

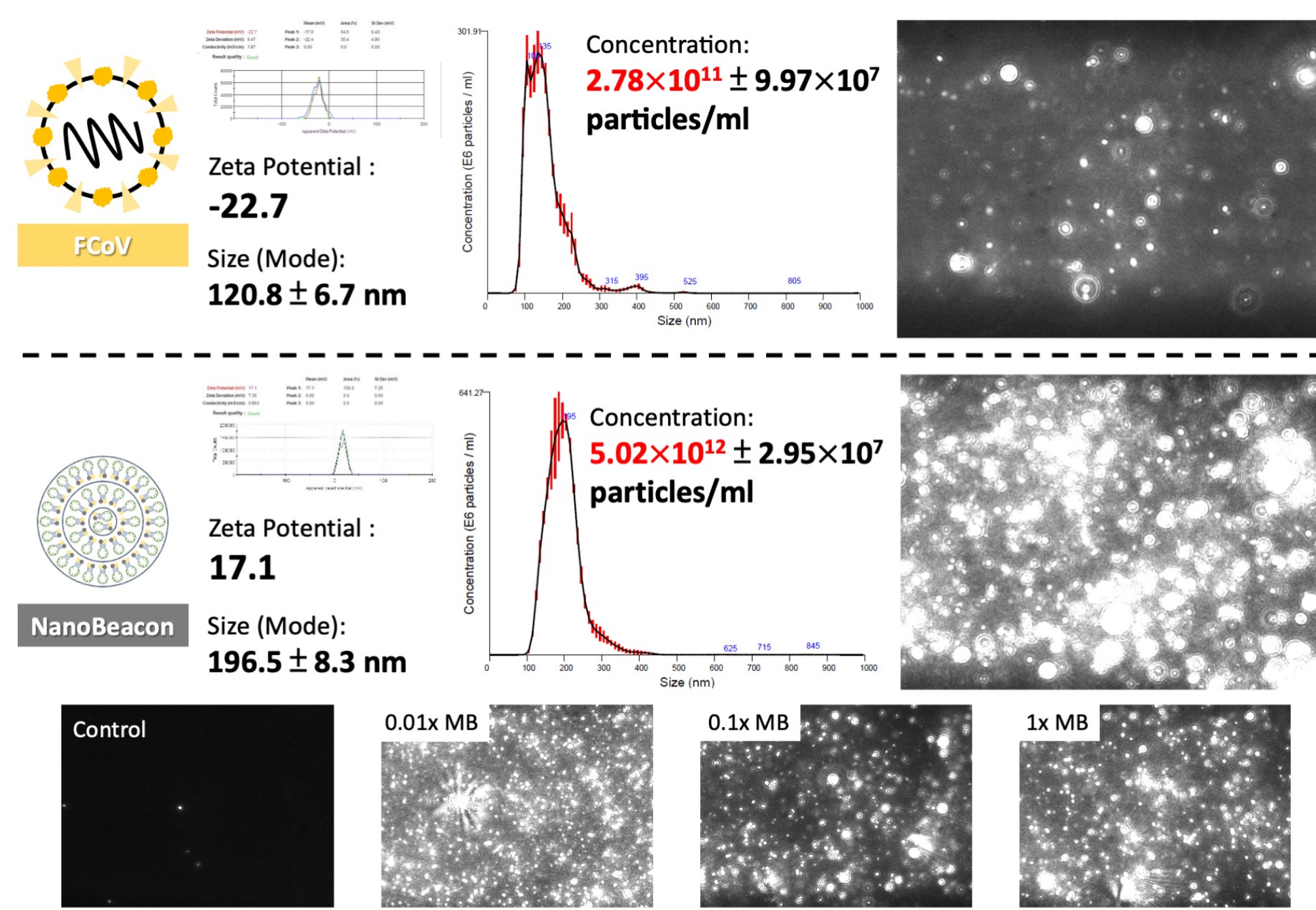
計畫摘要

本計畫提出奈米信標(NanoBeacon)可作為原位病毒顆粒發光檢測之假設，作為第一年計畫執行研究重點。貓奴冠狀病毒(FCoV)是常見RNA冠狀病毒模型，亦是P2實驗室能操作的病毒範圍，本計畫使用之貓奴冠狀病毒是經由感染貓全胚胎細胞後所獲得。首先我們運用貓奴冠狀病毒qPCR 檢測中常使用的Tagman探針，修改探針設計成變色螢光減型分子信標(Molecular Probe, MB)，做為奈米信標核心材料來源。而第二年聚焦在微濃縮孔增強反應技術(Microwell Condensation-enhanced Reaction & Fluorescence(MCeRF))與螢光生物晶片掃描儀協同驗證，製成一種創新可將單位體積之螢光訊號放大至可觀測的平台，將核酸檢測技術透過影像解析，並提出奈米信標與病毒之間的交互反應。

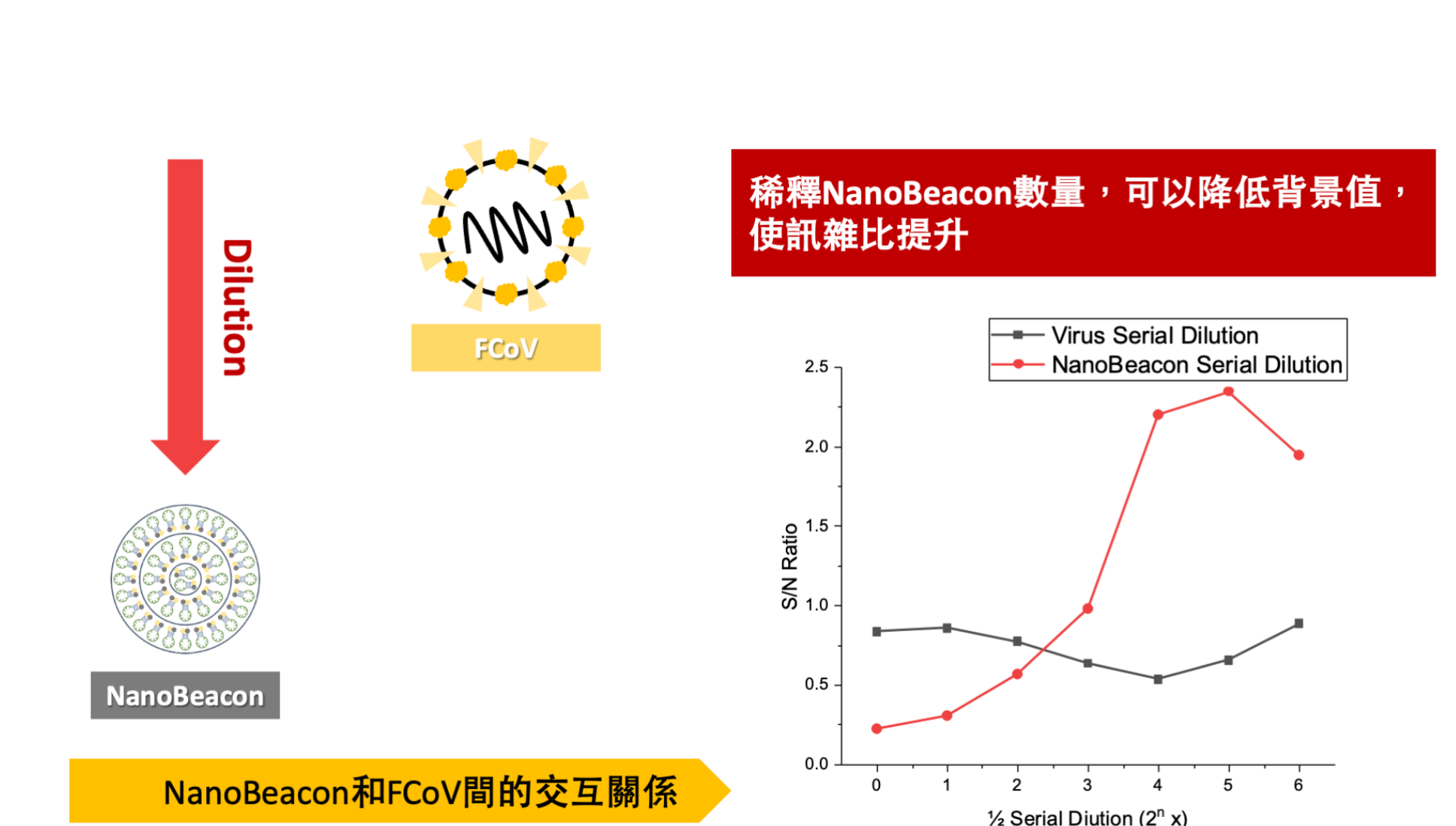
在第二年目標中，親疏水微孔技術上已在玻璃基板上實現，建構超疏水塗層合併UV透孔技術，並於孔洞內進行親水改質的方式，以影像呈現數據分析。而在濃縮微孔技術中，亦須考量精準的微孔濃縮需求，在實驗中選取不同疏水性與親水性的材料作為驗證，疏水材料的厚度程度也會影響濃縮過程的精準性，在濃縮過程中，水分蒸發的速度太快，也會導致螢光分子濃縮到孔洞位置機率降低，因此研究發現利用添加微量甘油可使樣本溶液不易快速蒸發；在微孔晶片的設計上，除親疏水性材料驗證外，計畫中亦調整雷射功率、孔洞加工完整度與直徑大小進行探討，利用多次加工的方式可避免損傷玻璃片表面，並製作直徑大小不同的孔洞驗證孔洞大小可趨有效限縮螢光探針，提升影像強度。

在奈米信標與病毒顆粒交互反應分析上，除了第一年的螢光訊號驗證外，在第二年，我們也透過細胞培養的方式進行驗證：首先將NanoBeacon與病毒反應後再感染細胞，從結果中可發現奈米信標的脂肪外殼會對病毒感感染產生影響，且包含特異性序列分子信標之奈米信標抑制病毒能力則會更好。NanoBeacon在治療試驗中，包有特異性序列分子信標之奈米信標對病毒感染後細胞具有治療抑制效果。

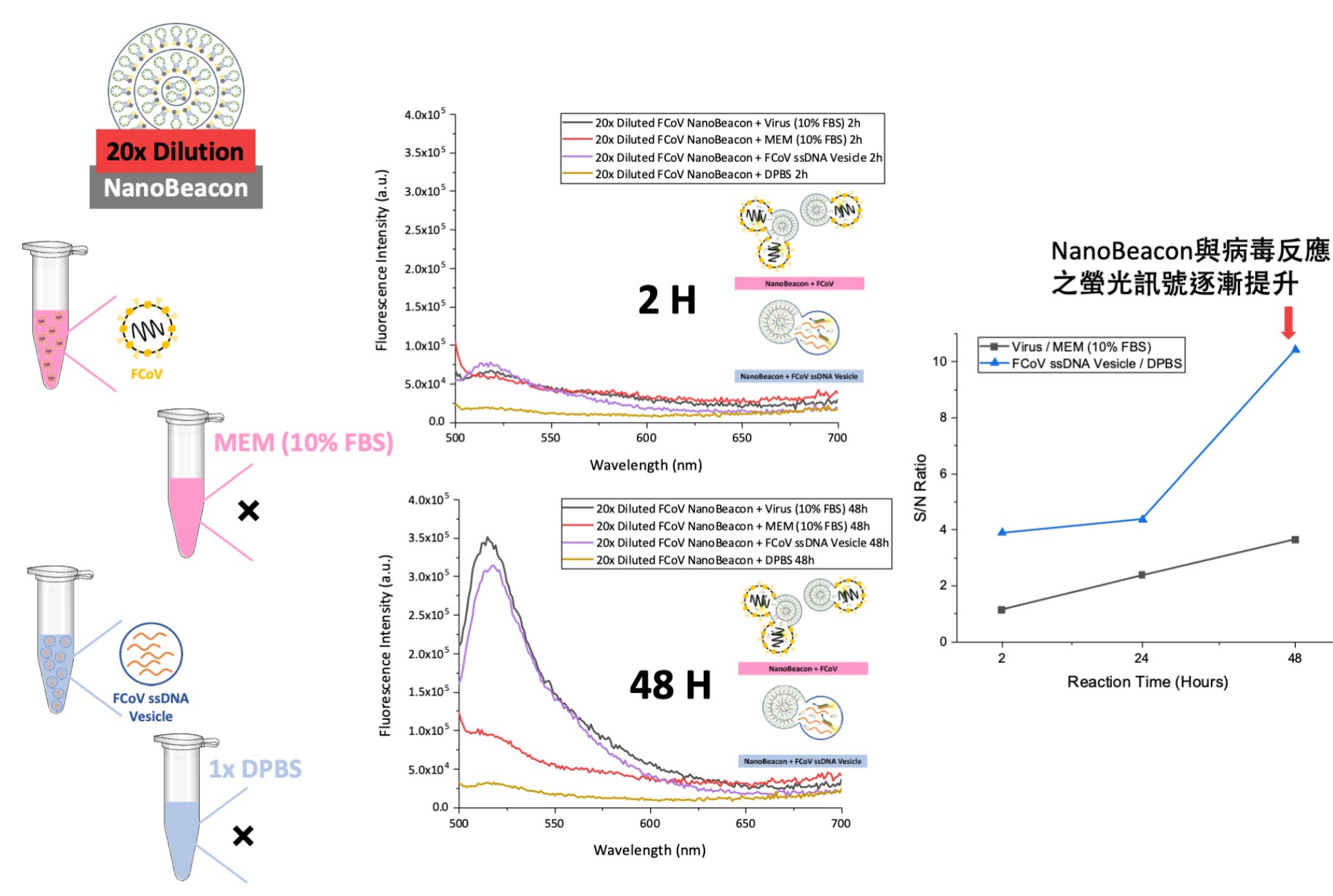
3 Interview with Coronavirus and NanoBeacon



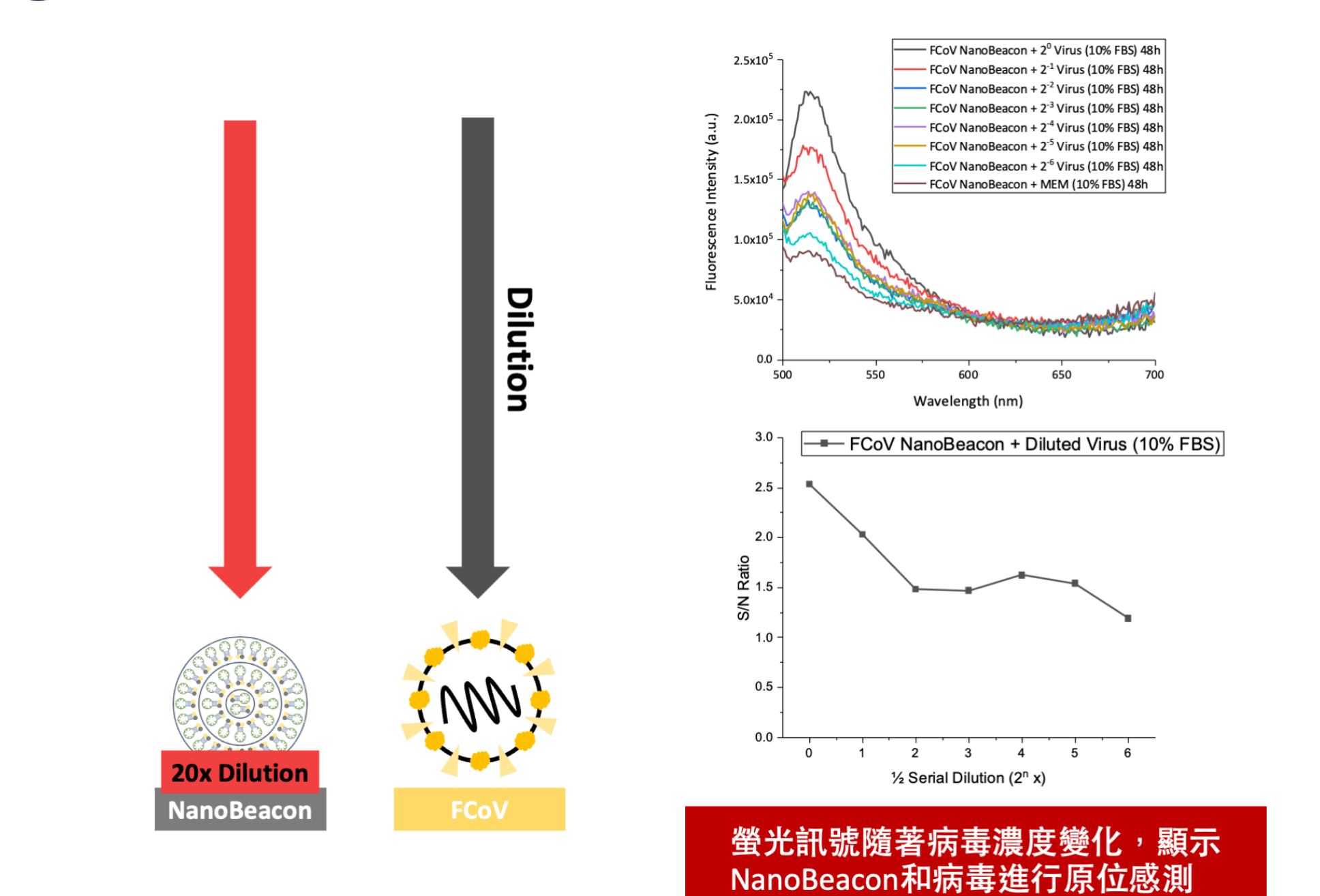
4 Ratio Test between Coronavirus and NanoBeacon



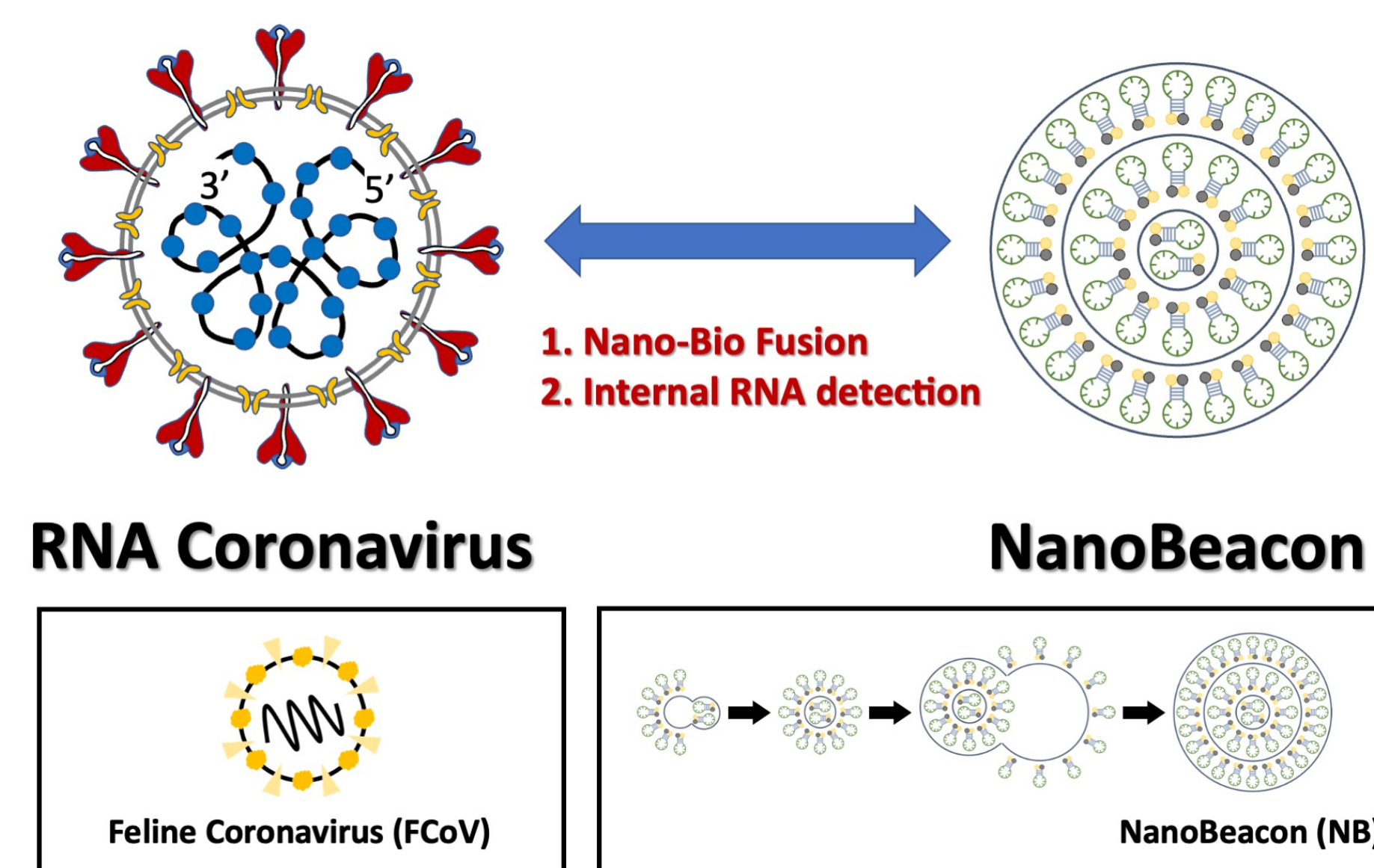
5 In situ Coronavirus Sensing by NanoBeacon (I)



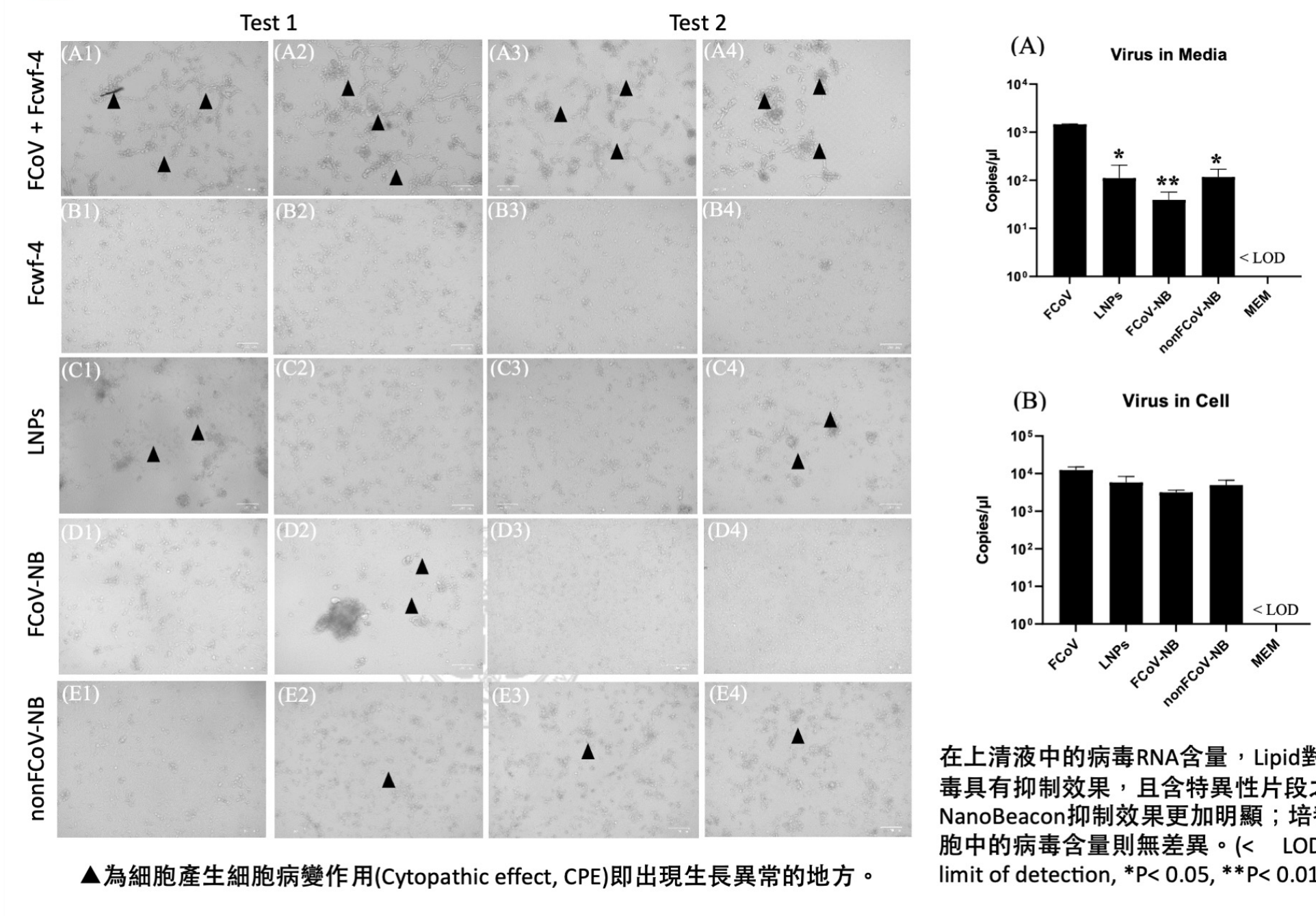
6 In situ Coronavirus Sensing by NanoBeacon (II)



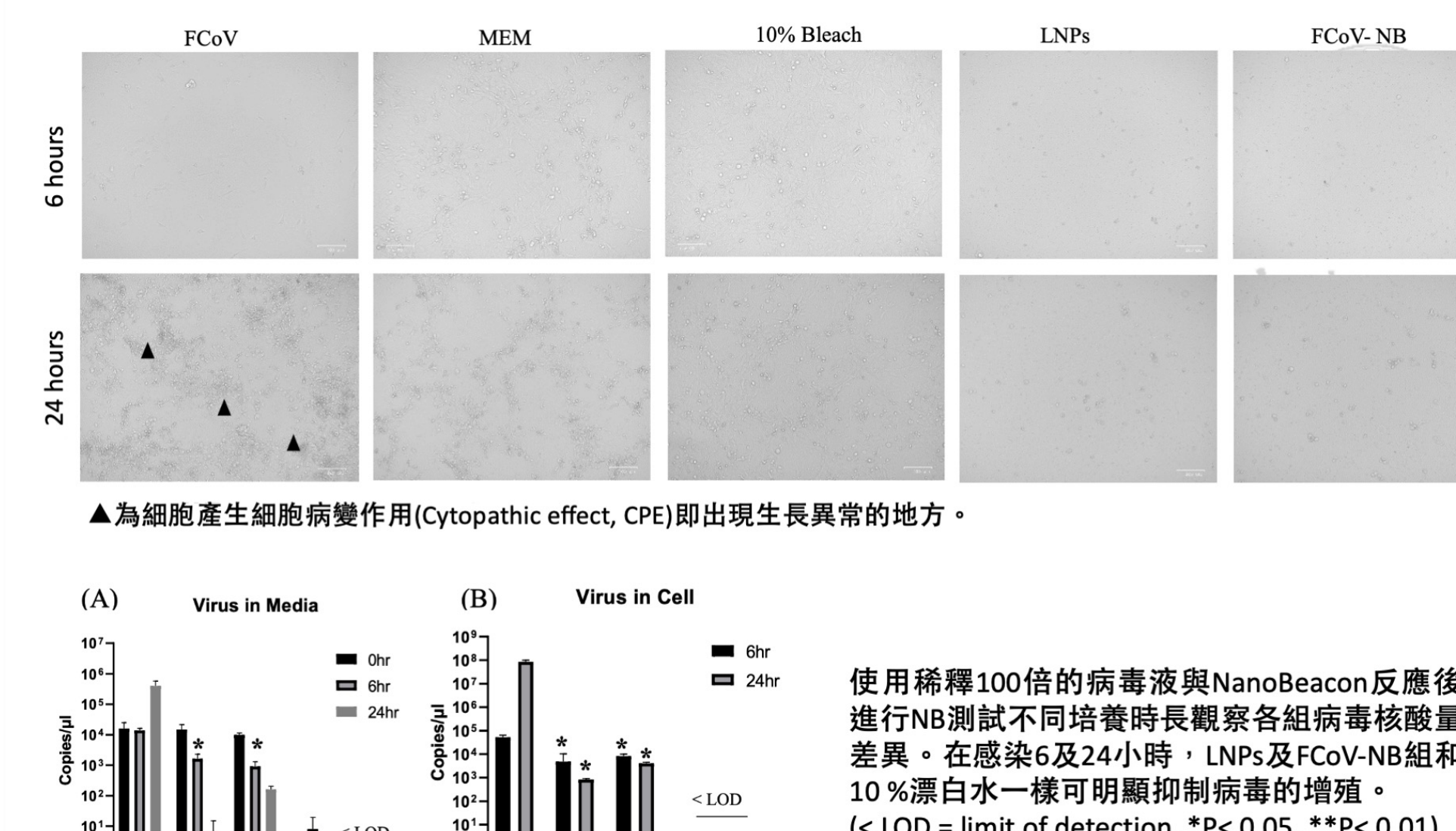
1 Focus on New Proposed Paradigm for Virus Detection: In Situ Hybridization



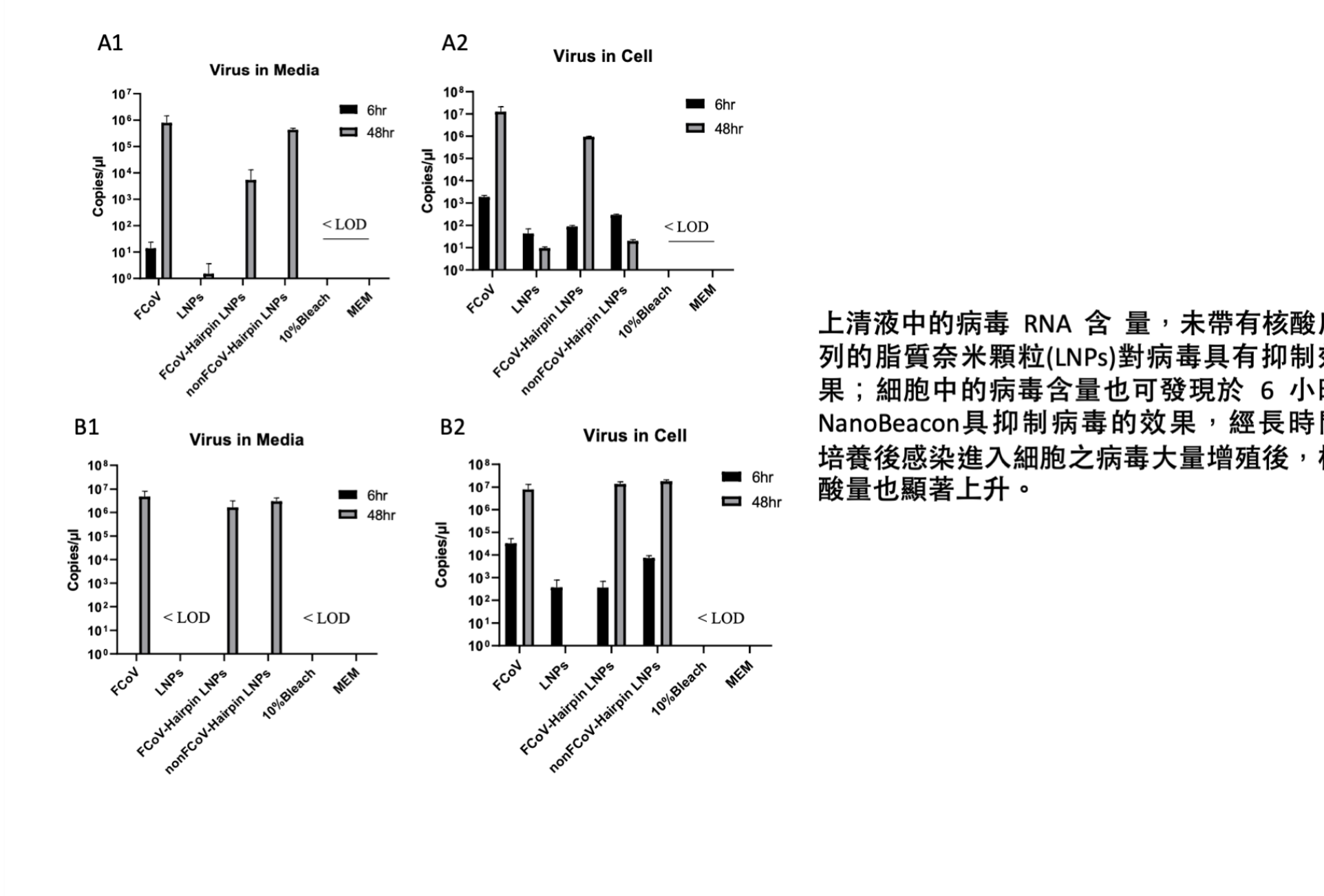
7 Effect of Viral Infection by NanoBeacon (I)



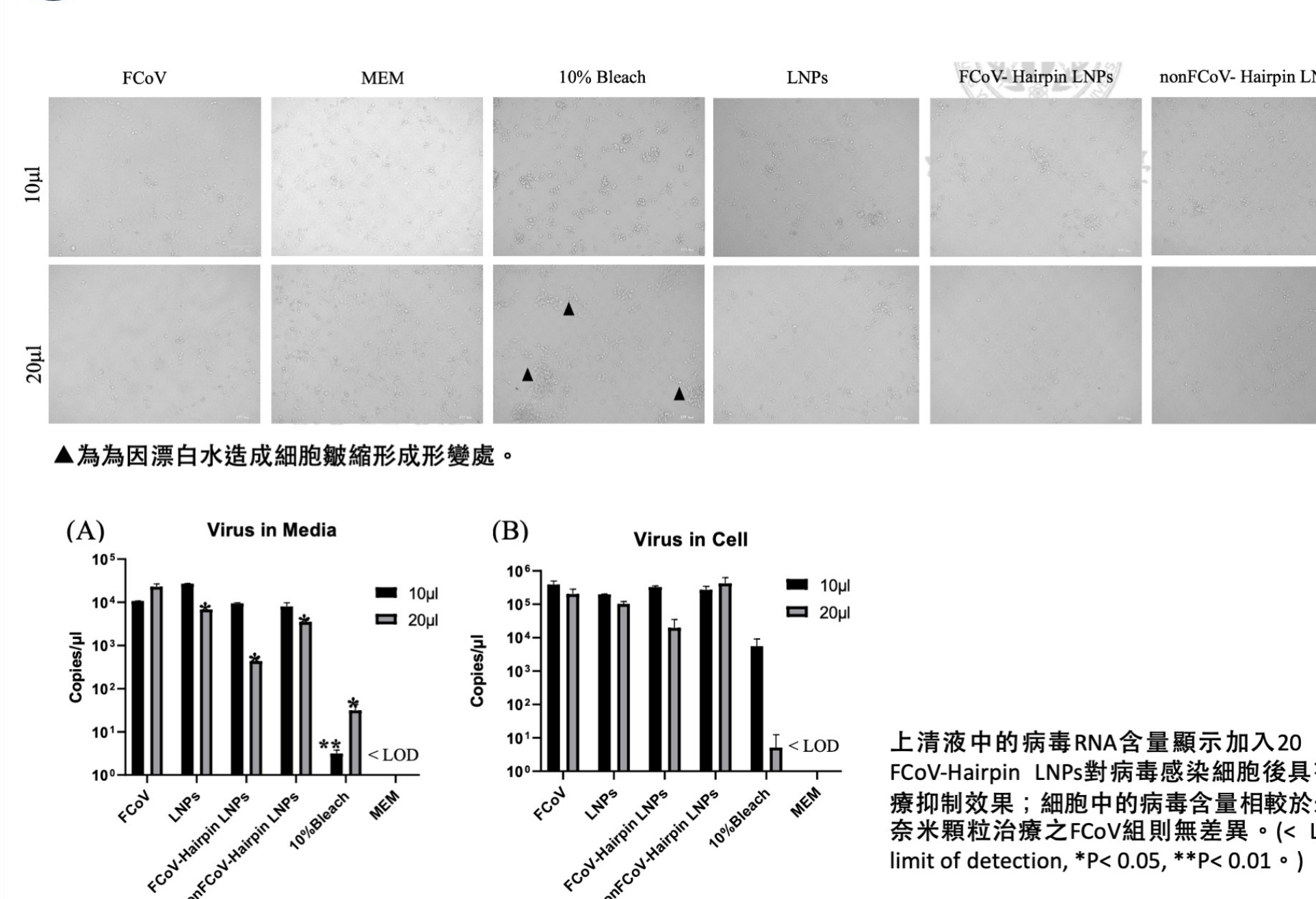
8 Effect of Viral Infection by NanoBeacon (II)



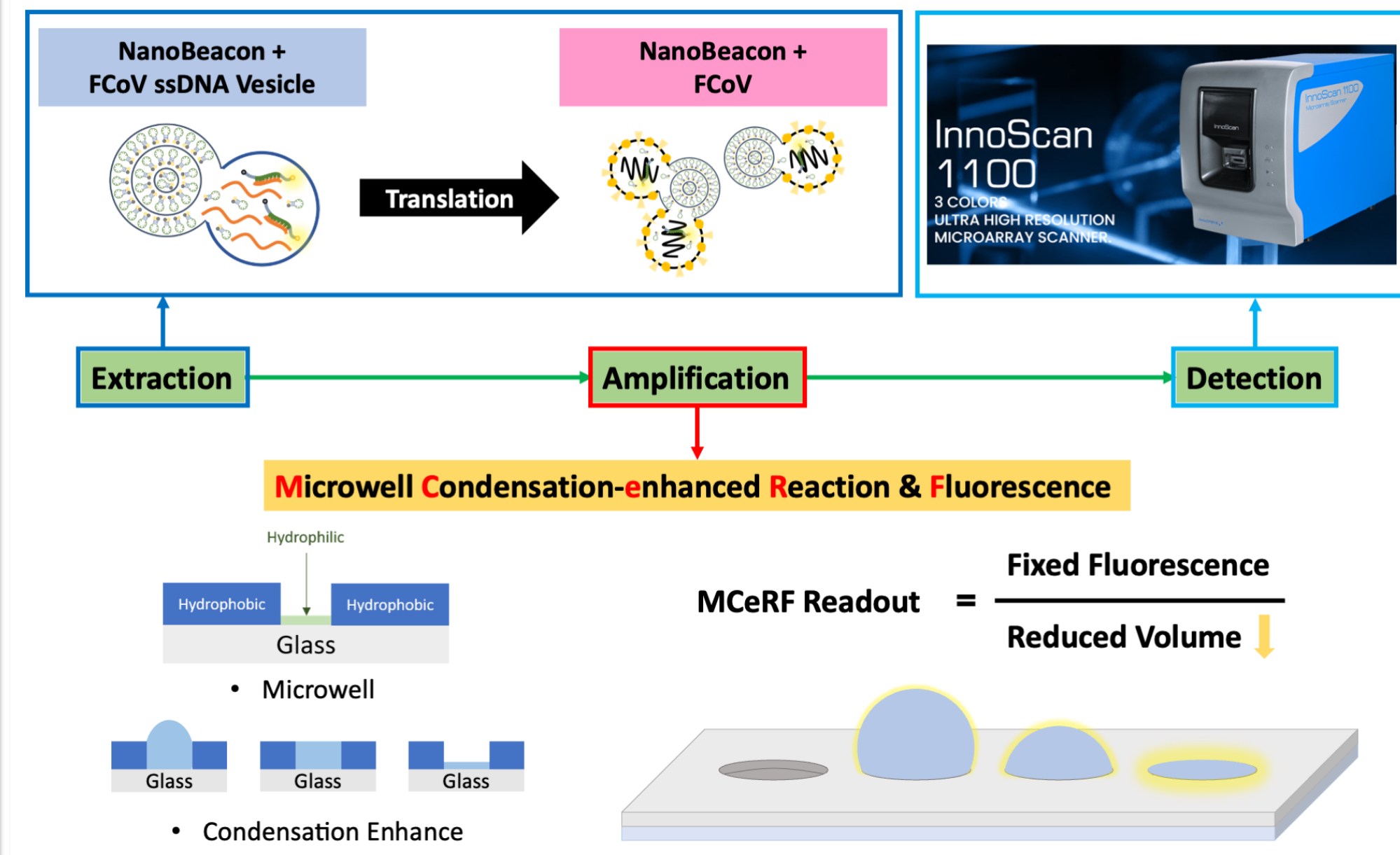
9 Effect of Viral Infection by NanoBeacon (III)



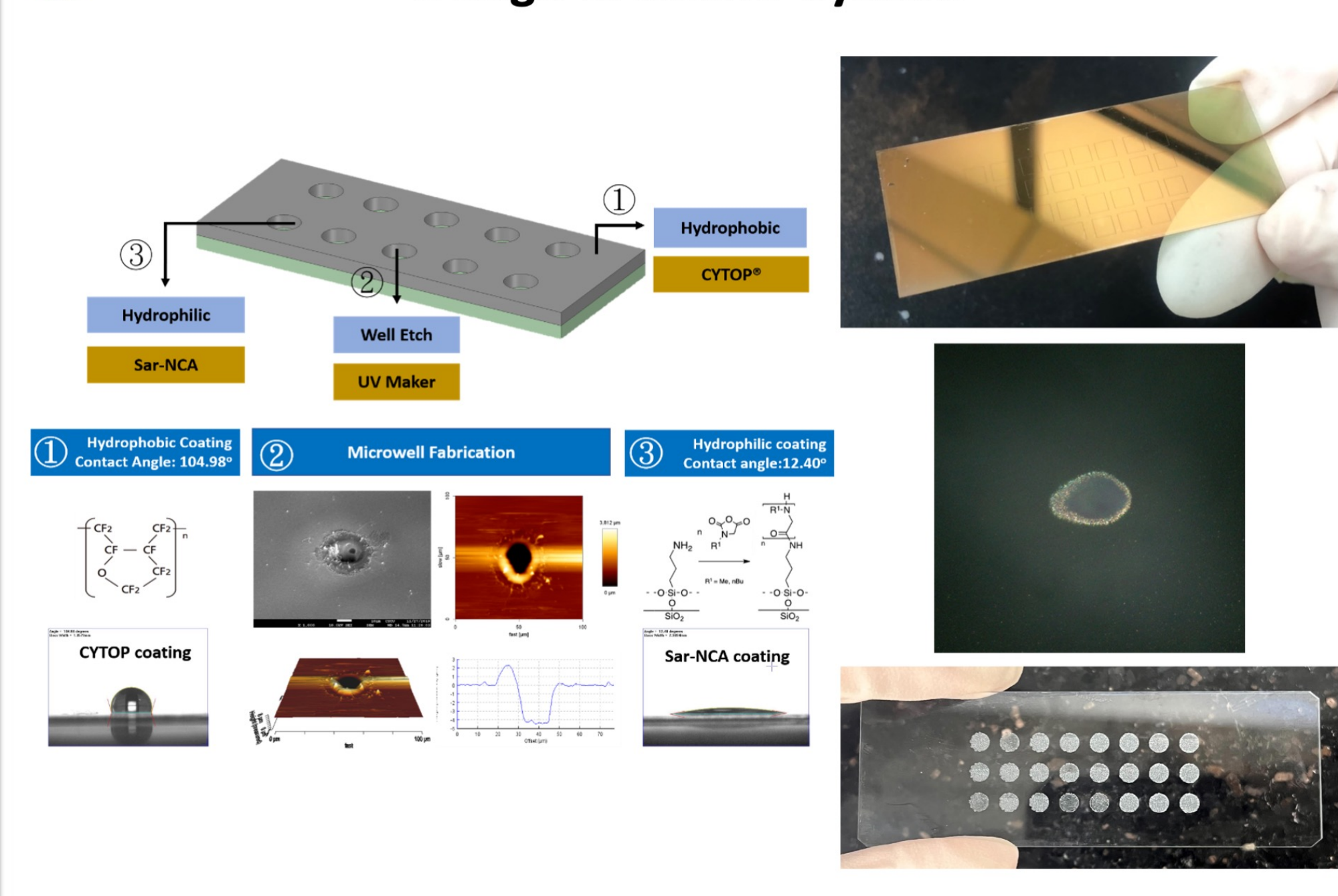
10 Treatment Test of NanoBeacon



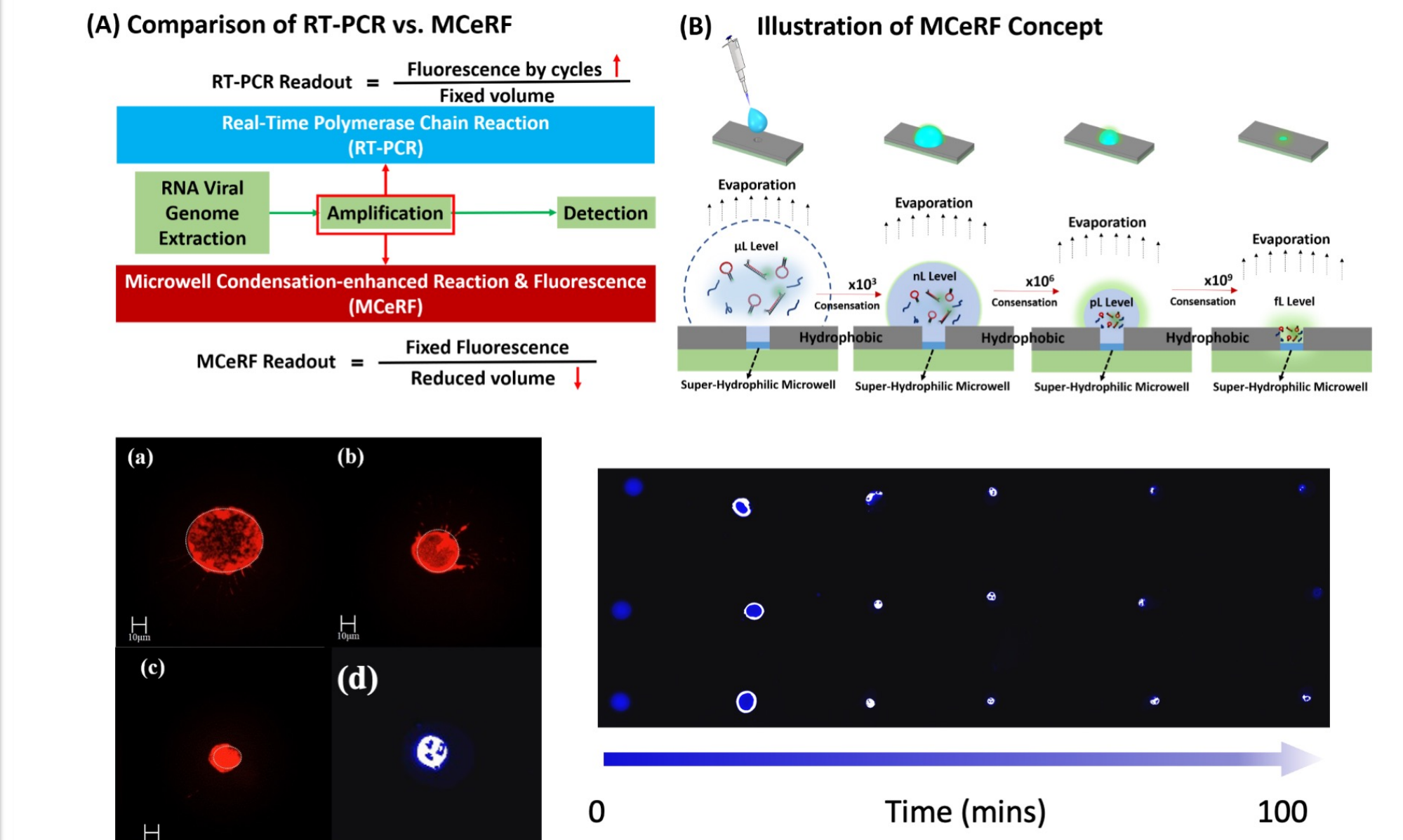
2 Microwell Condensation-enhanced Reaction & Fluorescence: MCeRF System



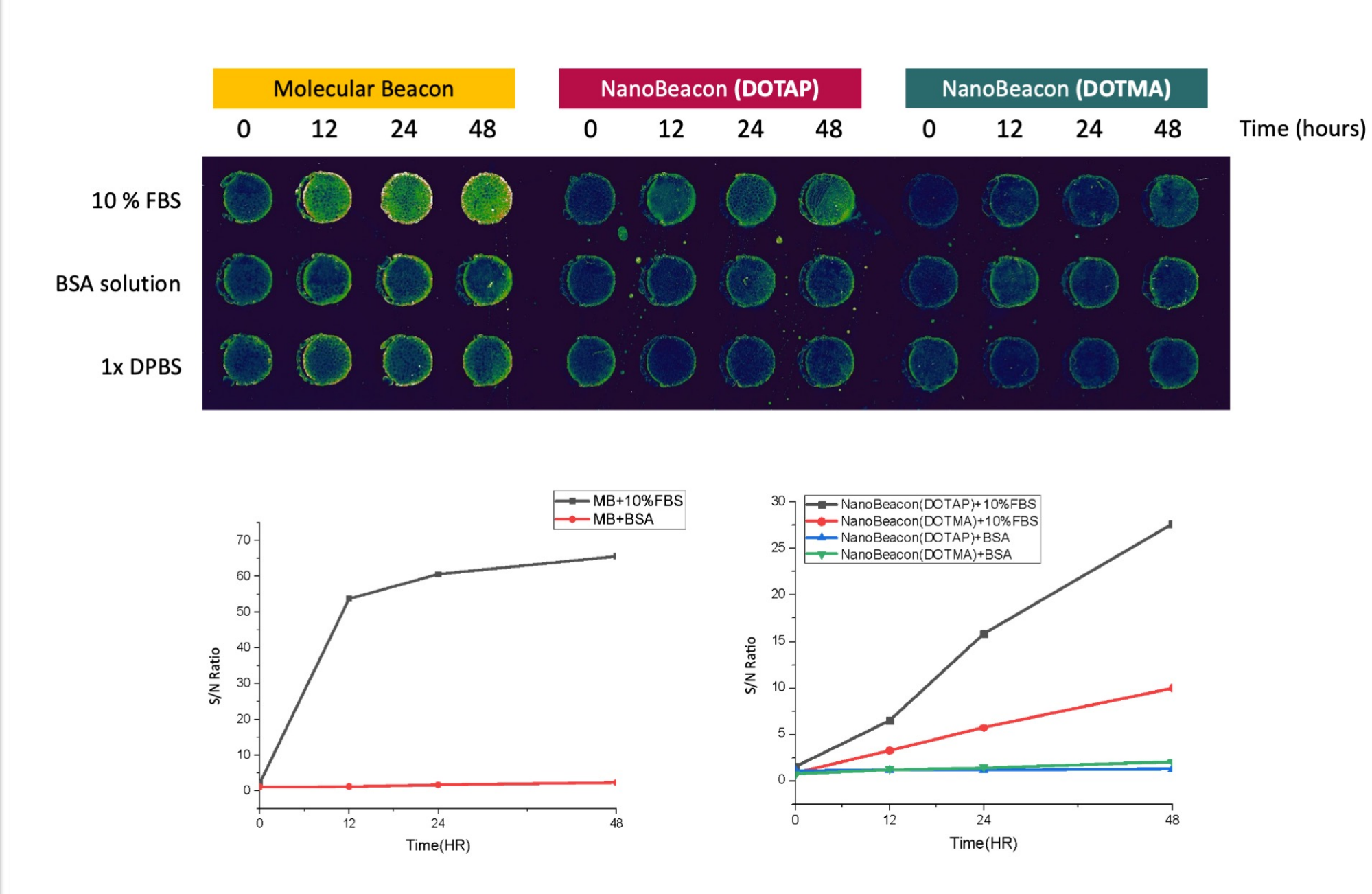
11 Design of MCeRF System



12 Microwell Condensation-enhanced Reaction & Fluorescence(MCeRF): Principle & Proof of concept



13 Readout by MCeRF System



14 Patent Pending (US, TW)

1. Cheng-An Lin*, Rui-Hong Hong, Chih-Chueh Lu, Yi-Nin Chen, "A Device for Reducing the Volume of a Sample, a Kit Comprising the Same, and Uses Thereof", **US Patent Application No. 17/76,195**, 8 April 2022.
2. Cheng-An Lin*, Tzu-Yin Hou, You-Wei Li, Yuh-Show Tsai, Ming-Chen Wang "Device and Method for Performing Total Internal Reflection Scattering Measurement", **US Patent Application No. 17/710,103**, 31 March 2022.
3. 林政鞍*、侯姿吟、李祐璋、蔡育秀、王明誠, "用於執行全內反射散射量測的裝置與方法", 中華民國發明第1798041號, 專利權期間: 自2023年04月01日至2042年3月30日止。

Acknowledgement

• 國科會「奈米科技創新應用計畫-前瞻奈米計畫」MOST 110-2124-M-033-001-
• 中原大學 研究配合款