

doi: 10.12452/j.fxcsxb.25122501

# 基于Ag NCs和CRISPR/Cas13a的疏水纸基SERS传感器检测脑梗患者血清中的miR-943

王紫琦<sup>1</sup>, 陈乐芄<sup>2</sup>, 张兆涵<sup>2</sup>, 张旭东<sup>2</sup>, 李天然<sup>2</sup>, 徐琼<sup>1</sup>,  
杨瑞瑞<sup>3</sup>, 钱亚云<sup>2\*</sup>

(1. 扬州大学医学部(第一临床医学院), 江苏 扬州 225009; 2. 扬州大学医学部(中医药学院), 江苏 扬州 225009; 3. 扬州大学医学部附属无锡市惠山区人民医院, 江苏 无锡 214000)

**摘要:** 该研究基于银纳米立方(Ag NCs)和CRISPR/Cas13a反式切割策略, 构建了一种用于检测脑梗死(CI)患者血清中miR-943的疏水纸基SERS传感器。将Ag NCs组装于疏水纸上初步构建SERS基底, 通过Ag-S键将修饰有Cy5信号分子的单链DNA(ssDNA)固定到疏水纸SERS基底上, 构建疏水纸SERS传感器。目标物miR-943存在时会特异性激活CRISPR/Cas13a的反式切割能力, 使其非特异性切割ssDNA, 使Cy5远离疏水纸SERS基底表面, 导致Cy5在1468 cm<sup>-1</sup>处的特征峰SERS强度降低。该传感器在10 amol/L~10 pmol/L范围内呈现良好线性关系, 相关系数 $r^2=0.986$ , 检出限(LOD)低至1.55×10<sup>-17</sup> mol/L, 并具有优异的特异性与重现性。临床样本检测结果与实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)基本一致。该方法为脑梗死的早期、无创诊断提供了一种可靠且极具潜力的检测方案。

**关键词:** 表面增强拉曼散射; 脑梗; CRISPR/Cas13a; miRNA; 血清; 银纳米立方(Ag NCs)

**中图分类号:** O657.3; S951.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)05-1038-08

## Detection of miR-943 in Serum of Patients with Cerebral Infarction by a Hydrophobic Paper-based SERS Sensor Based on Ag NCs and CRISPR/Cas13a

WANG Zi-xun<sup>1</sup>, CHEN Le-peng<sup>2</sup>, ZHANG Zhao-han<sup>2</sup>, ZHANG Xu-dong<sup>2</sup>, LI Tian-ran<sup>2</sup>,  
XU Qiong<sup>1</sup>, YANG Rui-rui<sup>3</sup>, QIAN Ya-yun<sup>2\*</sup>

(1. The First School of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Faculty of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 3. Affiliated Wuxi Huishan District People's Hospital, Faculty of Medicine, Yangzhou University, Wuxi 214000, China)

**Abstract:** In this study, a hydrophobic paper-based SERS sensor for the detection of miR-943 in the serum of cerebral infarction (CI) patients was constructed based on silver nanocubes (Ag NCs) and CRISPR/Cas13a trans-cutting strategy. Ag NCs were assembled on hydrophobic paper to initially construct the SERS substrate, and single-stranded DNA (ssDNA) modified with Cy5 signaling molecule was immobilized onto the hydrophobic paper SERS substrate through Ag-S bonding to construct the hydrophobic paper SERS sensor. When the target miR-943 was present, specific activation of the trans-cutting ability of CRISPR/Cas13a and nonspecific cleavage of ssDNA kept Cy5 away from the hydrophobic paper SERS substrate indicated that resulted in a decrease in the SERS intensity of the characteristic peak of Cy5 at 1468 cm<sup>-1</sup>. The sensor exhibited good linearity in the range of 10 amol/L to 10 pmol/L ( $r^2=0.986$ ), with a low limit of detection (LOD) of 1.55×10<sup>-17</sup> mol/L and excellent specificity and reproducibility. The detection results of clinical samples were highly consistent with qRT-PCR. Therefore, this method provides a reliable and highly promising assay for the early, noninvasive diagnosis of cerebral infarction.

**Key words:** surface-enhanced Raman scattering; cerebral infarcts; CRISPR/Cas13a; miRNA;

收稿日期: 2025-12-25; 修回日期: 2026-02-06

基金项目: 江苏省自然科学基金面上项目(BK20171290); 江苏省高校自然科学基金重大项目(19KJA480003); 江苏省中医药管理局面上项目(MS2021081); 江苏省产学研合作项目(BY20240547)

\* 通讯作者: 钱亚云, 博士, 教授, 研究方向: 中西医结合基础与临床研究, E-mail: yyqian@yzu.edu.cn

网络首发日期: 2026-03-18

serum; silver nanocubes(Ag NCs)

脑梗死(CI)是由于脑血管急性闭塞导致脑组织缺血、缺氧性坏死,进而引发突发性神经功能缺损的临床综合征,具有发病急、病情进展快的基本特征<sup>[1]</sup>。脑梗死早期临床症状不典型且易被患者忽视,一旦发生不可逆的神经功能缺损,将严重威胁患者生命健康。因此,对脑梗死的早期鉴别和诊断是改善预后及降低致残率的关键。目前,临床确诊脑梗死主要依赖颅脑计算机断层扫描(CT)和磁共振成像(MRI)。然而,CT在发病早期敏感度不足,MRI虽精确但检查耗时、设备昂贵且难以普及至基层医疗机构<sup>[2]</sup>。传统血液生物标志物的检测如糖蛋白、血清淀粉样蛋白A,虽具有无创优势,但其特异性和灵敏性仍有待提高<sup>[3-4]</sup>。因此,发明一种无创、高灵敏度、高特异性的生物标志物检测方法,已成为脑梗死诊断领域亟待突破的关键问题。

微小RNA(miRNA)是一种内源性、非编码的单链小分子RNA,诊断与预后价值备受关注<sup>[5]</sup>。其中,miRNA-943可调控下游靶基因的表达,被证实为一种新型的CI血清生物标志物。研究证实,miR-943在CI后的炎症反应和神经元损伤中发挥调节作用。Lin等<sup>[6]</sup>发现,在脑梗患者血清中,miR-943的表达水平显著提高且与梗塞体积呈正相关,受试者工作特征曲线下面积(AUC)值达0.909,具有极高的诊断潜力。然而,在脑梗死早期阶段,miR-943在体液中的丰度极低、易降解,且存在同源序列干扰,给临床检测带来了严峻挑战<sup>[7]</sup>。此外,现有miRNA检测技术,如实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)、微阵列,存在灵敏度低、操作复杂、依赖大型仪器等问题,难以满足早期筛查的临床需求<sup>[8-9]</sup>。因此,开发一种能够特异性、高灵敏地检测痕量miRNA的检测技术迫在眉睫。

成簇的规则间隔短回文重复序列(CRISPR/Cas)系统是细菌和古细菌用来抵御噬菌体、病毒及质粒等外源物质入侵的一种适应性免疫防御工具<sup>[10]</sup>。CRISPR/Cas系统主要有两个部分:crRNA(识别并引导Cas核酸内切酶到达目标区域)和Cas核酸内切酶(破坏目标基因组位点)<sup>[11]</sup>。因其对靶核酸序列的特异性识别和非特异性核酸内切酶活性,已被广泛用于高灵敏度核酸检测<sup>[12]</sup>。CRISPR相关蛋白主要包括Cas9、Cas12和Cas13。CRISPR/Cas13a是一种RNA酶,由crRNA靶向引导识别目标RNA。当Cas13a/crRNA复合物识别到目标RNA时,Cas13a蛋白的反式切割功能被激活,非特异性切割周围的ssRNA<sup>[13]</sup>。

表面增强拉曼光谱(SERS)因其单分子级检测灵敏度和独特的“分子指纹”识别能力,成为痕量生物标志物检测的理想工具<sup>[14]</sup>。SERS信号的增强主要源于局域表面等离子体共振(LSPR)诱导的电磁增强效应,其强度受纳米材料的尺寸、形状、组成及空间排列等因素影响<sup>[15]</sup>。银纳米立方体具有锐利棱角,能产生极强的局域电磁场“热点”,是实现超高灵敏度SERS检测的理想基底<sup>[16]</sup>;其形貌与尺寸的高度可控性,也为信号均匀性与重现性提供了保障。传统的SERS基底通常借助自组装、气相沉积等技术在硅片、玻璃等硬质基底上构建金属纳米结构,从而形成高密度的增强“热点”<sup>[17-18]</sup>。然而,这类制备方法往往步骤繁琐、成本较高,且对操作技术有特定要求,在实际应用中受到一定限制<sup>[19]</sup>。相比之下,以疏水纸为代表的新型基底,因其成本低廉、制备简便快捷且能通过疏水作用实现待测物的富集<sup>[20]</sup>,为开发简便、高效的SERS检测平台提供了新的思路。

本研究构建了一种基于Ag NCs和CRISPR/Cas13a的疏水纸基SERS传感器,用于检测脑梗患者血清中的miR-943。miR-943存在时,CRISPR/Cas13a反式切割能力激活,非特异性裂解ssDNA,信号分子Cy5远离疏水纸基SERS传感器表面,信号下降。在本方法中,Cy5的拉曼特征峰位于 $1468\text{ cm}^{-1}$ ,其信号强度的降低与靶miRNA的浓度在一定范围内存在线性关系,基于此实现了miR-943的定量测量。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

硫氢化钠(NaHS)、硝酸银( $\text{AgNO}_3$ )、聚乙烯吡咯烷酮(PVP, k30)、乙二醇(EG)、5, 5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、三(2-羧乙基)膦(TCEP)购自上海麦克林生化科技有限公司;CRISPR/Cas13a酶购自南京巨匠生物科技有限公司;crRNA购自南京强发生物科技有限公司;ssDNA和miRNA均购自上海生物工程股份有限公司;PBS缓冲液购自江苏凯基生物技术股份有限公司。超纯水由Milli-Q净化器(电阻率 $> 18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ )获得,实验中使用的核酸序列如表1所示。烧杯均浸入新鲜制备的

王水中, 超纯水清洗干燥后使用。

S-4800II 场发射扫描电子显微镜(SEM)购自日本日立公司; Tecnai G2 F30 场发射透射电子显微镜(TEM)购自美国 FEI 公司; Cary UV-5000 紫外吸收光谱仪(UV-Vis)购自美国安捷伦公司; DXR3xi 拉曼成像显微镜(SRS)购自美国 Thermo Fisher 公司; InVia 激光共焦拉曼光谱仪(Raman)购自英国雷尼绍公司。

表 1 实验中使用的核酸序列  
Table 1 Nucleic sequences used in the experiment

Name	Sequences
miR-943	CUGACUGUUGCCGUCCUCCAG
crRNA	GAUUUAGACUACCCCAAAAACGAAGGGGACUAAAACCTGGAG GACGGCAACAGTCAG
ssDNA	SH/T(59)/Cy5
MT1	CUGACUCUUGCCGUCCUCCAG
MT3	CUGGCUGAUGCCGUUCUCCAG
Random sequence	UCAGGUCAGUAGCGCCGACAG

## 1.2 Ag NCs 的合成

银纳米立方的合成采用多元醇还原法: 首先配制反应溶液, 将 80.5 mg PVP 溶于 4 mL 乙二醇中, 并将 5 mg NaHS 溶于 3 mL 乙二醇作为母液。取 100  $\mu$ L 母液加入 900  $\mu$ L 乙二醇稀释 10 倍; 将 0.023 g  $\text{AgNO}_3$  溶于 0.25 mL 乙二醇备用。反应时, 取 3 mL 乙二醇置于反应瓶中, 加入磁子, 在 150  $^\circ\text{C}$  浴锅中 350 r/min 搅拌 1 h; 随后加入 50  $\mu$ L 稀释后的 NaHS 溶液, 搅拌 10 min; 接着迅速加入 0.75 mL PVP 溶液和 0.25 mL  $\text{AgNO}_3$  溶液, 搅拌反应 20 min, 20  $^\circ\text{C}$  水浴冷却终止反应, 产物 7 000 r/min 离心 20 min, 去除上清液, 加入 2 mL 去离子水, 再次离心(10 000 r/min, 10 min)3 次, 最终获得银纳米立方。

## 1.3 SERS 传感器的制备

第一步, 将 Ag NCs 组装到疏水纸衬底上。将疏水纸固定在玻璃片表面, 使用超纯水和乙醇冲洗多次, 去除表面的污渍。将 Ag NCs 溶液滴加到离型纸表面, 室温下晾干备用。第二步, 将 Cy5@ssDNA 修饰到 Ag NCs 疏水纸基衬底上。首先, 将 TCEP(0.5 mol/L, 5  $\mu$ L) 溶液与 Cy5@ssDNA(5  $\mu$ mol/L, 100  $\mu$ L) 混合, 随后将疏水纸浸没其中, 于 37  $^\circ\text{C}$  下孵育 12 h 形成银硫键, 此时 Cy5@ssDNA 连接到 Ag NCs 表面。用 PBS 缓冲液洗涤 3 次, 即得 Cy5@ssDNA@Ag NCs 疏水纸基 SERS 传感器。

## 1.4 SERS 检测

将 Cas13a(5  $\mu$ mol/L, 1  $\mu$ L) 和 crRNA(0.5  $\mu$ mol/L, 8  $\mu$ L) 于 37  $^\circ\text{C}$  预孵育 10 min, 随后将 10 $\times$  缓冲液(2  $\mu$ L) 和待测溶液加入到 Cas13a/crRNA 复合物中, 用无酶水补充到 20  $\mu$ L, 滴加在 Cy5@ssDNA@Ag NCs 疏水纸基 SERS 传感器表面, 于 37  $^\circ\text{C}$  条件下反应 2 h。反应结束后, 用 PBS 缓冲液冲洗 3 次, 以去除残留的 ssDNA 碎片, 随后进行 SERS 检测。使用 InVia 激光共焦拉曼光谱仪进行检测, 激光强度为 5 mW, 激发波长为 785 nm, 曝光时间为 10 s。SERS 传感器的制备及其对 miR-943 的检测示意图见图 1。

## 1.5 临床样本的采集与处理

从 15 名健康男性和 15 名健康女性中收集 30 份血清样本, 从脑梗死患者(17 名男性和 13 名女性)中收集 30 份血清样本。血清样本均来源于扬州大学医学部附属无锡市惠山区人民医院, 受试者均已签署知情同意书, 并经扬州大学医学部附属无锡市惠山区人民医院伦理委员会批准。所有血清标本均于 -80  $^\circ\text{C}$  下储存。

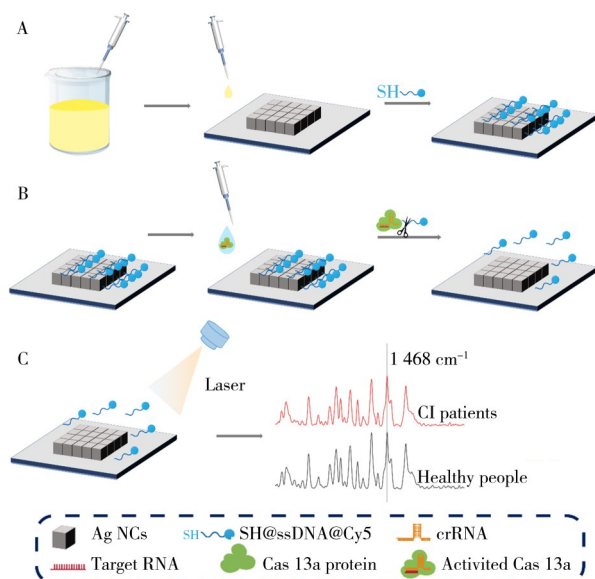


图 1 疏水纸基 SERS 传感器的制备(A); 基于 Ag NCs 和 CRISPR/Cas13a 的疏水纸基 SERS 传感器检测血清中 miR-943(B-C)

Fig. 1 Preparation of SERS sensor(A); detection of miR-943 in serum by a hydrophobic paper-based SERS sensor based on Ag NCs and CRISPR/Cas13a(B-C)

## 2 结果与讨论

### 2.1 Ag NCs的表征

图2A和图2B分别为液滴悬浮于疏水纸表面和干燥后的实物图。对制备的Ag NCs进行TEM分析,结果显示Ag NCs直径约为70 nm,形态尺寸均匀一致(图2C~D),其HRTEM图像见图2E,插图为Ag NC的晶格条纹放大图像,该晶体条纹间距为0.168 nm。Ag NCs的紫外-可见吸收光谱在508 nm处显示局域表面等离子体共振(LSPR)吸收峰(图2F)。SEM图显示(图2G),Ag NCs在疏水纸表面紧密排列堆积。为评估Ag NCs作为衬底增强信号的能力,进行了纯DTNB溶液( $1 \times 10^{-2}$  mol/L)与DTNB( $1 \times 10^{-8}$  mol/L)标记的Ag NCs的对比实验,结果表明,纯DTNB显示出非常低的SERS信号,而DTNB标记的Ag NCs的SERS信号则显著增强(图2H),证明Ag NCs具有良好的SERS增强效果。SERS增强效果可通过拉曼增强因子(EF)进行定量比较,由以下公式计算:

$$EF = \frac{(I_{\text{SERS}}/C_{\text{SERS}})}{(I_{\text{RS}}/C_{\text{RS}})} \quad (1)$$

式中, $I_{\text{SERS}}$ 和 $I_{\text{RS}}$ 分别代表标记Ag NCs的DTNB信号强度和纯DTNB的信号强度, $C_{\text{SERS}}$ 和 $C_{\text{RS}}$ 分别代表标记Ag NCs的DTNB浓度和纯DTNB的浓度。基于DTNB在 $1329 \text{ cm}^{-1}$ 处特征峰的强度进行计算,根据方程(1)得到Ag NCs的EF值为 $8.02 \times 10^8$ ,表明Ag NCs衬底具有明显的SERS增强效果。

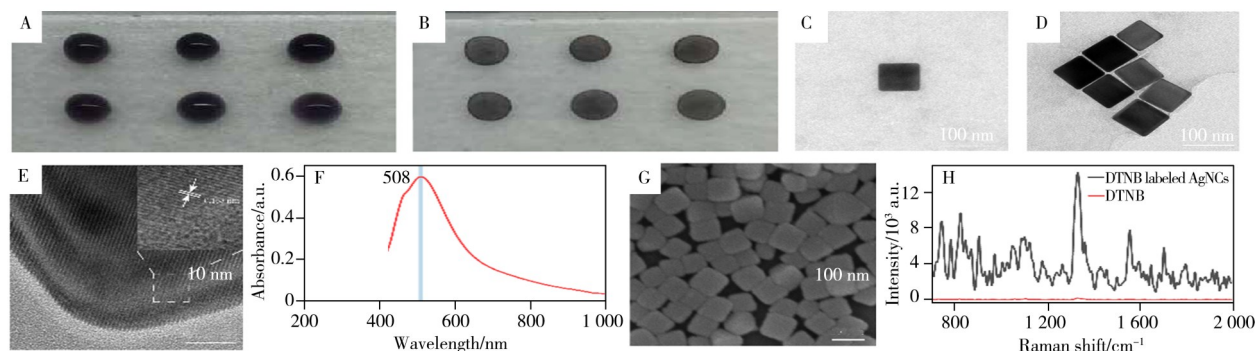


图2 液滴悬浮于疏水纸表面(A)及干燥后的实物图(B);单个(C)及多个(D)Au NCs的TEM图像;Au NCs的晶格条纹及其放大图像(E);Au NCs的UV-Vis吸收光谱(F);疏水纸基Au NCs阵列的SEM图像(G);纯DTNB溶液( $1 \times 10^{-2}$  mol/L)和DTNB( $1 \times 10^{-8}$  mol/L)标记的Au NCs阵列的SERS光谱(H)

Fig. 2 Droplets suspended on the surface of the hydrophobic paper(A) and the physical image after droplet drying(B); TEM images of a single(C) and multiple Au NCs(D); lattice fringes of Au NCs and their magnified images(E); UV-Vis absorption spectra of Au NCs(F); SEM image of hydrophobic paper-based Au NCs arrays(G); DTNB( $1 \times 10^{-2}$  mol/L) and DTNB ( $1 \times 10^{-8}$  mol/L) labeled SERS spectra of AuNCs(H)

### 2.2 实验条件优化

为提升SERS传感器的性能,本研究对温度、ssDNA浓度和反应时间进行优化。如图3A所示,37 °C时SERS强度最高,因此选择37 °C为检测温度。图3B表明,Cy5在 $1468 \text{ cm}^{-1}$ 处的特征峰强度随着ssDNA浓度的增加而升高,当ssDNA浓度为 $1 \mu\text{mol/L}$ 时,ssDNA在Ag NCs阵列上的组装趋于饱和,拉曼信号逐渐稳定。因此选择ssDNA浓度为 $1 \mu\text{mol/L}$ 。滴加CRISPR/Cas13a复合物溶液和miR-943反应,特征峰在 $1468 \text{ cm}^{-1}$ 处的强度随着检测时间的延长而逐渐减弱(图3C)。这一趋势归因于被miR-943激活的CRISPR/Cas13a酶对SERS传感器上修饰Cy5的ssDNA反式切割完全。最终确定120 min为最佳反应时间。

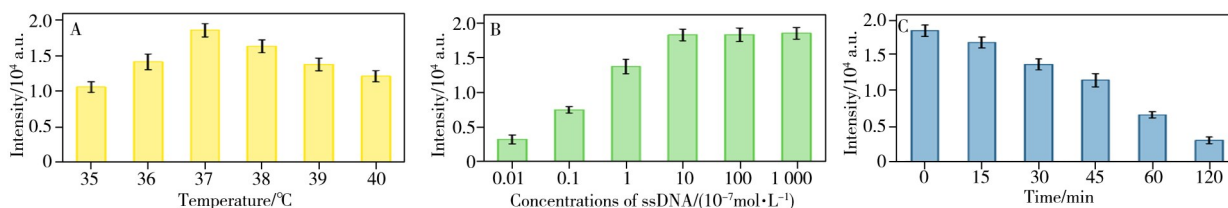


图3 不同反应温度(A)、不同ssDNA浓度(B)及不同反应时间(C)下 $1468 \text{ cm}^{-1}$ 处的SERS信号强度

Fig. 3 SERS signal intensity at  $1468 \text{ cm}^{-1}$  for different reaction temperatures(A), different ssDNA concentrations(B) and different reaction times(C)

### 2.3 SERS 传感器的特异性、均匀性和重现性

本研究通过使用纯 CRISPR/Cas13a、单碱基错配序列 MT1-943 和三碱基错配序列 MT3-943 以及随机序列各 1 pmol/L 作为阴性对照, 考察所构建的 SERS 传感器的特异性。尽管不同 miR 之间存在序列差异, 但由于其浓度极低, 在 SERS 谱图中的特征峰远不如拉曼信号分子明显, 对后者的拉曼强度几乎无影响。阴性对照物和目标物 miR-943 加入疏水纸基 SERS 传感器后呈现的 SERS 光谱如图 4A 所示, Cy5 在  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  处的拉曼特征峰强度见图 4B。各种非靶标 miRNA 表现出高度相似性, 加入 CRISPR/Cas13a 酶后, 其拉曼信号几乎不下降。与非靶标 miRNA 组和空白对照相比, miR-943 阳性组的特征峰强度在  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  处显著降低。上述结果表明 CRISPR/Cas13a 酶在 miR-943 不存在时无切割能力, 且可被 miR-943 特异性激活展示出反式切割能力, 在对 miR-943 的检测中表现出明显的特异性。在疏水纸基 SERS 传感器表面随机选择 10 个检测位点, 其 SERS 光谱如图 4C 所示, 图 4D 为 Cy5 在  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  处的拉曼特征峰强度。制备 3 个批次的疏水纸基 SERS 传感器以评估其重现性, 其 SERS 光谱如图 4E 所示, 图 4F 为对应的  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  处的拉曼特征峰强度, 3 个批次展现出高度的一致性, 相对标准偏差(RSD)为 1.1%, 证明制备的疏水纸具有良好的重复性。

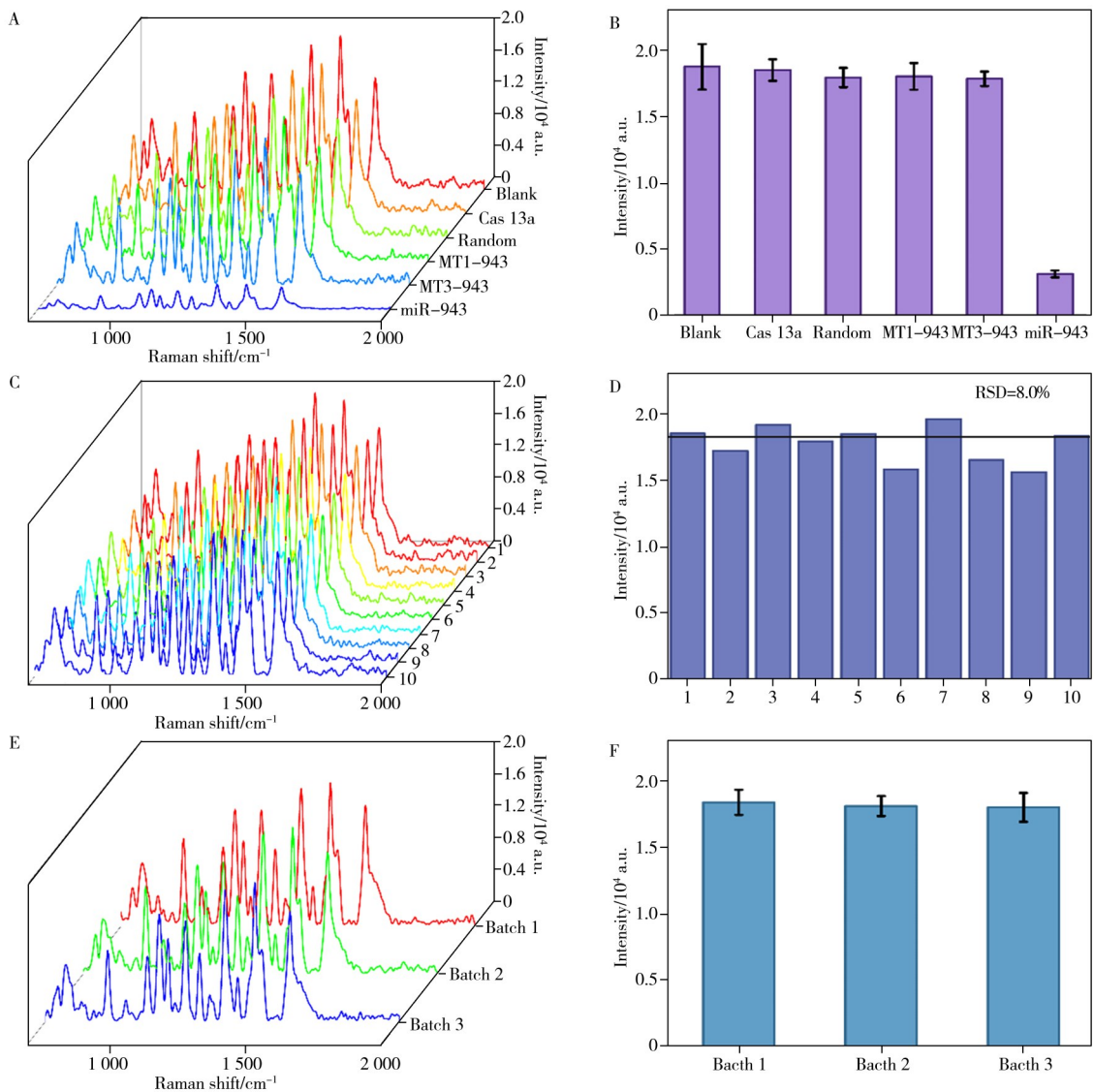


图4 疏水纸基SERS传感器与不同目标反应获得的 SERS 光谱(A)及其在  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  处的拉曼特征峰强度(B); 疏水纸基 SERS 传感器表面随机选择的 10 个检测位点的 SERS 光谱(C)及其在  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  处的拉曼特征峰强度(D); 不同批次制备的疏水纸基 SERS 传感器的 SERS 光谱(E)及其在  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  处的拉曼特征峰强度(F)

Fig. 4 SERS spectra obtained by the hydrophobic paper-based SERS sensor reacting with different targets (A) and the intensity of the Raman characteristic peak at  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  (B); SERS spectra obtained from 10 randomly selected detection sites on the surface of hydrophobic paper-based SERS sensors (C) and the intensity of the Raman characteristic peak at  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  (D); SERS spectra of hydrophobic paper-based SERS sensors prepared under different batches (E) and the intensity of the Raman characteristic peak at  $1\,468\text{ cm}^{-1}$  (F)

### 2.4 不同浓度miR-943的定量检测

用无酶水对miR-943进行连续稀释，获得一系列不同浓度(10 amol/L、100 amol/L、1 fmol/L、10 fmol/L、100 fmol/L、1 pmol/L、10 pmol/L)的miR-943，在优化条件下进行测定，图5A为采用疏水纸基SERS传感器测定不同浓度miR-943得到的SERS光谱。结果显示，Cy5在1468 cm<sup>-1</sup>处的特征峰强度随着miR-943浓度的增加逐渐降低，并与miR-943浓度的对数在10 amol/L~10 pmol/L范围内呈线性关系，线性回归方程为 $y=15\ 622.37-1\ 754.39x$ ，相关系数( $r^2$ )为0.986，以无目标物时的SERS信号强度与其3倍标准差之间的差值计算得到检出限(LOD)为 $1.55\times 10^{-17}$  mol/L。

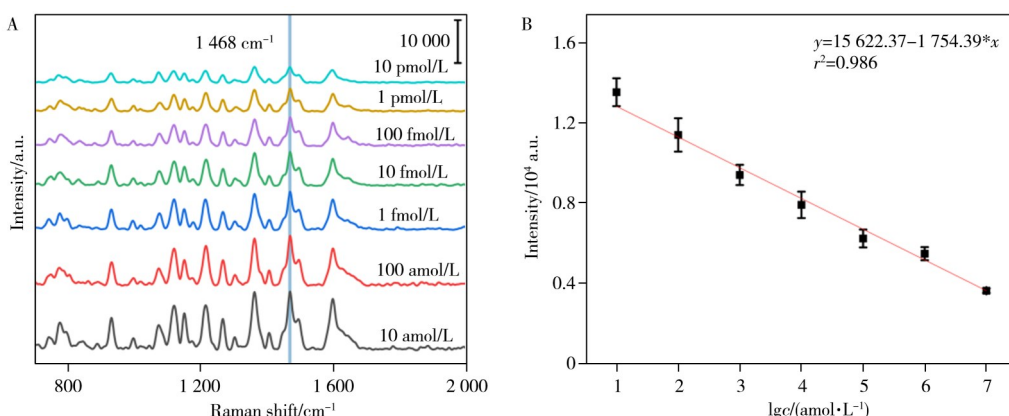


图5 SERS传感器与不同浓度miR-21反应的SERS光谱(A); miR-943浓度的对数与1468 cm<sup>-1</sup>处SERS强度的线性曲线(B)  
Fig. 5 SERS spectra obtained by the SERS sensor reacting with different concentrations of miR-21(A); linear curve of the logarithm of miR-943 concentration versus the SERS intensity at 1468 cm<sup>-1</sup>(B)

### 2.5 与其他方法的对比研究

为准确评估本方法的性能，将其与近年来报道的miRNA检测方法进行对比，如表2所示。在检出限方面，本疏水纸基SERS传感器的LOD值较其他方法低1~4个数量级；在线性范围上，本方法的线性覆盖范围为10 amol/L~10 pmol/L，起始浓度更低，更适用于痕量miRNA的检测。这主要得益于Ag NCs在疏水纸衬底密集分布提供的SERS增强效应(EF值为 $8.02\times 10^8$ )和CRISPR/Cas13a对目标miRNA的特异性识别与反式切割能力，协同实现了对痕量miRNA的高灵敏、高特异性检测。综上，本方法在灵敏度和线性范围方面具有综合优势，为脑梗死患者早期无创检测提供了可靠方法。

### 2.6 脑梗患者的临床诊断

图6A、B分别为扬州大学医学部附属无锡市惠山区人民医院一名非脑梗患者和一名CI患者的MRI图片。图6A中脑灰质与白质分界清晰，脑沟、脑回形态自然，且整个脑实质信号均匀，未见局灶性异常信号。图6B图像局部脑组织出现明显的高信号，同时伴有脑结构扭曲、脑沟变浅，且病变区域与正常脑组织分界模糊，符合脑梗死急性期细胞毒性水肿的典型影像表现，与左侧健康脑组织形成鲜明对比，证实右侧为CI患者。

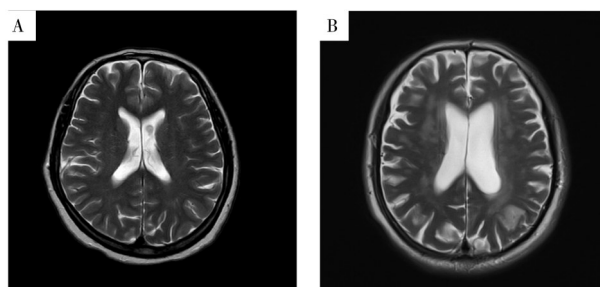


图6 健康人(A)与CI患者(B)的MRI图像  
Fig. 6 MRI images of a healthy person(A) and a patient with CI(B)

表2 本方法与其他miRNAs检测方法的比较  
Table 2 Comparison of this work with other miRNAs detection methods

Method	miRNA	Linear range	LOD	Reference
Electrochemical	miR-205	0.1 pmol/L~10 μmol/L	28 fmol/L	[21]
Fluorescence	miR-155	1 pmol/L~5 nmol/L	0.23 nmol/L	[22]
Fluorescence	miR-126	0.1 pmol/L~10 nmol/L	50 fmol/L	[23]
SERS	miR-375	10 fmol/L~1 nmol/L	10 fmol/L	[24]
SERS	miR-943	10 amol/L~10 pmol/L	15.5 amol/L	This work

## 2.7 实际临床样本检测

为更深入地评估本疏水纸SERS传感器在真实临床场景下的准确度与可靠性,对30名健康个体和30名CI患者血清样本中的miR-943表达水平进行SERS分析。图7A为两组受试者血清样本的平均SERS光谱,图7B为其在 $1468\text{ cm}^{-1}$ 处拉曼峰强度。可见CI患者组的拉曼信号强度明显低于健康受试组,证明CI患者血清中的miR-943表达水平明显高于健康个体,进一步证明了miR-943与脑梗死的发生密切相关。

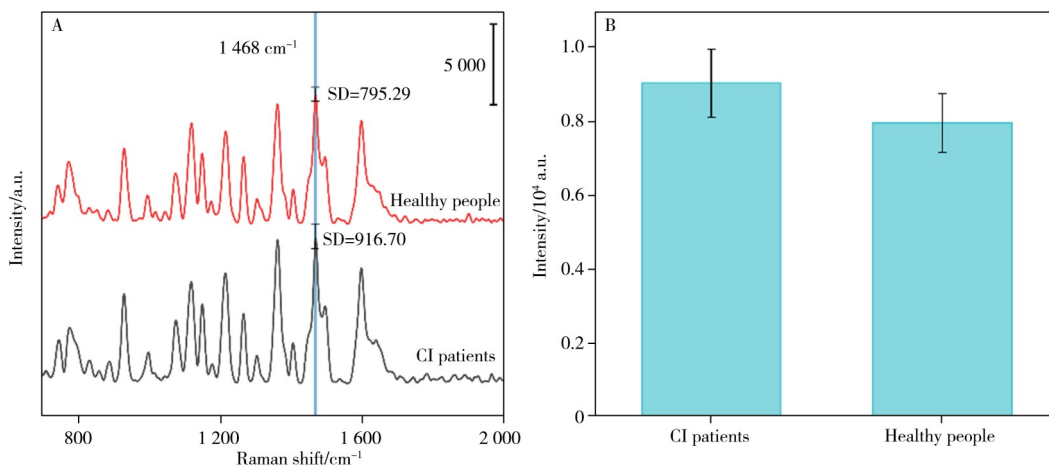


图7 通过SERS传感器测量的CI患者和健康人血清的平均SERS光谱(A)及 $1468\text{ cm}^{-1}$ 处的SERS强度(B)

Fig. 7 Average SERS spectra of sera from CI patients and healthy individuals measured by the SERS sensor (A) and SERS intensity at  $1468\text{ cm}^{-1}$  (B)

使用qRT-PCR方法进行验证,SERS和qRT-PCR对血清样品中miR-943表达水平的检测结果如表3所示。对于健康个体,两种方法间的相对误差(ER)为9.1%,而脑梗死患者为-5.6%,均在可接受范围内。表明本疏水纸SERS传感器检测结果与实时qRT-PCR检测结果无显著差异,在检测miR-943表达水平与CI筛查中具有可靠性和准确性。

表3 SERS和qRT-PCR对血清样品中miR-943的检测结果

Table 3 Results of miR-943 expression in serum samples utilizing SERS and qRT-PCR

Sample	SERS/( $\text{fmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	qRT-PCR/( $\text{fmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	ER/%
Health people	$5.729\pm 2.26$	$6.518\pm 2.18$	9.1
CI patients	$23.482\pm 13.64$	$21.703\pm 14.51$	-5.6

## 3 结论

本文基于Ag NCs和CRISPR/Cas13a反式切割策略,制备了用于检测脑梗死患者血清中miR-943的疏水纸SERS传感器。本研究合成的Ag NCs形貌尺寸均匀,在疏水纸上密集分布,表现出大量均匀分布的“热点”,可使SERS信号显著增强。在 $10\text{ amol/L}\sim 10\text{ pmol/L}$ 浓度范围内,miR-943浓度的对数与 $1468\text{ cm}^{-1}$ 处的SERS强度之间呈线性相关,相关系数为( $r^2$ )0.986,LOD低至 $1.55\times 10^{-17}\text{ mol/L}$ 。检测结果与qRT-PCR无显著差异。本研究构建的疏水纸基SERS传感器成本低廉且易于制备,可利用疏水作用实现液态样本的富集,操作简便,在脑梗生物标志物早期无创筛查领域具有广阔前景。

### 参考文献:

- [1] Poblete R A, Zhong C R T, Patel A, Kuo G, Sun P Y, Xiao J Y, Fan Z Y, Sanossian N, Towfighi A, Lyden P D. *Neurol. Int.*, **2024**, 16(1): 95-112.
- [2] Zhao Y F, Zhang X J, Chen X Y, Wei Y. *Int. J. Mol. Med.*, **2021**, 49(2): 15.
- [3] Tong X, Chen W W, Xia Y, Wang Y M, Liu S S, Jia Y L, Wang J X, Huang L H. *Anal. Chem.*, **2025**, 97(28): 14943-14955.
- [4] Xu Y, Xu Y, Li Y, Liu R, Wu A, Zhou R, Mao D. *Altern. Ther. Health Med.*, **2024**, 30(9): 47-53.
- [5] Liu X S, Chopp M, Zhang R L, Zhang Z G. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **2013**, 72(8): 718-722.
- [6] Lin S, Chen J B. *Arch. Biochem. Biophys.*, **2026**, 775: 110667.
- [7] Sun Y, Shi L, Mi L, Guo R, Li T. *J. Mater. Chem. B*, **2020**, 8(24): 5178-5183.

- [8] Soleimanpour B, Mochon J J D, Pernagallo S. *Cancers*, **2025**, 17(16): 2715.
- [9] Kilic T, Erdem A, Ozsoz M, Carrara S. *Biosens. Bioelectron.*, **2018**, 99: 525–546.
- [10] Zhang D Q, Zhang Z Y, Unver T, Zhang B H. *J. Adv. Res.*, **2021**, 29: 207–221.
- [11] Yang H, Patel D J. *Nat. Chem. Biol.*, **2024**, 20(6): 673–688.
- [12] Feng W, Newbigging A M, Tao J, Cao Y R, Peng H Y, Le C, Wu J J, Pang B, Li J, Tyrrell D L, Zhang H Q, Le X C. *Chem. Sci.*, **2021**, 12(13): 4683.
- [13] Hillary V E, Ceasar S A. *Mol. Biotechnol.*, **2023**, 65(3): 311–325.
- [14] Cialla-May D, Bonifacio A, Bocklitz T, Markin A, Markina N, Fornasaro S, Dwivedi A, Dib T, Farnesi E, Liu C, Ghosh A, Popp J. *Chem. Soc. Rev.*, **2024**, 53(18): 8957–8979.
- [15] Nanda B P, Rani P, Paul P, Aman, Ganti S S, Bhatia R. *J. Pharm. Anal.*, **2024**, 14(11): 100959.
- [16] Lu M C, Chen C H, Yang Y C, Chiu C W. *Mater. Today Nano*, **2025**, 29(1): 00601.
- [17] Tan Y H, Zhou Z Y, Xu Y T, Xie A T, Wu S Q, Xue C G. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2024**, 416(4): 1047–1056.
- [18] Chin-Heng L, Chun-Hung T, Lin D Z. *Spectrochim. Acta A*, **2024**, 306: 123563.
- [19] Ying Y, Tang Z Y, Liu Y L. *Nanoscale*, **2023**, 15(26): 10860–10881.
- [20] Sun H M, Li X T, Hu Z Y, Gu C J, Chen D, Wang J, Li B, Jiang T, Zhou X F. *Appl. Surface Sci.*, **2021**, 556: 149748.
- [21] Xie X, Chen C, Chen W, Qin Y, Xiang S, Jiang J, Chen X, Li J. *Microchim. Acta*, **2024**, 191(9): 545.
- [22] Cao L P, Wang Y, Bai Y, Jiang Y J, Li C M, Li Y F, Huang C Z, Zhen S J. *J. Mater. Chem. C*, **2022**, 10(48): 18258–18263.
- [23] Liu L K, Wang X N, Li Y, Liu J W. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **2023**, 11: 1081488.
- [24] Tang C X, Huang Z P, Li H X, Zhang R, Yu G P, Kong J L, Chen H, Weng W H. *Sens. Diagn.*, **2023**, 2(6): 1553–1560.

(责任编辑: 盛文彦)