

• 综 述 •

## 等温扩增技术在人乳头瘤病毒检测方向的研究进展\*

李媛<sup>1</sup>, 车妍<sup>2</sup>, 郑晓玲<sup>2</sup>, 张莹<sup>2</sup>, 王艳霞<sup>2</sup>综述, 车团结<sup>1△</sup>审校

1. 甘肃省功能基因组与分子诊断技术创新中心, 甘肃兰州 730000;

2. 甘肃省生物芯片工程实验室, 甘肃兰州 730000

**摘要:**人乳头瘤病毒(HPV)是一种常见的性传播病原体, 高危型 HPV 的持续感染与宫颈癌的发展密切相关。虽然聚合酶链式反应是 HPV 核酸诊断的“金标准”, 但其对精密热循环设备的依赖限制了它在基层医疗场景的应用。等温扩增技术可以在恒定温度下扩增目标核酸, 从而减少了对精密温控设备的依赖性, 简化了实验操作流程, 该技术在基层医疗和即时检测等场景中具有显著优势, 现已成为体外诊断试剂研发的前沿方向。该文系统介绍了几种常见等温扩增技术的原理, 并探讨了它们在 HPV 检测领域的最新应用进展, 旨在为开发低成本、高灵敏的 HPV 检测体系提供理论支撑, 推动宫颈癌筛查策略的广泛实施。

**关键词:**等温扩增技术; 人乳头瘤病毒; 宫颈癌

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2026.09.017

**中图法分类号:**R372

**文章编号:**1673-4130(2026)09-1125-06

**文献标志码:**A

**Research progress in the detection of human papillomavirus with isothermal amplification technology\***

LI Yuan<sup>1</sup>, CHE Yan<sup>2</sup>, ZHENG Xiaoling<sup>2</sup>, ZHANG Ying<sup>2</sup>, WANG Yanxia<sup>2</sup>, CHE Tuanjie<sup>1△</sup>

1. Innovation Center of Functional Genomics and Molecular Diagnostics Technology of

Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730000, China; 2. Engineering Laboratory for

Biochips of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730000, China

**Abstract:** Human papillomavirus (HPV) is a prevalent sexually transmitted pathogen. Persistent infection with high-risk HPV types has been demonstrated to be closely associated with the development of cervical cancer. Although polymerase chain reaction is widely regarded as the “gold standard” for HPV nucleic acid diagnostics, its reliance on sophisticated thermocycling equipment poses significant limitations in terms of its practical application in primary care settings. Isothermal amplification techniques have been demonstrated to amplify target nucleic acids at a constant temperature, thereby reducing dependence on precise temperature control devices and simplifying experimental procedures. These techniques offer significant advantages in application scenarios such as primary care and point-of-care testing, and have become a cutting-edge direction in the development of in vitro diagnostic products. This article systematically introduces the principles of several common isothermal amplification technologies and discusses their latest applications in the field of HPV detection. The objective of this study is to provide theoretical support for the development of low-cost, high-sensitivity HPV detection systems and to promote the widespread implementation of cervical cancer screening strategies.

**Key words:** isothermal amplification technology; human papillomavirus; cervical cancer

人乳头瘤病毒(HPV)是一种双链 DNA 病毒, 主要通过接触感染人体表皮及黏膜上皮细胞, 是最常见的性传播病原体之一<sup>[1-2]</sup>。目前已发现的 HPV 共有 200 多种基因型, 按其致病性可分为高危型和低危型。其中, 高危型 HPV 的持续感染与宫颈癌的发展密切相关<sup>[3-5]</sup>。据癌症数据显示, 2020 年全球新增宫颈癌病例约 60.4 万例, 死亡病例约 34.2 万例, 是全球女

性第四大癌症<sup>[6]</sup>。中国恶性肿瘤流行病学监测数据显示, 2022 年中国女性宫颈癌确诊人数达到了 15.07 万例, 发病率位居女性恶性肿瘤第五位<sup>[7]</sup>。宫颈癌是一种病因明确、可防可控的恶性肿瘤, 其防控的关键在于对高危型 HPV 感染进行早期筛查, 从而有效阻断疾病进展。世界卫生组织(WHO)推荐将高危型 HPV 核酸检测作为宫颈癌筛查的首选方法, 该检测

\* 基金项目: 甘肃省科技计划项目(24ZDCA004); 兰州市科技计划项目(2023-3-27)。

△ 通信作者, E-mail, 663536803@qq.com。

对预防及早期发现宫颈癌等疾病具有重要的临床价值<sup>[8]</sup>。

核酸体外扩增技术是分子诊断的核心工具,其中,聚合酶链式反应(PCR)具有极高的灵敏度和特异性,是 HPV 核酸检测的“金标准”<sup>[9]</sup>。然而,传统 PCR 不仅需要精密的热循环仪来实现温度梯度控制,而且对操作环境要求较高,这些条件限制了其在基层检测机构中的应用。核酸等温扩增技术可以在恒定温度下扩增目标核酸,从而减少了对精密温控设备的依赖性,简化了实验操作流程,该技术在基层医疗和即时检测(POCT)等应用场景中具有显著的优势,现已成为体外诊断试剂研发的前沿方向。

目前已有多种等温扩增技术应用于 HPV 核酸检测,常见的有环介导等温扩增(LAMP)、重组酶聚合酶扩增(RPA)、滚环扩增(RCA)等。本文系统介绍了几种常见等温扩增技术的原理,并探讨了它们在 HPV 检测领域的最新应用进展。旨在为开发低成本、高灵敏的 HPV 检测体系提供理论支撑,推动宫颈癌筛查策略的广泛实施。

## 1 LAMP 技术

**1.1 LAMP 技术原理及特点** LAMP 由 Notomi 团队于 2000 年首次提出<sup>[10]</sup>,LAMP 技术的核心原理是在约 65 °C 的恒温条件下,使用针对靶基因设计的 4 条特异性引物,包括 2 条内引物(FIP、BIP)和 2 条外引物(F3、B3)。这些引物在具有链置换活性的 Bst DNA 聚合酶催化下,特异性地识别靶基因上的 6 个区域,并通过杂交形成哑铃状的 DNA 单链,随后以该 DNA 单链为模板进行指数级扩增,最终生成具有多茎环结构和花椰菜状构型的扩增产物。扩增产物可通过实时荧光监测、琼脂糖凝胶电泳、比色法、浊度法及侧向层析试纸条(LFD)等多种方式进行检测。与传统 PCR 技术相比,LAMP 技术无需昂贵的变温仪器,具有很高的灵敏度和特异性,且检测结果直观可视。尽管存在气溶胶污染风险及长片段靶标扩增减效的局限,LAMP 仍凭借其优势成为检测 HPV DNA 和其他病原体的最常用等温扩增技术之一,为基层医疗与 POCT 提供了革新性的技术手段。

**1.2 LAMP 技术在 HPV 检测方向的应用** LAMP 技术已广泛应用于 HPV 检测领域。VO 等<sup>[11]</sup>基于 LAMP 开发了一种针对高危 HPV 亚型的快速可视化检测体系,该系统可以在等温(65 °C)条件下实现单管核酸扩增,并利用 pH 敏感试剂进行比色分析。该方法可精准区分 HPV16 与 HPV18,能在 20 min 内完成亚型鉴别,且无交叉反应。此外,该方法通过煮沸裂解细胞直接提取 DNA,省去了核酸纯化步骤,显著降低了检测成本。ZHU 等<sup>[12]</sup>提出磁性纳米颗粒-内部加热环介导等温扩增(nano-LAMP)技术,利用 808 nm 近红外光激发磁性纳米颗粒(MNPs)产生热

量,实现 HPV DNA 的等温扩增。该技术通过内部加热避免外部热源污染,此外,MNPs 的负电荷可减少核酸吸附,显著提升扩增效率。基于 MNPs 内部加热的 nano-LAMP 检测方法有望引领等温扩增检测领域的新突破。WORMALD 等<sup>[13]</sup>研究开发了一种结合 LAMP 与磁共振成像(MRI)的联合诊断方法,用于同时检测 HPV16/18 的 DNA/RNA 及肿瘤标志物,并评估了该方法与高分辨率经阴道 MRI 结合时的诊断价值。研究表明,LAMP 分子诊断技术与 MRI 影像评估结合可实现宫颈癌的早期精准识别,为希望保留生育能力的患者提供最佳手术决策支持。

此外,近年来有研究报道了 LAMP 技术与其他检测技术相结合,为 HPV 检测开辟了新的途径<sup>[14-15]</sup>。LAMP 技术与 LFD 的结合为 HPV 提供了一种快速、便捷的检测方法。BARRA 等<sup>[14]</sup>开发了一种基于 LAMP 技术的单管四靶标侧向层析检测方法,用于快速筛查与宫颈癌相关的高危型人乳头瘤病毒(HPV16、HPV18、HPV45)及  $\beta$ -肌动蛋白样本质量控制基因。该技术利用 LAMP 在 30 min 内完成核酸扩增,并结合 LFD 实现结果可视化,无需复杂仪器即可完成操作。黄月明等<sup>[15]</sup>将 LAMP 与 LFD 联合,建立 HPV16 和 HPV58 快速可视化检测方法:针对 HPV16 E6 基因及 HPV58 L1 基因保守区域设计特异性引物及探针,引入荧光基团 FAM 标记探针与淬灭探针 BHQ-1,结合生物素标记引物,显著提高检测特异性。优化后反应条件为 63 °C 恒温孵育 50 min, LFD 检测仅需 5 min,总耗时 55 min,对 HPV16 和 HPV58 的检测灵敏度均达 100 copy/ $\mu$ L。该方法无需复杂设备,操作简便且结果直观,适用于资源匮乏地区的现场筛查,为 HPV 分型检测提供了高效、经济的解决方案。

实时荧光 LAMP 通过整合实时荧光监测系统,借助荧光 PCR 仪可在扩增过程中动态追踪荧光信号变化,直接依据扩增曲线判定靶序列的存在,实现闭管式核酸扩增与检测同步。周骏等<sup>[16]</sup>基于实时荧光 LAMP 技术,建立了 HPV16/18 快速检测体系,并通过调整引物、 $Mg^{2+}$ 、dNTPs 等关键参数进行反应体系优化,同时采用预混 SYBR Green I 的闭管检测策略,实现扩增与荧光信号监测同步。该体系具有很高的灵敏度和特异性,对 HPV16/18 检测灵敏度达 10 copy/ $\mu$ L。

LAMP 与微流控芯片技术相结合,可充分发挥便捷性、快速、高通量及自动化等优势,显著提升检测效率。WANG 等<sup>[17]</sup>研究开发了一集成 LAMP 与微流控芯片技术的 HPV 快速检测系统,可检测 30 种 HPV 亚型;该系统在等温条件下完成扩增,并利用羧基萘酚蓝(HNB)染料产生可视化颜色变化,方法简单且成本低廉,适用于资源匮乏地区临床 HPV 分型检

测。MAO 等<sup>[18]</sup>开发了一种基于微流控芯片-LAMP 集成的创新检测方法,可同时高灵敏度检测阴道毛滴虫及 HPV16/18/52 亚型;该系统兼具操作简便、成本低廉和检测快速的特点,为宫颈癌相关病原体混合感染研究提供了高效方法。该系统可扩展检测至 22 种病原体,在医学诊断和环境监测等领域具有广阔应用前景。WANG 等<sup>[19]</sup>将数字 LAMP 技术与自动数字化芯片相结合,实现 14 种高危 HPV 类型的定量检测。该技术优化了 HPV 特异性 LAMP 引物,并利用芯片自动将样本分配至纳升级孔阵列。检测在 65 °C 下 47 min 内完成,灵敏度达  $10\sim 10^3$  copy/ $\mu$ L。

LAMP 技术与生物传感器的结合为快速诊断 HPV 提供了强有力的工具。WORMALD 等<sup>[20]</sup>研究开发了一种基于离子敏感场效应晶体管传感器与 LAMP 的便携式芯片实验室设备,用于宫颈癌的即时检测。该设备通过同时检测 HPV16 和 HPV18 的 DNA 及人端粒酶逆转录酶 mRNA,实现宫颈癌的高灵敏度、高特异度检测,检测结果与传统的 PCR 技术一致,检测灵敏度高且检测时间短于 25 min;检测结果可通过蓝牙传输至智能手机,为宫颈癌筛查提供低成本、便携式方法。

## 2 RPA 技术

### 2.1 RPA 技术原理及特点

RPA 是由 PIEPENBURG 等<sup>[21]</sup>开发,也是目前较为成熟的等温扩增技术。该技术的核心是基于重组酶复合物、单链结合蛋白(SSB)及链置换 DNA 聚合酶的协同作用:重组酶与特异性引物相结合形成重组酶-引物复合物,该复合物识别模板 DNA 上的靶序列,并打开周围的双链 DNA 结构形成置换环;SSB 随即稳定解链区域以防止重新退火,重组酶-引物复合物随后在反应体系中主动水解 ATP,诱导复合物发生构象改变,此过程暴露引物的 3'端,使 DNA 聚合酶得以结合并启动链延伸,形成新的互补链。通过反复循环此过程,可实现产物 DNA 的指数级扩增。整个过程仅需在 37~42 °C 恒温条件下完成,显著降低了对设备的依赖性。

RPA 具有检测快速、高灵敏度和操作简便等优势,但产物分析的准确性可能受到多重因素干扰:内在因素包括核心酶活性、引物和探针设计的特异性;外部因素包括反应温度波动、扩增产物处理方式及可能出现的假阴性结果。尽管存在这些局限性,RPA 仍是在医疗资源有限环境中进行即时检测的有力工具。

### 2.2 RPA 技术在 HPV 检测方向的应用

RPA 与多种技术结合,可以进一步优化 HPV 的检测,常见的检测技术包括 LFD、规则成簇的间隔短回文重复序列(CRISPR)/CRISPR 相关蛋白(Cas)系统、微流控芯片及生物传感器等。近年来,有研究报道了 RPA 与 LFD 的结合研究<sup>[22-23]</sup>。MA 等<sup>[22]</sup>提出结合 RPA、LFD 与反向斑点杂交(RDB)的检测技术,用于 HPV

基因型的即时检测。该方法以 HPV 保守的 L1 基因为扩增靶标,具有高度特异性,能在 1 h 内完成检测,对病毒基因组 DNA 的检测灵敏度低至 100 fg。该技术无需复杂设备与耗时流程,为疾病监测提供了便捷高效的解决方案。KUNDROD 等<sup>[23]</sup>研发了一种新型 HPV16 和 HPV18 DNA 即时检测平台(NATflow 平台),该平台整合样本前处理、RPA 和 LFD 检测于一体,可在 45 min 内得到检测结果。NATflow 平台具有很高的特异性,检测限为 1 000 拷贝/测试。尽管其灵敏度相对较低,但该平台具有检测成本低、设备便携及大规模生产潜力等优势,这使其成为资源匮乏地区进行实时宫颈癌筛查的可行解决方案。

CRISPR-Cas 系统是一种基于细菌适应性免疫机制的基因编辑工具,通过 crRNA 精准识别目标核酸序列并激活 Cas 蛋白的切割活性,实现核酸检测中对目标分子的特异性识别及信号放大<sup>[24-25]</sup>。将 RPA 与 CRISPR-Cas 系统、微流控芯片技术相结合,是生物检测领域的研究热点,该融合模式在快速检测、便携式设备开发和精准诊断方面具有显著优势。XU 等<sup>[26]</sup>研究开发了一种名为 MiCaR 的多重核酸检测平台,该平台结合了微流控空间编码技术、CRISPR-Cas12a 系统和 RPA 技术,实现了高效、低成本的多靶点检测。MiCaR 利用微流控芯片的空间编码策略,通过单一荧光探针可同时检测多达 30 个核酸目标。检测限低至 0.26 amol,整个过程仅需 40 min。MiCaR 的快速、简便和高通量的优点使其在传染病诊断和 POCT 中具有广阔应用前景。HUANG 等<sup>[27]</sup>开发了基于 Cas12 蛋白与一步法 RPA 的荧光微流控检测系统。该系统可通过筛选靶向 HPV L1 基因的特异性 crRNA 和 RPA 引物,同时检测 6 种高危型 HPV 亚型。整个样本检测过程仅需 35 min,检出限为 50 copy/ $\mu$ L。该检测系统具有高灵敏度和操作简便等优势,为宫颈癌筛查提供了可现场实施的快速分子诊断方案。CUI 等<sup>[28]</sup>开发了一种基于 CRISPR-Cas13a 系统检测 HPV 的创新型微流控平台 PADLOCK,该平台通过液滴发生器制备不含 MgOAc 的 RPA 反应液滴以抑制预扩增,再利用皮升注射器精准注入 MgOAc 以触发数字化 RPA,实现单分子水平核酸绝对定量。结合 CRISPR/Cas13a 系统,当 HPV-16 的 L1 基因存在时,Cas13a 激活并释放荧光信号,信噪比显著提升,30 min 内完成样本的检测。该平台展现出极高的灵敏度,检测限低至单个病毒分子水平。

RPA 技术可与生物传感器结合用于 HPV 的检测。NAKOWONG 等<sup>[29]</sup>开发了集成 RPA 的电化学生物传感器,用于检测高危型 HPV16 基因型。该电化学生物传感器展现出极高的灵敏度和特异度,对 HPV16 DNA 的检测限达 0.23 copy/ $\mu$ L,且 75 min 内可完成检测、操作简便,为资源匮乏地区 POCT 提

供新技术路径。

### 3 RCA 技术

**3.1 RCA 技术原理及特点** RCA 技术由 FIRE 等学者于 1995 年首次报道<sup>[30]</sup>, 核心原理是引物沿环状模板持续进行延伸反应, 最终生成含有多个重复序列的长链核酸产物<sup>[31]</sup>。RCA 具有高效等温扩增能力、较高的灵敏度和特异度等优势。然而, RCA 技术在实际应用中也存在一些挑战, 例如样品处理过程较为复杂, 且检测时间较长。

**3.2 RCA 技术在 HPV 检测方向的应用** 近年来, RCA 凭借高灵敏度和高特异度在 HPV 检测领域快速发展。ZHANG 等<sup>[32]</sup>提出新型的 CRISPR 相关滚环扩增技术 (CART)。在 CART 的检测过程中, Cas9/sgRNA 复合物首先识别并切割目标 DNA, 生成的片段被连接成环状 DNA 作为扩增模板, 通过超分支滚环扩增 (HRCA) 实现高效扩增。因此, CART 兼具 Cas9/sgRNA 的单碱基错配特异性与 HRCA 等温扩增特性及高灵敏度的优势。研究团队通过检测多种 HPV 亚型验证了该技术的有效性, 为 HPV 核酸检测提供了新型高效方法。TAO 等<sup>[33]</sup>提出熵驱动分子信标辅助最小二级结构 RCA 技术。该技术创新结合分子信标探针与工程化环状模板设计, 克服传统 RCA 中环状模板二级结构导致的扩增效率低、灵敏度不足等问题, 实现 HPV16 E7 基因的高灵敏等温检测。该技术的核心是一个分子信标, 其环状区域识别核酸靶标, 而茎部区域启动 RCA 反应; 当靶标存在时, 分子信标的茎区暴露并与特异性设计的环状模板杂交, 触发 DNA 扩增。通过优化反应体系及条件, 该技术可在室温下 40 min 内完成检测, 灵敏度达到 1 pmol/L, 较传统线性 RCA 的灵敏度提升约 100 倍, 为 POCT 提供新策略, 在 HPV 相关宫颈癌筛查中展现出临床转化潜力。

### 4 其他等温扩增技术在 HPV 检测方向的应用

除上述常见的技术外, 其他等温扩增技术在 HPV 的检测中也发挥着重要作用。重组酶介导等温扩增 (RAA) 是基于重组酶与 SSB 协同作用的核酸扩增技术。其原理为重组酶-引物复合物特异性识别并

结合靶 DNA 序列, 在 37~42 °C 恒温条件下通过链置换反应实现快速扩增。RAA 具有灵敏度高、特异性强、快速高效及设备便携等优点, 在 POCT 中优势显著。ZHENG 等<sup>[34]</sup>构建基于 CRISPR-Cas13a/Cas12a 双通道系统联合 RAA 的检测体系, 用于 HPV16 和 HPV18 的快速检测与分型。该体系能在 30 min 内可完成检测, 灵敏度达 100 copy/ $\mu$ L。为满足现场检测的需求, 配套研发了便携式荧光成像检测设备, 可通过肉眼直接观察或手机成像判读检测结果, 在缩短检测时间、降低设备依赖性方面具有显著优势, 为资源有限地区宫颈癌筛查提供新思路。

核酸序列依赖性扩增 (NASBA) 通过 3 个步骤高效扩增目标核酸: 逆转录、RNA 降解和转录扩增。该技术以 RNA 为初始模板, 利用逆转录酶合成互补 DNA (cDNA), 随后通过 RNase H 降解 RNA 链形成单链 DNA, 再通过另一条引物延伸生成含 T7 启动子的双链 DNA 模板, 最终由 T7 RNA 聚合酶大量合成 RNA 拷贝, 形成循环扩增反应。NASBA 是首项用于 HPV RNA 检测的等温技术, KRAUS 等<sup>[35]</sup>采用实时 NASBA 技术检测 HPV E6/E7 mRNA 表达, 并探讨其与宫颈上皮内瘤变严重程度的关系, 为 HPV 转录水平分析在宫颈癌筛查及预后管理中的价值提供重要证据。

### 5 总结与展望

HPV 核酸检测作为宫颈癌筛查的首选方法, 在预防及早期检测宫颈癌等疾病方面具有重要临床价值。相较于实时荧光定量 PCR 检测方法, 等温核酸扩增技术具有多重优势: 无需复杂的实验室设施或精密仪器, 操作简便且对人员专业性要求低; 检测所需时间短、效率高, 兼具高灵敏度和高通量检测能力<sup>[36-37]</sup>。等温核酸扩增技术在 HPV 快速检测领域具有巨大发展潜力, 表 1 汇总了不同等温核酸扩增技术的特点及优缺点, 未来研究应聚焦于跨学科技术融合方向, 将等温扩增技术与微流控芯片、LFD、CRISPR-Cas 及生物传感器等技术深度结合, 进一步优化 HPV 的检测方法, 使其更高效、准确且易于操作, 为宫颈癌筛查的广泛普及提供技术支撑。

表 1 不同核酸等温扩增技术对比

检测技术	反应温度 (°C)	反应时间 (min)	优点	缺点	参考文献
LAMP	60~65	<60	灵敏度高、特异性强、检测结果直观可视	引物设计复杂, 存在气溶胶污染风险	[10]
RPA	37~42	15~20	快速检测、灵敏度高、设备依赖性低	引物设计难度高, 试剂成本高	[21]
RAA	25~42	10~30	操作步骤简单、灵敏度高、特异性强	对引物设计要求高	[38]
RCA	37	60~180	灵敏度高、特异性强	样品处理过程较为复杂, 且检测时间较长	[30]
NASBA	41	90~120	可直接用于 RNA 的检测, 防止污染发生	反应体系复杂, 酶类成本高	[39]

## 参考文献

- [1] DE SANJOSE S, QUINT W G, ALEMANY L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer; a retrospective cross-sectional worldwide study [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(11): 1048-1056.
- [2] QUINLAN J D. Human papillomavirus; screening, testing, and prevention [J]. *Am Fam Physician*, 2021, 104(2): 152-159.
- [3] COHEN P A, JHINGRAN A, OAKNIN A, et al. Cervical cancer [J]. *Lancet*, 2019, 393(10167): 169-182.
- [4] ARBYN M, WEIDERPASS E, BRUNI L, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis [J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(2): e191-e203.
- [5] MCBRIDE A A. Human papillomaviruses; diversity, infection and host interactions [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20(2): 95-108.
- [6] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [7] 郑荣寿, 陈茹, 韩冰峰, 等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2024, 46(3): 221-231.
- [8] 魏丽惠, 李明珠, 王悦. 《世界卫生组织子宫颈癌前病变筛查和治疗指南(第 2 版)》解读 [J/CD]. *中国医学前沿杂志电子版*, 2021, 13(9): 5.
- [9] DING N, QI W, WU Z, et al. Development of enzymatic recombinase amplification assays for the rapid visual detection of HPV16/18 [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2023, 33(8): 1091-1100.
- [10] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(12): E63.
- [11] VO D T, STORY M D. Facile and direct detection of human papillomavirus (HPV) DNA in cells using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) [J]. *Mol Cell Probes*, 2021, 59: 101760.
- [12] ZHU H H, LI Y, WU L X, et al. Internal heating method of loop-mediated isothermal amplification for detection of HPV-6 DNA [J]. *Mikrochim Acta*, 2022, 189(5): 212.
- [13] WORMALD B, RODRIGUEZ-MANZANO J, MOSER N, et al. Loop-mediated isothermal amplification assay for detecting tumor markers and human papillomavirus: accuracy and supplemental diagnostic value to endovaginal MRI in cervical cancer [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 747614.
- [14] BARRA M, CHANG M, SALCEDO M P, et al. Single-tube four-target lateral flow assay detects human papillomavirus types associated with majority of cervical cancers [J]. *Anal Biochem*, 2024, 688: 115480.
- [15] 黄月明, 牟颖, 周骏, 等. 环介导等温扩增联合横向流动试纸条可视化检测 HPV16 及 HPV58 方法的建立 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2021, 16(6): 624-629.
- [16] 周骏, 牟颖, 黄月明, 等. 基于实时荧光环介导等温扩增的 HPV16 及 HPV18 检测体系的建立 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2020, 15(1): 58-63.
- [17] WANG Y, GE G, MAO R, et al. Genotyping of 30 kinds of cutaneous human papillomaviruses by a multiplex microfluidic loop-mediated isothermal amplification and visual detection method [J]. *Virology*, 2020, 17(1): 99.
- [18] MAO Z, DENG A, JIN X, et al. A microfluidic-chip-based system with loop-mediated isothermal amplification for rapid and parallel detection of *Trichomonas vaginalis* and human papillomavirus [J]. *Analyst*, 2023, 148(19): 4820-4828.
- [19] WANG J, STAHELI J P, WU A, et al. Detection of 14 high-risk human papillomaviruses using digital LAMP assays on a self-digitization chip [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(6): 3266-3272.
- [20] WORMALD B W, MOSER N, DESOUZA N M, et al. Lab-on-chip assay of tumour markers and human Papilloma virus for cervical cancer detection at the point-of-care [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 8750.
- [21] PIEPENBURG O, WILLIAMS C H, STEMPLE D L, et al. DNA detection using recombination proteins [J]. *PLoS Biol*, 2006, 4(7): e204.
- [22] MA B, FANG J, LIN W, et al. A simple and efficient method for potential point-of-care diagnosis of human papillomavirus genotypes: combination of isothermal recombinase polymerase amplification with lateral flow dipstick and reverse dot blot [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(28): 7451-7460.
- [23] KUNDROD K A, BARRA M, WILKINSON A, et al. An integrated isothermal nucleic acid amplification test to detect HPV16 and HPV18 DNA in resource-limited settings [J]. *Sci Transl Med*, 2023, 15(701): eabn4768.
- [24] AMITAI G, SOREK R. CRISPR-Cas adaptation; insights into the mechanism of action [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(2): 67-76.
- [25] MARRAFFINI L A. CRISPR-Cas immunity in prokaryotes [J]. *Nature*, 2015, 526(7571): 55-61.
- [26] XU Z, CHEN D, LI T, et al. Microfluidic space coding for multiplexed nucleic acid detection via CRISPR-Cas12a and recombinase polymerase amplification [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 6480.
- [27] HUANG B, LOU Y, ZENG Z, et al. A Cas12a-based fluorescent microfluidic system for rapid on-site human papillomavirus diagnostics [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2023, 107(20): 6287-6297.
- [28] CUI J Q, LIU F X, PARK H, et al. Droplet digital recombinase polymerase amplification (ddRPA) reaction unblocking via picoinjection [J]. *Biosens Bioelectron*, 2022, 202: 114019.

# 基于核酸策略的侧向流层析试纸条研究进展\*

操 香<sup>1</sup>, 许永杰<sup>1,2△</sup>综述, 余 芳<sup>1,3</sup>审校

1. 贵州医科大学医学检验学院, 贵州贵阳 550004; 2. 贵州省人民医院检验科, 贵州贵阳 550002;  
3. 贵州医科大学附属医院检验科, 贵州贵阳 550004

**摘要:**即时检测(POCT)具有快速、易操作及近患优势,在临床快速诊断、资源受限场景及动态监测中展现广阔应用前景。侧向流层析试纸条在纸基传感界面进行,成本低、操作简便和检测快速,已成为 POCT 领域的研究热点。该文系统阐述基于核酸策略的试纸条技术原理与分类,重点评述其信号放大策略及在 POCT 领域的应用进展,并深入探讨当前面临的挑战与未来发展趋势,以期为该技术的开发与应用提供参考。

**关键词:**侧向流动分析; 适配体; 即时检测; 信号放大; 反式切割

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2026.09.018 **中图分类号:**R446

**文章编号:**1673-4130(2026)09-1130-06

**文献标志码:**A

## Research advances in nucleic acid-based lateral flow assay\*

CAO Xiang<sup>1</sup>, XU Yongjie<sup>1,2△</sup>, YU Fang<sup>1,3</sup>

1. School of Medical Laboratory, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China;

2. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Guizhou, Guiyang, Guizhou

550002, China; 3. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of

Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China

**Abstract:** Point-of-care testing (POCT), renowned for its rapidity, user-friendliness, and advantages in point-of-care applications, holds considerable promise in clinical rapid diagnosis, resource-limited environments, and dynamic monitoring. Lateral flow assay test strips, which employ paper-based sensing interfaces, have garnered significant attention in POCT research due to their low cost, ease of operation, and rapid detection capabilities. This article provides a comprehensive review of the technical principles and classifications of nucleic acid-based test strip strategies, with a particular focus on signal amplification techniques and recent advancements in POCT applications. Furthermore, it offers an in-depth analysis of current challenges and future development trends, aiming to provide valuable insights into the ongoing evolution and broader application of this technology.

**Key words:** lateral flow assay; aptamer; point-of-care testing; signal amplification; trans-cleavage

侧向流层析试纸条具有简单、快速、价格低廉和不依赖昂贵精密仪器等优势,被广泛应用于即时检测(POCT)、现场筛查和家庭自测。基于核酸策略的侧向流层析试纸条则通过将核酸识别元件与层析平台融合,借助核酸探针设计的灵活性,广泛用于多种靶标的特异性分析,实现了“样本进-结果出”的快速检测模式<sup>[1]</sup>。近年来,等温扩增、纳米材料、成簇规律间隔短回文重复序列及其相关蛋白(CRISPR/Cas)系统及人工智能的交叉融合,推动基于核酸策略的侧向流层析试纸条在灵敏度与特异度方面取得突破性进展<sup>[2-3]</sup>。本文系统综述基于核酸策略的侧向流层析试纸条的技术原理、分类、信号放大策略及 POCT 领域

应用,剖析技术挑战,并展望其转化前景。

### 1 试纸条基本构成及检测原理

基于核酸策略的侧向流层析试纸条由样品垫、结合垫、硝酸纤维素(NC)膜及吸水垫依次层压于背板构成<sup>[1-2]</sup>。该检测方法是色谱层析技术原理在 POCT 领域的重要拓展,融合了免疫识别或分子杂交等生物识别机制,以 NC 膜为固定相载体,通过毛细作用驱动样本液(流动相)侧向流动,在预置的检测线与质控线上完成目标物的特异度捕获与信号富集。目前,侧向流层析检测试纸条主要采用夹心法及竞争法两种检测模式<sup>[1]</sup>。(1)夹心法:毛细作用驱动流体层析并携带结合垫信号探针沿 NC 膜迁移,信号探针首先与

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(82160026)。

△ 通信作者, E-mail:504267611@qq.com。