

· 综 述 ·

## 新型冠状病毒核酸检测方法

许金和<sup>1</sup>, 王水良<sup>2</sup>, 张胜行<sup>2</sup>, 赖国祥<sup>3</sup>, 兰小鹏<sup>2</sup>, 吴小丽<sup>1</sup>综述, 余宗阳<sup>4△</sup>审校

(1. 福建医科大学福总临床医学院, 福建福州 350000; 2. 中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院检验科, 福建福州 350025; 3. 中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院呼吸内科, 福建福州 350025; 4. 中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院肿瘤科, 福建福州 350025)

**摘要:** 从 2019 年 12 月开始识别和救治新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染的肺炎至今, 新型冠状病毒肺炎的确诊病例数已超过 70 000 例, 快速、准确地诊断对于 SARS-CoV-2 感染的控制至关重要。目前已知的用于人类流感病毒感染的诊断方法主要有: 病毒的分离、特异性抗原检测以及核酸扩增等, 核酸扩增所需窗口期短、耗时短, 因此在病毒的早期、快速诊断中有一定的优势。SARS-CoV-2 为单链 RNA 病毒, 针对 RNA 病毒的较成熟的核酸诊断技术主要有: 实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应、逆转录环介导等温扩增、依赖核酸序列扩增、重组酶聚合酶扩增技术和基因芯片等。本文对这些常用的核酸诊断技术的基本原理和在 SARS-CoV-2 检测中的应用现状进行了综述, 为目前抗击疫情的临床一线提供一些有用参考。

**关键词:** 新型冠状病毒; 逆转录环介导等温扩增; 等温核酸扩增; CRISPR/Cas; 基因芯片

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.17.020 **中图法分类号:** R511

**文章编号:** 1673-4130(2020)17-2138-05 **文献标识码:** A

### Methods for nucleic acid detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

XU Jinhe<sup>1</sup>, WANG Shuilian<sup>2</sup>, ZHANG Shenghang<sup>2</sup>, LAI Guoxiang<sup>3</sup>,  
LAN Xiaopeng<sup>2</sup>, WU Xiaoli<sup>1</sup>, YU Zongyang<sup>4△</sup>

(1. Fuzhou General Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, 900 Hospital of Joint Logistic Team Support Force, Fuzhou, Fujian 350025, China; 3. Department of Respiratory, 900 Hospital of Joint Logistic Team Support Force, Fuzhou, Fujian 350025, China; 4. Department of Medical Oncology, 900 Hospital of Joint Logistic Team Support Force, Fuzhou, Fujian 350025, China)

**Abstract:** Begin to identify and treat pneumonia infected by the severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2) from December 2019. So far, the number of confirmed cases of corona virus disease 2019 has exceeded 70,000, and rapid and accurate diagnosis is essential for the control of SARS-CoV-2 infection. The currently known diagnostic methods for human influenza virus infection mainly include: virus isolation, specific antigen detection, nucleic acid amplification, etc. The nucleic acid amplification requires a short window period and time-consuming, so there are certain advantages in the early rapid and diagnosis. The SARS-CoV-2 is a single-stranded RNA virus. The more mature nucleic acid diagnostic techniques for RNA viruses mainly include: real-time fluorescent quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP), nucleic acid sequence amplification (NAS-BA), recombinase polymerase amplification technology (RPA) and gene chips. This article reviews the basic principles of these commonly used nucleic acid diagnostic technologies and their application status in the detection of SARS-CoV-2, and provides some useful references for the current frontline clinical fight against the epidemic.

**Key words:** severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2; reverse transcription loop-mediated isothermal amplification; isothermal nucleic acid amplification; CRISPR/Cas; gene chip

2019 年 12 月武汉市出现一种不明原因的肺炎, 截至 2020 年 2 月有 9 日全国累计确诊病例已超过 70 000 例。2020 年 1 月, NA 等<sup>[1]</sup>对此类肺炎患者的

生物标本进行高通量测序, 发现该不明原因肺炎的病原体是一种先前未知的冠状病毒。此种冠状病毒属于套式病毒目, 冠状病毒科, 冠状病毒属, 是一类具

△ 通信作者, E-mail: yuzy527@sina.com.

本文引用格式: 许金和, 王水良, 张胜行, 等. 新型冠状病毒核酸检测方法[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(17): 2138-2142.

有包膜、线性单股正链的 RNA 病毒,在自然界中广泛存在<sup>[2-4]</sup>。新型冠状病毒(SARS-CoV-2)是现在已知的第 7 种可以感染人的冠状病毒,其余 6 种分别是人冠状病毒(HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63 和 HCoV-HKU1)、急性呼吸综合征病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征病毒(MERS-CoV)。PENG 等<sup>[5]</sup>和 JASPER 等<sup>[6]</sup>通过全基因组测序发现 SARS-CoV-2 有 79.5% 与 SRAS-CoV 相同,与蝙蝠冠状病毒的同源性为 96.0%,且证实 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 均通过与细胞表面血管紧张素转换酶 2 (ACE2)受体结合的方式进入宿主细胞<sup>[7]</sup>。此种新型冠状病毒肺炎(COVID-19)传染性强,临床症状不典型,给临床诊断和疫情防控带来很大困难,快速准确地诊断对 COVID-19 的防控至关重要。病原学是诊断新型冠状病毒感染的金标准,但由于其存在窗口期、灵敏度低、程序复杂等缺陷,难以在此次疫情中得到广泛应用,而病毒的核酸检测也是确诊 SARS-CoV-2 的金标准,其灵敏度更高,定量检测可以动态监测病毒感染的程度并观察疗效,因此核酸检测在此次 SARS-CoV-2 的诊断及疫情的防控中承担不可或缺的作用。本文将对目前常用的病毒核酸诊断技术的基本原理和应用现状进行综述。

## 1 逆转录-PCR(RT-PCR)

实时荧光定量 PCR 是目前官方使用的 SARS-CoV-2 确诊方法,目前有很多关于应用 RT-PCR 技术检测冠状病毒的报道。SARS-CoV-2 属 RNA 病毒,需要先转录为 cDNA,再进行扩增检测,通过实时荧光定量 PCR 所得到的样本循环阈值(Ct)的大小,可以判断患者标本中是否含有 SARS-CoV-2。截至目前国家药品监督管理局(NMPA)共批准 7 种 SARS-CoV-2 核酸检测试剂盒,其中的 6 种试剂盒为实时荧光定量 RT-PCR,1 种为联合探针锚定测序法。实时荧光定量 PCR 检测技术可以对病毒模板 RNA 进行定量分析<sup>[8]</sup>,整个检测过程无需对 PCR 产物进行后期处理,缩短了检测时间,提高了检测效率,而且可以降低检测过程中可能出现的污染和假阳性;还可以通过绘制熔解曲线、使用特异性探针等方式降低非特异性扩增,所以相对于常规 RT-PCR,其具有操作简便快捷,特异度高,灵敏度高优点<sup>[9-10]</sup>。

PABBARAJU 等<sup>[11]</sup>建立了探针法多重 RT-PCR,该方法可以在 2 个反应体系中同时检测同一流感病毒的不同亚型。其他学者的研究均表明实时荧光定量 PCR 的检测灵敏度高于环介导等温扩增技术(LAMP)<sup>[12-15]</sup>,国内研究学者也报道了很多应用探针进行流感病毒检测的实时荧光定量 PCR<sup>[16-18]</sup>。实时荧光定量 RT-PCR 的弊端在于如果病毒基因组在探针结合的部位发生变异,可能会影响探针的结合效率而导致检测结果出现假阴性,而联合探针锚定测序法是指在病毒基因组 DNA(由逆转录得到)经片段化处

理形成的 DNA 纳米球上将 DNA 分子锚和荧光探针进行聚合,通过高分辨率成像系统对其产生的光信号进行采集,采集到的光信号经数字化处理后即可获得病毒基因组的待测序列,这一方法的具体技术细节尚未被完整披露,与 PCR 不同的是该方法能够获得特定的病毒基因组序列,即使病毒的部分基因组序列出现变异,也不影响整体同源性的比对。目前 RT-PCR 检测 SARS-CoV-2 感染的准确性为 30.0%~50.0%,精确度更高的检测试剂盒有待进一步研发。

## 2 等温扩增

等温扩增技术的特点是在固定的温度条件下即可实现核酸的快速扩增,反应过程无需温控循环系统,可大幅度降低检测成本,所需设备相对简单,可实现对病原体的现场快速检测,大大提高检测效率<sup>[19-20]</sup>。疫情阶段临床检测过程中资源不足且需要实时监测,等温扩增技术有望取代传统 PCR 诊断技术。较为常见的等温扩增方法有重组酶聚合酶扩增(RPA)、依赖核酸序列扩增(NASBA)、LAMP 等。

### 2.1 RPA 技术

2006 年 HOFF 等<sup>[21]</sup>报道 RPA 技术,该技术简单、快速、灵敏,反应最适温度在 37~42 °C<sup>[22]</sup>,低成本、耗时短,整个过程在 10~30 min 内即可完成<sup>[23-24]</sup>,可实现核酸的快速检测。ELWAHED 等<sup>[25]</sup>利用部分核衣壳基因 RNA 分子建立 RT-RPA 法检测 MERS-CoV,只需要 3~7 min 就可检测最低 10 个拷贝的 RNA 分子。与其他等温扩增方法相比,RPA 对抑制剂具有更大的耐受性<sup>[26]</sup>,可用于更复杂的样品,RPA 引物、探针设计较为简单,其荧光检测反应体系只需一对引物和一个探针即可实现对目标基因的扩增并实现对整个扩增过程的实时监控。此外,RPA 技术除缓冲液及 Mg<sup>2+</sup>外,体系其余组分均以干粉状态保存于反应管中,稳定且易于保存,在封闭的反应体系中也减少了污染的可能性。尽管 RPA 技术被认为有望取代 PCR 核酸检测。但现阶段仍存在一些缺点,如在琼脂糖凝胶电泳检测时扩增产物需要纯化、当模板浓度较低时会产生非特异信号而对实验结果产生影响。目前,国内对于 RPA 在病原检测方面的相关研究报道较少,所以虽然该技术具有许多优势,但在 SARS-CoV-2 检测中目前并未有该技术具体应用的报道。

### 2.2 NASBA 技术

NASBA 是一项以 RNA 模板进行等温扩增并能实时监控结果的检测方法,该技术是在 PCR 基础上发展起来的,反应依赖于 3 种酶(AMV 逆转录酶、噬菌体 T7RNA 多聚酶、核糖核酸酶 H)、两种特异性寡核苷酸引物和分子信标探针共同协作,通过光电信号的变化情况对靶 RNA 进行定性、定量研究<sup>[27-28]</sup>。检测过程只需 4 h 左右,扩增效率、灵敏度也较常规 RT-PCR 高,与嵌套 PCR 灵敏度相近<sup>[29]</sup>。NASBA 是全封闭反应,不易被污染,并且是一种高通量的检测方法,对于大规模样品的筛查有一定的优

势,用不同的荧光基团标记分子信标,可在一个反应中扩增并实时监测不同的目标 RNA 扩增情况,已广泛应用于细菌、病毒等多种病原微生物的检测<sup>[29-31]</sup>。NASBA 方法也存在灵敏度不高、假阴性、假阳性等缺点,便携式 NASBA 检测仪的出现,使该技术更适于现场诊断,当前我国需要筛查的人群仍很大,此方法具有一定的优势,但目前还未有关于 NASBA 用于 SARS-CoV-2 检测的具体报道。

**2.3 LAMP 技术** LAMP 是 2000 年由日本研究人员 MORI 等<sup>[32]</sup>发明的一种新型体外等温扩增特异核酸片段的技术,该种新型核酸扩增技术具有灵敏度高,反应迅速,特异度强等优点。LAMP 有赖于 2 对引物(能够识别靶序列 6 个特异性区域)和一种 DNA 聚合酶(具有链置换性)<sup>[33]</sup>。LAMP 过程无需经过逆转录、模板变性,扩增循环过程无温度变化,基因的扩增和检测可一步完成,大大缩短检测所需时间,1~2 h 即可完成,同时检测者可直观观察到反应过程中产生的副产物焦磷酸镁以确定反应结果。但由于 LAMP 法中 6 个目标区域要与所使用的 2 对引物完全覆盖,这就导致 LAMP 的引物设计非常复杂,而且极易产生非特异性扩增。为了在诊断过程中一次性高效鉴别感染源,实现感染病例快速确诊,准确排除疑似病例的目标,2016 年清华大学生物医学工程系、北京大学人民医院等共同研发出病原体核酸快速检测系统——恒温扩增微流控芯片病毒快速检测系统<sup>[34]</sup>,其将恒温扩增技术与碟式微流控芯片技术结合,只需采集患者痰液、咽拭子等分泌物样本,就可在 1.5 h 内一次性检测多种病原体,最低检出限为 50 拷贝/反应。在本次疫情中,对于大量疑似患者来说,临床上急需能一次性检测多个病原体的检测试剂产品,此次该团队再次共同设计开发的包括 SARS-CoV-2 在内的“6 种核酸检测芯片系统<sup>[35]</sup>(恒温扩增芯片法)”已应急获批投入临床使用。

### 3 基于 CRISPR/Cas 基因核酸检测技术

2017 年张锋教授及其团队建立了一种基于 CRISPR 的诊断技术(CRISPR-Dx),可快速检测特异 DNA 或 RNA,此项技术基于效应分子 cas13a(原称 C2c2)的分子检测平台,称为 SHERLOCK<sup>[36-38]</sup>。SHERLOCK 平台可以进一步应用于一般的 RNA/DNA 定量,可代替特定的 qPCR 检测。张锋教授团队已证明 SHERLOCK 是一种成本低、用途广、可信赖的 RNA 和 DNA 检测方法,适用于包括传染病和敏感基因分型在内的快速诊断,几乎所有经过测试的 crRNA 都具有很高的灵敏度和特异度。近期该团队利用合成的 SARS-CoV-2 RNA 片段进行了测试,发现在很低的病毒 RNA 水平下(10~100 copy/ $\mu$ L),该技术仍能够准确地检测到 SARS-CoV-2 RNA 序列<sup>[39]</sup>。检测结果可以直观地展示在试纸上,整个过程可在 1 h 内完成,操作过程不需要复杂的设备、高端的

技术人员,普通的医务人员即可在现场快速确认患者是否出现 SARS-CoV-2 感染。但由于这项技术还比较初步,尚未在真实 COVID-19 患者样本中做过检测,因此该方法目前不能用于临床上对 COVID-19 患者的诊断,还有待进一步的临床研究。

### 4 基因芯片

基因芯片是指将大量的核酸分子(扩增的 cDNA 或合成的特异性寡核苷酸探针)以大规模阵列形式固化在由玻璃或硅晶片制成的芯片上。基因芯片可用于不同样本的基因表达分析,通过将样本与荧光素标记的样品进行核酸杂交,以杂交信号的有无和强弱来判断样品中待检分子的种类和数量。基因芯片是一种多学科融合的高新科学技术,属于一种新型检测分析手段,具有准确、快速、高通量等特点,与传统的病原培养法和流感临床拟诊相比,具有更高的符合率、特异度及阴性预测值<sup>[40-41]</sup>,在病毒快速检测和疾病诊断中具有广泛的应用前景。2003 年“非典”期间,程京院士等团队已运用相关技术研制出用于 SARS 病毒检测的基因芯片<sup>[42]</sup>,此次该团队也已研制出可以一次性检测包括 SARS-CoV-2 在内的 19 种呼吸道常见病毒的微流控芯片,现已投入临床使用<sup>[43]</sup>。但其也有不足之处,如不能区分定植、污染与感染,不能提供药敏信息,尚不能在检出很多混合病原体时判断感染的责任病原体,这些尚需进一步的研究及方法学的改进。

### 5 病毒基因组测序

宏基因组二代测序法(mNGS)指的是以宏基因组为研究对象,直接利用 NGS 对临床标本中的基因组进行检测,实现病原微生物的快速识别、性能鉴定、功能研究以及微生物间、微生物与环境间相互关系的研究<sup>[44]</sup>。与前述实时荧光 RT-PCR 相比,NGS 不但可以鉴定新的病毒株,也可用于早期低病毒水平标本的检测或实时荧光定量 RT-PCR 检测可疑或灰区结果的确认。由于 SARS-CoV-2 传播过程可能发生变异,高深度 mNGS 可以弥补 RT-PCR 的缺点,并可监测可能出现的变异,同时对于部分病毒含量较低的样本,mNGS 可以提高检测阳性率。但鉴于目前大多数医院缺乏测序设备、缺乏进行测序结果解读的生信人员、缺乏研发阶段的流程和试剂配比的优化、缺乏阳性和阴性参考品的设立以及初步预临床试验的支持,再加上 NGS 的高成本和较长检测周期,目前还不适合于常规临床检测。

### 6 小 结

SARS-CoV-2 感染是当前全球面临的严峻的公共卫生事件,迄今全国已超过 70 000 人感染,早期确诊、尽早隔离、积极干预是有效控制疫情蔓延的关键。目前核酸检测是确诊 COVID-19 的“金标准”。每一种核酸检测方法都有其优缺点,目前没有任何一种检测方法能够做到零漏检,针对不同的实验条件及检测目的,根据检测人群特点以及临床优势选择适合的检



测技术。同时为减少假阴性和假阳性,增加诊断的准确性,不同方法交叉检测印证可进一步提高灵敏度和特异度。此外,开展 SARS-CoV-2 感染检测的实验室必须建立健全生物安全法规、技术操作规程、质量保证措施,确保检测结果真实、准确、可靠。

## 参考文献

- [1] NA Z, ZHANG D, WANG W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(8):727-733.
- [2] VICTOR M C, OLFERT L, MARCO K, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR[J]. *Euro Surveill*, 2020, 25(3):2000045.
- [3] LIANG W, SHUO S, YUHAI B, et al. Bat-Origin Coronaviruses Expand Their Host Range to Pigs[J]. *Trends Microbiol*, 2018, 26(6):466-470.
- [4] PAUL S M. Coronavirus genomic RNA packaging[J]. *Virology*, 2019, 537:198-207.
- [5] PENG Z, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. *Nature*, 2020, 579(7798):270-273.
- [6] JASPER F W, KIN-H K, ZHENG Z, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1):221-236.
- [7] ROU J L, XIANG Z, JUAN L I, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus; implications for virus origins and receptor binding[J]. *Lancet*, 2020, 395(10224):565-574.
- [8] LIN C, YE R, XIA Y L. A meta-analysis to evaluate the effectiveness of real-time PCR for diagnosing novel coronavirus infections[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4):15634-15641.
- [9] DONG H, ZHANG Y, XIONG H, et al. Detection of human novel influenza A (H1N1) viruses using multi-fluorescent real-time RT-PCR[J]. *Virus Res*, 2010, 147(1):85-90.
- [10] SMITH A B, MOCK V, MELEAR R, et al. Rapid detection of influenza A and B viruses in clinical specimens by Light Cycler real time RT-PCR[J]. *J Clin Virol*, 2003, 28(1):51-58.
- [11] PABBARAJU K, WONG S, LEE B, et al. Comparison of a singleplex real-time RT-PCR assay and multiplex respiratory viral panel assay for detection of influenza "A" in respiratory specimens[J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2011, 5(2):99-103.
- [12] LIN Z, ZHANG Y, ZHANG H, et al. Comparison of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and real-time PCR method targeting a 529-bp repeat element for diagnosis of toxoplasmosis[J]. *Vet Parasitol*, 2012, 185(2):296-300.
- [13] WANG G, SHANG Y, WANG Y, et al. Comparison of a loop-mediated isothermal amplification for orf virus with quantitative real-time PCR[J]. *Virology*, 2013, 445:138.
- [14] TANG Y, YE H Y T, CHEN H, et al. Comparison of four molecular assays for the detection of Tembusu virus[J]. *Avian Pathol*, 2015, 44(5):379-385.
- [15] LEE D, KIM E J, KILGORE P E, et al. Clinical evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid detection of *Neisseria meningitidis* in cerebrospinal fluid[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4):e122922.
- [16] 张春明, 乔传玲, 陈艳, 等. 猪流感病毒 M 基因实时荧光定量 PCR 诊断方法的建立[J]. *中国预防兽医学报*, 2008, 30(10):805-810.
- [17] 戴伶俐, 郭巍, 李雪峰, 等. 应用 TaqMan 荧光定量 PCR 检测 H3N8 亚型马流感病毒[J]. *中国预防兽医学报*, 2009, 31(8):614-617.
- [18] 房师松, 程小雯, 何建凡, 等. 荧光定量 RT-PCR 快速检测 N<sub>2</sub> 亚型流感病毒的研究[J]. *卫生研究*, 2009, 38(4):389-391.
- [19] LI J, MACDONALD J. Advances in isothermal amplification: novel strategies inspired by biological processes[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 64:196-211.
- [20] CHEN J, XU Y, YAN H, et al. Sensitive and rapid detection of pathogenic bacteria from urine samples using multiplex recombinase polymerase amplification [J]. *Lab Chip*, 2018, 18(16):2441-2452.
- [21] HOFF M. DNA amplification and detection made simple (relatively)[J]. *PLoS Biol*, 2006, 4(7):e222.
- [22] 樊晓旭, 赵永刚, 李林, 等. 重组酶聚合酶扩增技术在疾病快速检测中的研究进展[J]. *中国动物检疫*, 2016, 33(8):72-77.
- [23] BOYLE D S, MCNERNEY R, TENG L H, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* by recombinase polymerase amplification [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e103091.
- [24] JAMES A, MACDONALD J. Recombinase polymerase amplification: Emergence as a critical molecular technology for rapid, low-resource diagnostics [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2015, 15(11):1475-1489.
- [25] ELWAHED A A, PATEL P, HEIDENREICH D, et al. Reverse transcription recombinase polymerase amplification assay for the detection of middle East respiratory syndrome coronavirus[J]. *PLoS Curr*, 2013, 5:24459611.
- [26] AHMED F A, LARREA S A, ALVAREZ A M, et al. Genome-informed diagnostics for specific and rapid detection of *Pectobacterium* species using recombinase polymerase amplification coupled with a lateral flow device[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):15972.
- [27] JEAN J, D'SOUZA D H, JAYKUS L A. Multiplex nucleic acid sequence-based amplification for simultaneous detection of several enteric viruses in model ready-to-eat foods[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(11):6603-6610.
- [28] COOLS I, UYTENDAELE M, D'HAESE E, et al. Development of a real-time NASBA assay for the detection

of *Campylobacter jejuni* cells[J]. *J Microbiol Methods*, 2006, 66(2):313-320.

[29] CLANCY E, COUGHLAN H, HIGGINS O, et al. Development of internally controlled duplex real-time NASBA diagnostics assays for the detection of microorganisms associated with bacterial meningitis[J]. *J Microbiol Methods*, 2016, 127:197-202.

[30] 杨海鸥, 叶星辰, 傅启华. 依赖核酸序列扩增技术检测呼吸道合胞病毒方法的建立[J]. *检验医学*, 2016, 31(3):168-172.

[31] LAMHOUEB S, FLISS I, NGAZOA S E, et al. Evaluation of the persistence of infectious human noroviruses on food surfaces by using real-time nucleic acid sequence-based amplification[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74(11):3349-3355.

[32] MORI Y, NAGAMINE K, TOMITA N, et al. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 289(1):150-154.

[33] 彭志, 陈刚毅, 刘雪飞, 等. 等温核酸扩增技术在病原体检测中的应用[J]. *生物技术进展*, 2018, 8(4):284-292.

[34] 秦奎伟, 吕雪飞, 侯东亚, 等. 基于环介导等温扩增技术的微流控芯片在病原微生物快速检测中的应用[J]. *生命科学仪器*, 2016, 14(增刊 1):38-42.

[35] 博奥生物. 战“疫”利器问世! 博奥生物呼吸道常见多病毒含新型冠状病毒检测芯片获国家药监局应急审批批准[EB/OL]. (2020-02-22)[2020-02-25]. <http://cn.capital-bio.com/2020nyjd/27795.shtml>.

[36] TSOU J H, LENG Q, JIANG F. A CRISPR Test for Detection of Circulating Nuclei Acids[J]. *Transl Oncol*, 2019, 12(12):1566-1573.

[37] GOOTENBERG J S, ABUDAYYEH O O, LEE J W, et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2[J]. *Science*, 2017, 356(6336):438-442.

[38] MYHRVOLD C, FREIJE C A, GOOTENBERG J S, et al. Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13[J]. *Science*, 2018, 360(6387):444-448.

[39] MEAGAN N E, OSCAR N W, SHASHA C, et al. Overcoming the bottleneck to widespread testing: a rapid review of nucleic acid testing approaches for COVID-19 detection[J]. *RNA*, 2020, 26(7):771-783.

[40] 杨艳兵, 胡海英, 吴荣英, 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.

[41] 毛祥华. 基因芯片法检测 HPV 感染准确性比较的 Meta 分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2019, 14(3):282-285.

[42] 石嵘, 马文丽, 吴清华, 等. 用于 SARS 冠状病毒检测的 60 mer 寡核苷酸基因芯片的设计及应用[J]. *科学通报*, 2003, 48(12):1237-1241.

[43] 中华人民共和国国家互联网信息化办公室. 吹响疫情阻击战冲锋号——中国科技界全力战“疫”[EB/OL]. (2020-02-04)[2020-02-26]. [http://www.cac.gov.cn/2020-02/04/c\\_1582378450219393.htm](http://www.cac.gov.cn/2020-02/04/c_1582378450219393.htm).

[44] CHEN L, LIU W, ZHANG Q, et al. RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1):313-319.

(收稿日期:2020-02-29 修回日期:2020-05-22)

• 综 述 •

## 外泌体在乳腺癌中的研究进展

段勇威, 赵自武, 鲍腾飞, 陈雅文 综述, 谢文<sup>△</sup> 审校  
(武汉大学中南医院检验科, 湖北武汉 430071)

**摘要:** 外泌体是来源于细胞的脂质微型囊泡, 其含有多种的蛋白质、核酸、脂质等物质。细胞通过分泌外泌体, 将这些物质运输到靶细胞, 从而影响靶细胞的生物学活性。在过去的十几年中, 大量研究显示外泌体不仅能影响主要的肿瘤相关信号通路, 如 Wnt 信号通路, 还能在肿瘤微环境中影响癌症干细胞、癌症的血管生成以及癌症的转移等多个方面。因而, 外泌体在临床诊断、应用治疗方面存在重大潜在价值, 可能成为乳腺癌早期诊断、疗效检测、预后判断、药物传递的重要载体。

**关键词:** 外泌体; 乳腺癌; 研究进展; 信号转导

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.17.021

**中图法分类号:** R739.9

**文章编号:** 1673-4130(2020)17-2142-05

**文献标识码:** A

### Research progress of exosomes in breast cancer

DUAN Yongwei, ZHAO Ziwu, BAO Tengfei, CHEN Yawen, XIE wen<sup>△</sup>  
(Department of Clinical Laboratory, Zhongnan Hospital of Wuhan)

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: whxw007@126.com。

本文引用格式: 段勇威, 赵自武, 鲍腾飞, 等. 外泌体在乳腺癌中的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(17):2142-2146.