文章编号: 1007 − 4252(2024)06 − 0341 − 08 DOI: 10.20027/j.gncq.2024.0044

基于人工智能和微流控液滴芯片的数字 PCR 芯片识别系统的研究

谭天晔[1], 林 博[2,*]

(1. 上海华师大二附中普陀校区, 上海 200333; 2. 中国科学院上海微系统与信息技术研究所, 上海 200050)

摘要: 本研究针对新型冠状病毒(SARS-CoV-2)检测所面临的挑战, 开发了一种基于微流控芯片和人工智能算法的数字聚合酶链式反应(PCR)液滴识别系统。在该系统中, 利用半导体加工技术构建的微流控结构能够精确控制微滴生成, 从而确保了液滴的均一性和稳定性。结合高斯模糊技术和阈值分割算法, 通过预训练的神经网络模型对液滴进行智能识别和计数, 显著提高了检测灵敏度和准确性。实验结果显示, 液滴识别准确率达 99.41%, 阳性样本识别准确率为 99.09%, 证明了该系统在即时诊断场景中的潜在应用价值。

关键词: 人工智能; 微流控液滴芯片; 数字 PCR; 液滴识别系统

中图分类号: TP753 **文献标志码:** A

Research on the digital PCR chip identification system based on artificial intelligence and microfluidic droplet chips

TAN Tian-ye[1], LIN Bo[2,*]

(1. Putuo Campus, No. 2 High School Affiliated to East China Normal University, Shanghai 200333, China; 2. Shanghai Institute of Microsystem and Information Technology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China)

Abstract: This study addressed the challenge of detecting the novel coronavirus (SARS-CoV-2) by developing a digital PCR droplet recognition system based on microfluidic chips and artificial intelligence algorithms. In this system, the microfluidic structures constructed utilizing semiconductor processing technology can precisely controll the generation of microdroplets, ensuring the uniformity and stability of droplets. By combining Gaussian blur technology and threshold segmentation algorithms, and using a pre-trained neural network model for intelligent recognition and counting of droplets, the detection sensitivity and accuracy are significantly improved. Experimental results show that the droplet recognition accuracy reached 99.41%, and the recognition accuracy of positive samples was 99.09%, demonstrating the potential application value of this system in point-of-care test scenarios.

收稿日期: 2024−10−11; **修订日期:** 2024−12−29

作者简介: 谭天晔(2006—), 男, 高三学生(E-mail: wflstty@126.com).

通信作者: 林 博(1998—), 男, 博士研究生, 主要研究方向为可穿戴传感器、物联网(E-mail: sybq78@163.com).

Key words: artificial intelligence; microfluidic droplet chip; digital PCR; droplet recognition system

0 引言

自 2019 年年末，一种名为新型冠状病毒（SARS-CoV-2）的病原体引发了全球性公共卫生危机[1-4]。由于该病毒具有极强的传播能力，迅速且精确的诊断技术对于疫情防控至关重要[5]。核酸检测作为一种关键的诊断工具，为 SARS-CoV-2 的识别提供了一种高效且灵敏的手段。采用敏感的核酸检测技术对患者进行甄别和疗效评估，显示出了明显的效果。进一步地，随着现场即时诊断（Point-of-care test, POCT）平台的发展，节省医疗资源的定点自检模式将对有效防止交叉感染并控制病毒传播起到重要作用[6-8]。

聚合酶链式反应（Polymerase chain reaction, PCR）技术，作为一种在研究和临床诊断中广泛使用的技术，已经经历了多次技术革新。最初的 PCR 技术主要用于核酸的定性分析；随后发展的实时定量 PCR（qPCR）技术能够进行相对定量的分析[9, 10]；而最新的数字 PCR（dPCR）技术则能够实现对核酸的精确定量[11, 12]。dPCR 技术因其在检测低丰度核酸目标时的高灵敏度和特异性，而在核酸检测和癌症诊断中展现出巨大的应用前景。在对 SARS-CoV-2 的检测中，dPCR 技术显著提高了检测的准确性，特别适合于检测病毒载量较低的样本[13]。

作为一项在生物医学研究中广泛应用的技术，微液滴技术因其高效率、低消耗、无交叉污染和良好的反应一致性等特性，被用于单细胞研究[14-16]、癌症早期诊断[17, 18] 和基因组测序[19, 20] 等领域。

dPCR 技术通过分析包裹核酸的液滴来进行定量分析[21]。然而，由于液滴的微小尺寸、庞大的数量和密集的排列，传统的人工计数方法难以对其实现精确的识别。目前，液滴的识别和计数主要依赖于两种基于微流控芯片的技术：流式检测和荧光图像分析。流式检测虽然灵敏度高，但它需要使用光电晶体管、光电二极管或光电倍增管（PMT）等传感器一个接一个地检测每个液滴[22]，设备成本也较高。而荧光图像分析虽然可以快速检测多个液滴，但受限于传感器的性能，可能需要多次扫描才能覆盖整个芯片，且图像的均匀性和噪声问题增加了识别的复杂性。此外，图像处理算法的效率直接影响了 PCR 定量分析的总体时间。因此，开发与液滴微流控芯片兼容的、高灵敏度和高通量液滴图像检测方法，是提高检测性能的关键研究方向。然而，现有的相关研究中，虽然已经针对液滴数量识别进行了技术开发和算法优化[23]，但尚未加入能够提高对液滴阴阳性的判断准确性的技术。

针对这些挑战，本研究开发了一种基于计算机视觉和人工智能算法的联合液滴识别和计数方法。该方法成本低廉、精度高且操作简便。通过图像拼接算法，将多次扫描得到的荧光图像进行合成，并对合成后的图像进行分析，以实现对液滴的检测和计数，从而提升了液滴微流控技术在检测灵敏度方面的表现，以进一步地适用于 POCT 的应用场景。

1 液滴生成微流控结构的设计

用于 dPCR 反应和识别的微液滴的均一性和稳定性对于评估样本的稳定性至关重要。因此，为了获得稳定的微流控滴液生成工具，本研究主要基于半导体加工工艺流程，设计了用于液滴生成的十字交叉结构的微流控流道，和由微柱支撑的微流控腔室。微流控结构的模板由半导体加工工艺制成，得到的模板结构利用聚二甲基硅氧烷（PDMS）浇筑复刻，得到微流控芯片。该微流控芯片结构示意如图 1 所示。

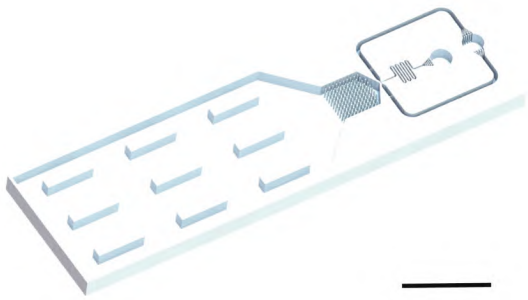

图 1 用于液滴生成的微流控结构三维示意图。比例尺：7 mm。

Fig. 1 3D schematic diagram of the microfluidic structure for droplet generation. Scale bar: 7 mm.

精确控制滴液生成的微流控装置的关键加工步骤如图 2 所示。在微流控芯片的制造过程中，首先需要在硅片上预旋涂 SU8 3050 光刻胶，该光刻胶由苏州研材微纳科技有限公司提供。通过匀胶机以 500 转/分钟的速度旋涂硅片，使得光刻胶均

匀分布于硅片表面; 随后将匀胶机的转速提升至2000 转/分钟, 以形成约 60 微米厚的光刻胶层。匀胶完成后, 需将硅片置于 95 摄氏度的热板上烘烤 10 分钟, 以去除光刻胶中的溶剂。接下来, 利用掩膜和光刻机对硅片上的特定区域进行紫外曝光, 曝光结束后, 在 95 摄氏度下继续后烘 10 分钟。然后将硅片浸入 PGMEA 显影液中进行显影, 该显影液购自上海麦克林生化科技有限公司。在显影过程中, 经过紫外曝光的光刻胶区域将得以保留, 形成微流控结构的模板。显影完毕后, 将模板置于 170 摄氏度的热板上硬烘 30 分钟, 以硬化模板结构。至此, 微流控芯片的倒模模板结构便制作完成。

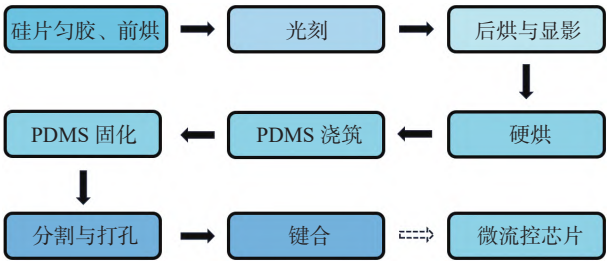

图 2　基于半导体工艺加工微流控芯片的流程。

Fig. 2 The workflow of fabricating microfluidic chips based on semiconductor manufacturing processes.

随后, 按照 10∶1 的比例将 PDMS 的基液和固化剂(购自道康宁公司)混合均匀, 利用真空皿去除气泡后, 将混合好的 PDMS 浇筑到硅片表面, 并在 60 摄氏度下固化 2 小时, 形成复刻了光刻胶结构的 PDMS 圆饼。将固化的 PDMS 圆饼分割、打孔, 并使用等离子体清洗机进行表面处理, 最后与载玻片键合, 得到可用于实验测试的微流控芯片。

本研究设计的微流控装置包含了有助于生成高度均匀的单分散滴液的结构。通道经过精心的尺寸设计, 以控制不相溶液体(通常是水和油)的流速, 这些液体通过单独的入口被引入装置。图 3 展示了微流控装置进样口处的微柱结构, 这些微柱具有减缓液体流速和过滤杂质的作用。具体来说, 图 3 A 为水相注入口的显微图像, 而图 3(b)为油相注入口的显微图像。

为了确保滴液的稳定性, 微流控结构配备了一系列被动元件, 图 4(a)所展示的为用于分散水相的十字交叉结构。在水相注入过程中, 两侧的油相会利用表面张力的作用夹挤水相, 生成稳定的油包水液滴。如图 4(b)所示, 液滴生成出口的支撑结构有助于形成尺寸相近的滴液并防止其合并, 有助于防止微流控通道的塌陷。然后, 滴液通过微通道被输送到检测区域, 在检测区域可以使用基于荧光的检测方法分析目标核酸的存在。

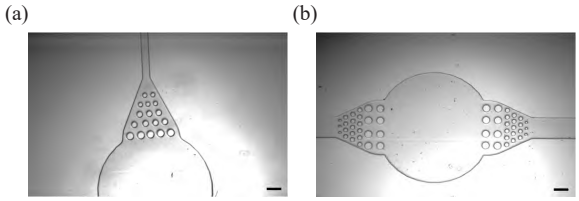

图 3　(a)水相注入口的微流控结构放大图。比例尺: 0.2 mm。(b)油相注入口的微流控结构放大图。比例尺: 0.2 mm。

Fig. 3 (a) An enlarged view of the microfluidic structure at the injection port of aqueous phase. Scale bar: 0.2 mm. (b) An enlarged view of the microfluidic structure at the injection port of oil phase. Scale bar: 0.2 mm.

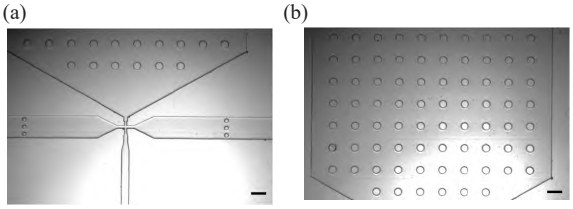

图 4　(a)液滴生成区域的结构放大图。比例尺: 0.2 mm。(b)液滴生成区域出口的支撑结构放大图。比例尺: 0.2 mm。

Fig. 4 (a) An enlarged view of the structure of the droplet generation area. Scale bar: 0.2 mm. (b) An enlarged view of the support structure at the droplet generation outlet. Scale bar: 0.2 mm.

2　人工智能识别程序的构建

为了能够实现高效的液滴识别算法, 本研究采用了机器视觉手段进行图像中的液滴识别, 并采用预训练模型对其结果进行判断。通过引入预先训练的人工智能模型, 实现对液滴数量的高效识别和阈值的智能判断。这一方法在有效降低背景噪声的同时, 显著提升了液滴识别的准确性, 确保了数字 PCR 分析的精确度和可靠性。

在软件上, 为了实现对液滴数量的精确识别并降低背景噪声的干扰, 本团队设计了一种基于人工智能的程序, 该程序通过一系列精心设计的步骤来处理显微镜捕获的图像数据。首先, 利用 cv2(全称为 Open Source Computer Vision Library)数据库对图像进行读取, 并将图像转换为 RGB 格式的灰度图, 以简化数据并去除不必要的颜色信息, 然后针对特定荧光通道的图片对结果进行判读。接

着，通过高斯模糊技术减少图像噪声。然后应用阈值分割方法来识别液滴的轮廓，识别出的轮廓将被输入到一个预训练的神经网络模型中，进行进一步的预测和校准，以提高识别的准确性。最终，程序能够输出液滴的检测数量以及阳性液滴的比例，整个程序的工作流程如图 5 所示。

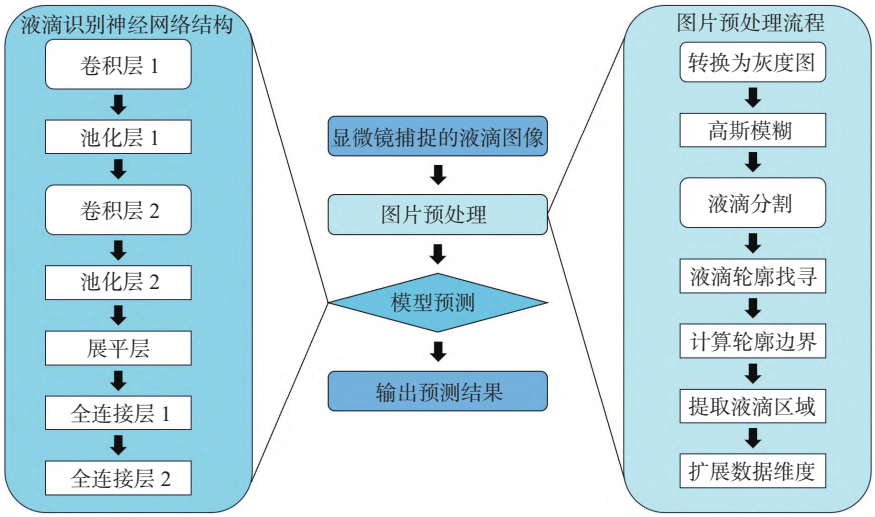

图 5 液滴识别程序的工作流程。

Fig. 5 The workflow of the droplet recognition program.

2.1 高斯模糊算法

在显微镜的成像过程中，由于点光源的不均匀照射，拍摄得到的图像往往会出现边缘较暗的现象。此外，随着时间的推移，图像采集 CCD（Charge-Coupled Device）的温度会逐渐升高，显微镜光源及芯片存在非完美对准，这些因素都可能引入图像噪声。为了降低这些不良影响，我们采用了高斯模糊技术来有效减少图像干扰噪声。

高斯模糊技术利用了高斯分布的原理，如公式（1）所示，通过构建一个高斯核来对图像进行平滑处理。

$$G(x,y,\sigma)=\frac{1}{2\pi\sigma^2}e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}} \tag{1}$$

其中，x 和 y 是像素点距离中心点的距离，σ 是标准差。

高斯核是一个二维数组，其中每个元素的值由高斯分布公式给出。这个核的大小通常由 σ 和一个额外的参数 k 决定，高斯核中的每个值都对应于高斯分布中的一个权重，这些权重与像素点的距离成反比，即距离中心越远的像素点对中心像素点的影响越小。

通过应用这个核，高斯核会滑动遍历整个图像，核中的权重会与图像中的每个像素相乘，然后求和得到新像素。这样，图像中的每个像素点都会被替换为其邻域像素的加权平均值，这样的加权平均能够有效地抑制噪声。这个过程可以用以下公式展示：

$$I(x,y)=\sum_{i=-k}^{k}\sum_{j=-k}^{k}G(i,j,\sigma)\cdot I(x+i,y+i) \tag{2}$$

其中，$I(x,y)$ 是原始图像像素，$I(x+i,y+i)$ 是邻域内的像素值，$G(i,j,\sigma)$ 是高斯核的权重。

在实际操作中，我们通过调整高斯模糊的参数，如核的大小和标准差，来控制模糊的程度。通过调用 OpenCV 库，我们使用 cv2.GaussianBlur 函数来实现这一过程。通过选择合适的核大小和标准差，我们可以在保持图像细节的同时，减少噪声的影响，从而获得更利于程序识别的图像数据。高斯模糊处理前后的图片结果如图 6 所示，图中液滴间的反射和折射光经高斯模糊处理后显著减弱。

2.2 液滴分割算法

高斯模糊处理后的图片数据，会经过液滴分割算法对图像进行阈值处理，以分割出液滴。这里主要采用的是 cv2 中的 threshold 函数。这个过程基于阈值操作，其数学原理可以表示为：

$$I_{\text{threshold}}(x,y)=\begin{cases}T_{\max}, & I(x,y)>\text{threshold}\\ 0, & I(x,y)\le\text{threshold}\end{cases} \tag{3}$$

这种操作通常用于将图像转换为二值图像，即

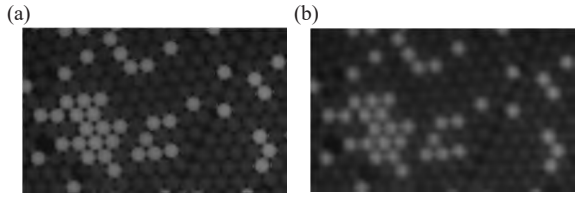

图 6　液滴图片在高斯模糊处理之前(a)与处理之后(b)的对比效果。

Fig. 6 Illustration of the droplet image before (a) and after (b) Gaussian blur processing.

图像只包含两种颜色(通常是黑白)。在液滴分割的过程中, 将图像二值化有助于将液滴从背景中分离出来, 特别是当液滴的颜色与背景对比度较高时。通过设置适当的阈值, 可以将液滴的像素转换为白色(255), 而将背景的像素转换为黑色(0), 从而清晰地分割出液滴。

2.3　液滴轮廓识别

在 OpenCV 中, 我们采用 cv2.findContours 函数, 用于液滴分割算法处理得到的二值图像中的轮廓找寻。这一过程涉及识别图像中连续的白色像素(前景色)的边界, 这些边界将不同的对象与背景分隔开。

在轮廓近似计算过程中, 使用 cv2.CHAIN_APPROX_SIMPLE 函数来实现轮廓近似。在此过程中, 只保留轮廓的拐点, 这意味着轮廓的每个链码(一系列点)将被简化为一个点的序列, 其中每个点代表轮廓的一个拐点。在轮廓检索时, 采用 cv2.RETR_EXTERNAL 模式指定只检索外部轮廓。这意味着, 函数将忽略任何孔或岛屿的轮廓, 只返回最外层的轮廓, 该轮廓可以被用来确定图像中液滴的位置和形状。

2.4　人工智能模型的搭建

识别出的图像轮廓, 随后被输入到一个预训练的神经网络模型中, 对其进行进一步的预测和校准, 以提高识别的准确性。神经网络模型的结构包括多个卷积层和池化层, 以及全连接层, 如图 7 和表 1 所示。

模型先通过 1 个包括 32 个 3×3 卷积核和 64 个 3×3 卷积核的两层卷积神经网络(ConV2D)进行特征提取; 在每个卷积层的后面, 都利用 ReLU 激活函数对神经网络进行激活。该激活函数的数学

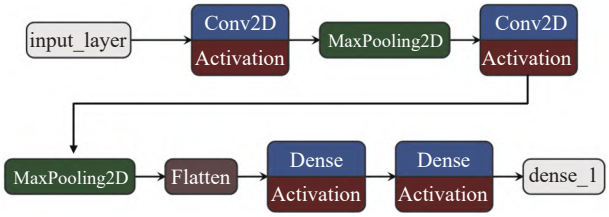

图 7　液滴阈值判断的神经网络模型结构。

Fig. 7 Model structure of neural networks for droplet threshold judgment.

表 1　神经网络不同层结构的参数

Table1 Parameters of different layer structures in neural networks.

神经网络层	结构参数
ConV2D	32个, 3×3卷积核
MaxPolling2D	2×2
ConV2D	64个, 3×3卷积核
MaxPolling2D	2×2
Dense	64
Dense	1

表达式为:

$$f(x) = \max(0, x) \tag{4}$$

由于其线性特性, ReLU 在正区间的梯度恒定, 这可以减少对计算资源的消耗。两个池化层(MaxPolling2D)负责降低特征的空间维度, 以减少后续的全连接层 (Dense) 的计算复杂度。展平层(Flatten)将多维特征展平为一维, 第一个全连接层(Dense)包含 64 个神经元, 并且在这一层中应用了 ReLU 激活函数。最后, 全连接层通过一个神经元和 Sigmoid 激活函数进行二分类输出, 用于区分阳性和阴性液滴。

为了训练这个模型, 需要构建一个高质量的数据集, 这涉及到人工打标签的过程。首先, 从显微镜拍摄的图像中收集数据, 并确保图像质量满足要求, 液滴轮廓需清晰可见。图像数据应根据实验条件进行系统化整理, 记录拍摄时间、液滴大小、光源条件等元数据。然后, 对图像进行预处理, 包括灰度转换、高斯模糊和阈值分割, 以减少噪声并突出液滴轮廓。

手动标注阶段需要使用标注工具精确标记每个液滴的位置和轮廓, 并进行阳性或阴性的分类标注。对于难以识别或有缺陷的液滴, 单独标记为异

常数据。为了确保标注的准确性，每张图像由多名操作人员独立标注，并通过交叉验证来确保一致性。标注完成后，所有数据按照统一的格式保存（如JSON 文件），这些数据包含图像的文件名、液滴数量、每个液滴的轮廓坐标以及分类标签。

数据集还需要被划分为训练集、验证集和测试集，以确保模型能够有效学习和泛化。数据增强技术（如旋转、缩放、翻转等）的采用，可以进一步扩充数据集规模，增加数据多样性，防止模型过拟合，提高模型在实际应用中的鲁棒性。通过这些步骤，可以创建出高质量的标注数据集，并用来对模型进行训练。

3 dPCR 反应的液滴识别系统的构建

在前文所述的基础上，我们开发了一种集成的微流控芯片系统，该系统能够利用水相和油相的表面张力差异在芯片中的十字交叉结构处产生液滴，为 dPCR 反应提供所需的液滴体系。此外，我们还设计了一套基于人工智能的模型程序，用于分析 dPCR 反应后的结果。

图 8（a）展示了我们构建的液滴生成和识别系统，而图 8（b）则展示了该系统内各组分之间的关系。在实际操作中，该系统首先通过微流控芯片产生用于 dPCR 反应的液滴，生成的液滴如图 8（c）所示。液滴生成后，将该微流控芯片放到商用 PCR 反应装置中进行温度循环。循环完成后，将芯片放置在显微镜的绿色荧光通道下进行观察，拍摄到的结果如图 8（d）所示。通过相机捕捉到的图像被传输到人工智能程序中，以获取最终的液滴检测结果。

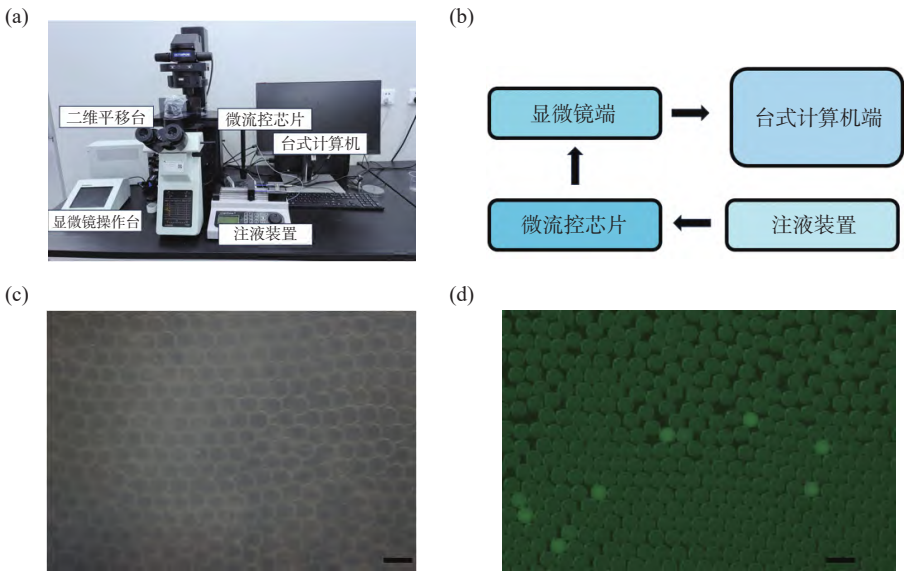

图 8 （a）液滴生成与识别系统实物图。（b）系统的组件关系图。（c）微流控芯片中液滴局部结果展示。比例尺：0.2 mm。（d）PCR 反应后微流控芯片中液滴的局部结果展示。比例尺：0.2 mm。

Fig. 8 (a) Physical diagram of the droplet generation and recognition system. (b) Component relationship diagram for the droplet identification system. (c) Display of the local results of droplets in a microfluidic chip. Scale bar: 0.2 mm. (d) Dispaly of the local results of droplets in a microfluidic chip after PCR reaction. Scale bar: 0.2 mm.

在本研究中，鉴于反应过程中可能出现液滴融合等挑战，我们选择了 4 次实验中的特定区域的图像进行对比分析。我们对显微镜下拍摄的液滴样本进行了人工和自动化程序的双重评估，并对比了两者的准确性，结果详见图 9 和图 10。从中可以看到，液滴识别的平均准确率达到了 99.41%，而阳性样本识别的平均准确率则为 99.09%。图像 2 和图像 4 中的合适区域面积较小，液滴数量有限，可能导致了准确率的轻微下降，从而引入了一定的偏差。我们认为，若未来能增加液滴的数量，将有望进一步提升识别的准确率和结果的可靠性。

程序评估的高准确率证明了其在实际应用中替代人工检测液滴和识别阳性信号的高度可行性。在日常应用中，自动化程序替代人工评估，将有效

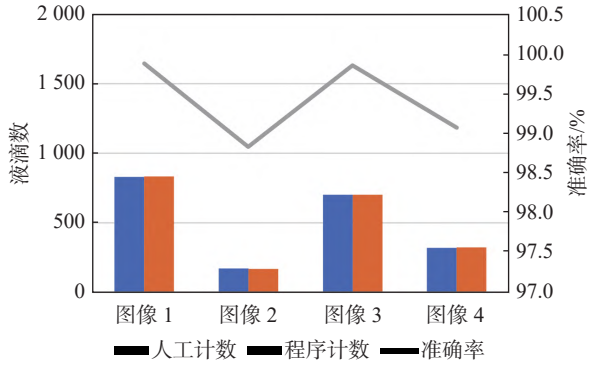

图 9　液滴数量识别的对比结果。

Fig. 9　Comparison results of droplet quantity recognition.

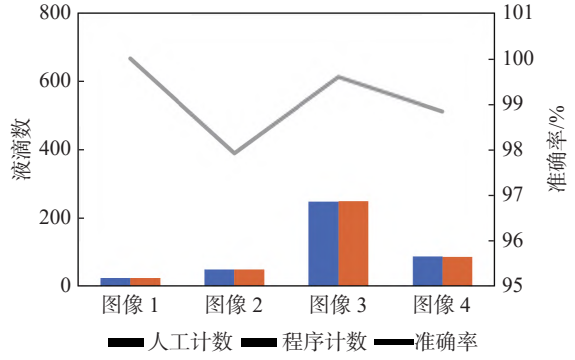

图 10　荧光液滴识别的对比结果。

Fig. 10　Comparison results of fluorescent droplet recognition.

减轻操作员的工作负担, 减少主观误差, 并确保实验结果的可重复性和稳定性。

4　结论

本研究构建并验证了一种基于微流控芯片和人工智能算法的数字 PCR(dPCR)液滴识别系统, 该系统在新型冠状病毒(SARS-CoV-2)检测领域展现出显著的应用潜力。通过精确控制微滴生成的微流控结构设计, 结合高斯模糊技术和阈值分割算法, 以及预训练的神经网络模型, 本系统实现了对液滴的高准确度智能识别和计数。实验结果表明, 液滴识别准确率达到 99.41%, 阳性样本识别准确率为 99.09%, 这些数据不仅证明了系统的高灵敏度和准确性, 也突出了其在 POCT 场景中的实用性。

此外, 本系统通过先进的微流控芯片设计和人工智能图像处理算法, 显著提高了检测效率, 同时降低了操作成本和复杂性, 使其适合于临床诊断和现场即时诊断。与现有技术相比, 本系统在灵敏度和准确性方面展现出明显优势, 尤其是在处理低丰度核酸目标时, 这一技术的引入将减少人工检测的工作强度, 使操作人员能够将更多时间和精力投入到实验结果的进一步分析和解读中, 专注于实验结果的进一步分析和解读。

未来工作将专注于进一步优化算法, 提高系统的自动化程度, 并探索其在临床诊断中的应用潜力。这包括扩展应用场景讨论, 增加实验数据和案例分析, 以及讨论如何进一步提高系统的自动化程度、降低成本以及将系统商业化。通过这些努力, 我们期望该系统能够在临床诊断和现场即时诊断中发挥更大的作用, 为全球公共卫生安全贡献力量。

参考文献:

[1] CORMAN V M, LANDT O, KAISER M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR[J]. Eurosurveillance., 2020, 25(3): 2000045.

[2] DONG Y J, ZHAO Y J, LI S W, et al. Multiplex, Real-Time, Point-of-care RT-LAMP for SARS-CoV-2 Detection Using the HFman Probe[J]. Acs Sensors, 2022, 7(3): 730-739.

[3] ZHOU F, YU T, DU R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study[J]. The Lancet, 2020, 395(10229): 1054-1062.

[4] ZHU N, ZHANG D, WANG W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019[J]. New England Journal of Medicine, 2020, 382(8): 727-733.

[5] NEUZIL P, ZHANG C, PIPPER J, et al. Ultra fast miniaturized real-time PCR: 40 cycles in less than six minutes[J]. Nucleic Acids Research, 2006, 34(11): e77-e.

[6] YIN H, WU Z, SHI N, et al. Ultrafast multiplexed detection of SARS-CoV-2 RNA using a rapid droplet digital PCR system[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2021, 188: 113282.

[7] XIAO M, TIAN F, LIU X, et al. Virus Detection: From State-of-the-Art Laboratories to Smartphone-Based Point-of-Care Testing[J]. Advanced Science, 2022, 9(17): 2105904.

[8] KANG T J, LU J M, YU T, et al. Advances in nucleic acid amplification techniques (NAATs): COVID-19 point-of-care diagnostics as an example[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2022, 206: 114109.

[9] LIU X, FENG J, ZHANG Q, et al. Analytical comparisons of SARS-COV-2 detection by qRT-PCR and ddPCR with multiple primer/probe sets[J]. Emerging Microbes & Infections, 2020, 9(1): 1175-1179.

[10] MO Y L, LEUNG L L, MAK C S L, et al. Tumor-secreted exosomal miR-141 activates tumor-stroma interactions and controls premetastatic niche formation in ovarian cancer metastasis[J]. Molecular Cancer, 2023, 22(1): 4.

[11] CAO L, CUI X, HU J, et al. Advances in digital polymerase chain reaction (dPCR) and its emerging biomedical applications[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2017, 90: 459-474.

[12] FANG W B, LIU X D, MAIGA M, et al. Digital PCR for Single-Cell Analysis[J]. Biosensors-Basel, 2024, 14(2): 64.

[13] YIN H, TONG Z, SHEN C, et al. Micro-PCR chip-based multifunctional ultrafast SARS-CoV-2 detection platform[J]. Lab on a Chip, 2022, 22(14): 2671-2681.

[14] 丛丽丽. 液滴微流控耦合光谱与成像技术用于单细胞细胞因子的分析[D], 长春: 吉林大学, 2023.

[15] WANG C, QIU J Y, LIU M Q, et al. Microfluidic Biochips for Single-Cell Isolation and Single-Cell Analysis of Multiomics and Exosomes[J]. Advanced Science, 2024, 11(28): 2401263.

[16] LAN Y W, ZHOU Y, WU M, et al. Microfluidic based single cell or droplet manipulation: Methods and applications[J]. Talanta, 2023, 265: 124776.

[17] 林冬果. 基于液滴微流控芯片的单细胞培养平台构建及其扩增结直肠癌干细胞的应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021.

[18] SUN L Y, BIAN F K, XU D Y, et al. Tailoring biomaterials for biomimetic organs-on-chips[J]. Materials Horizons, 2023, 10(11): 4724-4745.

[19] LIN B, HUI J A, MAO H J. Nanopore Technology and Its Applications in Gene Sequencing[J]. Biosensors-Basel, 2021, 11(7): 214.

[20] 王沂林. 基于数字微流控芯片的液滴驱动及检测的集成化研究[D]. 重庆: 重庆理工大学, 2022.

[21] HOU Y, CHEN S, ZHENG Y, et al. Droplet-based digital PCR (ddPCR) and its applications[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2023, 158: 116897.

[22] PINHEIRO L B, COLEMAN V A, HINDSON C M, et al. Evaluation of a droplet digital polymerase chain reaction format for DNA copy number quantification[J]. Analytical chemistry, 2012, 84(2): 1003-1011.

[23] 张嘉文, 董晓斌, 苗桂君, et al. 基于计算机视觉的液滴图像拼接与识别算法研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2021, 40(3): 375-379.