Su, Y.-Y.; Peng, T.-H.; Xing, F.-F.; Li, D.; Fan, C.-H. *Acta Chim. Sinica* **2017**, *75*, 1036 (in Chinese). (苏莹莹, 彭天欢, 邢菲菲, 李迪, 樊春海, 化学学报, **2017**, *75*, 1036.)
- [9] Zong, C.; Xu, M.; Xu, L.-J.; Wei, T.; Ma, X.; Zheng, X.-S.; Hu, R.; Ren, B. *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 4946.
- [10] Zheng, X.-S.; Jahn, I. J.; Weber, K.; Cialla-May, D.; Popp, J. *Spectrochim. Acta A* **2018**, *197*, 56.
- [11] Perumal, J.; Wang, Y.; Attia, A. B. E.; Dinis, U. S.; Olivo, M. *Nanoscale* **2021**, *13*, 553.
- [12] He, H.; Zhou, L.-L.; Liu, Z. *Acta Chim. Sinica* **2021**, *79*, 45 (in Chinese). (贺晖, 周玲俐, 刘震, 化学学报, **2021**, *79*, 45.)
- [13] Righini, G. C.; Soria, S. *Sensors* **2016**, *16*, 905.
- [14] Jiang, X.; Qavi, A. J.; Huang, S. H.; Yang, L. *Matter* **2020**, *3*, 371.
- [15] Toropov, N.; Cabello, G.; Serrano, M. P.; Gutha, R. R.; Rafti, M.; Vollmer, F. *Light Sci. Appl.* **2021**, *10*, 1.
- [16] Mariani, S.; Minunni, M. *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, *406*, 2303.
- [17] Syal, K.; Iriya, R.; Yang, Y.; Yu, H.; Wang, S.; Haydel, S. E.; Chen, H.-Y.; Tao, N. *ACS Nano* **2016**, *10*, 845.
- [18] Syal, K.; Wang, W.; Shan, X.; Wang, S.; Chen, H.-Y.; Tao, N. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *63*, 131.
- [19] Wang, S.; Shan, X.; Patel, U.; Huang, X.; Lu, J.; Li, J.; Tao, N. *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *107*, 16028.
- [20] Qiu, G.; Gai, Z.; Tao, Y.; Schmitt, J.; Kullak-Ublick, G. A.; Wang, J. *ACS Nano* **2020**, *14*, 5268.
- [21] Liu, Y.-N.; Lv, Z.-T.; Yang, S.-Y.; Liu, X.-W. *Environ. Sci. Technol.* **2021**, *55*, 4115.
- [22] Masterson, A. N.; Muhoberac, B. B.; Gopinadhan, A.; Wilde, D. J.; Deiss, F. T.; John, C. C.; Sardar, R. *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 8754.
- [23] Yu, H.; Shan, X.; Wang, S.; Chen, H.; Tao, N. *ACS Nano* **2014**, *8*, 3427.
- [24] Li, X.; Wang, Y.; Wang, L.; Wei, Q. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 5049.
- [25] Zhou, X. L.; Yang, Y.; Wang, S.; Liu, X. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 1776.
- [26] Yang, Y.; Shen, G.; Wang, H.; Li, H.; Zhang, T.; Tao, N.; Ding, X.; Yu, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2018**, *115*, 10275.
- [27] Liu, C.; Chan, C.; Ong, H. *Opt. Commun.* **2016**, *378*, 28.
- [28] Son, T.; Lee, C.; Seo, J.; Choi, I.-H.; Kim, D. *Opt. Lett.* **2018**, *43*, 959.
- [29] Son, T.; Lee, C.; Moon, G.; Lee, D.; Cheong, E.; Kim, D. *Biosens. Bioelectron.* **2019**, *146*, 111738.
- [30] Kuai, Y.; Chen, J.; Tang, X.; Xiang, Y.; Lu, F.; Kuang, C.; Xu, L.; Shen, W.; Cheng, J.; Gui, H. *Sci. Adv.* **2019**, *5*, eaav5335.
- [31] Wu, B.; Jiang, R.; Wang, Q.; Huang, J.; Yang, X.; Wang, K.; Li, W.; Chen, N.; Li, Q. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 3568.
- [32] Na, H.-K.; Wi, J.-S.; Son, H. Y.; Ok, J. G.; Huh, Y.-M.; Lee, T. G. *Biosens. Bioelectron.* **2018**, *113*, 39.
- [33] Zhang, P.; Ma, G.; Wan, Z.; Wang, S. *ACS Sensors* **2021**, *6*, 1357.
- [34] Nag, P.; Sadani, K.; Mukherji, S. *Trans. Indian Natl. Acad. Eng.* **2020**, *5*, 233.
- [35] Murugan, D.; Bhatia, H.; Sai, V. V. R.; Satija, J. *Trans. Indian Natl. Acad. Eng.* **2020**, *5*, 211.
- [36] Yang, Y.; Zhai, C.; Zeng, Q.; Khan, A. L.; Yu, H. *Anal. Chem.* **2020**, *92*, 4884.
- [37] Wang, X.; Zeng, Q.; Xie, F.; Wang, J.; Yang, Y.; Xu, Y.; Li, J.; Yu, H. *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 7399.
- [38] Sinha, S. S.; Jones, S.; Pramanik, A.; Ray, P. C. *Acc. Chem. Res.* **2016**, *49*, 2725.
- [39] Sivashanmugan, K.; Liao, J.-D.; You, J.-W.; Wu, C.-L. *Sens. Actuators B Chem.* **2013**, *181*, 361.
- [40] Peng, Y.; Lin, C.; Long, L.; Masaki, T.; Tang, M.; Yang, L.; Liu, J.; Huang, Z.; Li, Z.; Luo, X.; Lombardi, J. R.; Yang, Y. *Nanomicro Lett.* **2021**, *13*, 52.
- [41] Yang, Y.; Peng, Y.; Lin, C.; Long, L.; Hu, J.; He, J.; Zeng, H.; Huang, Z.; Li, Z.-Y.; Tanemura, M. *Nanomicro Lett.* **2021**, *13*, 1.
- [42] Chen, H.; Park, S.-G.; Choi, N.; Kwon, H.-J.; Kang, T.; Lee, M.-K.; Choo, J. *ACS Sensors* **2021**, *6*, 2378.
- [43] Liu, B.; Wang, K.; Gao, B.; Lu, J.; Li, H.; Zhao, X. *ACS Appl. Nano Mater.* **2019**, *2*, 3177.
- [44] Gao, Z.-G.; Zheng, T.-T.; Deng, J.; Li, X.-R.; Qu, Y.-Y.; Lu, Y.; Liu, T.-J.; Luo, Y.; Zhao, W.-J.; Lin, B.-C. *Acta Chim. Sinica* **2017**, *75*, 355 (in Chinese). (高志刚, 郑婷婷, 邓九, 李晓瑞, 曲玥阳, 陆瑶, 刘婷娇, 罗勇, 赵伟杰, 林炳承, 化学学报, **2017**, *75*, 355.)
- [45] Fleischmann, M.; Hendra, P. J.; McQuillan, A. J. *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *26*, 163.
- [46] Li, J.; Wuethrich, A.; Sina, A. A. I.; Cheng, H.-H.; Wang, Y.; Behren, A.; Mainwaring, P. N.; Trau, M. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 1087.
- [47] Kim, S.; Kim, T. G.; Lee, S. H.; Kim, W.; Bang, A.; Moon, S. W.; Song, J.; Shin, J.-H.; Yu, J. S.; Choi, S. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2020**, *12*, 7897.
- [48] Zhao, F.; Wang, W.; Zhong, H.; Yang, F.; Fu, W.; Ling, Y.; Zhang, Z. *Talanta* **2021**, *221*, 121465.
- [49] Huang, S.; Ling, X.; Liang, L.; Song, Y.; Fang, W.; Zhang, J.; Kong, J.; Meunier, V.; Dresselhaus, M. S. *Nano Lett.* **2015**, *15*, 2892.
- [50] Silver, A.; Kitada, H.; Liu, H.; Granzier-Nakajima, T.; Terrones, M.; Ling, X.; Huang, S. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 516.
- [51] Liu, W.; Bai, H.; Li, X.; Li, W.; Zhai, J.; Li, J.; Xi, G. *J. Phys. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 4096.
- [52] Cong, S.; Wang, Z.; Gong, W.; Chen, Z.; Lu, W.; Lombardi, J. R.;

- Zhao, Z. *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 678.
- [53] Ni, Y.-X.; Zhang, C.-J.; Yuan, Y.-X.; Xu, M.-M.; Yao, J.-L. *Acta Chim. Sinica* **2019**, *77*, 641 (in Chinese). (倪宇欣, 张晨杰, 袁亚仙, 徐敏敏, 姚建林, 化学学报, **2019**, *77*, 641.)
- [54] Huang, S.; Wu, C.; Wang, Y.; Yang, X.; Yuan, R.; Chai, Y. *Sens. Actuators B Chem.* **2021**, *339*, 129843.
- [55] Wang, M.; Yan, X.; Wei, D.-Q.; Liang, L.-J.; Wang, Y.-P. *Acta Chim. Sinica* **2019**, *77*, 184 (in Chinese). (王猛, 闫昕, 韦德泉, 梁兰菊, 王岳平, 化学学报, **2019**, *77*, 184.)
- [56] Ma, C.; Wu, J.-W.; Zhu, L.; Han, X.-X.; Ruan, W.-D.; Song, W.; Wang, X.; Zhao, B. *Acta Chim. Sinica* **2019**, *77*, 1024 (in Chinese). (马超, 武佳伟, 朱琳, 韩晓霞, 阮伟东, 宋薇, 王旭, 赵冰, 化学学报, **2019**, *77*, 1024.)
- [57] Hwang, A.; Kim, E.; Moon, J.; Lee, H.; Lee, M.; Jeong, J.; Lim, E.-K.; Jung, J.; Kang, T.; Kim, B. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 18960.
- [58] Jadhav, S. A.; Biji, P.; Panthalingal, M. K.; Krishna, C. M.; Rajkumar, S.; Joshi, D. S.; Sundaram, N. *Med. Hypotheses* **2021**, *146*, 110356.
- [59] Ghali, H.; Chibli, H.; Nadeau, J. L.; Bianucci, P.; Peter, Y.-A. *Biosensors* **2016**, *6*, 20.
- [60] Anderson, M. E.; O'Brien, E. C.; Grayek, E. N.; Hermansen, J. K.; Hunt, H. K. *Biosensors* **2015**, *5*, 562.
- [61] He, L.; Özdemir, Ş. K.; Zhu, J.; Kim, W.; Yang, L. *Nat. Nanotechnol.* **2011**, *6*, 428.
- [62] Hassan, M. M.; Baten, M. Z. *Opt. Express* **2021**, *29*, 25745.
- [63] Schubert, M.; Steude, A.; Liehm, P.; Kronenberg, N. M.; Karl, M.; Campbell, E. C.; Powis, S. J.; Gather, M. C. *Nano Lett.* **2015**, *15*, 5647.
- [64] Toropov, N.; Vollmer, F. *Light Sci. Appl.* **2021**, *10*, 77.
- [65] Santiago-Cordoba, M. A.; Boriskina, S. V.; Vollmer, F.; Demirel, M. C. *Appl. Phys. Lett.* **2011**, *99*, 073701.
- [66] Baaske, M. D.; Vollmer, F. *Nat. Photonics* **2016**, *10*, 733.
- [67] He, L.; Özdemir, Ş. K.; Zhu, J.; Yang, L. *Phys. Rev. A* **2010**, *82*, 053810.
- [68] Wang, T.; Yang, X.; Liu, X.-F.; Lei, F.-C.; Gao, M.; Hu, Y.-Q.; Long, G.-L. *Acta Phys. Sinica* **2015**, *64*, 97 (in Chinese). (王涛, 杨旭, 刘晓斐, 雷府川, 高铭, 胡蕴琪, 龙桂鲁, 物理学报, **2015**, *64*, 97.)
- [69] Yue, Y.; Ding, H.; Chen, C. J. *Biophotonics* **2021**, *14*, e202000338.
- [70] Jiang, Y.; Hu, M.; Liu, A.-A.; Lin, Y.; Liu, L.; Yu, B.; Zhou, X.; Pang, D.-W. *ACS Sensors* **2021**, *6*, 1086.
- [71] Ji, C.; Xue, S.; Yu, M.; Liu, J.; Zhang, Q.; Zuo, F.; Zheng, Q.; Zhao, L.; Zhang, H.; Cao, J.; Wang, K.; Liu, W.; Zheng, W. *ACS Omega* **2015**, *4*, 7837.
- [72] Gee, C. T.; Kehoe, E.; Pomerantz, W. C. K.; Penn, R. L. *J. Chem. Educ.* **2017**, *94*, 941.
- [73] Miyamoto, S.; Sano, S.; Takahashi, K.; Jikihara, T. *Anal. Biochem.* **2015**, *473*, 28.
- [74] Kaarj, K.; Akarapipad, P.; Yoon, J.-Y. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 12438.
- [75] Park, G.-S.; Ku, K.; Baek, S.-H.; Kim, S.-J.; Kim, S. I.; Kim, B.-T.; Maeng, J.-S. *J. Mol. Diagn.* **2020**, *22*, 729.
- [76] Cai, J.; Ding, L.; Gong, P.; Huang, J. *Nanotechnology* **2019**, *31*, 095501.
- [77] Moitra, P.; Alafeef, M.; Dighe, K.; Frieman, M. B.; Pan, D. *ACS Nano* **2020**, *14*, 7617.
- [78] Ventura, B. D.; Cennamo, M.; Minopoli, A.; Campanile, R.; Censi, S. B.; Terracciano, D.; Portella, G.; Velotta, R. *ACS Sensors* **2020**, *5*, 3043.
- [79] Huang, Y.; Li, F.-Y.; Qin, M.; Jiang, L.; Song, Y.-L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7296.
- [80] Hou, J.; Zhang, H.-C.; Yang, Q.; Li, M.-Z.; Song, Y.-L.; Jiang, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 5791.
- [81] Qin, M.; Huang, Y.; Li, Y.-N.; Su, M.; Chen, B.-D.; Sun, H.; Yong, P.-Y.; Ye, C.-Q.; Li, F.-Y.; Song, Y.-L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 6911.
- [82] Su, M.; Song, Y.-L. *Chem. Rev.* **2021**, DOI: 10.1021/acs.chemrev.1c00303.
- [83] Zhang, Z.-Y.; Wang, H.-D.; Su, M.; Sun, Y.-L.; Tan, S.-J.; Ponkrato-va, E.; Zhao, M.; Wu, D.-D.; Wang, K.-Y.; Pan, Q.; Chen, B.-D.; Zuev, D.; Song, Y.-L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *133*, 24436.

(Cheng, B.)