

论 著

快速定性检测人呼吸道样本中冠状病毒基因芯片的 制备方法及其效果评价*

郑皓宇¹ 郑文学¹ 谷奕诺¹ 安一鸣¹ 张嘉琪¹ 张雨涵¹ 张姗姗¹ 孟晓婷^{2**} 王放^{1**}

¹吉林大学基础医学院病原生物学教研室, 长春 130021; ²吉林大学基础医学院组织学与胚胎学教研室, 长春 130021

[摘要] **目的** 探讨冠状病毒基因芯片的研制方法, 建立一种快速定性检测人咽拭子、痰液、肺泡灌洗液等呼吸道感染样本中的 7 种冠状病毒和 2 种流感病毒核酸的方法。**方法** 根据互联网公布的 10 种呼吸道感染病毒的基因序列, 设计了相应的引物和探针序列, 经琼脂糖凝胶电泳筛选验证后, 将探针点样于醛基修饰基片, 完成了检测芯片制作。**结果** 将聚合酶链式反应扩增产物用 10 倍梯度稀释法稀释后进行基因芯片检测, 结果表明可形成杂交斑点的最低检测浓度为 10^3 copies/mL。**结论** 研制的冠状病毒基因芯片具有良好的特异度和灵敏度, 可同时对 SARS-CoV-2 及其他呼吸道病毒同时进行高通量快速检测。

[关键词] 冠状病毒; 流感病毒; 基因芯片

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2024.02.002

Preparation Method of Gene Chip for Rapid Qualitative Detection of Coronavirus in Human Respiratory Samples and Its Effect Evaluation

Zheng Haoyu¹, Zheng Wenxue¹, Gu Yinuo¹, An Yiming¹, Zhang Jiaqi¹, Zhang Yuhan¹, Zhang Shanshan¹,
Meng Xiaoting^{2**}, Wang Fang^{1**}

¹Department of Pathogen Biology, School of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021; ²Department of Histology & Embryology, School of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021

** Corresponding author; Meng Xiaoting, email: mengxt@jlu.edu.cn; Wang Fang, email: wf@jlu.edu.cn

[Abstract] **Objective** To explore the development method of coronavirus gene chip, and to establish a method for rapid qualitative detection of nucleic acids of 7 coronaviruses and 2 influenza viruses in respiratory infection samples such as human throat swabs, sputum, and alveolar lavage fluid. **Methods** According to the gene sequences of 10 kinds of respiratory infection viruses published on the Internet, the corresponding primers and probe sequences were designed. After screening and verification by agarose gel electrophoresis, the probes were spotted on the aldehyde base modified substrate, completed the detection chip fabrication. **Results** The PCR amplification product was diluted by 10-fold serial dilution method and then detected by gene chip. The results showed that the lowest detection concentration that could form hybridization spots was 10^3 copies/mL. **Conclusion** The developed coronavirus gene chip has good specificity and sensitivity, and can be used for simultaneous high-throughput and rapid detection of SARS-CoV-2 and other respiratory viruses.

[Key words] Coronavirus; Influenza virus; Gene chip

人冠状病毒 (Human corona viruses, HCoV) 感染是引起人类呼吸道疾病的重要病原之一, 在常

* 吉林省教育厅科学技术研究项目资助课题 (JKH20211158KJ); 吉林省科技发展项目自主课题 (20200601011JC); 吉林省发展和改革委员会自主创新项目资助课题 (2022C036)

** 通讯作者: 孟晓婷, 电子邮箱 mengxt@jlu.edu.cn; 王放, 电子邮箱 wf@jlu.edu.cn

见呼吸道病原体中冠状病毒检出率约为 3% ~ 10%，是引发咳嗽、发热、喉炎、支气管炎以及肺炎等临床症状的重要病原^[1-2]。目前冠状病毒感染检测主要通过荧光 PCR 技术，基因芯片技术一次性可检测多种病毒，尤其当需要对临床症状相近病原体进行鉴别或对同种属病原体分型时，基因芯片技术方法可迅速确定病原体，从而避免检测过程中耗时较长、检测效率较低、检测成本较高、检测时效性不强、灵敏度低，特异度差等缺陷，能真正达到临床需要，提高临床疗效^[3]。节省了分析数据的时间，在更短的时间内得到多种病毒核酸检测的数据信息。在冠状病毒的鉴别诊断和监控方面，尤其是针对新冠疫情病原体快速排查，该技术将发挥巨大优势^[4]。目前基因芯片技术在冠状病毒检测方面的应用甚少，本研究拟通过探讨冠状病毒基因芯片的设计、研制及初步临床试验为新的冠状病毒检测方法奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 冠状病毒基因位点的确定

根据互联网公布的 10 种呼吸道感染病毒的基

因序列，本研究确定了 7 种冠状病毒：2019 - nCov, SARS, MERS, HCoV - 229E, HCoV - NL63, HCoV - OC43, HCoV - HKU1；3 种常见的流感病毒：IFVA - H1N1, IFVA - H3N2 和 IFVB 的特异性基因位点。

1.2 试剂和仪器

生产本试剂盒所需的主要原材料分别为：酶、脱氧核糖核苷三磷酸（Deoxy - ribonucleoside triphosphate, dNTP）（Takara 公司）、引物（生工生物工程上海股份有限公司）、探针（生工生物工程上海股份有限公司）、芯片（醛基修饰基片）（昆明寰基生物芯片产业有限公司）。

1.3 芯片探针和引物的合成

针对每种病毒的候选保守基因设计了相应的检测探针和检测引物，合成了 DNA 探针和引物。并根据探针、引物组合进行了优化，确定了引物序列。引物和探针序列见表 1、表 2。引物和探针的筛选见图 1。

表 1 冠状病毒基因芯片的探针序列

Tab. 1 Probe sequences of coronavirus gene chips

探针名称	野生型(5'-3')	突变型(5'-3')
2019 - nCov - ORF1a/b	TTTTTTTTTTCGGTCTGCGGTATGTGGAAAGCTTAT GG	TTTTTTTTTTCGGTCTGCGGTATGTGGAAAGCTTAT GG
2019 - nCov - N	TTTTTTTTTTCGCTGCTGCTTGACAGATT	TTTTTTTTTTCCTTGCTTTGCTGCTGCTTGACAGATT
2019 - nCov - E	TTTTTTTTTTACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG	TTTTTTTTTTACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG
SARS - ORF1a	TTTTTTTTTTAGGTGCTTGAAACATTGGACAACAGA GAT	TTTTTTTTTTAGGTGCTTGAAACATTGGACAACAGA GAT
SARS - ORF9b	TTTTTTTTTTCAAAATGAAAGAGCTCAGCCCCAGAT G	TTTTTTTTTTCAAAATGAAAGAGCTCAGCCCCAGAT G
HCoV - 229E - N	TTTTTTTTTTCCTGGCACAGGACCCATAAAGATG	TTTTTTTTTTCCTGGCACAGGACCCATAAAGATG
HCoV - 229E - N2	TTTTTTTTTTACTGACTCCCGTGCTCCTTCC	TTTTTTTTTTCCTGATGAACCTGACTCCCGTGCTCCTT
HCoV - NL63 - membrane protein	TTTTTTTTTTGGTTGGGCATTCTACGTCCGTG	TTTTTTTTTTCATTCTACGTCCGTGCTAAACATGGTG AT
HCoV - NL63 - N	TTTTTTTTTTATGTTCAAGAGCGTTGGCGTATGCG	TTTTTTTTTTTATTGGAATGTTCAAGAGCGTTGG CGTAT
HCoV - OC43 - replicase polyprotein 1a	TTTTTTTTTTTCGGCGACAATCCACCATCA	TTTTTTTTTTAATCATGTGATGGTGGATTGTCGCC GA
HCoV - OC43 - N2	TTTTTTTTTTC AACCAGGCTGATGTC AATACCCCG	TTTTTTTTTTGATATTGACGGAGTCTACTGGGTCCGT
HCoV - HKU1	TTTTTTTTTTCGTCCTCCCATAGGTCGCA	TTTTTTTTTTCGTCCTCCCATAGGTCGCAATGATTA
HCoV - HKU1 - N	TTTTTTTTTTAGGGGTCCTCTGGGTTGCTAATCAC	TTTTTTTTTTGCTGACACTTCTACTCCCTCCGATGTT
H1N1	TTTTTTTTTTGCAATACAACCTTGTGACACACCCAA GGG	TTTTTTTTTTGCAATACAACCTTGTGACACACCCAA GGG
H3N2	TTTTTTTTTTCCTTATGATGTGCCGATFATGCCTCC	TTTTTTTTTTCCTTATGATGTGCCGATFATGCCTCC
IFV - B	TTTTTTTTTTTTTCTCAACTCACTCTTCGAGCGTC TTAATGA	TTTTTTTTTTTTTCTCAACTCACTCTTCGAGCGTC TTAATGA

表 2 冠状病毒基因芯片的引物序列

Tab. 2 Primer sequences of coronavirus gene chips

引物名称	荧光	引物序列(5'-3')
2019-nCov-ORF1a/b-PriF-1-R	-	CCCTGTGGGTTTTACACTTAA
2019-nCov-ORF1a/b-PriR-1-CY3-R	CY3	ACGATTGTGCATCAGCTGA
2019-nCov-N-PriF-1-R	-	GGGGAACCTTCTCCTGCTAGAAT
2019-nCov-N-PriR-1-CY3-R	CY3	CAGACATTTTGTCTCTCAAGCTG
2019-nCov-E-PriF-1-R	-	ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT
2019-nCov-E-PriR-1-CY3-R	CY3	ATATTGCAGCAGTACGCACACA
SARS-PriF-1-R	-	CATTGTTGAGTCCTGCGGTAAC
SARS-PriR-1-CY3-R	CY3	GCAGCCTGTGAGGGAAAACC
SARS-PriF-2-R	-	GACGAGTTCGTGGTGGTGAC
SARS-PriR-2-CY3-R	CY3	AAGCTTCTGGGCCAGTTCCT
HCoV-229E-PriF-1-R	-	TAGAAAGGGCAAACGGGTGG
HCoV-229E-PriR-1-CY3-R	CY3	CCCACACCACACCTTCAACA
HCoV-229E-PriF-2-R	-	CCTCCCAAATGCTTACTC
HCoV-229E-PriR-2-CY3-R	CY3	CCCCTCTCAGACCTTCACTC
HCoV-NL63-PriF-1-R	-	CCTCTCTTAATGAAACAAGCCA
HCoV-NL63-PriR-1-CY3-R	CY3	TGAGAGGCAACACCAGAAAA
HCoV-NL63-PriF-2-R	-	TCCCAGGAATCTTGTCCCTA
HCoV-NL63-PriR-2-CY3-R	CY3	AGGCAAATCAACACGTTGCC
HCoV-OC43-PriF-1-R	-	AAAGCTGGAAACAGACGGAA
HCoV-OC43-PriR-1-CY3-R	CY3	AGGCTAGACTGCACACAACACT
HCoV-OC43-PriF-2-R	-	AGGACCGCATGCTAAAGACC
HCoV-OC43-PriR-2-CY3-R	CY3	CCTCATCGCTACTTGGGTCC
HCoV-HKU1-PriF-1-R	-	AGTGACGTGTTGGTTGCTCT
HCoV-HKU1-PriR-1-CY3-R	CY3	CGAGACCGTATTTGCTGG
HCoV-HKU1-PriF-2-R	-	GCCCATATGCCAATGCATCC
HCoV-HKU1-PriR-2-CY3-R	CY3	AGGCGGAAACCTAGTAGGGA
H1N1-H1-PriF-1-R	-	TGCTGGATCTGGTATTATC
H1N1-H1-PriR-1-CY3-R	CY3	TGGGAGGCTGGTGTATTATAG
H3N2-H3-PriF-1-R	-	GAAGCAAAGCCTACAGCAAC
H3N2-H3-PriR-1-CY3-R	CY3	CCGGATGAGGCAACTAGTGA
IFV-B-FP	-	GGAAGGCTGTGTGCTAAACTTGTG
IFV-B-RP-CY3	CY3	CTGGTGATAATCGGTGCTCTTGAC

1.4 冠状病毒芯片的制备

1.4.1 探针缓冲液 用点样缓冲液将质检合格后的探针稀释为 100 ng/ μ L 的点样工作液。

1.4.2 芯片点样 将点样工作液按芯片上样图加入 384 孔样品板中, 将醛基修饰基片装载于点样 tray 上, 运行 Arrayjet Marathon 点样仪的点样程序进行芯片点样, 芯片探针布局见图 2。

1.4.3 点样后处理 芯片点样后经探针固定、封闭、洗脱、干燥后密封真空包装。

1.4.4 试剂配制 (100 000 级洁净生产区) 逆转录-聚合酶链式反应 (Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 扩增引物混合

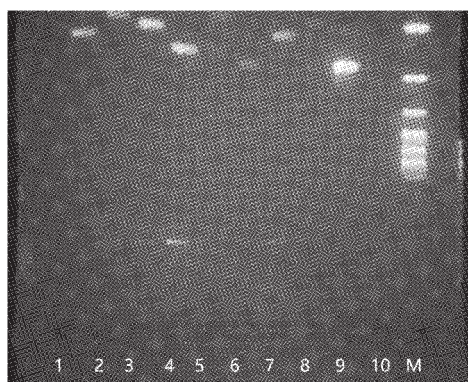
物的配制分装: 将引物冻干粉按装量要求稀释并混合为工作液浓度进行分装。RT-PCR 扩增试剂混合物的分装: 按照装量要求, 在低温条件下对 PCR 扩增试剂混合物进行分装。杂交缓冲液的配制分装: 按照杂交液组分进行缓冲液配制及分装。芯片洗脱液的配制和分装: 按照芯片洗脱液配方配制 20 \times SSC 和 10% SDS 并进行分装。

1.4.5 阴性质控配制及分装 (10 000 级洁净生产区) 将阴性质控克隆质粒模板稀释至工作液浓度并进行分装。

1.4.6 试剂盒组装 将 PCR 扩增试剂混合物、PCR 扩增引物混合物、杂交缓冲液、阴性质控放

入试剂盒 I, 将芯片、柠檬酸钠缓冲液 (20 × SSC)、十二烷基硫酸钠溶液 (10% SDS) 放入试

剂盒 II, 完成试剂盒组装, 按照规定的储存条件入库。



注: 1 为 229E-1, 2 为 229E-2, 3 为 OC43-1, 4 为 OC43-2, 5 为 HKU1-1, 6 为 HKU1-2, 7 为 H1N1-H1, 8 为 H3N2-H3, 9 为 β-actin, 10 为 IFV-B, M 为标记 (Maker)

图 1 10 种呼吸道感染病毒探针引物的筛选

Fig. 1 Screening of 10 respiratory infection virus probe primers

β-actin-HC-1-Pro-R	BC	2019-nCov-ORF1a/b-Pro-1-R	BC	2019-nCov-RdRP-Pro-1-R	BC	Cov-RdRP-UVS-Pro-1-R	BC	2019-nCov-N-Pro-1-1-R	BC	2019-nCov-N-Pro-1-2-R	NC	
β-actin-HC-1-Pro-R	BC	2019-nCov-ORF1a/b-Pro-1-R	BC	2019-nCov-RdRP-Pro-1-R	BC	Cov-RdRP-UVS-Pro-1-R	BC	2019-nCov-N-Pro-1-1-R	BC	2019-nCov-N-Pro-1-2-R	NC	
2019-nCov-ORF1a/b-Pro-1-R-TA	BC	BC	2019-nCov-E-Pro-1-R	BC	SARS-Pro-2-R	BC	SARS-Pro-1-R	BC	MERS-E-Pro-1-R	MERS-N-Pro-1-R	HCoV-229E-Pro-1-R	
2019-nCov-ORF1a/b-Pro-2-R	BC	BC	2019-nCov-E-Pro-1-R	BC	SARS-Pro-2-R	BC	SARS-Pro-1-R	BC	MERS-E-Pro-1-R	MERS-N-Pro-1-R	HCoV-229E-Pro-1-R	
HCoV-229E-Pro-2-1-R	HCoV-229E-Pro-2-2-R	BC	HCoV-NL63-Pro-1-1-R	HCoV-NL63-Pro-1-2-R	HCoV-NL63-Pro-2-1-R	HCoV-NL63-Pro-2-2-R	BC	HCoV-OC43-Pro-1-1-R	HCoV-OC43-Pro-1-2-R	HCoV-OC43-Pro-2-1-R	HCoV-OC43-Pro-2-2-R	
HCoV-229E-Pro-2-1-R	HCoV-229E-Pro-2-2-R	BC	HCoV-NL63-Pro-1-1-R	HCoV-NL63-Pro-1-2-R	HCoV-NL63-Pro-2-1-R	HCoV-NL63-Pro-2-2-R	BC	HCoV-OC43-Pro-1-1-R	HCoV-OC43-Pro-1-2-R	HCoV-OC43-Pro-2-1-R	HCoV-OC43-Pro-2-2-R	
BC	HCoV-HKU1-Pro-1-1-R	HCoV-HKU1-Pro-1-2-R	HCoV-HKU1-Pro-1-1-R	HCoV-HKU1-Pro-2-1-R	HCoV-HKU1-Pro-2-2-R	BC	IFA-M-UVS-Pro-1-R	BC	IFA-M-UVS-Pro-2-R	BC	IFV-A	BC
BC	HCoV-HKU1-Pro-1-1-R	HCoV-HKU1-Pro-1-2-R	HCoV-HKU1-Pro-1-1-R	HCoV-HKU1-Pro-2-1-R	HCoV-HKU1-Pro-2-2-R	BC	IFA-M-UVS-Pro-1-R	BC	IFA-M-UVS-Pro-2-R	BC	IFV-A	BC
β-actin-pro-1-R	BC	H1N1-H1-Pro-1-R	BC	H3N2-H3-Pro-1-R	BC	H3N2-N2-Pro-1-R	BC	2083	BC	BC	β-actin-HC-1-Pro-R	
β-actin-pro-1-R	BC	H1N1-H1-Pro-1-R	BC	H3N2-H3-Pro-1-R	BC	H3N2-N2-Pro-1-R	BC	IFV-B	BC	BC	β-actin-HC-1-Pro-R	

图 2 芯片探针布局

Fig. 2 Chip probe layout

2 结果

2.1 基因芯片的灵敏度

将 PCR 扩增产物用 10 倍梯度稀释法稀释后进行基因芯片检测, 结果表明可形成杂交斑点的最低检测浓度为 10^3 copies/mL。

2.2 基因芯片的重复性

不同批次 3 个芯片和同批次 10 个芯片的基因位置、杂交质控和有效性控制清晰可见, 阴性质控无信号, 芯片背景值低, 符合率 100%。以上结果

均表明该芯片具有良好的重复性。

2.3 基因芯片的稳定性

室温避光保存 6 个月, 芯片稳定, 基因芯片的检测仍可正常进行。

2.4 基因芯片杂交结果

芯片探针布局中: NC 为阴性质控探针; IC 为提取对照兼内对照探针; HC 为杂交阳性对照探针; BC 为空白点; (2019-nCoV) ORF1ab 和 E 和 N 靶基因为新型冠状病毒检测探针; SARS、

HCoV - 229E、HCoV - NL63、HCoV - OC43、HCoV - HKU1 为冠状病毒检测探针；H1N1 为甲型流感病毒的检测探针；H3N2 为甲型流感病毒 H3N2 的检测探针；IFV - B 为乙型流感病毒的检测探针。对于任意探针位点，其荧光值中值 ≥ 1.5 倍荧光背景值，判断该位点为“阳性”，否则该位点判断为“阴性”。判断 NC：若其 2 个重复位点中，满足“阴性”的位点数等于 2，则继续进行基因芯片重复性判读，否则判读结果为“失败”。判断 IC：若其 2 个重复位点中，满足“阳性”的位点数等于 2，则继续进行基因芯片稳定性判读，否

则判读结果为“失败”。判断 HC：若其 2 个重复位点中，满足“阳性”的位点数等于 2，则继续进行基因芯片杂交结果判读，否则判断结果为“失败”。判断病原体检测探针：例如 US - 2019 - nCov - N 探针，若其 2 个重复位点满足“阳性”的位点数等于 2，则判为新型冠状病毒（2019 - nCoV）检测结果为“阳性”；否则判断结果为“阴性”。阴性标准品和正常人标本基因芯片检测结果见图 3，呼吸道感染病毒阳性标准品的基因芯片检测结果见图 4。

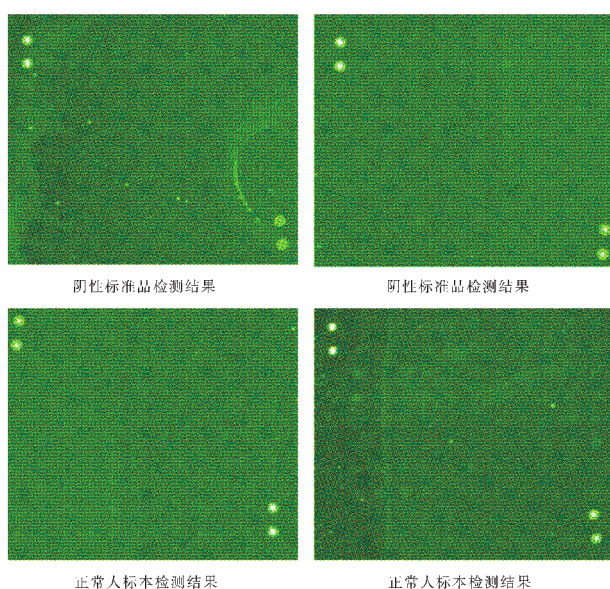


图 3 阴性标准品和正常人标本基因芯片检测结果

Fig. 3 Negative standard and normal human specimen gene chip test results

3 讨论

流行病学研究表明，HCoV - 229E、HCoV - NL63、HCoV - OC43 和 HCoV - HKU1 这 4 种 HCoVs 在世界各地均有流行，呈全球性分布，临床症状主要表现为发热、咳嗽、鼻炎、喉炎以及支气管炎、肺炎等，给人类生命健康造成一定的威胁^[5]。SARS - CoV 和 MERS - CoV 这 2 种冠状病毒感染人后却能造成急性呼吸道症状，严重者引发呼吸系统和肾功能系统衰竭并造成死亡。

MERS - CoV 作为近期出现的 HCoVs，目前全球已有 26 个国家及地区报道了确诊病例 2 428 例，死亡 839 例，死亡率高达 34.6%^[6]。2019 新型冠状病毒（2019 - nCoV）的传播速度快，传播速度

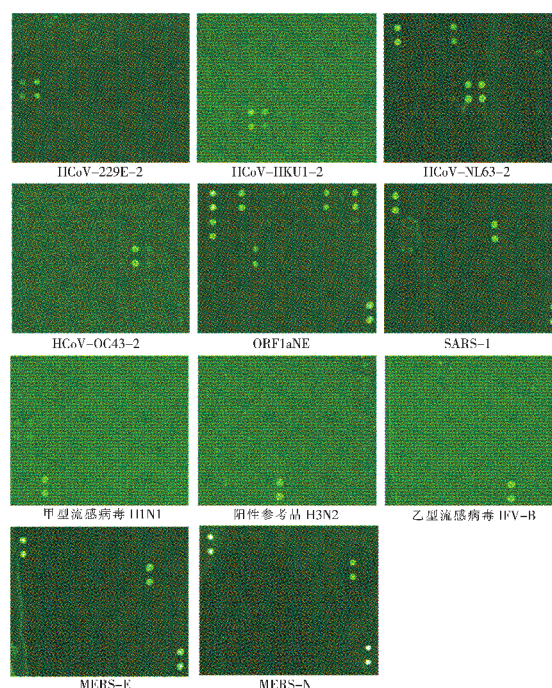


图 4 呼吸道感染病毒阳性标准品的基因芯片检测结果

Fig. 4 Gene chip detection result of respiratory infection virus positive standard

广，严重危害人类健康，威胁人类生存环境^[7]。

流行性感冒病毒，简称流感病毒，是一种造成人类及动物患流行性感冒的 RNA 病毒，属于正黏液病毒科^[8]。流感病毒侵袭的目标是呼吸道黏膜上皮细胞，感染后会造成急性上呼吸道感染。由于流感病毒可经空气传播，且会引起大范围的流行，尤其是在免疫力低下的人群中会引起严重症状，如肺炎，心力衰竭等。临床以突发、高热、咳嗽、呼吸困难、衰竭、高发病率、低死亡率为主要特征^[9]。轻症流感的症状局限于上呼吸道，表现为发烧、喉痛、流涕、咳嗽、头痛、肌肉疼痛以及疲劳；重症流感或下呼吸道继发性细菌感染会导致严重肺炎，甚至危及生命^[10]。新病毒株在抗原性上与以往流

行株非常不同, 人类面对新病毒株缺乏免疫力往往导致严重感染以及死亡率激增。流感的暴发已有百年的历史, 每次流感疫情均给经济发展和公共卫生带来巨大的损失, 因此建立快速检测流感病毒的诊断技术是预防和控制该疾病流行的一个重要保障。

基因芯片具有以下特点: ①灵敏度和高特异度。现代医学检测手段主要有两类, 一类是蛋白质, 一类是核酸。其中核酸检测是未来发展的方向。由于核酸可以用 PCR 方法扩增, 只要检测反应管中有 1 个分子存在, 就可以被检测到, PCR 检测技术的检测灵敏度到达了当前检测技术所能达到的极限, 但该技术的缺陷是不能准确判断扩增产物的特异度。基因芯片技术是将 PCR 技术和分子杂交技术相结合, 由于分子杂交是可以准确判断其杂交特异度的。因此, 基因芯片技术是将目前灵敏度最高的技术与特异度最好的技术相结合, 特异度和灵敏度都达到了空前的水平, 这是其他任何技术都不能比拟的^[11-13]。②高通量检测。传统检测手段一次取样, 仅能对一个或者少数几个指标进行检测, 无法实现全系统和全景式的检验。基因芯片由于将大量生物探针根据系统化高通量检测的需求有机组合, 实现了一次对一个系统 (如泌尿生殖系统、呼吸系统、消化系统等) 的全景检测, 有利于对症状相似的疾病或复杂疾病进行准确快速判断^[14-17]。③避免了假阴性。由于病原体的变异较快, 因此一旦检测位点发生变异, 检测就无法进行, 在基因芯片设计上可以针对每个待测项目设计多个检测探针, 实现了类似于“多次重复检测取平均”的检测过程, 多位点的检测使漏检的概率大大降低^[18-20]。④平行对照。传统检测手段由于检测通量较低, 只能将对照体系设计在检测体系之外, 与检测流程同时进行。基因芯片具备的高通量特性, 在芯片设计时能够在点阵中引入多种质控对照点, 在检测过程内部对标本采集, PCR 扩增、杂交操作等环节进行质控, 极大地提高了检测的可靠性^[21-25]。⑤成本大幅度降低。由于同时进行多项目检测, 平均到每个项目的检测费用就相应降低。⑥快速方便, 基因芯片一般是一个工作日可以出结果。而现有的其他技术都是逐项的检测, 多个项目进行下来, 就需要几天时间, 这同时又可能因样本保存时间过长导致检测结果的错误。

本试剂盒具有快速、准确、客观、定性检测的优点, 能同时检测临床标本中的 9 种呼吸道感染病毒。包括 7 种冠状病毒 [2019-nCoV ORF1ab 和 N 基因、E 基因, SARS 核酸, 中东呼吸综合征冠状病毒 (ORF1a 基因) 核酸, HCoV-229E 核酸, HCoV-NL63 核酸, HCoV-OC43 核酸, HCoV-HKU1 核酸] 和 2 种流感病毒 [甲型流感病毒

IFV-A (H1N1、H3N2), 乙型流感病毒 IFV-B] 的核酸, 综合检测灵敏度达到 5×10^3 copies/mL, 尤其适用于大样本量的筛查, 是一种非常有发展前景的检测方法。

在国内, 目前没有类似基因芯片法的检测产品。根据实用的重要性及检测费用的经济性, 本产品选择了 9 种呼吸道感染病毒进行检测。利用基因芯片技术, 能够一次性、快速、准确地检测病毒。从而真正达到临床需要, 提高临床疗效。

参考文献

- [1] Wu A, Peng Y, Huang B, et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China [J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 27 (3): 325-328.
- [2] Wilson AD, Forse LB. Potential for early noninvasive COVID-19 detection using electronic-nose technologies and disease-specific VOC metabolic biomarkers [J]. *Sensors (Basel)*, 2023, 23 (6): 2887.
- [3] 李达明, 吕星, 蒋传好, 等. 基因芯片技术在肾移植术后患者肺部感染病原菌快速检测中的临床价值 [J]. *检验医学*, 2022, 37 (9): 864-867.
Li DM, Lv X, Jiang CH, et al. Clinical application of gene chip technology for determining respiratory pathogens rapidly in pulmonary infection patients after renal transplantation [J]. *Lab Med*, 2022, 37 (9): 864-867.
- [4] 张灿辉, 刘志新, 吴建辉, 等. 病原学基因芯片对重症肺炎应用价值探讨 [J]. *社区医学杂志*, 2022, 20 (6): 338-342.
Zhang CH, Liu ZX, Wu JH, et al. Explore the application value of pathogenic gene chip microarray in patients with severe pneumonia [J]. *J Community Med*, 2022, 20 (6): 338-342.
- [5] Meral Y, Elif F, Casia KÖ. COVID-19 diagnosis - a review of current methods [J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 172: 112752.
- [6] Gao ZR, Xu YH, Sun C, et al. A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19 [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2021, 54 (1): 12-16.
- [7] Walter LA, McGregor AJ. Sex- and gender-specific observations and implications for COVID-19 [J]. *Western J Emerg Med*, 2020, 21 (3): 507-509.
- [8] Te Velthuis AJ, Fodor E. Influenza virus RNA polymerase: insights into the mechanisms of viral RNA synthesis [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14 (8): 479-493.
- [9] Vanderlinden E, Naesens L. Emerging antiviral strategies to interfere with influenza virus entry [J]. *Med Res Rev*, 2014, 34 (2): 301-339.
- [10] Watanabe T, Watanabe S, Kawaoka Y. Cellular networks involved in the influenza virus life cycle [J].

- Cell Host Microbe, 2010, 7 (6): 427-439.
- [11] 叶书缘, 孙春丽, 高国生, 等. 基因芯片法检测宁波地区结核分枝杆菌耐药性的研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32 (1): 51-55.
Ye SY, Sun CL, Gao GS, et al. Study of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* by gene chip in Ningbo area [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2022, 32 (1): 51-55.
- [12] 麦艳媚. 实时荧光 PCR 与基因芯片法检测人乳头瘤病毒的方法学比较 [J]. 吉林医学, 2021, 42 (12): 2882-2884.
Mai YM. Methodological comparison of real-time fluorescent PCR and gene chip method for HPV detection [J]. *Jilin Med J*, 2021, 42 (12): 2882-2884.
- [13] 孙青, 宋华峰, 黄帆. 基于基因芯片技术对耐利福平或异烟肼结核分枝杆菌基因突变位点的检测分析 [J]. 抗感染药学, 2023, 20 (10): 1108-1112.
Sun Q, Song HF, Huang F. Detection and analysis of rifampicin-resistant or isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* gene mutation sites based on gene chip technology [J]. *Anti Infect Pharm*, 2023, 20 (10): 1108-1112.
- [14] Wang XW, Gao HJ, Fang DC. Advances in gene chip technique in Barrett's metaplasia and adenocarcinoma [J]. *J Dig Dis*, 2008, 9 (2): 68-71.
- [15] Yin G, Bie S, Gu H, et al. Application of gene chip technology in the diagnostic and drug resistance detection of *Helicobacter pylori* in children [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35 (8): 1331-1339.
- [16] 刘耐, 邢宝春, 冷霞, 等. 基因芯片技术对非结核分枝杆菌肺病的诊断价值 [J]. 实用医技杂志, 2022, 29 (11): 1147-1150.
Liu N, Xing BC, Leng X, et al. Diagnostic value of gene chip technology in nontuberculous mycobacterium pulmonary disease [J]. *J Pract Med Tech*, 2022, 29 (11): 1147-1150.
- [17] Luo Y, Du J, Zhan Z, et al. A diagnostic gene chip for hereditary spastic paraplegias [J]. *Brain Res Bull*, 2013, 97: 112-118.
- [18] 杨映晖, 伍定辉, 苏伟明, 等. 基因芯片法在结核分枝杆菌耐药基因快速诊断中的应用价值 [J]. 中国防痨杂志, 2020, 42 (11): 1191-1195.
Yang YH, Wu DH, Su WM, et al. Evaluation of gene chips for the rapid diagnosis of drug-resistance genes in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Chin J Antituberc*, 2020, 42 (11): 1191-1195.
- [19] 冉楠, 马明星, 庞志强, 等. 血栓形成易感基因芯片的研制及效果评价 [J]. 吉林大学学报 (医学版), 2020, 46 (1): 182-187.
Ran N, Ma MX, Pang ZQ, et al. Development and evaluation of thrombosis susceptibility gene chip [J]. *J Jilin Univ (Medicine Edition)*, 2020, 46 (1): 182-187.
- [20] 袁语泽, 马明星, 王国强, 等. 血栓性疾病个体化用药指导基因芯片试剂盒的制备和效果评价 [J]. 吉林大学学报 (医学版), 2019, 45 (6): 1267-1274, 1481-1482.
Yuan YZ, Ma MX, Wang GQ, et al. Preparation of gene chip detection kit for individualized treatment of thrombotic diseases and evaluation on its effectiveness [J]. *J Jilin Univ (Medicine Edition)*, 2019, 45 (6): 1267-1274, 1481-1482.
- [21] 兰金芝, 刘扬, 徐澍, 等. HPV 基因芯片检测质控点设计和参数优化研究 [J]. 贵州医科大学学报, 2018, 43 (10): 1221-1226.
Lan JZ, Liu Y, Xu S, et al. Design of quality control and parameter optimization for HPV gene chip detection [J]. *J Guizhou Med Univ*, 2018, 43 (10): 1221-1226.
- [22] 戈海泽, 梁慧敏, 卢晋英, 等. 基因芯片技术在常见肠道致病菌感染检测中的应用 [J]. 山东医药, 2013, 53 (4): 24-26, 29, 103.
Ge HZ, Liang HM, Lu JY, et al. Detection of common intestinal pathogens infection with gene chip technology [J]. *Shandong Med J*, 2013, 53 (4): 24-26, 29, 103.
- [23] 李深伟, 张子龙, 李帅, 等. 高通量基因芯片技术在登革病毒检测和分型中的应用 [J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2019, 42 (3): 163-165.
Li SW, Zhang ZL, Li S, et al. An integrated high-throughput lab-on-chip method for rapid identification and typing of dengue virus [J]. *Chin J Front Health Quarant*, 2019, 42 (3): 163-165.
- [24] 赵娴, 王骥, 周冬青. 基因芯片技术在监测乙型肝炎病毒耐药突变中的应用及临床意义 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18 (84): 1-2.
Zhao X, Wang J, Zhou DQ. Application and clinical significance of gene chip technology in monitoring hepatitis B virus resistance mutation [J]. *World Latest Med Inf*, 2018, (84): 1-2.
- [25] 杨艳兵, 胡海英, 吴茱萸, 等. 基因芯片技术在成人下呼吸道感染病原学检测中的临床应用及评价 [J]. 广东医学, 2019, 40 (21): 3025-3029.
Yang YB, Hu HY, Wu ZY, et al. Clinical application and evaluation of gene chip technology in the pathogen detection of adult lower respiratory tract infection [J]. *Guangdong Med J*, 2019, 40 (21): 3025-3029.