DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260225002
引用格式: 陈国超, 王盈鳕, 杨茗雯, 等. 应用于食品安全检测领域核酸适配体筛选与优化的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(16): 227–235.
Chen Guochao, Wang Yingxue, Yang Mingwen, et al. Research progress on screening and optimization of nucleic acid aptamers applied in the field of food safety detection [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(16): 227–235. (in Chinese with English abstract).

应用于食品安全检测领域核酸适配体筛选与优化的研究进展

陈国超[1,2,3], 王盈鳕[2,3], 杨茗雯[2,3], 季玉成[2,3], 黄秉奂[2,3], 刘 辉[2,3], 李 灏[1,2,3*]

[1. 山东第一医科大学(山东省医学科学院)公共卫生与健康管理学院, 济南 250117; 2. 济宁医学院公共卫生学院, 济宁 272067; 3. 济宁市食品营养与安全重点实验室, 济宁 272067]

摘 要: 适配体作为通过指数富集配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)筛选所获得的单链核酸分子, 凭借其高特异性、易合成修饰及良好稳定性等优势, 在食品安全检测领域展现出广阔的应用前景。本文综述了适配体在食品安全检测中针对不同目标分析物(如食源性致病菌、微生物毒素、农药、重金属离子等)的筛选技术的研究进展, 重点介绍了传统 SELEX 及改良筛选技术, 如捕获 SELEX、基因组 SELEX、毛细管电泳 SELEX、荧光磁珠 SELEX、靶标固定 SELEX、细胞 SELEX、氧化石墨烯 SELEX 的原理、特点及应用场景, 同时系统阐述了适配体优化策略对提升适配体结合性能与检测适用性的作用机制, 最后总结适配体在食品安全检测应用中的现存问题, 介绍当前适配体筛选与优化技术并展望其未来的发展方向, 为该技术在食品安全快速精准检测中的应用提供参考。

关键词: 核酸适配体; 食品安全检测; 筛选技术; 优化策略
中图分类号: TS207.3 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)16–0227–09

Research progress on screening and optimization of nucleic acid aptamers applied in the field of food safety detection

CHEN Guo-Chao[1,2,3], WANG Ying-Xue[2,3], YANG Ming-Wen[2,3], JI Yu-Cheng[2,3], HUANG Bing-Huan[2,3], LIU Hui[2,3], LI Hao[1,2,3*]

(1. *School of Public Health and Health Management*, *Shandong First Medical University and Shandong Academy of Medical Sciences*, *Ji'nan* 250117, *China*; 2. *School of Public Health*, *Jining Medical University*, *Jining* 272067, *China*; 3. *Jining Key Laboratory of Food Nutrition and Safety*, *Jining* 272067, *China*)

ABSTRACT: Aptamer, as a single-stranded nucleic acid molecule screened by systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX), has shown broad application prospects in the field of food safety detection due to its advantages of high specificity, easy synthesis and modification and good stability. This paper reviewed the research

收稿日期: 2026-02-25
第一作者: 陈国超(2000—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为公共卫生。E-mail: 1571889248@qq.com
***通信作者:** 李灏(1978—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为食品安全、适配体筛选优化及其应用。E-mail: lihaoh@163.com

progress of aptamer screening techniques for different target analytes (such as food-borne pathogens, microbial toxins, pesticides, heavy metal ions, etc.) in food safety detection, emphatically introduced the principles, characteristics and application scenarios of traditional SELEX (such as capture-SELEX, genomic-SELEX, capillary electrophoresis-SELEX, fluorescent-magnetic-SELEX, real-SELEX, cell-SELEX, graphene oxide-SELEX). At the same time, this paper systematically expounded the mechanism of aptamer optimization strategy to improve the binding performance and detection applicability of aptamers, summarized the existing problems in the application of aptamers in food safety detection, introduced the current aptamer screening and optimization techniques and prospected their future development directions, providing a reference for the application of this technology in rapid and accurate detection of food safety.

KEY WORDS: nucleic acid aptamer; food safety detection; screening techniques; optimization strategy

0 引 言

近年来, 随着“健康中国”理念上升为国家战略, 人们对食品安全的需求越来越高, 食品安全成为公众的关注热点。2023 年国家食品安全监测结果表明, 当前我国食品安全问题主要为重金属、果蔬农药残留、生物毒素、违禁药品和抗生素残留, 以及存在食源性致病菌等[1], 这些致病因子以食物为载体进入人体, 进而导致食源性疾病[2], 对人体健康构成严重威胁。因此, 对食品中污染物进行高效检测是防控食源性疾病、保障人类健康的关键环节。

当前, 已有许多技术方法用于食品安全检测, 如质谱联用方法[3]、色谱法[4]、酶抑制法[5]、免疫分析法[6]和生物传感技术[7]等。尽管这类技术策略可有效检测食品中的药物残留等污染物, 但其存在的局限性, 仍在一定程度上限制了其广泛应用。如仪器分析法操作复杂, 技术要求高且花费高昂[8]; 免疫分析法相较仪器分析法虽降低了操作难度但其灵敏性和特异性仍有待提高[9]; 作为检测金标准的平板分离培养致病菌法因培养时间长制约其在快速检测中的应用[10]。因此, 针对食品安全检测的快速筛查需求, 亟需开发兼具特异性、稳定性、快速准确与低成本优势的检测技术。

适配体与靶物质高度亲和[11]、易于修饰、简便合成且操作简单的优势, 使适配体在食品检测中得到广泛应用[12]。但适配体筛选过程中仍存在筛选周期长、目标物结合效率参差不齐、部分适配体在复杂食品基质中稳定性不足等问题[13], 因此, 需要不断改良指数富集的配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)提高效率, 进一步优化所筛选适配体的序列组成及结构, 以提高其在应用中的特异性、亲和力和实用性[14]。基于此, 本文针对食品安全检测现状, 重点探讨近年来适配体的筛选与优化研究进展, 为相关研究提供参考, 推动适配体技术在食品领域的完善与应用。

1 食品安全问题现状

食源性致病菌是以食品为媒介引起感染性、中毒性等疾病的致病性微生物[15]。较常见的食源性致病菌有大肠杆菌、沙门氏菌、李斯特菌、金黄色葡萄球菌等。美国疾病控制与预防中心报告显示肠出血性大肠杆菌 O157:H7 是导致食源性疾病的主要致病菌之一[16], 若食用被该菌污染的食品会导致一系列全身性损害甚至死亡。微生物毒素整体而言具有极大的危害性[17], 已有文献报道真菌毒素如黄曲霉毒素、赭曲霉毒素等常污染谷类、玉米等作物, 是各种高发癌症的主要诱导物质[18]。农药常被用来防治农产品或海洋产品的虫害, 然而, 部分持久性农药具有较长的半衰期且难分解, 导致环境中残留积累, 若出现误用误服可对生命健康造成严重危害[19]。抗生素虽然对微生物有较强的消灭或抑制能力, 但长期或不合规的过量使用极易诱发耐药菌的产生[20]。国家管控药物如可待因, 被部分商家非法滥用, 其严重后果可致呼吸抑制、心衰, 甚至死亡[21]。同样的, 重金属的释放严重危害人类和其他生物, 如: 铅(Pb)、镉(Cd)、汞(Hg)都有很高的毒性, 即使摄入微量也会对人体健康造成影响[22]。针对上述情况, 面对种类繁多的食品安全危害因子, 实现及时、精准的检测分析, 是保障食品安全的迫切需求。

2 常用食品安全检测方法

目前针对食品中致病菌、重金属离子及微生物毒素等危险因素的检测, 已形成分离、定性与定量相结合的综合体系。其中, 常见的检测方法有气相色谱法、液相色谱法、质谱联用法(气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法、离子迁移-质谱法)、酶抑制法、免疫分析法等, 表 1 对比了这些检测方法在食品检测方面的优缺点。

3 适配体

适配体的本质是三维寡核苷酸分子通过折叠成特定的结构, 特异性地结合靶标分子。1990 年首次提出“aptamer”即核酸适配体一词, 与传统的抗体和酶相比, 适配体具有显著优势, 如容易合成、良好的稳定性、合成周期短、保存期长和较低的成本[33]。基于这种的特质, 适配体已广泛应用于食品安全检测中, 在传感器中被用作特异

性识别元件[34]。检测专一、灵敏、快捷、成本低廉等优点使适配体传感器技术成为近年来食品检测领域的研究热点, 而如何快速筛选出亲和力高、特异性强的适配体是发展生物传感技术的核心。

表 1　食品安全检测常用方法及优缺点

Table 1　Methods of food safety testing and their advantages and disadvantages

检测方法	优点	缺点	参考文献
气相色谱法	有较高分辨率和灵敏度、分析时间短、分析成本低、分离性好、检出限低, 样品前处理过程简单	多用于分离低沸点的化合物和气体, 高温使测量结果不准确	[23–24]
液相色谱法	有效分离大分子物质和高沸点及热稳定性差的化合物, 分离效率和灵敏度高	灵敏度低, 实验材料要求高; 高效液相色谱法检测过程中, 某些化合物在色谱柱中可能发生吸附或不良反应, 导致结果准确性受到影响	[25–26]
质谱联用方法	气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法、离子迁移-质谱法解决单种方法的局限性	操作复杂, 实验要求高	[27–29]
酶抑制法	操作简单、灵敏度高、检测速度快、成本低廉的检测方法	酶活性易受干扰, 实验温度变化易造成假阳性结果	[30–31]
免疫分析法	目前有放射免疫分析法(radioimmunoassay, RIA)、酶免疫分析法(enzyme-linked immunosorbent assay, EIA)、荧光免疫分析法(fluorescence immunoassay, FIA)和酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 具有简单、方便、快捷且低成本的优点	免疫分析方法可用于霉菌毒素污染的一级筛选但分子识别机制的极端选择性, 使霉菌毒素污染的持续研究受限; 参与免疫测定的常规抗体很难重组表达, 易受环境影响	[32]

4　SELEX 技术

SELEX 技术即指数富集的配体系统进化技术[35], 利用该技术可以从随机单链核酸序列库中筛选出特异性与靶物质高度亲和的核酸适配体。通过该技术已成功在食品安全领域筛选得到鼠伤寒沙门氏菌[36]、金黄色葡萄球菌[37]、黄曲霉毒素 M_1[38]和乳铁蛋白[39]等目标物的适配体具有灵敏识别, 快速检测等优势。

随着适配体研究的不断深入, 科学界对其认识日益加深。SELEX 筛选技术在持续演进, 新的改良型 SELEX 技术不断被开发并成功转化为实际应用。这不仅显著提升了筛选的工作效率, 也极大地增强了适配体的特异性和亲和力[40]。SELEX 技术可分为孵育、结合、分离、洗脱、扩增 5 个步骤。经典 SELEX 首先人工合成随机单链脱氧核糖核酸(single-stranded DNA, ssDNA)文库, 然后将特异性目标分子加入随机 ssDNA 文库孵育结合[41], 而后多次洗脱去除未结合的序列, 之后将目标分子与结合的 ssDNA 分开, 将 ssDNA 进行下一轮筛选, 经过多次循环筛选富集得到高亲和性的单链适配体。经过重复的筛选, 最终可以得到与目标检测物特异性最强的适配体。

经典 SELEX 虽便捷, 但周期长、工作量大, 耗时数周甚至更久。面对食品基质的复杂性, 单一的筛选策略已难以满足需求。对此, 科研人员对其进行改良, 并结合适配体的结构优化, 形成了针对性极强的筛选与改造体系。目前主要的筛选技术有捕获 SELEX (capture-SELEX, Capture-SELEX)、基因组 SELEX (genomic-SELEX, Genomic-SELEX)、毛细管电泳 SELEX (capillary electrophoresis-SELEX, CE-SELEX)、靶标固定 SELEX (real-SELEX, Real-SELEX)、荧光磁珠 SELEX (fluorescent-magnetic-SELEX, FluMag-SELEX)、氧化石墨烯 SELEX (graphene oxide-SELEX, GO-SELEX)、细胞 SELEX (cell- SELEX, Cell-SELEX)等。

5　适配体针对不同危害物的筛选与优化策略

由于不同物质的结构特征和稳定性、作用机制等不同, 需选用不同的筛选方法。针对食品安全领域的危害物, 如食源性致病菌、微生物毒素、农兽药残留、重金属离子等, 重点阐明了根据不同危害物的特性决定不同适配体开发的策略, 系统总结了针对这些危害物的核酸适配体筛选与优化研究进展, 在表 2 中对列举的 7 种 SELEX 筛选技术进行了总结和对比。为了实现核酸适配体在实际检测应用中的高亲和力、特异性和稳定性, 现代 SELEX 技术已从单纯的体外筛选演化为一个多维度优化的系统工程。除了传统的基于亲和力的筛选外, 其中, 适配体的截短、化学修饰、二级结构预测与重构、分子对接与动力学模拟、机器学习辅助为当前研究的热点, 以下将从这几个方面介绍 SELEX 技术的具体应用及优化方法。

5.1 针对食源性致病菌的 SELEX 与优化

食源性致病菌如沙门氏菌、大肠杆菌等，通常是活细胞或复杂的细胞结构，传统的“固定靶标”SELEX 方法往往难以应用，研究者更倾向于 Cell-SELEX[54–55]。Cell-SELEX 能保留天然构象，通过在自然状态下筛选，能够识别细菌表面天然的、具有生物学意义的标志物，其靶向性强，可以在不破坏细胞的情况下，筛选出针对特定菌株或菌种的特异性适配体[56]。筛选出的适配体不仅用于检测，还可以用于捕获、分离或阻断细菌的致病机制。为了提高其特异性，研究中常引入负选择步骤，如使用非致病菌或其他常见菌株进行竞争性筛选，去除非特异性结合的序列[57]。

尽管 Cell-SELEX 技术潜力巨大，但其在实际应用中仍存在瓶颈，实验周期长、特异性不足、靶标未知性，带来了适配体结合位点难以确认的问题。近年来的研究主要聚焦于以下几个方向进行改进：利用高通量测序对富集序列进行深度分析[58]，如 Cell-SELEX 筛选流程如图 1 所示，首先将随机单链 DNA 文库与阴性对照细胞孵育，去除非特异性结合序列；再将上清与靶细胞孵育，收集结合的核酸序列，经 PCR 扩增后进入下一轮筛选；引入更严格的负筛选以剔除非特异性结合[59]；以及开发微流控芯片利用流体动力学特性快速分离有效序列[60]，从而显著缩短了筛选周期并提高特异性。

表 2 SELEX 筛选技术在食品检测中的应用与优缺点

Table 2 Applications, advantages and disadvantages of SELEX screening technology in food testing

筛选方法	应用领域	优点	局限性	参考文献
Capture-SELEX	农药、重金属离子	降低检测成本，缩短筛选周期	筛选耗时，操作烦琐，对小分子适用有限	[42]
Real-SELEX	食品中的添加剂、农药残留、致病菌、过敏原、兽药	提高特异性和亲和力，筛选结果高效准确	聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)偏倚，高端仪器耗时费力	[43–44]
FluMag-SELEX	农药残留和致病菌	检测敏感性高，分离效率快	复杂基质易干扰，结果验证成本高	[44–45]
GO-SELEX	食源性致病菌、农药残留	操作简便，筛选周期短，提升检测效率	筛选过程需多循环	[46–47]
CE-SELEX	筛选蛋白质、脂多糖、多肽等大分子物质	缩短了筛选周期，提升检测的时效性	设备昂贵且复杂	[48–49]
Cell-SELEX	食源性致病菌	原位天然性，无需纯化靶标	筛选周期长，易出现假阳性	[50–51]
Genomic-SELEX	食源性致病菌	天然序列，能挖掘高亲和力核酸元件	需反向筛选和验证	[52–53]

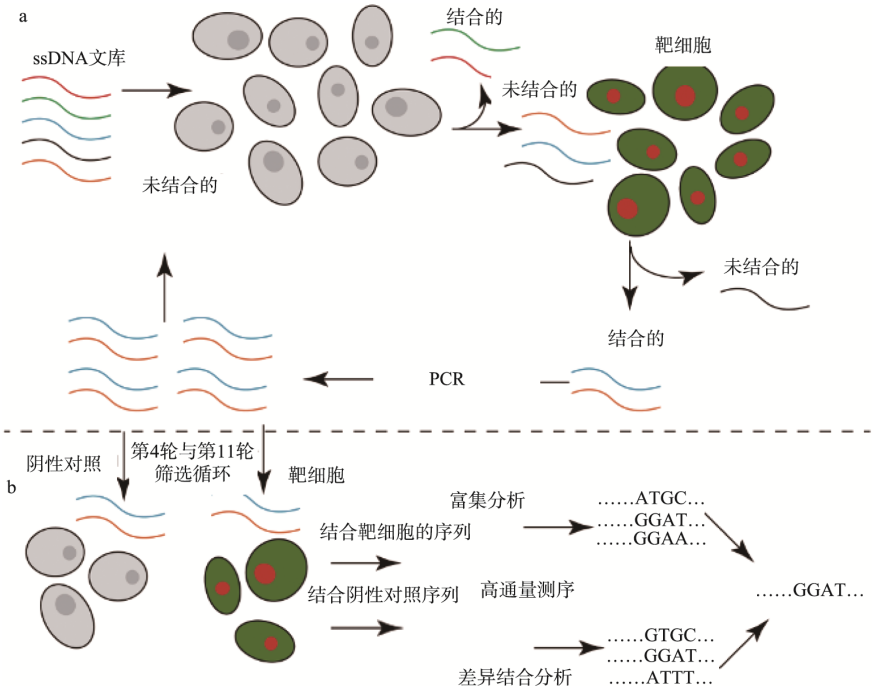


图 1 Cell-SELEX 工作流程[58]

Fig.1 Cell-SELEX workflow[58]

5.2　针对微生物毒素的的 SELEX 与优化

相较于普通小分子或蛋白质靶标，微生物毒素往往具有独特的化学结构和复杂的环境基质，研究者采用 Capture-SELEX 技术，利用捕获探针固定文库序列，成功富集出对黄曲霉毒素具有高亲和力的适配体。鉴于微生物毒素在食品中的低浓度和复杂基质的特性，研究焦点从单纯提高亲和力转向提升检测性能。最新的研究趋势是将筛选得到的适配体直接与检测平台集成。如电化学传感器、荧光传感器或基于金纳米颗粒的侧流免疫层析试纸条，如图 2 所示，巯基修饰的 AFB_1 适配体固定于金电极表面；无 AFB_1 时，适配体呈伸展状态，末端亚甲基蓝(methylene blue, MB)远离电极，电子转移效率低；当体系中存在 AFB_1，适配体与靶标特异性结合发生构象折叠，使亚甲基蓝靠近电极，促进电子转移，产生可检测的电化学响应信号，实现了对微量黄曲霉毒素的现场检测[61]。

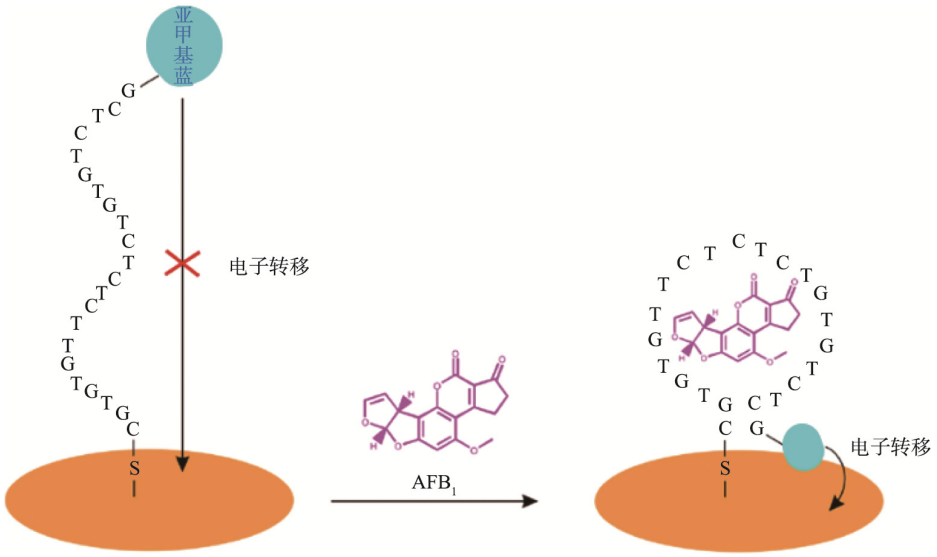
5.3　针对农兽药的 SELEX 与优化

农兽药分子通常质量小、极性基团较少，不仅难以直接固载于固相载体，还易产生非特异性结合，干扰 SELEX 筛选过程。针对这种化学性质的特殊性，研究者们开发了多种新颖的筛选策略来解决固定化难题。Capture-SELEX 技术便是其中的典型代表，该方法通过固定寡核苷酸文库，而非靶标本身，无需对农兽药进行复杂的化学修饰，适用于所有小分子靶标。近年来的研究表明，适配体在农兽药检测领域中的优势日益凸显，不仅成功筛选出针对 λ-氯氟醚菊酯、阿维菌素等农药高亲和力的适配体[62−63]，如图 3 所示，将单链 DNA 文库通过生物素-链霉亲和素作用固定于磁珠，加入游离靶标 λ-氯氟氰菊酯，能够识别靶标的核酸序列发生构象改变从磁珠上解离，经磁分离收集目标 ssDNA；通过对称 PCR 扩增、NaOH 变性获得单链富集文库，可进入下一轮筛选循环；筛选结束后对富集文库进行高通量测序及结构预测，经组合分析得到候选适配体；聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)电泳用于 PCR 产物鉴定，且在灵敏检测方面得到了提升。

初筛得到的适配体往往亲和力有限，需要通过结构优化提升性能。研究者采取了一系列措施来进行优化。通过文库优化引入如锁核酸(locked nucleic acid, LNA)、2’-氟修饰等非天然核苷酸或构建镜像核酸库，显著提升耐酶降解性和结合亲和力[64]；通过结构截短结合二级结构预测去除适配体两端的引物区序列，仅保留关键的结合区，以减小分子量并降低合成成本[65]，通过引物区设计，利用引物区的“栅栏”效应(构象变化)，构建结构转换型适配体[66]，实现对小分子靶标的“开关”式检测。

5.4　针对重金属离子的 SELEX 与优化

与蛋白质或细胞靶标不同，重金属离子因分子量极小且化学性质活泼，导致传统的固相固定化方法难以应用。因此，研究者们开发了多种基于构象变化和自由分离的筛选技术以解决小分子靶标的固定化难题。其中，图 4 通过 Capture-SELEX 技术在初始核酸文库与捕获探针杂交后固定于亲和素磁珠；加入游离靶标后，可特异性结合靶标的核酸发生构象改变并脱离磁珠；收集解离核酸片段，经 PCR 扩增、酶切得到子文库，经过多轮筛选后结合高通量测序获得候选适配体，通过固定寡核苷酸文库而非靶标，利用金属离子与特定 DNA 序列(如 G-四聚体)形成稳定的配位键，诱导适配体结构收缩或构象改变，无需对金属离子进行化学修饰，克服了小分子靶标难以固相固化问题[67]；GO-SELEX 利用氧化石墨烯对未结合的寡核苷酸具有高吸附能力，而金属离子结合后结构改变导致脱附，从而实现对目标分子的富集[68]。



注：黄曲霉毒素 B_1 (aflatoxins B_1, AFB_1)。

图 2　用于 AFB_1 检测的适配子电化学传感器原理示意图[61]

Fig.2　Schematic diagram of the principle of aptamer-based electrochemical sensor for AFB_1 detection[61]

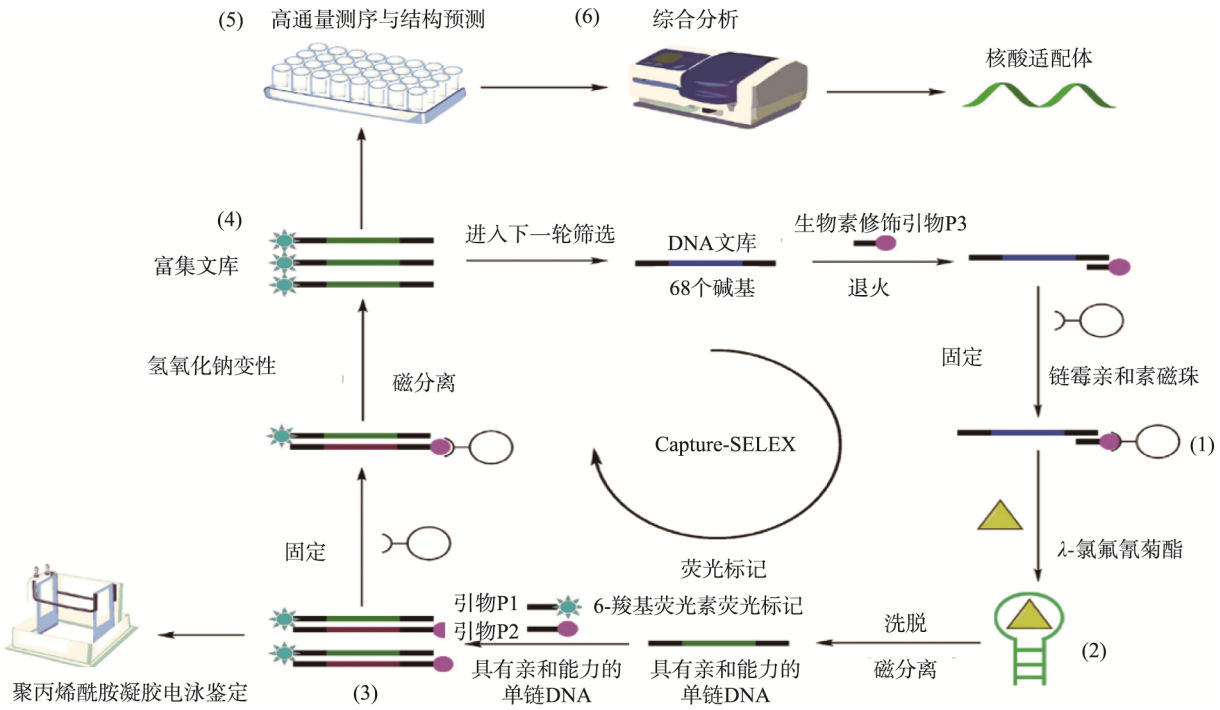


图 3 筛选 *L*-氯氟氰菊酯结合适配体的 Capture-SELEX 技术路线图[62]

Fig.3 Capture-SELEX technology roadmap for screening aptamer bound to *L*-cyhalothrin[62]

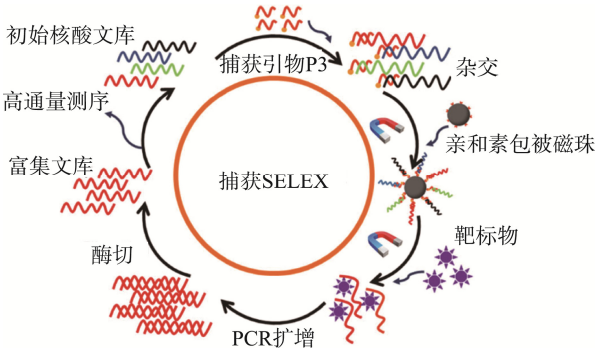


图 4 基于捕获-SELEX 图的示意图[67]

Fig.4 Schematic diagram of based on Capture-SELEX[67]

针对重金属离子(如 Pb^{2+}、Hg^{2+}), 研究表明其核酸适配体主要通过诱导或稳定特定的 G-四聚体结构, 如经典的 DNAzyme 8-17 和 GR-5, 通过截短保留核心结合环节并引入 LNA 或 2'-F 等化学修饰, 适配体的亲和力可显著提升并增强核酸酶耐受性[69], 优化后的适配体已广泛应用于饮用水、稻米和蔬菜等食品基质的重金属残留监测。

6 核酸适配体在食品安全检测中的应用现状

目前, 核酸适配体在食品安全检测领域的产业化应用仍相对滞后。导致这一局面的一个关键原因在于, 大多数原始适配体均是在理想化的缓冲液如磷酸盐缓冲液、Tris-HCl 等中筛选得到的。然而, 实际应用中待测样品的基质如稀奶粉中的乳糖、蛋白质或农药残留中的有机溶剂会显著改变适配体的空间构象和亲和性。这种环境差异导致实验室筛选出的高亲和力适配体, 在现场检测时表现出亲和性下降、特异性降低或耐受性差的现象。为了解决核酸适配体筛选体系与实际检测环境之间的不一致性, 并提升其在产业化应用中的稳定性与可靠性, 现有研究主要聚焦于以下两个方向: 基质适应性筛选和结构优化与功能化改造。

研究者在 SELEX 筛选阶段引入了基质适应性筛选策略。通过在筛选体系中加入真实的样品基质或其模拟混合溶液, 使适配体在非理想的、复杂的环境中进行富集和筛选, 使适配体预适应最终的工作体系, 从而显著提升其对复杂基质的容错度、特异性结合能力以及整体工作稳定性。课题组通过在筛选体系中添加稀释的真实牛奶样品, 使适配体在富含蛋白、酶和各种离子的环境中进行富集和筛选, 筛选得到的适配体不仅对沙雷霉素具有更高的亲和力和特异性, 而且在实际牛奶基质中检测时表现出更好的稳定性和抗干扰能力, 基于该适配体构建的荧光传感器的检出限比传统方法更低, 检测灵敏度更高[70]; 在针对适配体在血清环境中稳定性差的问题, 提出了血清辅助 Capture-SELEX 策略, 在筛选过程中引入真实的血清样本, 使适配体在筛选阶段即面对血清中的核酸酶和蛋白干扰, 成功筛选出对 PD-L1 蛋白具有高亲和力且在血清中表现出显著耐受性的适配体[71]; 提出了"矩阵背景辅助筛选"策略, 以解决传统适配体在理想缓冲液中筛选、实际乳制品基质中失效的问题, 直接在筛选体系中加入稀释的牛奶粉基质, 使

适配体在复杂环境中竞争结合[72]。通过定量 PCR 和高通量测序监测富集过程, 最终筛选出序列编号为 Seq.I1II3 的 ssDNA 适配体。该适配体对目标蛋白乳桥蛋白的结合亲和力达到了 5.9 nmol/L, 显示出优异的特异性和稳定性, 验证了在筛选阶段引入真实基质干扰是一种提升适配体后期应用稳定性的有效策略。

其次, 针对筛选得到的适配体可能存在的核酸酶降解快、在高盐离子环境中稳定性差等问题, 研究者通过结构优化与功能化改造来提升其性能。近期研究主要聚焦于截短核心区和化学修饰两大策略。针对胶质瘤适配体, 通过二级结构预测识别核心结合区域, 并采用截短去除引物区与非关键环区, 同时引入 LNA 来稳定 G-四联体结构后结果显示, 经过截短和 LNA 修饰的短链适配体在保持高亲和力的同时, 热稳定性显著提升, 核酸酶耐受性也得到改善[73]。另一项研究则探索了 *L*-核糖核酸与 G-四联体捕获的结合, 通过设计了能够特异性结合 rG4 结构的 *L*-核糖核酸适配体(如 L-Apt.4-1c), 使该适配体在不破坏靶标结构的前提下实现了高效捕获, 且在细胞裂解液等复杂样品中表现出优于传统 DNA 适配体的捕获效率[74]。这两项工作共同验证了通过保留 G-四联体核心结构并引入 LNA 或 *L*-核糖核酸等化学修饰, 可以显著提升适配体在高盐离子环境中的稳定性和核酸酶耐受性。此外, 借助深度学习模型[如卷积神经网络(convolutional neural network, CNN)或 Transformer 模型]进行机器学习辅助设计, 预测高效突变位点, 来实现对复杂基质中性能更优异的改良版适配体的快速筛选。

7　结束语

本文系统回顾核酸适配体技术在食品安全检测领域的演进历程与最新进展, 从传统的 SELEX 到结合高通量测序的 Cell-SELEX, 以及针对微生物毒素、农兽药和重金属离子等小分子的特异性筛选策略, 已成功构建了多种高亲和力的适配体。这些适配体通过化学修饰、结构截短、二级结构预测与重构、分子对接与动力学模拟、机器学习辅助等策略显著提升了核酸酶耐受性和结合亲和力, 使其在复杂基质中仍能保持优异性能。目前, 基于适配体的生物传感器、荧光检测以及侧流免疫层析试纸条已广泛应用于致病菌、重金属和农药残留的现场快速检测, 展现出“又快又准”的显著优势。

然而, 核酸适配体的产业化应用仍面临“高选低用”的瓶颈。尽管已筛选出大量适配体, 但有效用于实际检测的仍屈指可数; 其根本原因在于经筛选得到的完整序列往往冗长且包含大量非功能区域, 仅核心结合位点具备活性。因此, 当前亟需高效的序列裁剪与功能化改造技术, 以剔除冗余序列、提升特异性并降低成本, 满足食品安全检测的严格需求。

展望未来, 随着深度学习辅助设计和微流控芯片的引入, 核酸适配体技术将实现“靶向式设计”和“超快筛选”的转型, 适配体将在提升食品安全监管效率方面发挥更大的作用, 助力构建更安全、更透明的食品安全体系。

参考文献

[1] 王璐, 黄佳琪, 孙鑫泽, 等. 我国食品安全现状分析及其对策[J]. 食品安全导刊, 2023(36): 14–16.
Wang Lu, Huang Jiaqi, Sun Xinze, et al. Analysis of the current situation of food safety in China and its countermeasures [J]. Journal of Food Safety Guide, 2023(36): 14–16.

[2] Gu Huajie, Hao Liling, Ye Hua, et al. Nuclease-assisted target recycling signal amplification strategy for graphene quantum dot-based fluorescent detection of marine biotoxins [J]. Mikrochimica Acta, 2021, 188(4): 118.

[3] 张森虎, 陈雪峰, 余瑞, 等. 色谱-质谱联用的食品组学技术在食品科学研究中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(13): 102–109.
Zhang Senhu, Chen Xuefeng, Yu Rui, et al. Applications of foodomics technology based on chromatography-mass spectrometry in food science research [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(13): 102–109.

[4] Jaimez J, Fente C A, Vazquez B I, et al. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 882(1–2): 1–10.

[5] Narenderan S T, Meyyanathan S N, Babu B. Review of pesticide residue analysis in fruits and vegetables. Pre-treatment, extraction and detection techniques [J]. Food Research International, 2020, 133: 109141.

[6] Lei Hongtao, Wang Zhanhui, Eremin S A, et al. Application of antibody and immunoassay for food safety [J]. Foods, 2022, 11(6): 826.

[7] Szelenberger R, Cichoń N, Zajaczkowski W, et al. Application of biosensors for the detection of mycotoxins for the improvement of food safety [J]. Toxins, 2024, 16(6): 249.

[8] Sun Qiannan, Dong Yide, Wen Xin, et al. A review on recent advances in mass spectrometry analysis of harmful contaminants in food [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1244459.

[9] Xing Guangxu, Sun Xuefeng, Li Ning, et al. New advances in lateral flow immunoassay (LFI) technology for food safety detection [J]. Molecules, 2022, 27(19): 6596.

[10] Narayana I S, Dowden B, Ragheb K, et al. Identifying antibiotic-resistant strains *via* cell sorting and elastic-light-scatter phenotyping [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2024, 108(1): 406.

[11] Qin Mingwei, Khan I M, Ding Ning, et al. Aptamer-modified paper-based analytical devices for the detection of food hazards: emerging applications and future perspective [J]. Biotechnology Advances, 2024, 73: 108368.

[12] Qin Yadi, Bubiajiaer H, Yao Jun, et al. Based on unmodified aptamer-gold nanoparticles colorimetric detection of dexamethasone in food [J]. Biosensors, 2022, 12(4): 242.

[13] Kohlberger M, Gadermaier G. SELEX: critical factors and optimization strategies for successful aptamer selection [J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 2022, 69(5): 1771–1792.

[14] MacDonald J, Houghton P, Xiang Dongxi, et al. Truncation and mutation of a transferrin receptor aptamer enhances binding affinity [J]. Nucleic Acid Therapeutics, 2016, 26(6): 348–354.

[15] Quintela I A, Vasse T, Lin C S, et al. Advances, applications, and limitations of portable and rapid detection technologies for routinely encountered foodborne pathogens [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1054782.

[16] Scallan E, Hoekstra R M, Angulo F J, et al. Foodborne illness acquired in the United States: major pathogens [J]. Emerging Infectious Diseases, 2011, 17(1): 7–15.

[17] Nwaji A R, Arieri O, Anyang A S, et al. Natural toxins and one health: a review [J]. Science in One Health, 2022, 1: 100013.

[18] Yu Jianmei, Pedroso I R. Mycotoxins in cereal-based products and their impacts on the health of humans, livestock animals and pets [J]. Toxins, 2023, 15(8): 480.

[19] Lushchak V I, Matviishyn T M, Husak V V, et al. Pesticide toxicity: a mechanistic approach [J]. EXCLI Journal, 2018, 17: 1101–1136.

[20] Joakim-Larsson D G J, Flach C F. Antibiotic resistance in the environment [J]. Nature Reviews. Microbiology, 2022, 20(5): 257–269.

[21] Cooper R J. I can't be an addict. I am' over-the-counter medicine abuse: a qualitative study [J]. BMJ Open, 2013, 3(6): e002913.

[22] Rahman Z, Singh V P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) [arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr) (VI), mercury (Hg), and lead (Pb)] on the total environment: an overview [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2019, 191(7): 419.

[23] Câmara J S, Martins C, Pereira J A M, et al. Chromatographic-based platforms as new avenues for scientific progress and sustainability [J]. Molecules, 2022, 27(16): 5267.

[24] Ortiz-Martínez M, Molina-González J A, Ramírez-García G, et al. Enhancing sensitivity and selectivity in pesticide detection: a review of cutting-edge techniques [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2024, 43(7): 1468–1484.

[25] Luisetti M, Ma S, Iadarola P, et al. Desmosine as a biomarker of elastin degradation in COPD: current status and future directions [J]. The European Respiratory Journal, 2008, 32(5): 1146–1157.

[26] Fekkes D. State-of-the-art of high-performance liquid chromatographic analysis of amino acids in physiological samples [J]. Journal of Chromatography. B, Biomedical Applications, 1996, 682(1): 3–22.

[27] Son A, Kim W, Park J, et al. Mass spectrometry advancements and applications for biomarker discovery, diagnostic innovations, and personalized medicine [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(18): 9880.

[28] Reingruber E, Jansen J J, Buchberger W, et al. Transfer-volume effects in two-dimensional chromatography: adsorption-phenomena in second-dimension size-exclusion chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218(8): 1147–1152.

[29] Madsen H T, Søgaard E G, Muff J. Study of degradation intermediates formed during electrochemical oxidation of pesticide residue 2, 6-dichlorobenzamide (BAM) at boron doped diamond (BDD) and platinum-iridium anodes [J]. Chemosphere, 2014, 109: 84–91.

[30] Poli C, Laurichesse M, Rostan O, et al. Comparison of two enzymatic immunoassays, high resolution mass spectrometry method and radioimmunoassay for the quantification of human plasma histamine [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2016, 118: 307–314.

[31] Sun Haoran, Zhang Liguo, Ni Lijun, et al. Study on rapid detection of pesticide residues in shanghaiqing based on analyzing near-infrared microscopic images [J]. Sensors, 2023, 23(2): 983.

[32] Li Qian, Huo Yongwei, Guo Yonghong, et al. Generation and applications of a DNA aptamer against gremlin-1 [J]. Molecules, 2017, 22(5): 706.

[33] Sun Hongguang, Zu Youli. A highlight of recent advances in aptamer technology and its application [J]. Molecules, 2015, 20(7): 11959–11980.

[34] Mattarozzi M, Toma L, Bertucci A, et al. Aptamer-based assays: strategies in the use of aptamers conjugated to magnetic micro- and nanobeads as recognition elements in food control [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2022, 414(1): 63–74.

[35] Wu Jingjing, Zhu Yingyue, Xue Feng, et al. Recent trends in SELEX technique and its application to food safety monitoring [J]. Mikrochimica Acta, 2014, 181(5–6): 479–491.

[36] Wang Minglu, Zhang Yilun, Tian Fangyuan, et al. Overview of rapid detection methods for *Salmonella* in foods: progress and challenges [J]. Foods, 2021, 10(10): 2402.

[37] Schmitz F R W, Valério A, de Oliveira D, et al. An overview and future prospects on aptamers for food safety [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(16): 6929–6939.

[38] Li Hui, Yang Daibin, Li Peiwu, et al. Palladium nanoparticles-based fluorescence resonance energy transfer aptasensor for highly sensitive detection of aflatoxin M_1 in milk [J]. Toxins, 2017, 9(10): 318.

[39] Kim D M, Go M J, Lee J, et al. Recent advances in micro/nanomaterial-based aptamer selection strategies [J]. Molecules, 2021, 26(17): 5187.

[40] Fallah A, Imani-Fooladi A A, Havaei S A, et al. Recent advances in aptamer discovery, modification and improving performance [J]. Biochemistry and Biophysics Reports, 2024, 40: 101852.

[41] 王楚楚. 牛血清白蛋白适配体的无标记原位筛选及其传感器的建立 [D]. 北京: 北京化工大学, 2019: 1–25.
Wang Chuchu. Label-and modification-free-based in situ selection of bovine serum albumin aptamer and the establishment of biosensor [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2019:1–25.

[42] Bakhtiari H, Palizban A A, Khanahmad H, et al. Novel approach to overcome defects of cell-SELEX in developing aptamers against aspartate β-hydroxylase [J]. ACS Omega, 2021, 6(16): 11005–11014.

[43] Zimmermann B, Bilusic I, Lorenz C, et al. Genomic SELEX: a discovery tool for genomic aptamers [J]. Methods, 2010, 52(2): 125–132.

[44] Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. FluMag-SELEX as an advantageous method for DNA aptamer selection [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2005, 383(1): 83–91.

[45] Ye Mao, Hu Jun, Peng Minyuan, et al. Generating aptamers by cell-SELEX for applications in molecular medicine [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(3): 3341–3353.

[46] Yue Yaqi, Zhang De, Tian Kangfei, et al. Screening and evaluation of thiamethoxam aptamer based on pressurized GO-SELEX and its sensor application [J]. Biosensors, 2023, 13(2): 155.

[47] Wang Tao, Chen Changying, Larcher L M, et al. Three decades of nucleic acid aptamer technologies: lessons learned, progress and opportunities on aptamer development [J]. Biotechnology Advances, 2019, 37(1): 28–50.

[48] Xu Guohua, Zhao Jiajing, Liu Na, et al. Structure-guided post-SELEX optimization of an ochratoxin A aptamer [J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(11): 5963–5972.

[49] Gao Shunxiang, Zheng Xin, Jiao Binghua, et al. Post-SELEX optimization of aptamers [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2016, 408(17):

4567–4573.

[50] Anderson P C, Mecozzi S. Unusually short RNA sequences: design of a 13-mer RNA that selectively binds and recognizes theophylline [J]. Journal of the American Chemical Society, 2005, 127(15): 5290–5291.

[51] He Xiaoqin, Guo Lei, He Junlin, et al. Stepping library-based post-SELEX strategy approaching to the minimized aptamer in SPR [J]. Analytical Chemistry, 2017, 89(12): 6559–6566.

[52] Zhou Nandi, Cai Rongfeng, Han Xuyan. Screening, post-SELEX optimization and application of DNA aptamers specific for tobramycin [M]. Zielonka S, Krah S. Genotype phenotype coupling: methods and protocols. New York, NY: Springer US, 2020: 1–18.

[53] Ma Pengfei, Ye Hua, Guo Hualin, et al. Aptamer truncation strategy assisted by molecular docking and sensitive detection of T-2 toxin using SYBR Green I as a signal amplifier [J]. Food Chemistry, 2022, 381: 132171.

[54] 江寒冰. 17*β*-雌二醇核酸适配体的截短优化及结合研究[D]. 长沙: 中南大学, 2022: 1–30.
Jiang Hanbing. Truncation optimization and binding characteristics of nucleic acid aptamers against 17*β*-estradiol [D]. Changsha: Central South University, 2022: 1–30.

[55] Bhowmik D, Rickard J J S, Jelinek R, et al. Resilient sustainable current and emerging technologies for foodborne pathogen detection [J]. Sustainable Food Technology, 2024, 3(1): 10–31.

[56] Chen Zefeng, Luo Hang, Gubu A, et al. Chemically modified aptamers for improving binding affinity to the target proteins *via* enhanced non-covalent bonding [J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2023, 11: 1091809.

[57] Esposito V, Scuotto M, Capuozzo A, et al. A straightforward modification in the thrombin binding aptamer improving the stability, affinity to thrombin and nuclease resistance [J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2014, 12(44): 8840–8843.

[58] Pleiko K, Saulite L, Parfejevs V, et al. Differential binding cell-SELEX method to identify cell-specific aptamers using high-throughput sequencing [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 8142.

[59] Wang Ge, Liu Jia, Chen Kai, et al. Selection and characterization of DNA aptamer against glucagon receptor by cell-SELEX [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 7179.

[60] Hung Liyu, Wang Chiahung, Che Yiju, et al. Screening of aptamers specific to colorectal cancer cells and stem cells by utilizing On-chip Cell-SELEX [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 10326.

[61] Wang Chao, Liu Liying, Zhao Qiang. Low temperature greatly enhancing responses of aptamer electrochemical sensor for aflatoxin B_1 using aptamer with short stem [J]. ACS Sensors, 2020, 5(10): 3246–3253.

[62] Yang Yuxia, Tang Yue, Wang Chunxiao, et al. Selection and identification of a DNA aptamer for ultrasensitive and selective detection of λ-cyhalothrin residue in food [J]. Analytica Chimica Acta, 2021, 1179: 338837.

[63] Wei Yuxin, Zhou Yangyang, Wei Yanli, et al. A fluorescent aptasensor based on berberine for ultrasensitive detection of bisphenol A in tap water [J]. Analytical Methods, 2021, 13(15): 1816–1822.

[64] Gu Lide, Zheng Jiajie, Zhang Yao, et al. Capture-SELEX of DNA aptamers for sulforhodamine B and fluorescein [J]. Chemistry–A European Journal, 2023, 29(72): e202302616.

[65] Bertrand P P A, Husser C, Chan Hexun, et al. *De novo* development of fluorogenic RNA-based biosensors using capture-SELEX in tandem with droplet microfluidics [J]. ACS Sensors, 2026, 11(1): 168–180.

[66] Yang Weijuan, Xiao Yufan, An Lili, et al. Low-micromolar-pressure capture-SELEX yields fold-switching DNA aptamers for label-free quantification of benzovindiflupyr [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2026, 74(5): 4851–4858.

[67] Ren Le, Qi Shuo, Khan I M, et al. Screening and application of a broad-spectrum aptamer for acyclic guanosine analogues [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2021, 413(19): 4855–4863.

[68] Elskens J P, Elskens J M, Madder A. Chemical modification of aptamers for increased binding affinity in diagnostic applications: current status and future prospects [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(12): 4522.

[69] Malek-Adamian E, Guenther D C, Matsuda S, et al. 4'-C-methoxy-2'-deoxy-2'-fluoro modified ribonucleotides improve metabolic stability and elicit efficient RNAi-mediated gene silencing [J]. Journal of the American Chemical Society, 2017, 139(41): 14542–14555.

[70] Ding Yujing, Gao Zihan, Li Hao. Real milk sample assisted selection of specific aptamer towards sarafloxacin and its application in establishment of an effective aptasensor [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 343: 130113.

[71] Zhou Yu, Zhang Haozhe, Ding Yujing, et al. Serum assisted PD-L1 aptamer screening for improving its stability [J]. Scientific Reports, 2025, 15: 1848.

[72] Zhu Chao, Feng Ziru, Yan Mengmeng, et al. Matrix background screening of an ssDNA aptamer and its identification against lactopontin [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(21): 11832.

[73] Kolesnikova V, Revishchin A, Fab L, et al. GQIcombi application to subdue glioma *via* differentiation therapy [J]. Frontiers in Oncology, 2024, 14: 1322795.

[74] Lam S Y, Umar M I, Zhao Haizhou, et al. Capture of RNA G-quadruplex structures using an l-RNA aptamer [J]. RSC Chemical Biology, 2024, 5(10): 1045–1051.

(责任编辑: 韩晓红　蔡世佳)