

# 基于微流控技术的快速PCR方法的研究进展

王肖阳, 李振庆\*

上海理工大学光电信息与计算机工程学院, 上海

收稿日期: 2023年1月27日; 录用日期: 2023年2月17日; 发布日期: 2023年2月28日

## 摘要

聚合酶链式反应(PCR)是一种在体外实现特定基因片段复制的生物学技术, 目前已广泛应用于病原体诊断, 基因突变检测, 食品科学等领域。然而, 传统的PCR热循环仪不仅体积大, 而且热转换效率相对较低, 一般为 $4^{\circ}\text{C}/\text{s}\sim 6^{\circ}\text{C}/\text{s}$ , 导致基因扩增时间相对较长。微流控芯片又称“芯片实验室”, 它是将多个不同功能的单元集成在一起以实现样品进样、化学反应及检测等。本文旨在介绍以微流控芯片为基础的自然对流与连续流技术的快速PCR研究方面的进展。

## 关键词

微流控芯片, 自然对流PCR, 连续流动式PCR

# Research Progress of Rapid PCR Methods Based on Microfluidic Technology

Xiaoyang Wang, Zhenqing Li\*

Department of Optoelectronic Information and Computer Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai

Received: Jan. 27<sup>th</sup>, 2023; accepted: Feb. 17<sup>th</sup>, 2023; published: Feb. 28<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Polymerase chain reaction (PCR) is a biological technology to replicate specific gene fragments *in vitro*, which has been widely used in pathogen diagnosis, gene mutation detection, food science and other fields. However, the traditional PCR thermal cycling instrument is not only large in size, but also relatively low in thermal conversion efficiency. Generally, the temperature variation rate is about  $4^{\circ}\text{C}/\text{s}\sim 6^{\circ}\text{C}/\text{s}$ , resulting in relatively long gene amplification time. Microfluidic chip, also known as “Lab-on-a-Chip”, integrates multiple units with different functions to achieve sample in-

\*通讯作者。

jection, chemical reaction and detection. The purpose of this paper is to introduce the development of natural convection and continuous flow PCR based on microfluidic chips.

## Keywords

Microfluidic Chip, Natural Convection PCR, Continuous Flow PCR

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

2019 新型冠状病毒可引起发热、肺部浸润影等情况, 严重者可导致肺炎、严重急性呼吸综合征、肾衰竭, 甚至死亡。到 2021 年 5 月, 新冠病毒已有 11 种变异毒株。特别是国内近期由奥密克戎变异株引发的几次疫情, 其传播力之强是德尔塔变异株的 3~5 倍。以上海为例, 奥密克戎 2 代 BA.2 成为流行株, 其  $R_0$  值(基本传染数)由于测算方法和人群不同在 9.5~13 之间, 即 1 个感染者平均可以传给 10 个人。为此, 开发高效快速的新冠病毒检测设备有利于尽早发现传染源, 切断新冠传播链。当前, 荧光定量聚合酶链式反应技术(qPCR)已作为“金标准”被应用于核酸病原检测。然而, 由于传统的 PCR 热循环仪热转换效率相对较低, 导致目标基因扩增一般需要数小时以上。基于微流控芯片技术的 PCR 由于反应腔室小, 热转换效率较高, 可以实现快速目标基因的复制。本综述基于制热方式的不同, 重点介绍了采用微流控芯片实现快速 PCR 的技术进展。

## 2. 微流控芯片 PCR

微流控芯片 PCR 极大地改变了传统的核酸扩增方式, 具有集成化、小型化、操作方便、处理速度快等诸多特点, 在未来的生物学和病理学应用中具有广阔前景。

### 2.1. 自然对流 PCR

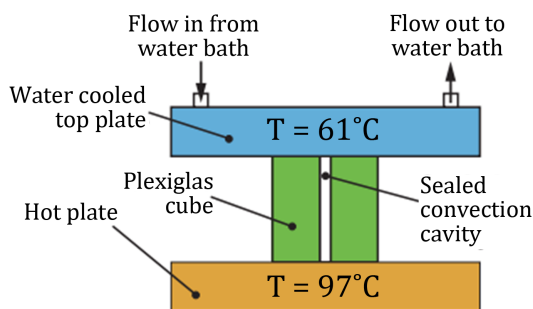


Figure 1. The principle of natural convection PCR

图 1. 自然对流 PCR 基本原理

自然对流 PCR 最初是由 Hwang 等人于 2001 年提出。它是通过在一根毛细管的底部加热, 从而在腔体内竖直方向形成稳定的温度梯度, 由于流体密度的不同, 最终形成连续的液体循环, 从而携带目标基因到达不同的温度区, 以实现变性、退火和延伸。2002 年, Krishnan 等人在 Science 上报道了一种采用瑞利 - 贝纳尔对流方式实现 PCR [1]。其作用原理(图 1)是采用一个圆柱腔体盛放样品, 使腔体的上下表

面保持恒温(61°C和97°C),通过上下表面的温差驱动实现自然对流,从而使PCR反应液体流经不同的温区,并最终实现了296 bp  $\beta$ -Actin基因的扩增。基于该原理,我们实验室也开发了便携式自然对流PCR微系统,并以 $\lambda$ -DNA为模板,在25分钟实现了目标基因的快速扩增[2]。研究发现,反应腔体的形状与几何尺寸会影响到腔体内液体对流状态,并进一步影响PCR效率。基于自然对流PCR, Kim等人开发了基于分子检测的肉类快速识别方法,他们在24分钟内完成了牛肉、羊肉与猪肉的快速区分[3]。采用多重自然对流PCR技术,该课题组也开展了对肠炎沙门菌和伤寒沙门氏菌的快速诊断,结果表明,PCR循环最高可达42秒/循环,所需时间仅为21分钟[4]。

在国内,北京化工大学邱宪波教授课题组采用毛细管作为反应容器,也对自然对流PCR技术开展了深入研究。它们通过在毛细管底部施加一个恒定温度,从而在毛细管内形成了稳定的对流循环,实现了H1N1流感病毒基因的快速扩增。为实现实时观测PCR产物的变化,他们在反应液内添加了标记FAM的Taqman探针,整个过程耗时约在30分钟以内[5]。在此基础上,他们进一步开发了基于自然对流PCR的H1N1的快速检测仪[6][7]。

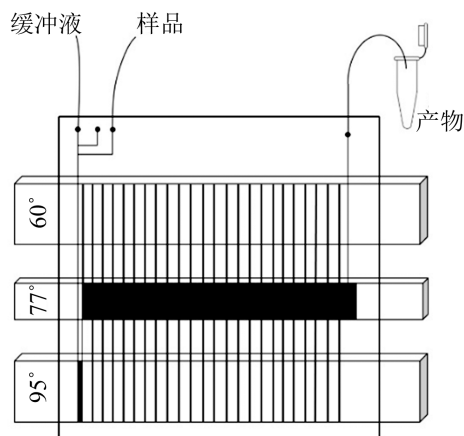
尽管基于毛细管结构的自然对流PCR易于操作,但是较难达到稳定的浓度梯度场,导致DNA变性、退火及延伸的时间较难控制,较难实现长片段DNA模板的复制。为此,科学家们提出采用光盘状微流控芯片实现自然对流PCR。通过在光盘中心设置为95°C,边缘设置为52°C,从而在两个温度区间内形成稳定的层流,以实现自然对流PCR[8][9][10]。

在基于毛细管和盘式反应器的自然对流PCR中,由于温度与流场的特性,浓度梯度场往往无法达到理想状态从而影响扩增效率。基于闭环的自然对流PCR可以通过在热对流闭环上适当增加温度场来实现均匀的浓度梯度场。Benett等人首次提出了圆形闭环热循环装置。[11]该装置利用薄膜铂对通道的指定部分进行加热以产生热对流,试剂在高温区与低温区之间反复流动实现PCR扩增,装载试剂的反应器材料可由硅、玻璃等材料制成。在热对流闭环的设计过程中,其材料、几何形状甚至尺寸成为基于闭环的自然对流PCR研究的主要挑战。通常情况下,采用微加工工艺制作聚合物闭环,形成不同几何形状的自然对流流道或微流控芯片。这种方法操作方便、成本低、易于大批量生产。反应容器的几何形状一般包括三角形环[12][13]、矩形环[14]、圆形环[15]和u形环[16][17]。虽然基于闭环式的自然对流PCR反应结果相较于毛细管式和光盘式更有优越性,但是其同样也存在实验设计复杂的问题,需要后续进一步优化。此外,集成化和商业化系统逐渐成为人们关注的重点。K. H. Chung [14]等人开发了一款小型热环系统,仅需一个微型温度控制器控制闭环内温差,PCR反应物通过热虹吸效应沿着聚合物芯片中的三角形闭环通道对流。10分钟便可检测到127 bp靶基因扩增片段,此外,扩增470 bp基因仅需20分钟。整个系统结构紧凑,其重量及尺寸分别为0.6 kg和15 × 15 × 10 cm<sup>3</sup>,可掌上使用。Aashish Priye等人[18]将毛细管反应器与单端加热器相结合,研制了一款低成本、便携式的核酸诊断生化平台。使用智能手机摄像头和集成图像分析应用程序实现时间分辨荧光检测和定量。利用无人机的马达作为离心机,实现标准样品制备,样品采集和检测在几分钟内即可完成。基于毛细管的自然对流系统具有加热方式简单、使用方便、与荧光检测相容性好,成本低等特点,比其他方法更接近商业化和应用。

## 2.2. 连续流动式 PCR

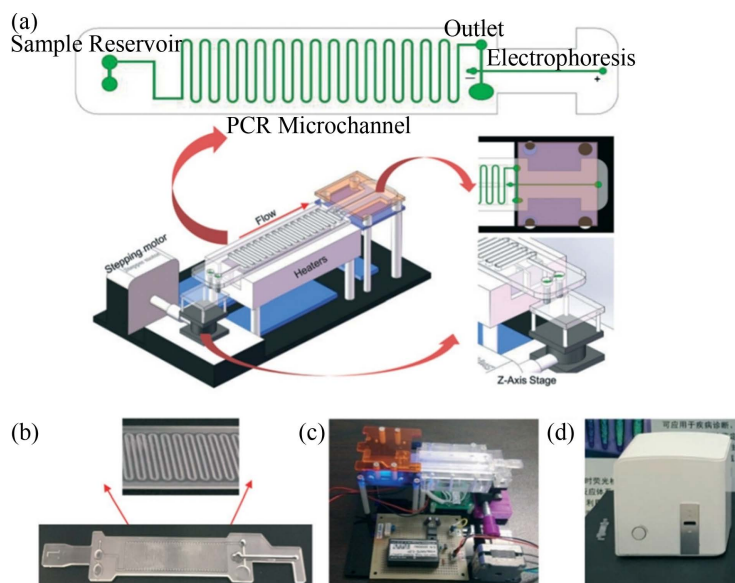
动态连续流动式PCR(图2)是通过加工形成透迤型流路,在外部驱动力的作用下,使PCR反应液连续流经三个不同温区,完成变性、退火和延伸过程,以达到DNA扩增目的,其优点在于反应温度无需来回反复地快速升降。该技术最早由帝国理工学院Manz课题组提出。他们在康宁0211玻璃上蚀刻了深40  $\mu$ m宽90  $\mu$ m的20个相同的透迤形通道的微流控芯片,并将芯片置于95°C、77°C和60°C的三个恒温模块上,并在5分钟内扩增出了长度176 bp的目标基因[19]。Jaehyun等人[20]利用3D打印技术设计了一款

低成本、快速成型的带有集成加热器的蛇纹石微通道 PCR 扩增装置。装置包括三个温度区，高温变性(90°C~94°C)，低温退火(55°C~60°C)，拉伸(70°C~77°C)。温度循环效率为 67.4%~47.8%，流动速率为 5  $\mu\text{L}/\text{min}$ ~10  $\mu\text{L}/\text{min}$ ，可实现 27 个热循环 DNA 扩增。



**Figure 2.** The principle of continuous flow PCR  
**图 2.** 连续流 PCR 基本原理

韩国嘉泉大学 Nae Yoon Lee 实验室采用聚四氟乙烯(PTFE)塑料管缠绕在玻璃基板后，放置于加热模块，通过注射器将 PCR 反应液注射于塑料管中，也于 20 分钟内实现了大肠杆菌与沙门氏菌目标基因的扩增[21]。他们也制作一种三维螺旋 PTFE 微器件，通过将 PTFE 管缠绕在聚二甲基硅氧烷(PDMS)上，完成了长度为 230 bp 与 409 bp 目标基因的扩增。研究表明，PCR 反应液中添加牛血清蛋白可有效提高 PCR 扩增效率[22]。在国内，复旦大学隋国栋教授采用聚二甲基硅氧烷材料制作了连续流 PCR 芯片，通过基因杂交的方法对大肠杆菌等细菌做了分析[23]。此外，他们采用氟化油作为载液，并且通过增加压力减少气泡的产生，在芯片内实现了对空气中的病原体进行捕获、富集和基因分析[24]。



**Figure 3.** Schematic diagram of integrated equipment based on continuous stream PCR and electrophoresis integrated electrophoresis chip  
**图 3.** 基于连续流 PCR 与电泳集成电泳芯片的一体化设备原理图

尽管连续流 PCR 技术可实现目标基因的快速扩增, 但是通常需要借助于精密的微流泵等装置进样, 而且芯片中 PCR 产物通常需借助离线电泳等方法确定是否存在假阳性产物。这不仅导致系统比较庞大, 且增加了成本, 不利于即时检测(POCT)装置的开发。为此, 我们课题组开发了基于压力式进样的微流体进样模块[25], 并研制了集连续流 PCR 与电泳于一体的微流控芯片(图 3), 实现了在便携的微流控系统内进样、3~8 分钟快速扩增牙周病原菌及 PCR 产物的在线检测[26] [27]。由于芯片内每次只能对一个样本 PCR, 为提高通量, 对实验条件进行优化并在连续流 PCR 微流控芯片内实现了多个样本的多重 PCR [28]。为克服多重 PCR 时不同样本与引物之间产生的交叉反应, 研制了阵列连续流 PCR 微流控芯片, 在物理空间上对反应室进行隔离, 实现了三种牙周病原菌同时高效 PCR [29]。

近年来, 在微流控技术中还开发了一种基于振荡流的 PCR 装置, 该装置基于静态室的柔性循环 PCR 方法和快速连续流 PCR 系统的组合。其热回路的数值不依赖于微通道的长度, 循环数不受通道尺寸的限制。Wang 等人[30]将 1  $\mu\text{L}$  反应混合液液滴注入振荡流型微芯片中, 使用石蜡油将液滴的两侧覆盖, 通过外部注射泵控制液滴在三个温度区域间的循环流动, 并在 15 分钟内成功扩增出人类乳头瘤病毒(HPV)基因。Kopparthy 等人[31]开发了一款基于振荡流的 DNA 扩增热梯度平台, 该微型设备消除了对热循环预先确定的流体通道的需要, 以及 RNA 扩增所需的额外孵化步骤所涉及的复杂性。微流控芯片制备方式简单, 采用在玻璃片之间夹上双面卡普顿胶带和 PDMS 隔片的三明治形式。最后使用该系统演示了人类 RNA 样本中病毒噬菌体 DNA ( $\Phi\text{X174}$ )和 B2M 基因的 181 bp 片段。

此外, Salman 等人[32]还报道了一种便携式的低成本的分流式 PCR 微流控装置, 由聚碳酸酯微流控 PCR 微芯片、分流热区、荧光检测器组成。微流控芯片采用微铣削加工方法制作并使用热熔粘接方法覆盖密封以达到无泄漏和防止样品蒸发的目的, 然后使芯片在三个双面温度区域之间进行热循环, 升温速率和降温速率分别为 1.8 $^{\circ}\text{C}/\text{s}$  和 2 $^{\circ}\text{C}/\text{s}$ 。并使用通用引物验证了该装置。

### 3. 总结与展望

微流控 PCR 装置极大地改变了传统的核酸扩增方式, 其具有小型化、集成化、体积紧凑、操作方便等诸多优点。相对于传统的 PCR 热循环仪, 自然对流 PCR 与连续流 PCR 微流控芯片技术均在聚合酶链式反应发生前将制热模块温度设定成固定值, DNA 复制过程中无需反复变温, 从而克服了传统方法变温效率较低的缺陷。自然对流 PCR 可采用与传统 PCR 方法类似的腔体阵列, 从而实现高通量。毋庸置疑, 自然对流 PCR 是一种高效、准确、特异的核酸扩增方法, 其将在分子诊断特别是资源有限环境下的即时检测中发挥着重要作用。但是自然对流循环携带目标基因到指定温区时时间较难控制, 对长片段目标基因扩增效果不佳, 适应 PCR 试剂自然对流的温度循环条件仍需进一步研究。为实现自然对流 PCR 技术的商业化发展, 需要考虑自然对流 PCR 反应器及 PCR 试剂在内的跨学科联合研究。因此, 集成核酸提取的基于微流控芯片的自然对流 PCR 系统将成为未来重要研究方向。连续流 PCR 微流控芯片可以通过控制样品入口流速实现 PCR 产物量多少的可控, 且由于高的温度变换效率能实现快速基因复制, 具有样品损耗小、热循环时间短、热惯性可忽略等优点。连续流 PCR 装置因其扩增及检测过程更适用于小型化应用, 基于连续流方法的微流体设备被开发出来用于样品提取、纯化及混合。但是连续流 PCR 微流控芯片是基于时空转换的概念, 单个芯片占用体积相对较大, 因而如何实现样品高通量扩增是连续流 PCR 面临的挑战。毫无疑问, 微流控 PCR 芯片因其低成本、小型化和集成化等优点在未来的生物学和病理学应用中具有广阔前景。因此, 在微流控平台上集成微流控器件和基因测序或阵列将成为未来的一个研究方向, 特别是集成如样品提取、制备等其它检测功能的聚合酶链式反应设备将是未来前景的关键一步。

### 参考文献

- [1] Krishnan, M., Ugaz, V.M. and Burns, M.A. (2002) PCR in a Rayleigh-Bénard Convection Cell. *Science*, **298**, 793.

- <https://doi.org/10.1126/science.298.5594.793>
- [2] Li, Z., Zhao, Y., Zhang, D., Zhuang, S. and Yamaguchi, Y. (2016) The Development of a Portable Buoyancy-Driven PCR System and Its Evaluation by Capillary Electrophoresis. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **230**, 779-784. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.02.143>
- [3] Song, K.-Y., Hwang, H.-J. and Kim, J.-H. (2017) Ultra-Fast DNA-Based Multiplex Convection PCR Method for Meat Species Identification with Possible on-Site Applications. *Food Chemistry*, **229**, 341-346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.085>
- [4] Kim, T.-H., Hwang, H.J. and Kim, J.H. (2017) Development of a Novel, Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay for the Detection and Differentiation of *Salmonella enterica* Serovars Enteritidis and Typhimurium Using Ultra-Fast Convection Polymerase Chain Reaction. *Foodborne Pathogens and Disease*, **14**, 580-586. <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2290>
- [5] Qiu, X., Ge, S., Gao, P., Li, K., Yang, S., Zhang, S., Ye, X., Xia, N. and Qian, S. (2017) A Smartphone-Based Point-of-Care Diagnosis of H1N1 with Microfluidic Convection PCR. *Microsystem Technologies*, **23**, 2951-2956. <https://doi.org/10.1007/s00542-016-2979-z>
- [6] Qiu, X., Zhang, S., Xiang, F., Wu, D., Guo, M., Ge, S., *et al.* (2017) Instrument-Free Point-of-Care Molecular Diagnosis of H1N1 Based on Microfluidic Convective PCR. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **243**, 738-744. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.12.058>
- [7] Qiu, X., Ge, S., Gao, P., Li, K., Yang, Y., Zhang, S., *et al.* (2016) A Low-Cost and Fast Real-Time PCR System Based on Capillary Convection. *SLAS TECHNOLOGY: Translating Life Sciences Innovation*, **22**, 13-17. <https://doi.org/10.1177/2211068216652847>
- [8] Braun, D. and Libchaber, A. (2004) Thermal Force Approach to Molecular Evolution. *Physical Biology*, **1**, 1-8. <https://doi.org/10.1088/1478-3967/1/1/P01>
- [9] Hennig, M. and Braun, D. (2005) Convective Polymerase Chain Reaction around Micro Immersion Heater. *Applied Physics Letters*, **87**, Article ID: 183901. <https://doi.org/10.1063/1.2051787>
- [10] 薛辉, 王玮, 李志信. 基于微腔自然对流的 PCR 芯片的热设计[J]. 功能材料与器件学报, 2008, 14(2): 431-435.
- [11] Benett, W.J., Richards, J.B. and Milanovich, F.P. (2003) Convectively Driven PCR Thermal-Cycling. US Patent No. US20020127152A1.
- [12] Agrawal, N. and Ugaz, V.M. (2016) A Buoyancy-Driven Compact Thermocycler for Rapid PCR. *Journal of the Association for Laboratory Automation*, **11**, 217-221. <https://doi.org/10.1016/j.jala.2006.06.004>
- [13] Agrawal, N., Hassan, Y.A. and Ugaz, V.M. (2007) A Pocket-Sized Convective PCR Thermocycler. *Angewandte Chemie*, **119**, 4394-4397. <https://doi.org/10.1002/ange.200700306>
- [14] Chung, K.H., Park, S.H. and Choi, Y.H. (2010) A Palmtop PCR System with a Disposable Polymer Chip Operated by the Thermosiphon Effect. *Lab on a Chip*, **10**, 202-210. <https://doi.org/10.1039/B915022F>
- [15] Zhang, C. and Xing, D. (2010) Microfluidic Gradient PCR (MG-PCR): A New Method for Microfluidic DNA Amplification. *Biomedical Microdevices*, **12**, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s10544-009-9352-2>
- [16] Chou, W.-P., Lee, C., Hsu, Z.-J., Lai, M.-H., Kuo, L.-S. and Chen, P.-H. (2017) Development of Capillary Loop Convective Polymerase Chain Reaction Platform with Real-Time Fluorescence Detection. *Inventions*, **2**, Article No. 3. <https://doi.org/10.3390/inventions2010003>
- [17] Shu, B., Zhang, C. and Xing, D. (2017) A Sample-to-Answer, Real-Time Convective Polymerase Chain Reaction System for Point-of-Care Diagnostics. *Biosensors and Bioelectronics*, **97**, 360-368. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.06.014>
- [18] Priye, A., Wong, S., Bi, Y., Carpio, M., Chang, J., Coen, M., *et al.* (2016) Lab-on-a-Drone: Toward Pinpoint Deployment of Smartphone-Enabled Nucleic Acid-Based Diagnostics for Mobile Health Care. *Analytical Chemistry*, **88**, 4651-4660. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04153>
- [19] Kopp, M.U., Mello, A.J. and Manz, A. (1998) Chemical Amplification: Continuous-Flow PCR on a Chip. *Science*, **280**, 1046-1048. <https://doi.org/10.1126/science.280.5366.1046>
- [20] Park, J. and Park, H. (2017) Thermal Cycling Characteristics of a 3D-Printed Serpentine Microchannel for DNA Amplification by Polymerase Chain Reaction. *Sensors and Actuators A: Physical*, **268**, 183-187. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2017.10.044>
- [21] Trinh, K.T.L. and Lee, N.Y. (2018) Glass-Polytetrafluoroethylene-Glass Based Sandwich Microdevice for Continuous-Flow Polymerase Chain Reaction and Its Application for Fast Identification of Foodborne Pathogens. *Talanta*, **176**, 544-550. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.07.085>
- [22] Trinh, K.T.L., Wu, W.M. and Lee, N.Y. (2017) Fabrication of a 3D Teflon Microdevice for Energy Free Homoge-

- neous Liquid Flow Inside a Long Microchannel and Its Application to Continuous-Flow PCR. *RSC Advances*, **7**, 10624-10630. <https://doi.org/10.1039/C6RA28765D>
- [23] Jiang, X., Shao, N., Jing, W., Tao, S., Liu, S. and Sui, G. (2014) Microfluidic Chip Integrating High Throughput Continuous-Flow PCR and DNA Hybridization for Bacteria Analysis. *Talanta*, **122**, 246-250. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.053>
- [24] Jiang, X., Jing, W., Zheng, L., Liu, S., Wu, W. and Sui, G. (2014) A Continuous-Flow High-Throughput Microfluidic Device for Airborne Bacteria PCR Detection. *Lab on a Chip*, **14**, 671-676. <https://doi.org/10.1039/C3LC50977J>
- [25] 李振庆, 杨波, 李东, 山口佳则. 连续流聚合酶链式反应芯片微型进样装置[P]. 中国专利, CN201720035780.2. 2017-10-27.
- [26] 李振庆, 张大伟, 黄嘉欣, 杨波, 王宜菲. 连续流微流控 PCR 实时定量检测装置及方法[P]. 中国专利, CN202110108989.8. 2021-06-04.
- [27] Li, Z., Ju, R., Sekine, S., Zhang, D., Zhuang, S. and Yamaguchi, Y. (2019) All-in-One Microfluidic Device for on-Site Diagnosis of Pathogens Based on an Integrated Continuous Flow PCR and Electrophoresis Biochip. *Lab on a Chip*, **19**, 2663-2668. <https://doi.org/10.1039/C9LC00305C>
- [28] Li, Z., Liu, J., Wang, P., Tao, C., Zheng, L., Sekine, S., *et al.* (2021) Multiplex Amplification of Target Genes of Periodontal Pathogens in Continuous Flow PCR Microfluidic Chip. *Lab on a Chip*, **21**, 3159-3164. <https://doi.org/10.1039/D1LC00457C>
- [29] Yang, B., Wang, P., Li, Z., Tao, C., You, Q., Sekine, S., *et al.* (2022) A Continuous Flow PCR Array Microfluidic Chip Applied for Simultaneous Amplification of Target Genes of Periodontal Pathogens. *Lab on a Chip*, **22**, 733-737. <https://doi.org/10.1039/D1LC00814E>
- [30] Wang, W., Li, Z.-X., Luo, R., Lü, S.-H., Xu, A.-D. and Yang, Y.-J. (2005) Droplet-Based Micro Oscillating-Flow PCR Chip. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, **15**, 1369-1377. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/15/8/001>
- [31] Koppaarty, V.L. and Crews, N.D. (2019) Oscillating-Flow Thermal Gradient PCR. Preprint. <https://doi.org/10.1101/544908>
- [32] Salman, A., Carney, H., Bateson, S. and Ali, Z. (2020) Shunting Microfluidic PCR Device for Rapid Bacterial Detection. *Talanta*, **207**, Article ID: 120303. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120303>