

# 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 **中图法分类号:**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。

目标分析物特异度结合形成“信号探针标记物-分析物”复合物,层析过程中复合物被检测线捕获探针捕获,形成检测信号,过量游离探针被质控线捕获,形成质控信号;无目标物时,仅显示质控线。(2)竞争法:结合垫信号探针既可与分析物结合,又可与检测线捕获探针结合,层析过程中信号探针与分析物的优先结合竞争性抑制检测线位置信号探针聚集,通过检测线的信号探针被质控线捕获;无目标物时,双线均出现检测信号。夹心法信号强度与目标物浓度呈正相关,竞争法信号强度与目标物浓度呈负相关。根据偶联信号探针类型不同,可产生比色、荧光、表面增强拉曼散射、热、磁、电等信号<sup>[1-4]</sup>。

## 2 试纸条分类

基于核酸策略的侧向流层析试纸条根据分子识别机制及检测线捕获探针性质差异分为抗体依赖型与抗体非依赖型<sup>[1]</sup>。

**2.1 抗体依赖型** 抗体依赖型试纸条利用小分子半抗原荧光素、地高辛、生物素等分别修饰核酸扩增引物,经核酸扩增生成双末端半抗原标记的双链扩增子<sup>[5]</sup>。针对不同半抗原(如荧光素),固定相应抗体(如抗荧光素抗体)在检测线(T线)作为捕获探针,并将通用捕获探针[如抗免疫球蛋白(IgG)抗体/生物素]固定在质控线(C线)。同时,制备半抗原抗体、链霉亲和素或核酸探针偶联的纳米颗粒,如功能化的金纳米颗粒(AuNPs)、彩色/荧光微球。分析检测时,样品在试纸条上层析,双标记扩增子的一端(如荧光素)与T线上对应的抗体捕获探针(抗荧光素抗体)结合,另一端(如生物素)则与纳米颗粒信号探针(SA-AuNPs)结合。最终,在T线形成“抗体捕获探针-双标记扩增子-纳米颗粒信号探针”复合物,在C线形成“通用捕获探针-纳米颗粒信号探针”复合物,导致纳米颗粒在相应区域聚集产生信号条带<sup>[1,5]</sup>。基于抗体依赖型的试纸条往往依赖半抗原修饰的引物及相应抗体捕获探针,导致检测成本升高。

**2.2 抗体非依赖型** 抗体非依赖型试纸条对目标分子的检测依赖于互补DNA探针的自发、选择性杂交反应或适配体特异识别反应。通过在试纸条检测区固定核酸捕获探针(核酸探针或适配体),捕获目标分子形成“捕获探针-目标分子-信号探针”复合物,实现信号探针在检测区域的定向富集。捕获探针的选择与固定直接影响其对目标分子的捕获特异度和捕获效率,常见固定技术:(1)亲和偶联,利用链霉亲和素-生物素超高亲和力,将生物素化的核酸探针与链霉亲和素偶联,通过静电、氢键、疏水作用将偶联复合物固定于NC膜,构建固相核酸探针捕获界面<sup>[3]</sup>。(2)共价结合,利用254 nm紫外光催化DNA嘧啶碱基与膜表面氨基发生共价偶联,同时诱导DNA链内嘧啶二

聚体形成,实现双交联固定,其效率具有严格能量依赖性<sup>[6]</sup>。(3)包埋固定,依赖核酸探针及其复合物的尺寸或分子量固定<sup>[7]</sup>。(4)其他方法,近年来,研究者探索了盐介导固定<sup>[8]</sup>和DNA四面体纳米结构固定<sup>[9]</sup>等新方法。相比常规核酸捕获探针固定方式,这些方法有效抵抗层析过程中流体干扰,提升探针在固液界面的空间定位的稳定性,同时兼具操作简便、设备依赖性低及成本较低的优势。相比于抗体依赖型侧向流层析,抗体非依赖型侧向流层析的核酸探针固定方式多样,更具成本优势,更强环境耐受性(如温度、pH波动),结合指数富集的配体系统进化技术可开发新型识别元件,拓展侧向流层析的应用场景。

## 3 基于核酸策略的侧向流层析试纸条性能提升策略

**3.1 等温扩增策略** 等温扩增技术凭借其免热循环、操作简便、反应快速、恒温(通常在37~65℃下进行)等优势,成为与侧向流层析测定平台联用实现POCT的理想选择。该等温扩增策略显著提升了试纸条的检测灵敏度,并可实现定量分析<sup>[5]</sup>。目前,已有多种等温扩增与侧向流层析试纸条巧妙联用,包括环介导等温扩增(LAMP)<sup>[10]</sup>、滚环扩增(RCA)<sup>[11]</sup>、杂交链式反应(HCR)<sup>[12]</sup>、切口酶扩增反应(NEAR)<sup>[13]</sup>、重组酶聚合酶等温扩增(RPA)<sup>[14]</sup>等。其中,RPA反应快速、引物设计简单且扩增产物尺寸适合层析试纸条,但易产生非特异性扩增导致假阳性<sup>[14]</sup>;LAMP虽具有高灵敏度与特异性,但引物设计复杂(需4~6条),且易因引物相互作用或气溶胶污染导致假阳性,其阶梯状扩增产物也需进一步验证<sup>[15]</sup>;RCA需对模板进行环化预处理,流程较为烦琐<sup>[11]</sup>。尽管如此,诸多研究证明等温扩增技术与侧向流层析测定平台联用体系的应用潜力。如基于切口酶恒温扩增与侧向流层析技术的Veros新型冠状病毒(USA)检测装置,可在15 min内实现严重急性呼吸综合征冠状病毒的快速检测,阳性与阴性符合率分别达95.2%和99.5%,检测限为每管2 600 copy<sup>[13]</sup>。而整合RPA与纳米酶的检测体系其灵敏度可达200 copy/mL,媲美逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)<sup>[16]</sup>。

**3.2 CRISPR放大技术策略** 为提升检测性能,CRISPR技术被引入级联放大系统。通过CRISPR RNA(crRNA)特异度识别等温扩增产物,激活Cas蛋白(如Cas12a/13a)的反式切割活性,实现对报告分子的非特异性切割,最终经由试纸条输出检测信号。该策略不仅提高了检测的特异性与灵敏度,而且拓展了多重检测能力<sup>[17]</sup>。基于分裂crRNA设计,无需预扩增即可区分成熟微小RNA(miRNA)、前体miRNA及点突变。该系统已成功应用于宫颈癌患者血浆中miRNA-21的定量检测,联合RPA后实现了对人乳头瘤病毒核酸的阿摩尔级检测<sup>[18]</sup>。此外,CRISPR系

统还可与抗体或适配体联用,实现非核酸目标分子(如蛋白质、完整病原体)的直接检测,进一步拓宽了其应用范围<sup>[17]</sup>。目前,基于 CRISPR 的生物传感技术仍面临多方面的技术挑战:如效应蛋白(如 Cas9a/12a)需依赖特定前间区序列邻近基序(PAM)靶向识别,限制了靶点选择的灵活性;同时,反应条件(盐浓度、温度和 pH)易影响单向导 RNA 结合及切割活性,导致信号偏差,难以在维持操作便捷的前提下实现稳定标准化<sup>[19]</sup>。此外,在与等温扩增联合使用时,“一锅法”反应还存在系统兼容性不足的问题,可能引起灵敏度下降和假阳性<sup>[20]</sup>。

**3.3 信号标签放大技术策略** 基于核酸策略的侧向流层析试纸条信号产生是由检测线或质控线纳米标签聚集或竞争解聚导致的信号强度变化。常用 AuNPs 标签可提供肉眼判读的比色信号。然而, AuNPs 标签易受环境影响发生非特异性聚集,且检测灵敏度不足<sup>[21]</sup>。为此,多种纳米标签被开发并应用于试纸条检测平台。

**3.3.1 比色标签的多重组装** 在比色信号增强方面,通过程序化自组装显著提升分析性能。“气球绳”状 AuNPs 探针通过点击化学和杂交链式反应多重组装,大幅降低检测限并缩短显色时间<sup>[12]</sup>。通过时空有序流体控制与金金属化信号放大相结合构建的自动化传感器,对未扩增乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸的检测限达 7.23 pmol/L<sup>[22]</sup>。

**3.3.2 荧光信号多维增强** 荧光标签凭借其高量子产率与低背景优势,提升检测灵敏度。多位点酶切级联放大结合量子点标签实现了细菌核糖体 RNA 的超灵敏检测<sup>[23]</sup>;基于 DNA 纳米管支架组装荧光染料形成多类识别元件,实现纳摩尔级小分子/抗体/蛋白多重检测,突破传统 AuNPs 功能局限性<sup>[24-25]</sup>。但其定量依赖外接读取设备。

**3.3.3 光热与等离子体标签的局域场增强** 该策略的核心在于利用金纳米棒等贵金属纳米材料的局域表面等离子体共振效应<sup>[26]</sup>。通过将核酸探针修饰于这些纳米颗粒表面,构建出“等离子体光热标签”,借助其局域场增强特性最终实现了超高灵敏度的检测。基于适配体纳米花增强的侧向流层析,利用 Au@Pd 纳米爆米花近红外光热,智能手机读值,显著提升外泌体检测灵敏度(检测限  $1.4 \times 10^4$  particles/ $\mu$ L)<sup>[27-28]</sup>。

**3.3.4 纳米酶催化信号放大** 纳米酶兼具天然酶的高催化活性和纳米材料的独特优势,构建用于 POCT 的纸基比色传感器,已成为开发低成本、便携式分析工具的有效策略。FeS<sub>2</sub> 纳米酶兼具催化活性与稳定性,联用 RPA 检测严重急性呼吸综合征冠状病毒核酸,性能媲美 RT-PCR<sup>[16]</sup>。

**3.3.5 其他信号增强技术** 通过磁富集<sup>[29]</sup>或离子浓

差极化<sup>[30]</sup>等手段提高检测界面处的分析物浓度,可实现阿摩尔级的超高灵敏度甚至免扩增检测,但往往以增加操作步骤、成本或设备复杂性为代价。

#### 4 基于核酸策略侧向流层析试纸条的应用

**4.1 病原微生物检测** 病原微生物的临床快速检测对指导疾病诊断及治疗至关重要,试纸条凭借操作简便、响应快速等优势,在资源受限场景下应用受到广泛关注。近年研究者聚焦于分析性能提升与操作简化两大方向。(1)病原微生物核酸分析物检测:TIAN 等<sup>[29]</sup>开发了一种基于 CRISPR/Cas12a 功能化磁珠的一体化检测平台,通过将 Cas12a-crRNA 复合物固载于磁珠表面,实现了对目标 DNA 的高特异性识别、磁富集与荧光信号放大的同步进行。该方法无需预扩增对高危型人乳头瘤病毒核酸检测限低至 4.7 fmol/L。CHAPMAN 等<sup>[13]</sup>开发的 Veros 新型冠状病毒是一种一次性、无需分析仪的核酸检测设备,15 min 内完成鼻腔拭子样本严重急性呼吸综合征冠状病毒(Orf1ab 基因)检测,阳性/阴性符合率分别为 95.2% (95%CI 89.2~97.9)和 99.5% (95%CI 97.1~99.9),检测限为每管 2 600 copy。(2)病原微生物非核酸分析物检测:适配体是一类经体外筛选获得的工程化寡核苷酸分子,能够高特异性结合离子、小分子、蛋白质等多种靶标。适配体与靶标结合后发生构象变化,可将分子识别事件转化为光学或电化学信号,兼具分子识别与信号转导功能,显著推动了非核酸类分析物 POCT 技术的发展<sup>[31]</sup>。WU 等<sup>[25]</sup>通过适配体-单抗混合策略,结合酶联放大与侧向流层析,实现严重急性呼吸综合征冠状病毒核衣壳蛋白的现场检测。

**4.2 肿瘤标志物检测** 肿瘤标志物的动态监测为肿瘤个体化治疗提供实时疗效评估与治疗调整的依据。CHEN 等<sup>[18]</sup>针对癌症进展监测,开发了一种基于分裂式 Cas12a 系统的快速荧光侧向流层析试纸条,无需扩增即可实现多重 miRNA 及长链 RNA 检测,并能精准区分成熟 miRNA 及其前体。

**4.3 基因分型检测** 基因分型检测可直接指导靶向用药。CAI 等<sup>[32]</sup>基于四引物扩增受阻突变系统 PCR 与金磁微粒侧向流层析的快速精准生物传感器,实现血管紧张素转换酶插入/缺失多态性快速可视化分型,指导高血压患者用药,较常规 PCR 联合琼脂糖凝胶电泳分析方法,具有操作简便、无需复杂数据分析的显著优势。

**4.4 食品安全监测** 基于核酸策略的侧向流层析试纸条,摆脱了对大型仪器和专业实验室的依赖,以其便捷、经济的特点,成为食品安全现场快速检测的理想解决方案。(1)食源性致病菌:基于多功能核壳纳米酶(Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MOF@PtPd)耦合磁富集与适配体识

别,可在免扩增条件下实现 2 cfu/mL 的细菌检测<sup>[28]</sup>。

(2)转基因生物筛查:LAMP-CRISPR/Cas12a-试纸条技术实现了对转基因标识基因 CP4-EPSPS 与 Cry1Ab/Ac 的灵敏、快速及现场可视化检测<sup>[10]</sup>。(3)食品掺假鉴定:基于免核酸扩增杂交技术,直接靶向线粒体 DNA,实现牛乳掺假可视化定量检测,灵敏度达 12.5 ng(裸眼)/3.1 ng(仪器),可检出低至 1% 的掺假含量<sup>[33]</sup>。

**4.5 环境监测** 针对环境样本中的病原体及污染物(如重金属、农药)POCT,可有效支撑公共卫生事件防控。SRINIVASAN 等<sup>[34]</sup>基于适配体侧向流层析检测,实现铊(I)检测限达 7.4 μmol/L 和铅(II)离子检测限达 6.6 nmol/L。

## 5 面临的挑战及提升方向

基于核酸策略的侧向流层析试纸条虽在 POCT 中展现出显著优势,但仍面临多重技术瓶颈。“咖啡环效应”(源于液滴三相接触线在基底上的钉扎效应,其边缘液体的优先蒸发诱发内部液体向外的毛细流动,从而持续将分散颗粒输运至边缘并最终形成环状沉积)<sup>[35]</sup>致 NC 膜探针固定不均匀,探针-膜界面作用力不足,层析速度与靶标结合效率不匹配,以及多重检测中的交叉干扰等因素制约了灵敏度与特异度的提升。

**5.1 优化试纸条反应动力学提升检测灵敏度** 侧向流层析试纸条中样品缓冲液和纳米标签的毛细传输特性直接影响反应动力学,因此精准调控流体动态成为优化反应效率与提升检测灵敏度的关键。一方面,可通过改变样品垫和结合垫的设计调节流体行为<sup>[36]</sup>;另一方面,通过优化 NC 膜的设计,可有效延缓层析流速、延长反应时间,从而增强靶标-探针结合效率。(1)物理屏障:采用可溶性蜡质屏障实现人 IgG 原位富集,灵敏度提升 51.7 倍<sup>[37]</sup>。(2)化学改性:通过壳聚糖修饰 NC 膜提高生物分子固定容量,使乙型肝炎病毒核酸检测灵敏度提升 10 倍<sup>[38]</sup>。(3)界面工程调控:利用 DNA 四面体刚性支架传感界面增强试纸条探针的捕获能力<sup>[9]</sup>。(4)新材料应用:利用纳米凝胶产生切向纳米电动力,对严重急性呼吸综合征冠状病毒衣壳蛋白检测灵敏度提高 32.5 倍<sup>[39]</sup>。尽管上述 NC 膜改进技术目前尚未在核酸策略侧向流层析试纸条中得到广泛应用,其设计理念与方法为未来高灵敏方法的开发提供了重要参考。

**5.2 特异度优化方向** 捕获探针的选择是提升核酸策略侧向流层析试纸条特异度的关键,其目的在于实现靶标核酸的高效特异捕获。(1)高亲和力识别元件:适配体通过精准空间构象识别能力降低交叉反应<sup>[28,31]</sup>;肽核酸作为化学修饰的核酸类似物,在与 DNA 杂交时表现出更高亲和力、稳定性及选择性<sup>[3]</sup>。

(2)靶标激活机制优化:通过严格碱基互补配对的靶标依赖性探针激活设计<sup>[23]</sup>及 CRISPR/Cas 系统(单向导 RNA 引导序列识别与 PAM 辅助单碱基分辨)强化特异度识别<sup>[17]</sup>。(3)引物设计创新:引入加尾引物-通用小分子探针体系,消除引物二聚体干扰<sup>[14]</sup>。

**5.3 人工智能在侧向流层析试纸条中的创新应用** 人工智能与机器学习的辅助显著提升了侧向流层析试纸条的处理效率与结果判读准确性,具体表现在以下方面:(1)基于智能手机的图像采集与卷积神经网络相结合,实现了检测结果的客观自动化判读,有效减少人为误差,提高了判读的一致性和准确性,对严重急性呼吸综合征冠状病毒检测特异度达到 100%<sup>[40]</sup>。(2)借助迁移学习与机器学习方法,增强了上转换纳米粒子、磁性纳米颗粒等信号的识别能力,能够有效解析复杂或微弱信号,显著提高检测灵敏度与定量性能<sup>[41]</sup>。(3)采用时序深度学习架构与人工智能验证策略,大幅缩短检测时间,可在 1~2 min 内完成传染病与非传染病生物标志物的快速精准诊断<sup>[42]</sup>。机器学习驱动的方法不仅优化了侧向流层析试纸条在传染性疾病和心脏标志物等场景中的分析性能,也推动了该技术从定性检测向精准定量诊断的转变。人工智能技术的引入有望全面提升基于核酸策略的侧向流层析试纸条结果判读的准确性及分析效率。

## 6 未来展望,迈向集成化智能诊断

基于核酸策略的侧向流层析试纸条未来有望朝着全流程集成化与智能化方向演进:借助微流控技术实现从样本制备到分析的一体化,显著降低人为操作误差与污染风险,通过优化流体控制与反应体系,进一步提升检测灵敏度与特异度,满足床旁快速检测的决策需求<sup>[43]</sup>。融合光学、电化学及磁学等多模态传感机制,增强多靶标检测能力与信号响应性能<sup>[4,24,44]</sup>。未来,通过在多学科交叉创新的推动下,该技术有望突破现有应用瓶颈,逐步发展成为覆盖基层医疗、现场筛查与家庭健康管理的关键诊断工具。

## 参考文献

- [1] 孙萌,郜晶,秦雪怡,等.核酸试纸条检测方法研究进展[J].中国生物工程杂志,2022,42(12):69-78.
- [2] PAROLO C, SENA-TORRALBA A, BERGUA J F, et al. Tutorial: design and fabrication of nanoparticle-based lateral-flow immunoassays[J]. Nat Protoc, 2020, 15(12): 3788-3816.
- [3] WANG J, ZHU L, LI T, et al. Multiple functionalities of functional nucleic acids for developing high-performance lateral flow assays[J]. Trac Trends Anal Chem, 2022, 148: 116529.
- [4] HANG Y, BORYCZKA J, WU N. Visible-light and near-infrared fluorescence and surface-enhanced Raman scat-

- tering point-of-care sensing and bio-imaging: a review[J]. *Chem Soc Rev*, 2022, 51(1):329-375.
- [5] BELLASSAI N, D'AGATA R, SPOTO G. Advancements in the integration of isothermal nucleic acid amplification methods for point-of-care testing in resource-limited settings[J]. *Sens Actuat Rep*, 2025, 9:100285.
- [6] GREEN M R, SAMBROOK J. Analysis of DNA by southern blotting[J]. *Cold Spring Harb Protoc*, 2021, 7:33.
- [7] JAVANI A, JAVADI-ZARNAGHI F, RASAEI M J. A multiplex protein-free lateral flow assay for detection of microRNAs based on unmodified molecular beacons[J]. *Anal Biochem*, 2017, 537:99-105.
- [8] PARK J S, KIM S, HAN J, et al. Equipment-free, salt-mediated immobilization of nucleic acids for nucleic acid lateral flow assays[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2022, 351:130975.
- [9] XU Y, DA J, LAN Q, et al. Engineering DNA tetrahedron as a sensing surface of lateral flow test strips and ratiometric visual detection of exosomal microRNA-150-5p[J]. *Sens Actuat B Chem*, 2023, 393:134266.
- [10] LIU H, HU X, ZENG H, et al. A rapid and high-throughput system for the detection of transgenic products based on LAMP-CRISPR-Cas12a[J]. *Curr Res Food Sci*, 2023, 7:100605.
- [11] ZHANG H, TANG Y, ZHOU Y, et al. DNAzyme-RCA-based colorimetric and lateral flow dipstick assays for the point-of-care testing of exosomal m5C-miRNA-21[J]. *Chem Sci*, 2024, 15(24):9345-9352.
- [12] DONG H, ZHANG P, WANG H, et al. Assembling "Balloon-string" colorimetric probes through click chemistry and hybridization chain reaction for dual-signal amplification in aptamer-based lateral flow assays[J]. *Anal Chem*, 2025, 97(19):10484-10493.
- [13] CHAPMAN M E, BRENDISH N J, MORRIS M, et al. Real-world performance of a single-use, analyser-free, molecular point-of-care test for COVID-19 used in the emergency department: results of a prospective trial (ED-POC)[J]. *J Infect*, 2024, 89(5):106264.
- [14] ZHENG T, LI X, SI Y, et al. Specific lateral flow detection of isothermal nucleic acid amplicons for accurate point-of-care testing[J]. *Biosens Bioelectron*, 2023, 222:114989.
- [15] LENKOWSKI M, NIJAKOWSKI K, KACZMAREK M, et al. The loop-mediated isothermal amplification technique in periodontal diagnostics: a systematic review[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(6):1189.
- [16] MENG X, ZOU S, LI D, et al. Nanozyme-strip for rapid and ultrasensitive nucleic acid detection of SARS-CoV-2[J]. *Biosens Bioelectron*, 2022, 217:114739.
- [17] 龙文巧, 许永杰, 张华. CRISPR-Cas 系统在病原微生物分子诊断中的研究进展[J]. *检验医学与临床*, 2024, 21(5):687-691.
- [18] CHEN Y, WANG X, ZHANG J, et al. Split crRNA with CRISPR-Cas12a enabling highly sensitive and multiplexed detection of RNA and DNA[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):8342.
- [19] VAN DONGEN J E, BERENDSEN J T W, STEENBERGEN R D M, et al. Point-of-care CRISPR/Cas nucleic acid detection: recent advances, challenges and opportunities[J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 166:112445.
- [20] WU Y, BATTALAPALLI D, HAKEEM M J, et al. Engineered CRISPR-Cas systems for the detection and control of antibiotic-resistant infections[J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1):401.
- [21] ZHANG J, CHAI F, LI J A, et al. Weakly ionized gold nanoparticles amplify immunoassays for ultrasensitive point-of-care sensors[J]. *Sci Adv*, 2024, 10(28):eadn5698.
- [22] SRISOMWAT C, YAKOH A, CHUAYPEN N, et al. Amplification-free DNA sensor for the one-step detection of the hepatitis B virus using an automated paper-based lateral flow electrochemical device[J]. *Anal Chem*, 2021, 93(5):2879-2887.
- [23] PENG X, MEI X, YANG J, et al. Ultrasensitive hybridization chain reaction-assisted multisite exonuclease III amplification strategy combined with a direct quantitative fluorescence lateral flow technique for multiple bacterial 16S rRNA detection[J]. *Anal Chem*, 2023, 95(13):5807-5814.
- [24] BRANNETTI S, GENTILE S, CHAMORRO-GARCIA A, et al. Decorated DNA-based scaffolds as lateral flow biosensors[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2023, 62(47):e202313243.
- [25] WU S W, CHEN Y J, CHANG Y W, et al. Novel enzyme-linked aptamer-antibody sandwich assay and hybrid lateral flow strip for SARS-CoV-2 detection[J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1):5.
- [26] 严艳琴, 许永杰, 张华, 等. 金纳米颗粒的特性及其应用于生物传感体系的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2024, 45(6):751-756.
- [27] CHENG N, SONG Y, SHI Q, et al. Au@Pd nanopopcorn and aptamer nanoflower assisted lateral flow strip for thermal detection of exosomes[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(21):13986-13993.
- [28] LI X, LI G, PAN Q, et al. Rapid and ultra-sensitive lateral flow assay for pathogens based on multivalent aptamer and magnetic nanozyme[J]. *Biosens Bioelectron*, 2024, 250:116044.
- [29] TIAN Z, YAN H, ZENG Y. Solid-phase extraction and enhanced amplification-free detection of pathogens integrated by multifunctional CRISPR-Cas12a[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2024, 16(12):14445-14456.
- [30] CUN F, LI H, WANG H, et al. A fully integrated ICP-enriched and nanozyme-catalyzed lateral flow assay for cfd-

- NA detection in whole blood[J]. *Small*, 2025, 21(8): e2408101.
- [31] YE C, LUKAS H, WANG M, et al. Nucleic acid-based wearable and implantable electrochemical sensors[J]. *Chem Soc Rev*, 2024, 53(15):7960-7982.
- [32] CAI Y, ZHANG S, ZHANG J, et al. Visual detection of ACE I/D polymorphism using T-ARMS-PCR combined with a lateral flow assay and its clinical application[J]. *Anal Chem*, 2022, 94(11):4686-4694.
- [33] WANG N, ZHANG J, XIAO B, et al. Amplification-free quantitative detection of genomic DNA using lateral flow strips for milk authentication[J]. *Biosens Bioelectron*, 2024, 252:116140.
- [34] SRINIVASAN S, RANGANATHAN V, MCCONNELL E M, et al. Aptamer-based colorimetric and lateral flow assay approaches for the detection of toxic metal ions, thallium(i) and lead(ii)[J]. *RSC Adv*, 2023, 13(29):20040-20049.
- [35] REY M, WALTER J, HARRER J, et al. Versatile strategy for homogeneous drying patterns of dispersed particles[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):2840.
- [36] TANG Y, GAO H, KURTH F, et al. Nanocellulose aerogel inserts for quantitative lateral flow immunoassays[J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 192:113491.
- [37] SENA-TORRALBA A, NGO D B, PAROLO C, et al. Lateral flow assay modified with time-delay wax barriers as a sensitivity and signal enhancement strategy[J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 168:112559.
- [38] TANG R H, LI M, LIU L N, et al. Chitosan-modified nitrocellulose membrane for paper-based point-of-care testing[J]. *Cellulose*, 2020, 27(7):3835-3846.
- [39] PARK J S, HONG J H, LEE S, et al. Amplifying visible signals in lateral flow assays using integrated nanoelectrokinetics[J]. *Biosens Bioelectron*, 2025, 278:117357.
- [40] LEE S, KIM S, YOON D S, et al. Sample-to-answer platform for the clinical evaluation of COVID-19 using a deep learning-assisted smartphone-based assay[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):2361.
- [41] WANG W, CHEN K, MA X, et al. Artificial intelligence reinforced upconversion nanoparticle-based lateral flow assay via transfer learning[J]. *Fundam Res*, 2022, 3(4):544-556.
- [42] LEE S, PARK J S, WOO H, et al. Rapid deep learning-assisted predictive diagnostics for point-of-care testing[J]. *Nat Commun*, 2024, 15:1695.
- [43] WU T, SHEN C, ZHAO Z, et al. Integrating paper-based microfluidics and lateral flow strip into nucleic acid amplification device toward rapid, low-cost, and visual diagnosis of multiple mycobacteria[J]. *Small Methods*, 2024, 8(12):e2400095.
- [44] SENA-TORRALBA A, ÁLVAREZ-DIDUK R, PAROLO C, et al. Toward next generation lateral flow assays: integration of nanomaterials[J]. *Chem Rev*, 2022, 122(18):14881-14910.

(收稿日期:2025-10-23 修回日期:2026-02-17)

(上接第 1129 页)

- [29] NAKOWONG P, CHATCHAWAL P, CHAIBUN T, et al. Detection of high-risk HPV 16 genotypes in cervical cancers using isothermal DNA amplification with electrochemical genosensor[J]. *Talanta*, 2024, 269:125495.
- [30] FIRE A, XU S Q. Rolling replication of short DNA circles[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(10):4641-4645.
- [31] YUE S, LI Y, QIAO Z, et al. Rolling circle replication for biosensing, bioimaging, and biomedicine[J]. *Trends Biotechnol*, 2021, 39(11):1160-1172.
- [32] ZHANG B, WANG Q, WU J, et al. Detection of nucleic acids with a novel stem-loop primer rolling circle amplification technique[J]. *Biotechniques*, 2018, 64(2):69-80.
- [33] TAO S, LONG Y, LIU G. Entropy-driven molecular beacon assisted special RCA assay with enhanced sensitivity for room temperature DNA biosensing[J]. *Biosensors*, 2024, 14(12):618.
- [34] ZHENG X, LI Y, YUAN M, et al. Rapid detection of HPV16/18 based on a CRISPR-Cas13a/Cas12a dual-channel system[J]. *Anal Methods*, 2022, 14(48):5065-5075.
- [35] KRAUS I, MOLDEN T, ERNØ L E, et al. Human papillomavirus oncogenic expression in the dysplastic portio; an investigation of biopsies from 190 cervical cones[J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(7):1407-1413.
- [36] FLORES-CONTRERAS E A, CARRASCO-GONZÁLEZ J A, LINHARES D C L, et al. Emergent molecular techniques applied to the detection of porcine viruses[J]. *Vet Sci*, 2023, 10(10):609.
- [37] BARTOSIK M, MORANOVA L, IZADI N, et al. Advanced technologies towards improved HPV diagnostics[J]. *J Med Virol*, 2024, 96(2):e29409.
- [38] 王帅, 杨艳歌, 吴占文, 等. 重组酶聚合酶扩增、重组酶介导等温扩增及酶促重组等温扩增技术在食源性致病菌快速检测中的研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(9):297-305.
- [39] COMPTON J. Nucleic acid sequence-based amplification[J]. *Nature*, 1991, 350(6313):91-92.

(收稿日期:2025-09-22 修回日期:2026-01-20)