

特色专题

环状适配体的合成、功能与应用

姚丽丽, 刘涛, 毛瑜*, 郑磊*

摘要 环状适配体作为一类具有闭合环状拓扑结构的核酸分子, 凭借其独特的核酸外切酶抗性、优异的热力学稳定性及与滚环扩增技术的高度兼容性, 已成为食品安全、环境监测及疾病诊断领域的优良分子识别探针。系统阐释了环状适配体的合成方法、高效筛选策略、结构与功能理性设计、滚环扩增驱动超灵敏检测与多价探针应用, 并对环状适配体大规模高效合成技术、人工智能辅助结构设计以及面向复杂生物基质互作解析的动态筛选模型开发的未来发展趋势进行了展望。

关键词 环状适配体; 筛选; 结构设计; 合成方法; 滚环扩增

2023年诺贝尔生理学或医学奖被授予2位信使核糖核酸(messenger RNA, mRNA)疫苗的奠基人——Katalin Karikó和Drew Weissman, 正式宣告核酸药物的医学新时代来临。核酸适配体(简称适配体)是一类通过指数富集配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)经体外筛选获得的功能性寡核苷酸分子。自Ellington等^[1]和Tuerk等^[2]于1990年首次报道SELEX技术以来, 大量适配体被筛选出来, 带来分子识别领域研究范式的革新。适配体通常是单链(single strand, SS)脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)或核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)分子, 可通过动态折叠形成茎环、发夹及G四链体等特征性三维拓扑结构, 实现对靶标分子(包括蛋白质、小分子、金属离子以及细胞等)的高亲和力与高特异性识别^[3]。近年来, 传统线性适配体在生物传感、靶向治疗等领域展现出应用潜力, 然而, 其自身存在的热力学稳定性欠佳以及易受生物样本中大量存在的核酸外切酶降解

等问题, 严重制约了其在实际应用中的可靠性^[4-7]。化学修饰策略可以在一定程度上改善线性适配体的稳定性, 但是, 与此同时也会改变适配体构象, 进而削弱其与靶标的结合能力, 甚至可能引发非特异性免疫反应^[8]。

环状RNA因其独特的闭环分子结构而备受瞩目, 在分子探针及生物标志物领域展现出巨大应用潜力。相较于线性RNA, 环状RNA不仅具有更优的核酸外切酶抗性和热力学稳定性, 其低免疫原性特征更有利于生物医学应用^[9]。基于上述优势, 研究人员通过仿生设计和精准的化学合成, 将已有的线性适配体转化为环状结构^[8-11], 或者直接利用SELEX技术筛选获得环状适配体^[12-18]。这些技术不仅实现了适配体稳定性与生物活性的双重提高, 更为开发适用于复杂生物体系的分子探针奠定了理论基础和技术储备。

1 环状适配体概述

1.1 环状适配体合成方法

为增强适配体在复杂生物基质中的结构稳定性

合肥工业大学食品与生物工程学院, 合肥 230009

收稿日期: 2025-04-14; 修回日期: 2025-05-20

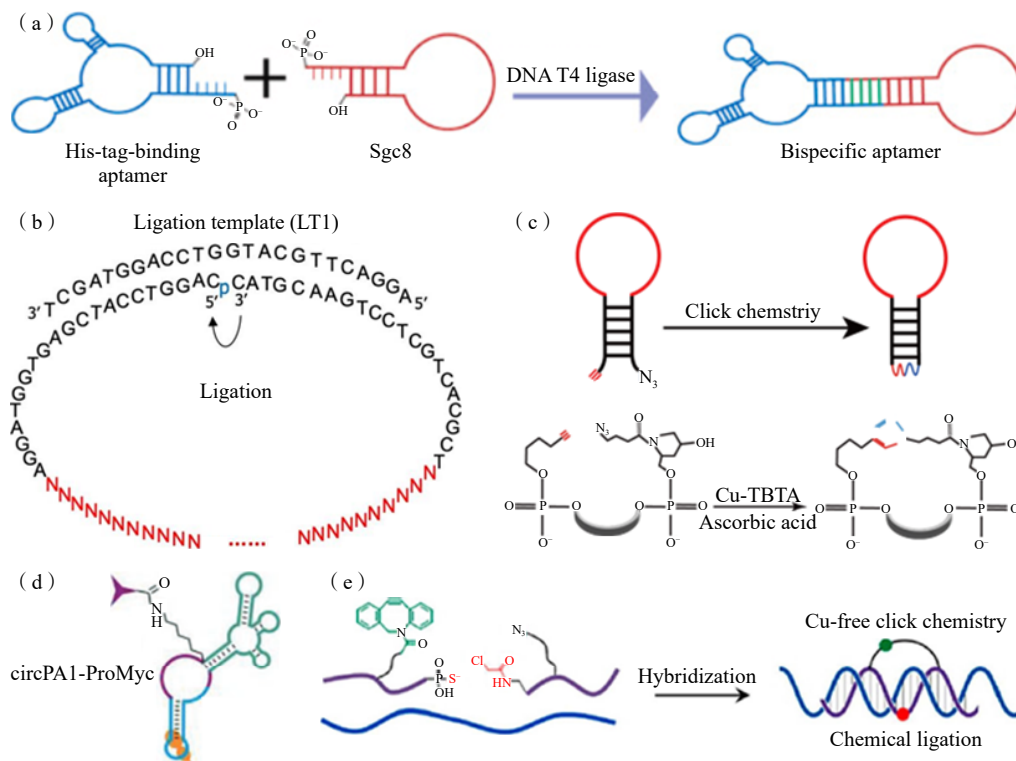
基金项目: 国家自然科学基金区域创新发展联合基金重点项目(U23A20265)

作者简介: 姚丽丽, 博士研究生, 研究方向为环状适配体的体外筛选及其在食品安全中的应用, 电子信箱: 740894568@qq.com; 毛瑜(共同通信作者), 副研究员, 研究方向为功能核酸的体外筛选及其在生物医学与食品安全检测中的应用, 电子信箱: maoyu@hfut.edu.cn; 郑磊(通信作者), 教授, 研究方向为食品营养与安全以及物质科学与生命科学, 电子信箱: lzhen@hfut.edu.cn

引用格式: 姚丽丽, 刘涛, 毛瑜, 等. 环状适配体的合成、功能与应用[J]. 科技导报, 2025, 43(12): 138-152; doi:10.3981/j.issn.1000-7857.2025.04.00062

与靶向识别功能,研究者通过分子拓扑学设计开发了2种主要环化策略:生物酶催化连接和化学连接环化技术(图1)^[19]。传统的生物酶催化环化策略通过DNA连接酶催化连接两段黏性末端,将2条预设计结构的短链连接成哑铃状环状DNA^[8,20]。然而,该方法需要额外设计特定长度的碱基互补配对来满足黏性末端的需求,不利于DNA序列的充分利用,且难以用于构建环状小哑铃结构。近年来发展出ssDNA模板导向连接技术^[13],通过连接模板将线性DNA两段拉至相邻,极大程度地提高了环化反应的特异性与效率。然而,由于连接模板对于相同序列的等效识别能力,经常造成分子间的识别和连接,为单分子内环化带来副产物,影响合环效率和产品纯度。为了提高线性DNA合环效率,研究者进行了大量尝试,包括设计

末端发夹结构的引物^[21]或模板链^[22-23]、开发连接酶特异性适配体分子^[24]、调控低浓度 Mg^{2+} 缓冲体系^[25],以及应用冻干浓缩技术^[26]等,有效促进了线性DNA的分子内连接。尽管生物酶催化环化策略在环状DNA制备方面行之有效,但DNA连接酶的合成成本、催化效率与操作稳定性等影响因素限制了其规模化生产。相较而言,化学连接环化策略则有效规避了酶依赖性与模板限制,凭借其连接反应的高效性与高选择性,以及分子设计的灵活性脱颖而出,通过合理设计可实现环化产物的快速和规模化制备,该方法受到广泛关注。常用的化学连接环化策略涵盖多种反应类型,包括铜催化^[12]及无铜点击化学^[27]、酰胺键形成反应^[28],以及硫代磷酸酯与氯乙酰基之间的化学连接^[27]等。



(a) 基于黏性末端介导的酶法制备环状适配体; (b) 基于模板介导的酶法制备环状适配体; (c) 基于铜催化的叠氮-炔环加成反应制备环状适配体; (d) 基于酰胺键制备环状适配体; (e) 硫代磷酸酯和氯乙酰基之间的化学连接以及无铜点击化学制备环状适配体

图1 环状适配体制备方法

1.2 环状适配体的生物学特性

适配体是基于构象识别的分子探针,可通过动态折叠形成具有特异性结合口袋的三维拓扑结构,其靶标识别机制突破了传统抗体的表位依赖性限制,展现出更广泛的靶标兼容性及可调控的分子识别能力。相较于抗体,适配体在免疫原性、化学合成可控性、

热稳定性及化学修饰灵活性等方面表现出显著优势^[29]。然而,传统线性适配体在实际应用中面临双重瓶颈:其一,其动态构象易受复杂生物基质中异质性组分干扰,导致功能性结合界面掩蔽或构象改变^[4-5];其二,线性单链核酸的裸露末端易受核酸外切酶攻击而发生降解,导致适配体的功能半衰期显著缩

短^[13]。

环状适配体通过共价闭合的拓扑结构改造,系统性解决了上述技术挑战问题。如表 1 所示,在完全保留线性适配体识别能力的基础上,环状适配体的结构特性实现了 3 方面技术突破。(1) 优异的生物稳定性:环状适配体的共价闭合拓扑结构消除了核酸外切酶的作用位点,赋予其显著增强的抗酶解特性,拓展了复杂生理环境(如血清、细胞裂解液等)的应用场景。此外,这种通过核酸本身特性的环化设计避免了外源修饰基团可能引发的非特异性免疫应答并且维持了适配体的天然构象完整性^[14]。(2) 较强的热力学稳定性:环状拓扑结构通过消除末端自由能并降低构

象熵,促使适配体形成更为稳定的闭合三维构象,从而增强了其热力学稳定性,以及在复杂基质中抵抗非特异性干扰的能力。此外,环状适配体的刚性结构显著降低了与靶标结合过程中的熵损失,增强了适配体与靶标分子的结合亲和力,显著提高了从环状核酸文库中筛选高特异性适配体的效率^[11, 15, 30]。(3) 与滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)技术的高度兼容性:环状适配体可作为多功能分子框架与 RCA 技术深度整合。一方面,可通过 RCA 技术自组装成周期性重复单元,实现信号放大,从而提高检测灵敏度;另一方面,可使用 RCA 技术合成用于生物医学应用的串联功能重复序列^[13, 31]。

表 1 环状适配体、线性适配体和抗体的比较

特点	环状适配体	线性适配体	抗体
靶标范围	离子、小分子、蛋白质、复合分子、细胞、病毒等有/无免疫原性或/无毒性的靶标	离子、小分子、蛋白质、复合分子、细胞、病毒等有/无免疫原性或/无毒性的靶标	常见的蛋白质或半抗原,无免疫原性或有毒靶标难以获得
筛选方式	可在体外各种条件下进行筛选	可在体外各种条件下进行筛选	动物体内进行筛选
合成成本	化学合成,成本低,批次一致性好	化学合成,成本低,批次一致性好	生物合成,费用昂贵,批次间差异大
稳定性	耐受较大的pH和温度范围,不易聚集	耐受较大的pH和温度范围,不易聚集	对pH和温度敏感,易聚集
保存期限	抗外切酶降解,具有更长的保存期,无须冷链	不能抗外切酶降解,保存期较长,无须冷链	保存期短,需要冷链
亲和力	亲和力高	亲和力高	亲和力高
热力学稳定性	更高的热力学稳定性	较高的热力学稳定性	热力学稳定性差
修饰灵活性	适用于各种活性基团批量修饰,修饰成本低	适用于各种活性基团批量修饰,修饰成本低	修饰复杂,价格昂贵
免疫原性	免疫原性低	免疫原性低	免疫原性高

2 适配体及环状适配体的高效筛选研究

2.1 SELEX 技术

SELEX 方法自问世以来在适配体的筛选方面取得了显著进步。SELEX 技术通过迭代筛选实现适配体的定向进化,其核心流程可系统划分为以下关键步骤(图 2)^[32-33]。首先,将靶标分子与单链 DNA 或 RNA 随机文库在优化设计的反应体系中进行孵育,序列丰度通常控制在 $10^{12} \sim 10^{15}$ 。筛选中,将能够与靶标结合的候选核酸序列与未结合的序列进行分离,常规的分选方法包括基于分子量差异的离心或膜过滤技术、磁珠介导的亲亲和分离法以及电泳迁移率差异分离法等^[3, 32-33]。然后,将分离获得的产物进行富集扩增。经

过 5~15 轮的筛选循环,通过高通量测序结合生物信息学分析对筛选产物进行序列比对和同源性分析,鉴定高潜力候选序列并分析其亲和力和特异性,最终挑选出效果最优的适配体序列。

基于上述典型的 SELEX 流程,近年衍生出多种创新性的适配体筛选策略(图 2)。在固相分离技术方面,磁珠 SELEX(magnetic beads-SELEX, MB-SELEX)将靶标偶联于磁珠表面,利用磁场实现靶标-适配体复合物从庞大筛选文库中的快速分离,已广泛应用于大分子靶标的筛选^[34]。捕获 SELEX(capture-SELEX)则利用互补 DNA 序列将核酸文库固定于磁珠表面,游离的小分子及金属离子等靶标通过竞争作用使得候选核酸序列从磁珠表面脱附,在无须固定的

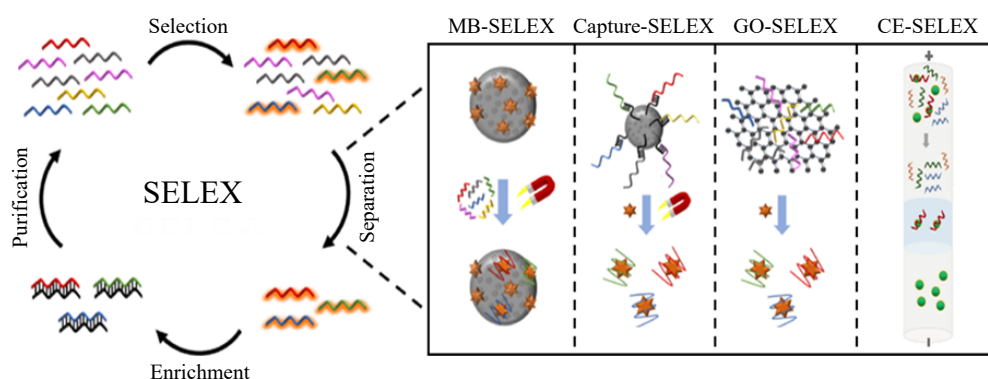


图2 4种典型的SELEX方法流程

情况下即可完成筛选,显著扩展了该技术的适用范围^[35]。在液相分离体系中,毛细管电泳SELEX(capillary electrophoresis-SELEX, CE-SELEX)利用适配体与靶标结合后电泳迁移率的改变,实现目标序列的分离^[33]。氧化石墨烯SELEX(graphene oxide-SELEX, GO-SELEX)通过氧化石墨烯与单链DNA之间的 $\pi-\pi$ 堆叠作用,可选择性吸附未结合的核酸,从而实现均相筛选^[36]。为进一步提高SELEX的筛选效率,研究者开展了大量改进工作。例如,Qu等^[37]提出的结构转换适配体筛选方法,能够在低筛选轮次内进化出针对小分子靶标的适配体,并成功将具备结构转换功能的适配体应用于靶标的快速检测。Zhu等^[38]提出单克隆表面展示SELEX,该方法结合了乳液PCR与微流控技术,将核酸文库表达于磁珠表面,提高了适配体的分离和富集效率。此外,Wang等^[39]将乳液PCR与流式细胞术相结合,发展出基于磁珠展示技术的适配体筛选方法,通过乳液PCR扩增结合荧光激活细胞分选,实现了适配体的高效筛选。这些研究推动了适配体筛选技术的进步,为相关应用领域提供技术基础。

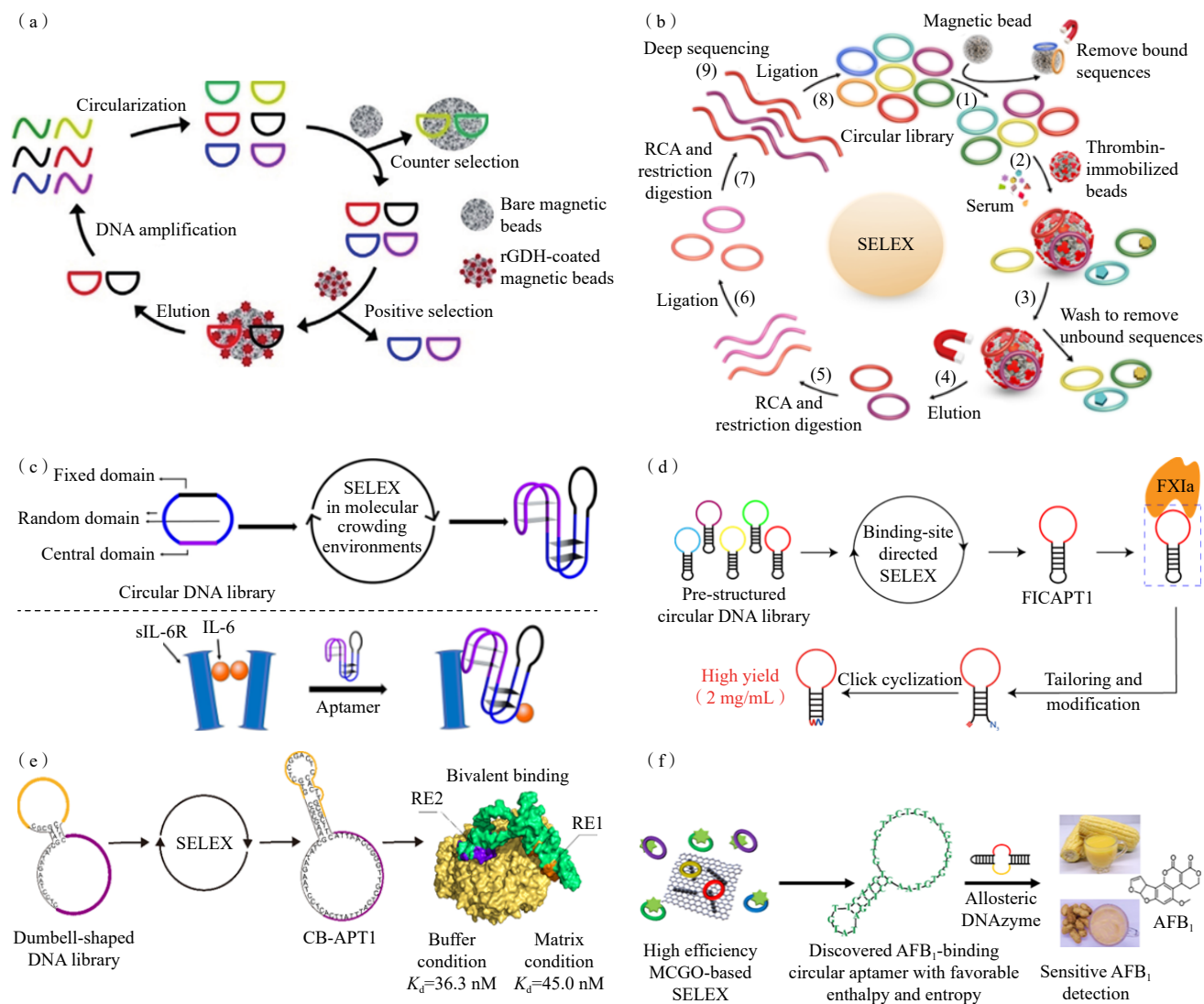
2.2 环状适配体的高效筛选

环化为适配体带来结构上的稳定,但也有可能降低原有线性适配体的识别功能,直接筛选环状适配体无疑成为了解决方案。Liu等^[13]首次尝试以环状DNA文库进行适配体筛选,结合MB-SELEX技术成功分离出2条针对艰难梭菌谷氨酸脱氢酶不同表位的特异性环状适配体(图3(a))。其中一条适配体在环状和线性构型中均表现出良好结合能力,而另一条则仅在环状构型中展现功能特性,这一现象证实了环状文库筛选体系在发现更多样化功能性适配体方面的独

特优势。Mao等^[14]通过引入复杂基质,利用环状核酸独特构型建立了一种non-PCR的应用环境导向型环状适配体筛选策略(图3(b)),成功获得在复杂基质中具有极佳识别性能的凝血酶环状适配体,其与靶标的结合亲和力较线性适配体提高了3个数量级,在复杂基质中的稳定性提高了100倍。基于模块化设计理念,该团队将已有线性适配体作为保守结构模块嵌入环状文库骨架,解决了环状适配体功能继承性与构象稳定性的协同优化难题,筛选出的双特异性环状适配体能够同时识别IL-6及其受体并有效阻断其结合(图3(c))^[15]。该团队进一步提出了结合位点导向的环状适配体筛选策略(图3(d)),通过设计引物区发夹二级结构,实现适配体构象动态自屏蔽,有效抑制筛选过程中引物序列的非特异性结合干扰,成功筛选出具有凝血因子特异性抑制功能的环状适配体,并通过固定序列的设计实现点击化学高效合环,解决了当前环状适配体合成效率低的问题^[12]。针对复杂基质中的应用场景,设计构建了多价环状文库,成功筛选获得同时靶向花生过敏原蛋白不同表位的环状适配体,显著提高了环状适配体在食品复杂基质中的抗干扰能力(图3(e))^[16]。针对小分子靶标筛选瓶颈,进一步发展了基于磁性氧化石墨烯高效快速分离的环状适配体筛选策略(图3(f)),成功获得焓熵协同驱动的高亲和力黄曲霉毒素B₁环状适配体^[17]。上述研究不仅拓展了环状适配体在生物检测与治疗中的应用范围,也为复杂体系中分子识别工具的开发提供了参考。

2.3 单轮筛选

为提高SELEX的筛选效率,研究人员针对适配体的高效分离与富集提出了单轮筛选策略。Berezovski等^[40]开发出平衡混合物的非平衡毛细管电泳筛

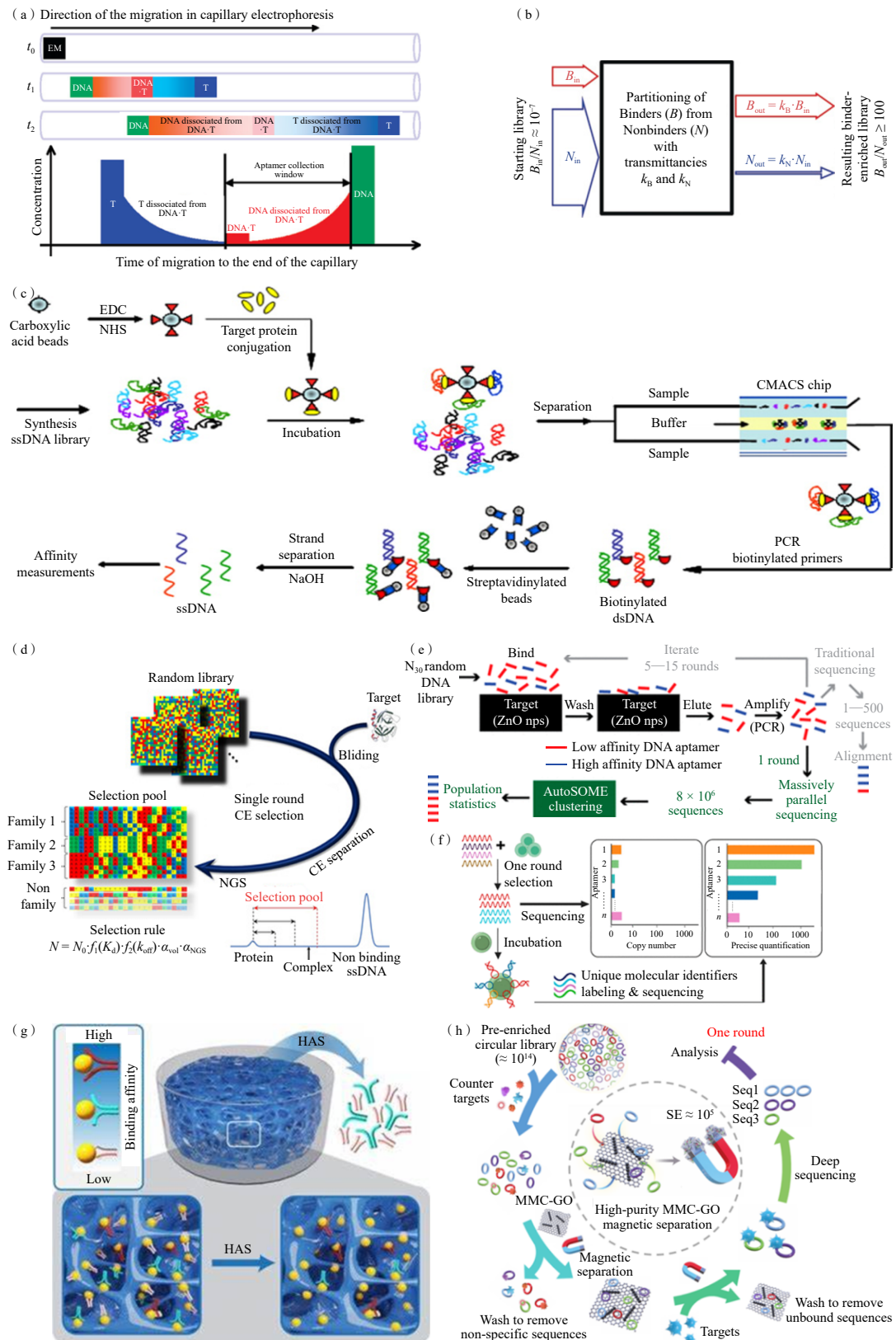


(a) 艰难梭菌谷氨酰胺脱氢酶环状适配体筛选; (b) 环境导向型环状适配体筛选; (c) IL-6/sIL-6R 双特异性环状适配体筛选; (d) 结合位点导向环状适配体筛选; (e) 花生过敏原二价环状适配体筛选; (f) 磁性石墨烯介导环状适配体筛选

图3 环状适配体高效筛选

选策略, 利用靶标与适配体结合后迁移率的变化实现分离, 首次实现了单轮筛选即可获得纳摩尔级亲和力的蛋白质法尼基转移酶适配体(图 4(a))。随后, Le 等^[41]进一步优化毛细管电泳技术, 开发了过滤毛细管电泳单轮筛选策略, 通过增强毛细管的过滤功能, 显著提高了蛋白靶标结合适配体的分离效率(图 4(b))。Lou 等^[42]开发了基于微流控芯片的单轮筛选平台, 通过磁珠辅助微流控技术实现了重组 a 型肉毒毒素轻链适配体的快速、高效、自动化筛选(图 4(c))。Saito 等^[43]将毛细管电泳技术与下一代测序相结合, 建立了凝血酶适配体的单轮筛选策略(图 4(d))。Bawazer 等^[44]提出的单轮筛选方法整合深度测序与聚类分析技

术, 成功实现了生物矿化 DNA 适配体的高效分离(图 4(e))。Wu 等^[45]开发的高通量数字 DNA 测序方法通过引入唯一分子标识符技术, 有效降低了 PCR 扩增引入的偏差, 实现了低丰度细胞表面蛋白适配体的高效单轮筛选(图 4(f))。Singh 等^[46]提出水凝胶适配体筛选策略, 利用水凝胶的三维多孔结构及分子扩散特性, 通过单轮筛选成功富集出高性能蛋白结合适配体(图 4(g))。Yao 等^[18]创建了基于仿生分离介质介导的类磁小体磁性链交联氧化石墨单轮筛选方法, 成功获得了花生过敏原、脂多糖、黄曲霉毒素的环状适配体(图 4(h))。这些单轮筛选策略为提高适配体筛选效率提供了解决方案。



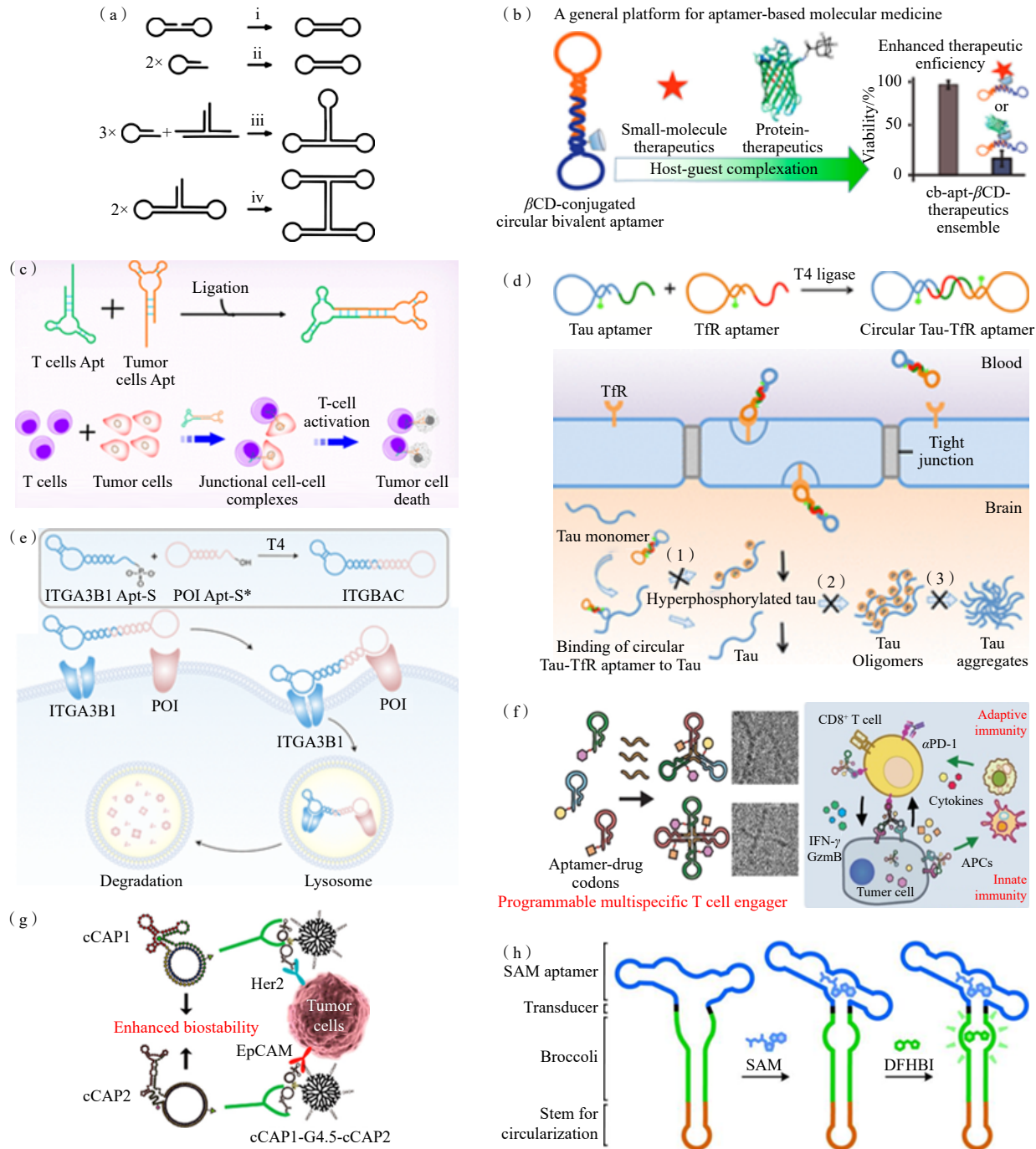
(a) 基于平衡混合物的非平衡毛细管电泳适配体单轮筛选; (b) 基于过滤毛细管电泳的适配体单轮筛选; (c) 基于芯片的微流控适配体单轮筛选; (d) 基于毛细管电泳与下一代测序技术的适配体单轮筛选; (e) 基于深度测序与聚类分析的适配体单轮筛选; (f) 结合唯一分子标识符技术的适配体单轮筛选; (g) 基于水凝胶的适配体单轮筛选; (h) 仿生分离介质介导的环状适配体单轮筛选

图4 单轮筛选

3 环状适配体结构设计与性能优化研究

近年来,环状拓扑结构在适配体研究领域取得了显著进展。Di 等^[8]尝试将多种适配体首尾相连构建多价环状适配体,有效提高了适配体在血液中的半衰期

(图 5(a))。谭蔚泓团队围绕多价环状适配体展开系统性研究,通过环形拓扑结构设计 with 模块化功能集成,突破了传统线性适配体的性能瓶颈,其中利用 T4DNA 连接酶连接形成的二价环状适配体表现出优异的核酸酶抗性、热稳定性和亲和力^[11],点击化学



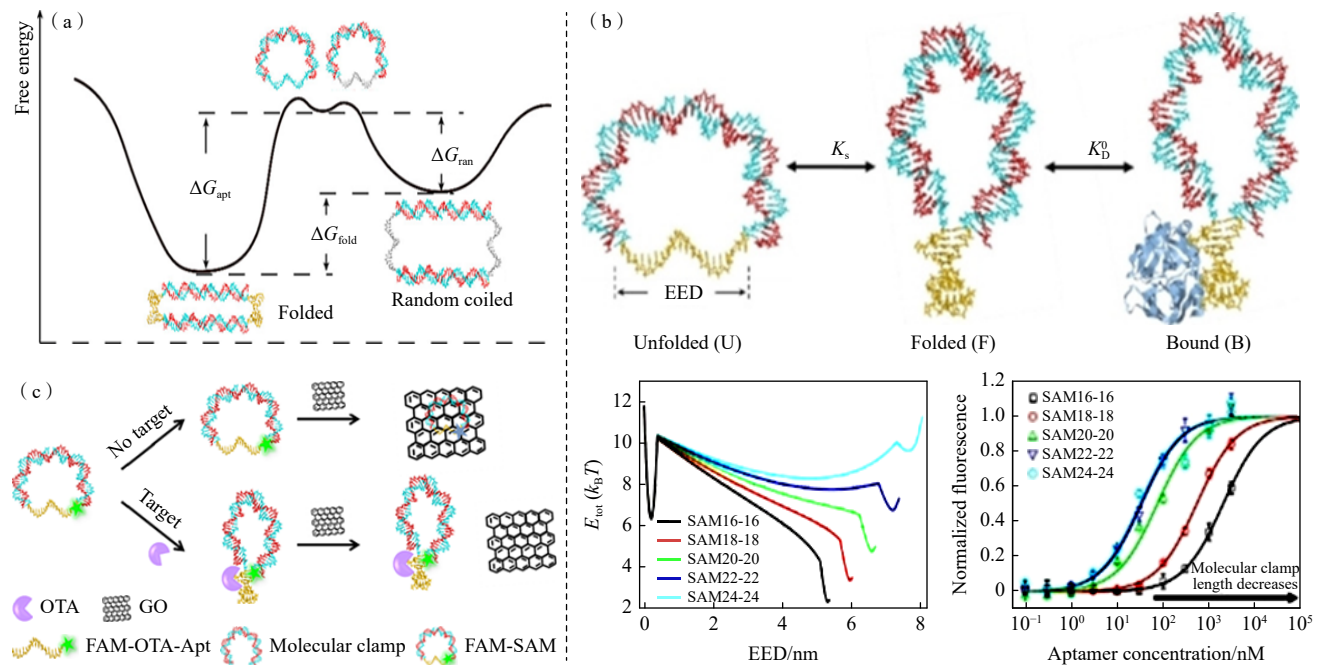
(a) 通过首尾相连构建多价环状适配体; (b) 增强功能蛋白靶向细胞递送的二价环状适配体; (c) 靶向肿瘤细胞与 T 细胞并诱导免疫杀伤的二价环状适配体; (d) 增强血脑屏障穿透的二价环状适配体; (e) 用于膜蛋白溶酶体靶向降解动态调控的二价环状适配体; (f) 多价环状适配体药物用于体内肿瘤治疗; (g) 靶向循环肿瘤细胞的环状适配体; (h) 用于细胞功能调控的环状 RNA 适配体

图 5 环状适配体结构设计

环化策略则进一步提高了二价环状适配体的合成效率^[47]。基于此,该团队构建了多种功能性二价环状适配体,包括增强功能蛋白靶向细胞递送的二价环状适配体(图 5(b))^[48-49];同步靶向肿瘤细胞与 T 细胞并诱导免疫杀伤的二价环状适配体(图 5(c))^[50];增强血脑屏障穿透的神经退行性疾病治疗二价环状适配体(图 5(d))^[51];可实现膜蛋白溶酶体靶向降解动态调控的二价环状适配体(图 5(e))^[52]。此外,该团队在二价环状适配体基础上,进一步开发了枝状多价适配体药物偶联物,通过联合多种适配体与受体协同效应实现了多价环状适配体药物的体内高效肿瘤治疗(图 5(f))^[53]。Dong 等^[10]设计了靶向循环肿瘤细胞的环状适配体,可在小鼠体内和人血清中高效捕获靶向循环肿瘤细胞并促使其凋亡(图 5(g))。环状 RNA 适配体设计策略同样取得重要突破。Litke 等^[54]利用自催化转录本在细胞中高效表达环状 RNA 适配体,实现细胞功能调控和低表达蛋白荧光成像(图 5(h))。Guo 等^[55]通过优化 RNA 自剪切成环策略合成环状 RNA 适配体,实现了对小鼠模型银屑病的干预治疗,并在单分子水平证明其构象稳定性和低免疫原性。此外,Zhang 等^[56]通过建立一系列算法模型,解决了环状 RNA 的识别、定量及功能注释难题,为适配体构象多样性研究奠定

了方法学基础。

适配体对靶标的识别和结合能力主要源于其折叠结构与靶标构型的匹配程度,因此,折叠能量是评价适配体功能性和稳定性的重要参数。郑磊团队发现亚相干长度双链 DNA 弯曲时具有皮牛量级拉伸力特性,开发了双链 DNA“分子力钳”技术(图 6(a))^[57]。该技术通过机械拉伸扰动适配体分子构象,结合延时凝胶电泳方法,实现了平衡状态下适配体折叠能量的精确测定。进一步研究发现,通过调控“分子力钳”施加的机械张力,可动态改变适配体二级结构稳定性,实现亲和力在 65 倍范围内的可逆调节(图 6(b))^[58]。这种力化学偶联亲和力调控策略无须适配体结构或结合机制等信息,突破了传统碱基突变和理性设计的局限性。进一步地,团队将该技术应用于构建赭曲霉毒素 A 检测系统,发现经 18 个碱基对的“分子力钳”调控,可使赭曲霉毒素 A 适配体亲和力实现 2 倍范围调节(图 6(c))^[59]。基于此开发的“分子力钳”调控适配体荧光探针检测灵敏度较传统探针提高了 16 倍,显著扩大了靶标在低浓度方向的线性检测范围,且特异性不受调控过程影响。该探针在实际样品的检测中表现出良好的抗基质干扰能力,为食品安全检测提供了研究新方向。



(a) 分子力钳测定适配体折叠能; (b) 分子力钳调控适配体亲和力; (c) 分子力钳调控适配体荧光探针检测赭曲霉毒素 A

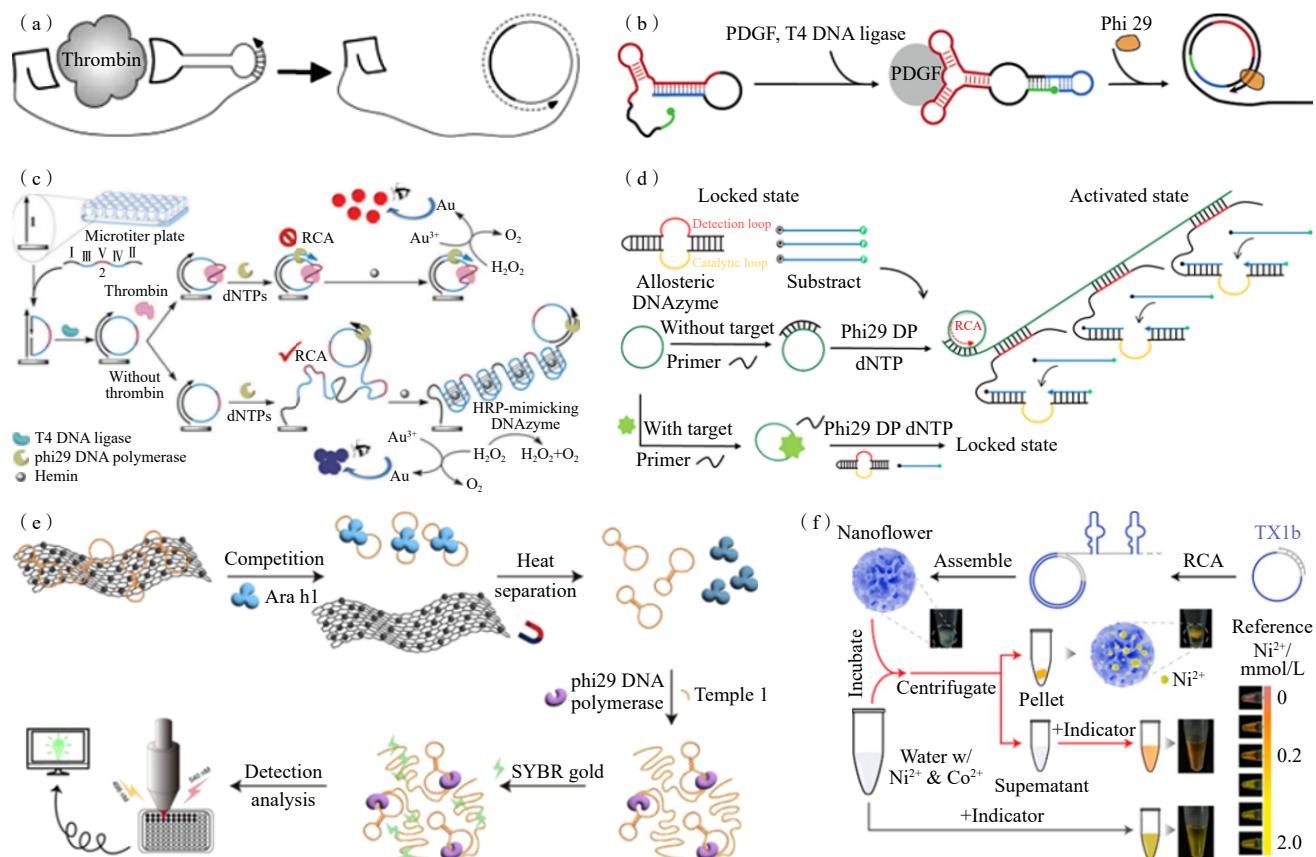
图 6 适配体性能调控

4 环状适配体结合滚环扩增技术在生物传感与医学中的应用

RCA 是一种基于环状模板的高效等温核酸扩增技术,依赖于具有持续催化能力的 DNA 聚合酶(如 phi29、Vent Exo、Bst)或 RNA 聚合酶(T7 RNA)在恒温条件下通过引导引物与模板识别和 dNTP 底物连续添加,可生成包含数千个环状模板互补重复单元的线性长链 DNA。在此技术基础上,结合对模块化环状模板的序列编码,可精准设计多价 RCA 产物,实现多靶标识别、仿生催化或纳米结构自组装等协同功能^[60-61]。近年来,通过将线性适配体环化构建功能性 RCA 模板,或直接利用天然环状适配体进行 RCA 反应放大传感信号,显著提高了生物分子检测灵敏度,并成功开发出兼具高特异性与功能可编程性的核酸探针,已广泛应用于疾病诊断、细胞成像及靶向药物递送系统构建等领域^[62-64]。

4.1 环状适配体结合滚环扩增技术在生物传感中的应用

与 RCA 技术的联合应用已成为环状适配体生物传感领域的重要研究方向,通过整合适配体的高特异性识别与 RCA 的信号放大功能双重优势,显著提高了传感策略的检测灵敏度。Di 等^[65]开发出“双适配体邻近延伸”策略,通过双适配体协同识别靶蛋白相邻表位进而诱导环状探针邻近杂交并触发 RCA 反应(图 7(a)),成功实现凝血酶的实时检测,然而,对于双结合位点的需求限制了该方法的普适性。对此, Yang 等^[66]创新性提出单适配体驱动的构象转换机制(图 7(b)),利用靶标结合引发的适配体空间重排暴露环化连接位点,构建闭合模板并启动 RCA,成功实现了细胞裂解液中血小板衍生生长因子的检测。Wang 等^[67]进一步研究发现, phi29 DNA 聚合酶的 RCA 进程可被环状适配体与靶蛋白复合物特异性阻滞,开发出



(a) “双适配体邻近延伸”策略介导的 RCA 反应检测凝血酶; (b) 适配体构象转换驱动 RCA 反应检测血小板衍生生长因子; (c) 靶标阻滞 RCA 反应检测凝血酶; (d) RCA 辅助变构 DNAzyme 检测黄曲霉毒素 B₁; (e) 靶标竞争释放环状适配体触发 RCA 反应检测花生过敏原; (f) RCA 纳米花高效吸附废水中 Ni²⁺

图 7 环状适配体结合滚环扩增技术在生物传感中的应用

基于靶标结合-RCA 阻滞效应的检测策略,并成功实现凝血酶的可视化检测(图 7(c))^[68]。基于此原理,郑磊团队将黄曲霉毒素 B₁ 特异性环状适配体与 RCA 技术以及变构 DNAzyme 相结合,构建浓度依赖性信号抑制体系,实现痕量黄曲霉毒素 B₁ 的精准检测(图 7(d))^[17];进一步采用磁性石墨烯固定花生过敏原环状适配体,利用靶标竞争释放策略将游离适配体转化为 RCA 模板,建立了高灵敏花生过敏原检测平台(图 7(e))^[16]。Xu 等^[69]通过将 Ni²⁺ 适配体环化并与 RCA 技术结合,合成 DNA 纳米花材料,实现了废水中 Ni²⁺ 的有效吸附(图 7(f))。

4.2 滚环扩增生成的多价适配体在生物医学中的应用

环状模板等温扩增机制可用于实现多价适配体的精准合成与拓扑结构调控。该技术可通过设计优化模板反义序列,实现适配体重复单元数目、空间排

布及价态分布的精确调控,从而显著增强多价适配体与靶标分子的结合亲和力及特异性识别能力。在分子检测与靶标捕获应用方面,基于 RCA 的多价适配体展现出卓越的界面组装性能。Cheglakov 等^[70]率先利用 RCA 技术合成多价凝血酶和溶菌酶适配体以制备一维 DNA-蛋白质/DNA-蛋白质-纳米颗粒分层组装体,并验证了多价效应与空间匹配性对分子识别动力学的协同增强作用(图 8(a))。Zhao 等^[71]进一步将该技术集成于微流控芯片平台,通过原位 RCA 合成酪氨酸激酶-7 多价适配体网络,实现了高流速条件下淋巴瘤细胞的高效捕获与可控释放(图 8(b))。此外,借助 RCA 技术制备的磁珠^[72]或聚合物^[73]负载型多价适配体,可进一步拓展至小分子污染物及循环肿瘤细胞的痕量富集分析(图 8(c))。在靶向药物递送及细胞成像系统构建研究领域,Zhu 等^[74]与 Zhang 等^[75]研发出 RCA 自组装多价适配体纳米花,该材料兼具阿

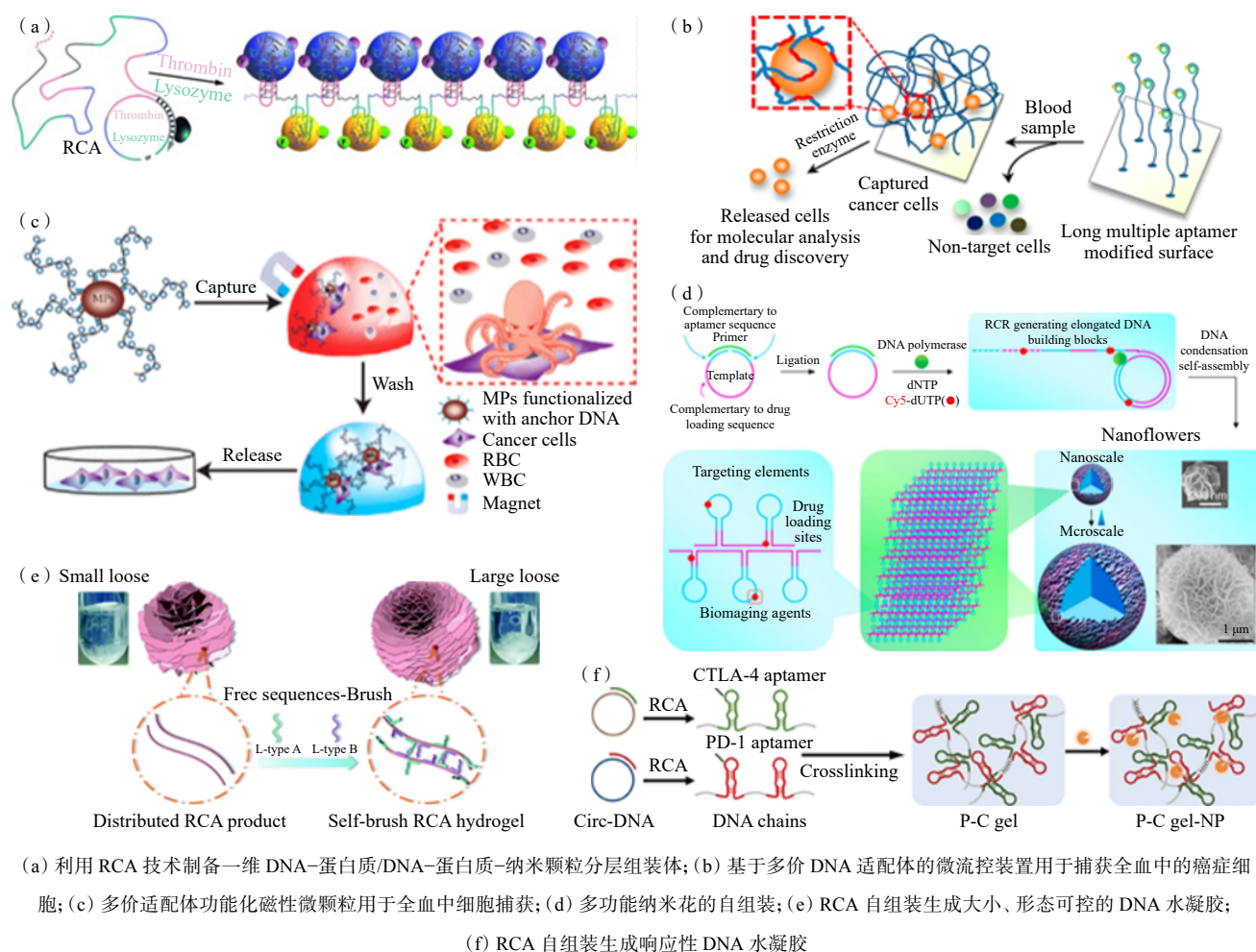


图 8 RCA 生成的多价适配体在生物医学中的应用

霉素靶向递送与多模态细胞成像功能(图 8(d))。通过将氧化石墨烯^[76]、二茂铁^[77]等功能模块引入多价适配体体系中,可精准调控药物负载率及刺激响应释放动力学。Song 等^[78]利用 RCA 技术自组装生成了大小形态可控的 DNA 水凝胶(图 8(e))。Zhang 等^[79]进一步利用该技术发展了含有多价适配体的靶向响应性 DNA 水凝胶以用于癌症免疫治疗(图 8(f))。RCA 扩增多价适配体凭借其可编程的拓扑结构、抗核酸外切酶降解特性及耐药性,在靶向治疗、活体成像示踪等领域展现出广阔应用前景。

5 环状适配体发展策略展望

环状适配体凭借其闭环拓扑结构赋予的功能稳定性、抗核酸外切酶降解特性及与 RCA 技术的兼容性,在环境监测、食品安全及疾病诊断等领域展现出重要应用价值。然而,当前技术仍受限于低效的化学合成工艺、三维构效关系解析体系匮乏、靶标识别位点动态作用机制不明确等瓶颈,导致理性设计能力不足,难以满足规模化靶标识别需求。此外,现有筛选模型多局限于单一实验体系,对复杂基质与适配体构象互作的动态影响缺乏系统性研究,难以全面解析不同类型复杂基质在筛选过程中的作用机理,严重制约其实际应用效能。未来研究工作可从以下 3 个方面进行深入开展。

5.1 环化技术发展策略:提高环化效率与纯度

目前,环状适配体的高效合成主要依赖于生物酶催化连接和化学连接,2 种方法在实际应用时仍存在制约。在生物酶催化连接技术方面,连接酶的高成本限制了该合成方法的规模化使用,同时,反应过程中易生成线性多聚体副产物,且高亲和力模板因强碱基配对难以完全分离,导致滚环扩增等下游应用中背景信号显著升高。针对上述瓶颈,研究团队通过优化连接缓冲液动力学参数或在模板中引入茎环结构,有效增强分子内环化路径的竞争优势,抑制线性聚合副反应。在化学连接环化技术方面,点击化学等策略虽规避了酶依赖性与模板限制,但需要对寡核苷酸进行化学修饰,可能面临与生物体系兼容性不足的问题。针对这些挑战,未来的研究创新可聚焦于多领域维度。例如,通过宏基因组挖掘或蛋白质定向进化技术开发

高特异性、高热稳定性的新型连接酶;设计光裂解或限制性内切酶敏感型模板,利用光控或酶促降解实现模板残留的高效清除;构建基于微流控芯片的连续化反应体系,通过微尺度流体动力学精准调控温度、离子浓度及反应时间,从而抑制多聚或线性副产物生成并实现连续化、规模化合成。通过以上酶学优化、化学创新、工程化设计 3 方面协同推进,环状适配体有望克服合成瓶颈,在环境监测、食品安全及疾病诊断等领域展现更广阔的应用潜力。

5.2 构效关系解析与理性设计策略:从经验筛选到精准预测

线性适配体在后环化设计过程中常面临结构稳定性挑战,在线性前体向闭环构象转变时,因动态折叠路径中关键结合域的空间拓扑畸变及熵变调控失衡,易引发功能基序的排布紊乱,导致靶标识别性能劣化。当前研究利用 SELEX 技术,直接从环状文库中进化出环状适配体,有效规避了由线性到环状构象转变引发的结构扰动。尽管如此,由于对环状适配体三维构象解析技术的研究尚少,适配体与靶标的互作识别机制尚未系统阐明,难以对适配体进行理性设计来满足规模化靶标识别的需求,更不利于实现构建针对同类靶标保守表位的通用型识别元件的设想。对此,未来可聚焦于利用深度学习驱动分子动力学模拟来解析环状适配体动态折叠轨迹,从而构建环状适配体序列、构象与亲和力之间的多维映射模型,实现靶标结合模式的精准预测和适配体结构域自由能景观的优化。在此基础上,可进一步借助人工智能辅助技术对靶标关键识别位点的预测和优化,自下而上地设计并构建多类型靶标的环状适配体元件库。进一步融合高通量微流控芯片与表面等离子体共振光谱等实时监测技术,建立人工智能预测、自动化合成与功能验证流程下的环状适配体优化体系,为生物传感系统提供高性能分子识别工具,最终实现复杂基质中多类型靶标的快速筛查与精准预警。

5.3 环状适配体在复杂环境下的筛选与功能验证:挑战与策略优化

环状适配体在复杂生物基质(如食品基质、全血样本、肿瘤微环境)中的应用面临多重挑战,其核心问题聚焦于适配体动态构象与环境扰动之间的动态平衡调控。传统筛选体系基于均质化单一介质,难以模

拟真实生物样本中多组分竞争吸附、动态离子强度波动及分子拥挤效应引发的构象熵变,导致适配体在复杂应用场景下出现靶标亲和力衰减与特异性偏移等问题,严重制约了适配体在实际环境中的应用。为突破这一瓶颈,亟需构建仿生梯度筛选体系,通过整合动态多相微环境模块,如梯度变化的模拟食品基质、全血稀释液或肿瘤细胞外基质,在 SELEX 筛选过程中引入可控环境应力,如 pH 值变化、剪切力扰动,以模拟真实应用场景的分子互作网络。同时,可耦合微生理系统,如器官芯片与 3D 类器官模型,建立定向筛选平台,获得对复杂基质干扰具有构象抗性的高性能环状适配体。此外,可建立统一的环状适配体筛选、生产与质控标准,规模化生产工艺,推动环状适配体筛选、生产与临床评价的规范化,加速推动环状适配体从实验室基础研究向产业化应用转化。

6 结论

适配体作为新型分子识别元件,凭借其优异的化学稳定性、可编程修饰特性和规模化制备优势,在环境监测、食品安全、疾病诊断以及药物设计等领域展现出广阔应用前景。相较于传统线性适配体,具有闭环拓扑结构的环状适配体具有优异的抗核酸外切酶降解能力和刚性稳定构象,在复杂生物体系中展现出实际应用价值。此外,环状适配体与滚环扩增技术的高度兼容,为构建高鲁棒性分子探针提供了创新性解决方案。与此同时,环状适配体技术的发展仍面临多重瓶颈:化学合成工艺中环化效率与产物纯度不稳定、三维空间构效关系解析体系尚未建立、靶标识别位点的动态作用机制尚未阐明、现有筛选模型过度依赖单一实验体系,特别是对复杂生物基质与适配体构象动态互作的系统性研究仍存在显著空白。针对以上技术挑战,在此提出 3 个核心研究方向:通过优化环化反应体系提高合成效率与产物均一性;构建人工智能驱动的环状适配体与靶标构效关系解析平台;以及发展面向复杂生物基质互作解析的动态筛选模型开发。旨在突破现有技术限制,增强环状适配体在复杂生物微环境中的构象适应性和功能可编程性,最终实现其在生物传感与临床治疗中的转化应用。

参考文献(References)

- [1] Ellington A D, Szostak J W. *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands[J]. Nature, 1990, 346(6287): 818.
- [2] Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase[J]. Science, 1990, 249(4968): 505.
- [3] DeRosa M C, Lin A, Mallikaratchy P. *In vitro* selection of aptamers and their applications[J]. Nature Reviews Methods Primers, 2023, 3: 55.
- [4] Osborne S E, Ellington A D. Nucleic acid selection and the challenge of combinatorial chemistry[J]. Chemical Reviews, 1997, 97(2): 349.
- [5] Eaton B E, Gold L, Zichi D A. Let's get specific: The relationship between specificity and affinity[J]. Chemistry & Biology, 1995, 2(10): 633.
- [6] 刘欢, 汪恩婷, 陈玉皎. 核酸适配体电化学传感技术在食品安全中的应用[J]. 食品安全导刊, 2025(6): 173.
- [7] 贾超凡, 张凤娇, 张璟. 核酸适配体生物传感器用于肝癌早期诊断的研究进展[J]. 化学研究与应用, 2024, 36(9): 1968.
- [8] Di Giusto D A, King G C. Construction, stability, and activity of multivalent circular anticoagulant aptamers[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(45): 46483.
- [9] Conn V M, Chinnaiyan A M, Conn S J. Circular RNA in cancer[J]. Nature Reviews Cancer, 2024, 24(9): 597.
- [10] Dong H, Han L, Wu Z. Biostable aptamer rings conjugated for targeting two biomarkers on circulating tumor cells *in vivo* with great precision[J]. Chemistry of Materials, 2017, 29(24): 10312.
- [11] Kuai H, Zhao Z, Mo L. Circular bivalent aptamers enable *in vivo* stability and recognition[J]. Journal of the American Chemical Society, 2017, 139(27): 9128.
- [12] Wang J, Zhou Y, Sun L. Binding-site directed selection and large-scale click-synthesis of a coagulation factor XIa-inhibiting circular DNA aptamer[J]. Chemistry—A European Journal, 2025, 31(16): e202404372.
- [13] Liu P, Yin Q, Chang D. *In vitro* selection of circular DNA aptamers for biosensing applications[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2019, 58(24): 8013.
- [14] Mao Y, Gu J, Chang D. Evolution of a highly functional circular DNA aptamer in serum[J]. Nucleic Acids Research, 2020, 48(19): 10680.
- [15] Yao L, Wang L, Liu S. Evolution of a bispecific G-quadruplex-forming circular aptamer to block IL-6/sIL-6R interaction for inflammation inhibition[J]. Chemical Science, 2024, 15(32): 13011.
- [16] Zhou Y, Yao L, Qu H. Direct evolution of matrix-resistant

- circular bivalent DNA aptamers for Ara h1[J]. *Analytical Chemistry*, 2025, 97(11): 6277.
- [17] Yao L, Liu T, Sun L. Selection of high-affinity and selectivity AFB₁ circular aptamer for biosensor application[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2025, 73(5): 3222.
- [18] Yao L, Feng J, Zhou Y. Single-round circular aptamer discovery using bioinspired magnetosome-like magnetic chain cross-linked graphene oxide[J]. *Research*, 2024, 7: 0372.
- [19] 朱文轩, 吴成秋, 赵树华. 环状寡核苷酸的合成及应用研究进展[J]. *药学进展*, 2024, 48(8): 592.
- [20] Yang L, Abudurehman T, Zheng W. A novel His-tag-binding aptamer for recombinant protein detection and T cell-based immunotherapy[J]. *Talanta*, 2023, 263: 124722.
- [21] Paluzzi V E, Zhang C, Mao C. Near-quantitative preparation of short single-stranded DNA circles[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(16): e202218443.
- [22] Cui Y, Han X, An R. Terminal hairpin in oligonucleotide dominantly prioritizes intramolecular cyclization by T4 ligase over intermolecular polymerization: An exclusive methodology for producing ssDNA rings[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(22): e132.
- [23] Li Q, Zhang S, Li W. Programming CircLigase catalysis for DNA rings and topologies[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(3): 1801.
- [24] Yan Y, Chang D, Xu Y. Engineering a ligase binding DNA aptamer into a templating DNA scaffold to guide the selective synthesis of circular DNAzymes and DNA aptamers[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2023, 145(4): 2630.
- [25] An R, Li Q, Fan Y. Highly efficient preparation of single-stranded DNA rings by T4 ligase at abnormally low Mg(II) concentration[J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(15): e139.
- [26] Gubu A, Wang J, Jin H. Synthesis and "DNA interlocks" formation of small circular oligodeoxynucleotides[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(11): 12584.
- [27] Onizuka K, Nagatsugi F, Ito Y. Automatic pseudorotaxane formation targeting on nucleic acids using a pair of reactive oligodeoxynucleotides[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(20): 7201.
- [28] Wang Y, Yang G, Zhang X. Antitumor effect of anti-c-myc aptamer-based PROTAC for degradation of the c-myc protein[J]. *Advanced Science*, 2024, 11(26): 2309639.
- [29] Liu R, Zhang F, Sang Y. Screening, identification, and application of nucleic acid aptamers applied in food safety biosensing[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 123: 355.
- [30] Schmidt K S, Borkowski S, Kurreck J. Application of locked nucleic acids to improve aptamer *in vivo* stability and targeting function[J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(19): 5757.
- [31] Monsur Ali M, Li F, Zhang Z. Rolling circle amplification: A versatile tool for chemical biology, materials science and medicine[J]. *Chemical Society Reviews*, 2014, 43(10): 3324.
- [32] Fang P, Qu H, Mao Y. Aptamers for mycotoxin recognition in food: Recent advances and future considerations[J]. *Advanced Agrochem*, 2023, 2(3): 213.
- [33] Hu Y, Jiang G, Wen Y. Selection of aptamers targeting small molecules by capillary electrophoresis: Advances, challenges, and prospects[J]. *Biotechnology Advances*, 2025, 78: 108491.
- [34] Manea I, Casian M, Hosu-Stancioiu O. A review on magnetic beads-based SELEX technologies: Applications from small to large target molecules[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2024, 1297: 342325.
- [35] Stoltenburg R, Nikolaus N, Strehlitz B. Capture-SELEX: Selection of DNA aptamers for aminoglycoside antibiotics[J]. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2012, 2012(1): 415697.
- [36] Wei X, Ma P, Imran Mahmood K. Screening of a high-affinity aptamer for aflatoxin M₁ and development of its colorimetric aptasensor[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(19): 7546.
- [37] Qu H, Wang L, Liu J. Direct screening for cytometric bead assays for adenosine triphosphate[J]. *ACS Sensors*, 2018, 3(10): 2071.
- [38] Zhu Z, Song Y, Li C. Monoclonal surface display SELEX for simple, rapid, efficient, and cost-effective aptamer enrichment and identification[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(12): 5881.
- [39] Wang J, Gong Q, Maheshwari N. Particle display: A quantitative screening method for generating high-affinity aptamers[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53(19): 4796.
- [40] Berezovski M, Drabovich A, Krylova S M. Nonequilibrium capillary electrophoresis of equilibrium mixtures: A universal tool for development of aptamers[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2005, 127(9): 3165.
- [41] Le A T H, Krylova D S M, Kanoatov D M. Ideal-filter capillary electrophoresis (IFCE) facilitates the one-step selection of aptamers[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(9): 2739.
- [42] Lou X, Qian J, Xiao Y. Micromagnetic selection of aptamers in microfluidic channels[J]. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(9): 2989.
- [43] Saito P S, Sakamoto T, Tanaka N. Single-round DNA aptamer selection by combined use of capillary electrophoresis and next generation sequencing: An aptaomics approach for identifying unique functional protein-binding DNA aptamers[J]. *Chemistry—A European Journal*, 2021, 27(39): 10058.
- [44] Bawazer L A, Newman A M, Gu Q. Efficient selection of biomineralizing DNA aptamers using deep sequencing and population clustering[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(1): 387.
- [45] Wu X, Liu Y, Zhang D. Efficient strategy to discover DNA aptamers against low abundance cell surface proteins in scarce samples[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2024, 146(39): 26667.
- [46] Singh N K, Wang Y, Wen C. High-affinity one-step aptamer selection using a non-fouling porous hydrogel[J]. *Nature Biotechnology*, 2024, 42(8): 1224.
- [47] Zhang X, Zhao Z, Wang X. A versatile strategy for convenient circular bivalent functional nucleic acids construction[J]. *National Science Review*, 2022, 10(2): nwac107.
- [48] Pan X, Yang Y, Li L. A bispecific circular aptamer tethering a built-in universal molecular tag for functional protein delivery[J]. *Chemical Science*, 2020, 11(35): 9648.
- [49] Jiang Y, Pan X, Chang J. Supramolecularly engineered circular bivalent aptamer for enhanced functional protein delivery[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2018, 140(22): 6780.
- [50] Yang Y, Sun X, Xu J. Circular bispecific aptamer-mediated artificial intercellular recognition for targeted T cell immunotherapy[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(8): 9562.
- [51] Li X, Yang Y, Zhao H. Enhanced *in vivo* blood-brain barrier penetration by circular tau-transferrin receptor bifunctional aptamer for tauopathy therapy[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(8): 3862.
- [52] Sun W, Zhang H, Xie W. Development of integrin-facilitated bispecific aptamer chimeras for membrane protein degradation[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2024, 146(37): 25490.
- [53] Chen J, Chi H, Wang C. Programmable circular multispecific aptamer-drug engager to broadly boost antitumor immunity[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2024, 146(50): 34311.
- [54] Litke J L, Jaffrey S R. Highly efficient expression of circular RNA aptamers in cells using autocatalytic transcripts[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(6): 667.
- [55] Guo S, Liu C, Xu Y. Therapeutic application of circular RNA aptamers in a mouse model of psoriasis[J]. *Nature Biotechnology*, 2025, 43(2): 236.
- [56] Zhang J, Zhao F. Circular RNA discovery with emerging sequencing and deep learning technologies[J]. *Nature Genetics*, 2025, 57: 1089.
- [57] Qu H, Ma Q, Wang L. Measuring aptamer folding energy using a molecular clamp[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(27): 11743.
- [58] Qu D, Zheng M, Ma Q. Allosteric regulation of aptamer affinity through mechano-chemical coupling[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(10): e202214045.
- [59] Liu J, Zheng M, Wang L. Adaptive detection of ochratoxin A with extended dynamic range by molecular-clamp modulated aptamer fluorescent probes[J]. *Microchemical Journal*, 2024, 199: 110257.
- [60] Mohsen M G, Kool E T. The discovery of rolling circle amplification and rolling circle transcription[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2016, 49(11): 2540.
- [61] 郭雨涓, 贾振军, 刘瑞. 核酸等温扩增方法在食品安全检测中的应用综述[J]. *食品与发酵工业*, 2025, 51(11): 435-448.
- [62] Zhang L, Bai H, Zou J. Immuno-rolling circle amplification (immuno-RCA): Biosensing strategies, practical applications, and future perspectives[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2024, 13(32): e2402337.
- [63] Liu J, Xie G, Lv S. Recent applications of rolling circle amplification in biosensors and DNA nanotechnology[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2023, 160: 116953.
- [64] 张如燕, 张子辰, 张国栋, 等. 基于滚环扩增的核酸载体靶向递送化疗药物的研究[J/OL]. *中国药科大学学报*, (2025-03-21)[2025-05-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1157.R.20250321.1354.002.html>.
- [65] Di Giusto D A, Wlassoff W A, Gooding J J. Proximity extension of circular DNA aptamers with real-time protein detection[J]. *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(6): e64.
- [66] Yang L, Fung C, Cho E J. Real-time rolling circle amplification for protein detection[J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(9): 3320.
- [67] Wang L, Tram K, Ali D M M. Arrest of rolling circle amplification by protein-binding DNA aptamers[J]. *Chemistry—A European Journal*, 2014, 20(9): 2420.
- [68] Wang S, Bi S, Wang Z. A plasmonic aptasensor for ultrasensitive detection of thrombin *via* arrested rolling circle amplification[J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(37): 7927.
- [69] Xu T, Zhang C, Xia K. Small DNAs that bind nickel(II) specifically and tightly[J]. *Analytical Chemistry*, 2021,

- 93(45): 14912.
- [70] Cheglakov Z, Weizmann Y, Dr A B. Increasing the complexity of periodic protein nanostructures by the rolling-circle-amplified synthesis of aptamers[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2008, 47(1): 126.
- [71] Zhao W, Cui C, Bose S M. Bioinspired multivalent DNA network for capture and release of cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(48): 19626.
- [72] Chen Y, Tyagi D, Lyu M S. Regenerative NanoOctopus based on multivalent-aptamer-functionalized magnetic microparticles for effective cell capture in whole blood[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(6): 4017.
- [73] Lee J, Lee Y M, Kim W J. Polymer-DNA molecular net for selective transportation of target biomolecules and inhibition of tumor growth[J]. *Chemistry of Materials*, 2016, 28(11): 3961.
- [74] Zhu G, Hu R, Zhao Z. Noncanonical self-assembly of multifunctional DNA nanoflowers for biomedical applications[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(44): 16438.
- [75] Zhang Z, Ali M M, Eckert M A. A polyvalent aptamer system for targeted drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(37): 9728.
- [76] Kim M G, Park J Y, Miao W J. Polyaptamer DNA nanothread-anchored, reduced graphene oxide nanosheets for targeted delivery[J]. *Biomaterials*, 2015, 48: 129.
- [77] Zhang L, Abdullah R, Hu X. Engineering of bioinspired, size-controllable, self-degradable cancer-targeting DNA nanoflowers *via* the incorporation of an artificial sandwich base[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(10): 4282.
- [78] Song H, Zhang Y, Cheng P. A rapidly self-assembling soft-brush DNA hydrogel based on RCA products[J]. *Chemical Communications*, 2019, 55(37): 5375.
- [79] Zhang R, Lv Z, Chang L. A responsive DNA hydrogel containing poly-aptamers as dual-target inhibitors for localized cancer immunotherapy[J]. *Advanced Functional Materials*, 2024, 34(32): 2401563.

Synthesis, functions and applications of circular aptamers

YAO Lili, LIU Tao, MAO Yu*, ZHENG Lei*

School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China

Abstract Circular aptamers, as a class of nucleic acid molecules with closed-loop topological structures, have emerged as superior molecular recognition probes in fields such as food safety, environmental monitoring and disease diagnostics owing to their intrinsic exonuclease resistance, superior thermodynamic stability, and excellent compatibility with rolling circle amplification techniques. This article systematically reviews the synthesis methods, high-efficiency selection strategies, structure-function rational design, rolling circle amplification-driven ultrasensitive detection, and multivalent probe applications of circular aptamers. Furthermore, it provides insights into future directions, including large-scale efficient synthesis techniques, artificial intelligence-assisted structural design, and the development of dynamic selection models for analyzing interactions in complex biological matrices.

Keywords circular aptamer; selection; structure design; synthetic method; rolling circle amplification ●



(责任编辑 王微)