

## 标准研讨

## 地鳖的环介导等温扩增快速鉴别\*

陈伟韬<sup>1</sup>, 李养学<sup>1</sup>, 江洁怡<sup>1</sup>, 谢灿辉<sup>2</sup>, 贾德政<sup>2</sup>, 刘晓彤<sup>3</sup>, 廖惠娜<sup>3</sup>, 李素梅<sup>1\*\*</sup>

[1. 广东省第二中医院(广东省中医药工程技术研究院) 广东省中医药研究开发重点实验室, 广州 510095;

2. 广州中医药大学 第五临床医学院, 广州 510405; 3. 广州新华学院 药学院, 广州 510520]

**摘要 目的:**建立基于环介导等温扩增技术(LAMP)的地鳖分子鉴定方法。**方法:**针对地鳖 CO I 序列设计特异性引物 2 对(外引物 DB-F3、DB-B3 和内引物 DB-FIP、DB-BIP),在含有 Bst DNA 聚合酶和甲基红-苯酚红指示剂的反应体系下于 63 °C 下恒温扩增 90 min,通过目测检视判断反应结果,与 DNA 条形码和聚合酶链式反应(PCR)鉴定方法进行对比,考察方法专属性和灵敏度。**结果:**11 批地鳖样品均由紫红色变为橙黄色,1 批冀地鳖、9 批金边土鳖和 1 批伪品龙虱均为紫红色,鉴别结果与 DNA 条形码、PCR 结果一致,LAMP 检出限为 0.984 ng · mL<sup>-1</sup>。**结论:**本项目建立的 LAMP 检测方法准确,灵敏度高,操作简便快捷,对设备要求低,可应用于地鳖鉴别的快速筛查。

**关键词:**地鳖;环介导等温扩增技术;DNA 条形码;聚合酶链式反应;中药材鉴别;目视检查;快速鉴别

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)09-1529-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0035

## Rapid authentication of *Eupolyphaga sinensis* by loop-mediated isothermal amplification\*

CHEN Wei-tao<sup>1</sup>, LI Yang-xue<sup>1</sup>, JIANG Jie-yi<sup>1</sup>, XIE Can-hui<sup>2</sup>,  
JIA De-zheng<sup>2</sup>, LIU Xiao-tong<sup>3</sup>, LIAO Hui-na<sup>3</sup>, LI Su-mei<sup>1\*\*</sup>

[1. Guangdong Second Traditional Chinese Medicine Hospital (Guangdong Province Engineering Technology Research Institute of Traditional Chinese Medicine), Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510095, China;

2. The School of the Fifth Clinical Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

3. School of Pharmacy, Guangzhou Xinhua University, Guangzhou 510520, China]

**Abstract Objective:** To establish an authentication method for *Eupolyphaga sinensis* based on loop-mediated isothermal amplification (LAMP). **Methods:** Two pairs of primers (outer primer DB-F3, DB-B3 and inner primer DB-FIP, DB-BIP) were designed according to *Eupolyphaga sinensis* CO I specific loci. The reaction system containing template, primers, Bst DNA polymerase and methyl red-phenol red indicator amplified at 63 °C for 90 min. The LAMP results were determined by visual observation and compared with DNA barcoding and polymerase chain reaction (PCR) methods to investigate the specificity and sensitivity. **Results:** All 11 batches of the authentic *Eupolyphaga sinensis* sample tubes colour changed from purple red to orange yellow, while sample tubes of 1 batch of *Steleophaga plancyi*, 9 batches *Opisthoptalia orientalis* and 1 batch of the adulterant, *Cybister tripunctatus*

\* 广东省中医药局科研项目(20244001);2021 年省属科研机构稳定性支持项目(粤财科教[2021]113 号)

\*\* 通信作者 Tel:(020)83482098;E-mail:lisumei124@163.com

第一作者 Tel:(020)83482098;E-mail:chenwt009@126.com

*orientalis*, remained purple red after the reaction. The LAMP results were consistent with those of DNA barcoding and PCR. The detection limit of LAMP was  $0.984 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ . **Conclusion:** The established LAMP method is accurate, sensitive and easy to operate, low equipment required, and can be applied to the rapid screening of the authentication of *Eupolyphaga sinensis*.

**Keywords:** *Eupolyphaga sinensis*; loop – mediated isothermal amplification; DNA barcoding; polymerase chain reaction; authentication of Chinese medicinal materials; visual check; rapid identification

中药土鳖虫古称“虻虫”，药用历史超过 2000 年，具有活血散瘀、消癥破坚、疗伤定痛的功效，在治疗血瘀经闭、癥瘕积聚、跌打损伤、瘀血凝痛方面疗效良好<sup>[1-3]</sup>。土鳖虫入药来源有地鳖 *Eupolyphaga sinensis* Walker 和冀地鳖 *Steleophaga plancyi* (Boleny) [*Polyphaga plancyi* Bolivar]，岭南地区有以金边土鳖 *Opisthoptalia orientalis* Burm. 作土鳖虫使用，此外在江苏部分地区有写“虻虫”但实为东方潜龙虱 *Cybister tripunctatus orientalis* Gschwendtn, 为土鳖虫伪品<sup>[4-6]</sup>。金边土鳖和地鳖、冀地鳖作用相近，但临床功效存在一定差异，龙虱性味功效完全不同，不得混用，故建立该品种鉴别方法对于规范用药，保障临床疗效具有积极意义。现有药材质量标准难以区分土鳖虫及其混伪品，通过 DNA 条形码技术成功区分地鳖和金边土鳖，但该法检测时间长，需 DNA 条形码数据库和测序平台支持，不利于推广应用<sup>[7]</sup>。环介导等温扩增技术(LAMP)是通过 6 个特定的序列区域设计 2 对特异性引物，在 Bst DNA 聚合酶的作用下可恒温进行的基因扩增技术<sup>[8-11]</sup>，已在姜黄、白花蛇舌草、藏红花、蕲蛇、地龙等多种中药材鉴别研究中应用<sup>[12-21]</sup>。本研究针对地鳖与其他来源土鳖虫、伪品在 CO I 序列的特异性位点设计引物，进行 LAMP 反应，通过甲基红 - 苯酚红指示剂显色检视，建立地鳖 LAMP 快速鉴别方法。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

数字加热摇动金属浴(Thermo Scientific 公司); 96 孔热循环仪(Applied Biosystems 公司); 电泳仪(Bio - Rad 公司); Qubit 3.0 荧光分光光度计(Life Technologies 公司); TLC Visualizer 薄层色谱数码成像系统(CAMAG 公司)。

### 1.2 试剂

DP304 DNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司); Colorimetric LAMP RY 试剂盒(珠海宝锐生

物科技有限公司); Premix Taq 预混型 Ex Taq 酶(Takara 公司); gelred 核酸染料(Biotium 公司); 引物由深圳华大基因科技有限公司合成，引物序列见表 1。

表 1 地鳖 DNA 条形码鉴别和 LAMP 反应引物  
Tab.1 Primers of *Eupolyphaga sinensis* DNA barcoding identification and LAMP

引物 (primer)	序列(5'→3') [sequence (5'→3')]
HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA
LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG
DB - F3	CCTGATATAGCTTTTCTCTCGT
DB - B3	CCTAAAATTGATCTAACCCCC
DB - FIP	GCCTCTTTCAACTATACTGCTGTTTTGATTATTAC CACCATCCC
DB - BIP	CACAGTTGGACTGTTACCCACCTAAGGAAAAA TTGCTAAATCG

药材样品经广东省中医药工程技术研究院副主任中药师李素梅鉴定，各药材样品包含地鳖 *Eupolyphaga sinensis* Walker 的雌虫干燥体，冀地鳖 *Steleophaga plancyi* (Boleny) 的雌虫干燥体，金边土鳖 *Opisthoptalia orientalis* Burm. 的干燥体和东方潜龙虱 *Cybister tripunctatus orientalis* Gschwendtn 的干燥体，样品信息详见表 2。

## 2 方法与结果

### 2.1 DNA 提取

各药材样品用研钵碾碎，按 DP304 DNA 提取试剂盒说明书步骤提取样品 DNA。

### 2.2 基于 CO I 的 DNA 条形码鉴别

参考 2020 年版《中华人民共和国药典》中药材 DNA 条形码分子鉴定法指导原则，以 CO I 序列引物 HCO2198、LCO1490 对各样品 DNA 进行 PCR 扩增，PCR 产物双向测序，拼接的序列通过 BLAST 在线比对 GenBank 数据库。结果 11 批地鳖、1 批冀地鳖、

表 2 地鳖样品信息

 Tab.2 *Eupolyphaga sinensis* samples information

编号(No.)	来源(source)	产地(habitat)	编号(No.)	来源(source)	产地(habitat)
1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	河北(Hebei)	12	冀地鳖[ <i>Steleophaga plancyi</i> (Boleny)]	山西(Shangxi)
2	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	山东(Shandong)	13	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	广东(Guangdong)
3	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	山东(Shandong)	14	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	广西(Guangxi)
4	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	河北(Hebei)	15	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	广西(Guangxi)
5	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	河北(Hebei)	16	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	广西(Guangxi)
6	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	江苏(Hebei)	17	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	浙江(Zhejiang)
7	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	山东(Shandong)	18	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	湖北(Hubei)
8	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	湖南(Hunan)	19	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	广西(Guangxi)
9	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	河南(Henan)	20	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	江西(Jiangxi)
10	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	河南(Henan)	21	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	浙江(Zhejiang)
11	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	江苏(Jiangsu)	22	东方潜龙虱( <i>Cybister tripunctatus orientalis</i> )	安徽(Anhui)

表 3 地鳖样品 Genbank 数据库比对结果

 Tab.3 Genbank BLAST result of *Eupolyphaga sinensis* samples

编号(No.)	匹配核酸片段登录号(accession)	核酸片段来源物种(organism)	得分(score)	E 值(E value)	序列鉴别率(per. ident)/%
1	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 175	0	100
2	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 188	0	100
3	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 157	0	100
4	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 157	0	100
5	JF700163.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 131	0	99.52
6	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 164	0	99.84
7	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 186	0	100
8	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 170	0	100
9	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 149	0	100
10	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 153	0	100
11	KJ616712.1	地鳖( <i>Eupolyphaga sinensis</i> )	1 151	0	100
12	NC_049567.1	冀地鳖( <i>Polyphaga plancyi</i> )	1 194	0	99.85
13	NC_029225.1	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	1 160	0	100
14	NC_029225.1	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	1 168	0	100
15	NC_029225.1	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	1 157	0	100
16	NC_029225.1	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	1 142	0	100
17	NC_029225.1	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	1 164	0	100
18	NC_029225.1	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	1 181	0	100
19	NC_029225.1	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	1 162	0	100
20	NC_029225.1	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	1 149	0	99.68
21	NC_029225.1	金边土鳖( <i>Opisthoptalia orientalis</i> )	1 157	0	100
22	GU681182.1	善涸龙虱( <i>Dytiscus dauricus</i> )	811	0	91.07

9 批金边土鳖样品 DNA 条形码均与数据库中匹配的核酸片段物种相对应,但龙虱样品匹配的核酸片段非对应物种,序列鉴别率较低,见表 3。运用 MEGA 7 软件以邻接法基于 K2P 模型构建系统发育树(Boot-

strap 检测数 1 000) 分析,土鳖虫正品和混伪品在根部已分为不同分支,可作区分,各样品依物种形成分支,与样品信息对应,其中地鳖与冀地鳖亲缘关系较近,见图 1。

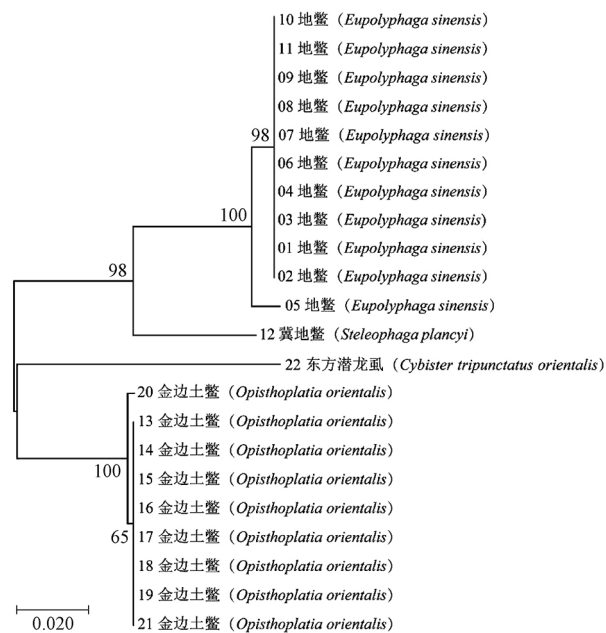


图1 地鳖和混伪品系统发育树  
Fig. 1 Phylogenetic tree of *Eupolyphaga sinensis* and the adulterants

### 2.3 PCR 鉴别

PCR 反应于 200  $\mu\text{L}$  离心管进行,体系总体积 50  $\mu\text{L}$ ,包括 Premix Taq 预混型 Ex Taq 酶(含  $\text{Mg}^{2+}$  4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , dNTPs 400  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 25  $\mu\text{L}$ ,引物 DB-F3、DB-B3 (10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 各 1  $\mu\text{L}$ ,模板 5  $\mu\text{L}$ ,无菌超纯水 18  $\mu\text{L}$ ,阴性对照以无菌超纯水作为模板。PCR 扩增条件:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 30 s,98  $^{\circ}\text{C}$  变性 10 s,60  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 60 s 循环反应 30 次,最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。电泳检测条件:2% 琼脂

糖凝胶加入 gelred 核酸染料,样品 PCR 溶液上样量 10  $\mu\text{L}$ ,100 V 电泳 40 min,于 TLC Visualizer 薄层色谱数码成像系统检视。结果地鳖在 200 bp 左右有单一条带,冀地鳖、金边土鳖和龙虱对应位置无条带,见图 2。

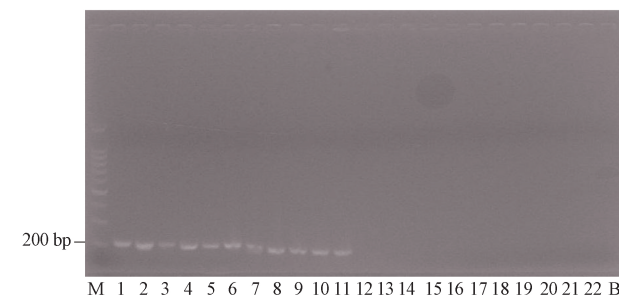


图2 地鳖和混伪品 PCR 结果  
Fig. 2 PCR result of *Eupolyphaga sinensis* and the adulterants

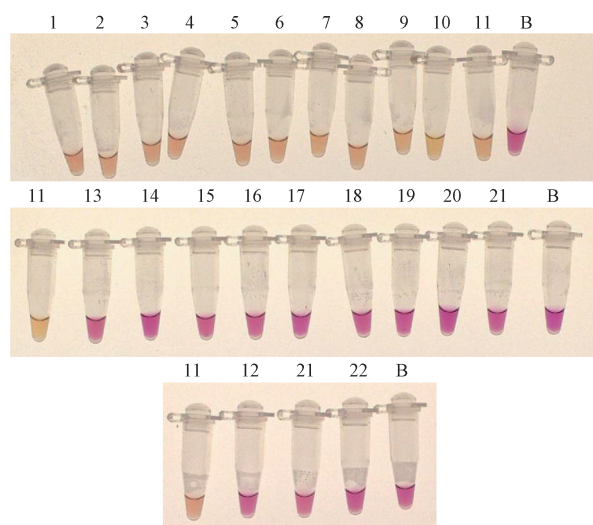
### 2.3 LAMP 鉴别

2.3.1 LAMP 引物设计 以地鳖 DNA 条形码序列为模版,通过在线工具 PrimerExplorer V5 (<http://primerexplorer.jp/lampv5e/index.html>) 对 F3、F2、F1c、B3、B2、B1c 等 6 个序列设计引物,根据地鳖、冀地鳖与金边土鳖、龙虱基因的差异位点,对设计的引物进行筛选,优化,得到引物 DB-F3、DB-B3、DB-FIP、DB-BIP,见图 3。



图3 地鳖特异性位点和 LAMP 引物位置  
Fig. 3 Specific loci of *Eupolyphaga sinensis* and the LAMP primers position

**2.3.2 LAMP 反应** LAMP 反应于 200  $\mu\text{L}$  离心管进行,体系总体积 25  $\mu\text{L}$ ,包括 Colorimetric LAMP RY 试剂盒中的 2  $\times$  LAMP Premix Buffer(含甲酚红-苯酚红指示剂) 12.5  $\mu\text{L}$  和 Bst 2.0 HS DNA 聚合酶 ( $8 \text{ U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , LAMP 引物 F3、B3 ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 各 0.5  $\mu\text{L}$  和 FIP、BIP ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 各 4  $\mu\text{L}$ , 模版 2  $\mu\text{L}$ , 无菌超纯水 0.5  $\mu\text{L}$ , 阴性对照以无菌超纯水作为模版。反应离心管置金属浴, 63  $^{\circ}\text{C}$  恒温扩增 90 min, 检视离心管颜色。对收集的多批地鳖及混伪品样品进行检测, 结果 11 批地鳖样品溶液颜色由紫红色变为橙黄色, 1 批冀地鳖样品、9 批金边土鳖样品、1 批龙虱样品和阴性对照为紫红色, 成功将地鳖正品与其他样品区分, 结果与 DNA 条形码鉴别一致, 见图 4。



1~11. 地鳖 (*Eupolyphaga sinensis*) 12. 冀地鳖 [*Steleophaga plancyi* (Boleny)] 13~21. 金边土鳖 (*Opisthoplatia orientalis*) 22. 东方潜龙虱 (*Cybister tripunctatus orientalis*) B. 空白对照 (black control)

图 4 地鳖和混伪品 LAMP 反应结果

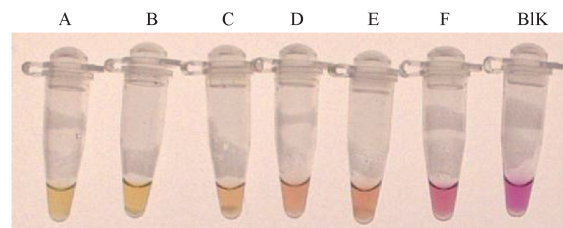
Fig. 4 LAMP reaction result of *Eupolyphaga sinensis* and the adulterants

### 3 讨论

DNA 条形码技术鉴别样品, 可给出物种来源, 但必须依赖可靠的样品 DNA 序列和数据库, 故龙虱未能成功匹配可能与提取的基因质量、CO I 序列关于该物种的鉴别适用性以及数据库所收录核酸片段的代表性和数量有关。PCR 鉴别在初期试验有部分批次地鳖未能扩增出条带, 冀地鳖出现非特异性扩增, 可能是模版量和 PCR 扩增条件不合适导致, 优化相关条件后, 所有地鳖样品均扩增出条带, 能与其他来

源土鳖虫及伪品进行区分。

根据上述 LAMP 检测结果, 该法专属性良好, 与 DNA 条形码和 PCR 方法相当。取第 11 批样品 DNA 以 Qubit 荧光计测定浓度为  $9840 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 以无菌超纯水稀释成 984、98.4、9.84、0.984、0.0984  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  等不同浓度, 按“2.3.2”项方法进行反应, 检测灵敏度, 结果浓度稀释至  $0.984 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  时仍明显变色, 见图 5。Bst DNA 聚合酶在 60~65  $^{\circ}\text{C}$  酶活性良好, 本研究分别比较了在 60、63、65  $^{\circ}\text{C}$  下扩增情况, 结果扩增 90 min 后, 地鳖样品均变为黄色, 说明在 60~65  $^{\circ}\text{C}$  温度变化对扩增影响不大。研究还考察了不同扩增时间, 结果地鳖样品在约 40 至 50 min 开始变色, 到 80 至 90 min 变为橙黄色至黄色, 与混伪品颜色区分明显, 故本鉴别方法扩增时间确定为 90 min。



A.  $9840 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  B.  $984 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  C.  $98.4 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$   
D.  $9.84 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  E.  $0.984 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  F.  $0.0984 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$   
Blk. 空白对照 (black control)

图 5 地鳖 LAMP 灵敏度检测结果

Fig. 5 Sensitivity of *Eupolyphaga sinensis* LAMP

LAMP 反应体系通过 Bst DNA 聚合酶能在恒温条件下高效扩增, 因此可使用金属浴代替较昂贵的 PCR 仪实现反应, 同时 DNA 模版量需求少。DNA 复制产生焦磷酸根<sup>[22]</sup>, 使得反应管内 pH 下降, 在甲基红-苯酚红指示剂作用下产生由紫红色逐渐变为黄色的颜色变化, 因此发生扩增的样品可通过肉眼检视结果, 无需进行电泳检测及使用凝胶成像系统、荧光检测仪、浊度分析仪等设备。

本研究建立了基于 LAMP 的地鳖分子生物学快速鉴定方法, 该法专属性强, 耐用性较好, 具有便捷、高效、仪器设备要求低的优点, 为开发地鳖现场快速筛查方法提供一种新途径。

### 参考文献

- [1] 朱良春. 虫类药的应用[M]. 太原: 山西科学技术出版社, 1994: 45

- ZHU LC. The Application of Insect TCM [M]. Taiyuan; Shanxi Science and Technology Publishing House, 1994:45
- [2] 王和沪, 王云启. 土鳖虫的本草考证[J]. 中医药导报, 2023, 29(4):52
- WANG HH, WANG YQ. Textual research on Tubiechong (Ground Beetle) [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 29(4):52
- [3] 常淮阳, 史红专, 邹洁, 等. 雌雄地鳖内在品质及营养成分差异研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(12):3192
- CHANG HY, SHI HZ, ZOU J, *et al.* Comparison of internal quality and nutrients between male and female *Eupolyphaga sinensis* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47(12):3192
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第九册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999:151
- National Administration of Traditional Chinese Medicine Chinese Materia Medica Editorial Board. *Chinese Materia Medica Volume 9* [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1999:151
- [5] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准. 第二册 [M]. 广州: 广东科学技术出版社, 2011:203
- Guangdong Food and Drug Administration. *Guangdong Chinese Medicinal Material Standard. Vol 2* [M]. Guangzhou: Guangdong Science & Technology Press, 2011:203
- [6] 陈伟韬, 刘梦云, 李养学, 等. 金边土鳖薄层色谱鉴别方法的改进[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(4):872
- CHEN WT, LIU MY, LI YX, *et al.* Study on improvement of *Opisthoptalia orientalis* Burm. TLC identification method [J]. *J Lishizhen Med Mater Med Res*, 2020, 31(4):872
- [7] 陈伟韬, 陈昭, 罗文汇, 等. 地鳖和金边土鳖的色谱及分子生物学鉴别研究[J]. 今日药学, 2017, 27(8):517
- CHEN WT, CHEN Z, LOU WH, *et al.* Study on identification between *Eupolyphaga sinensis* Walker and *Opisthoptalia orientalis* Burm. by chromatography and molecular biology [J]. *Pharm Today*, 2017, 27(8):517
- [8] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(12):E63
- [9] MORI Y, NOTOMI T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases [J]. *J Infect Chemother*, 2009, 15(2):62
- [10] 李振庆, 吴到检, 张大伟, 等. 基于毛细管电泳的环介导恒温扩增技术检测方法研究[J]. 分析测试学报, 2016, 35(6):758
- LI ZQ, WU DJ, ZHANG DW, *et al.* Detection of loop-mediated isothermal amplification products by capillary electrophoresis [J]. *Instrum Anal*, 2016, 35(6):758
- [11] 王芳, 董菁, 李艳妮, 等. 基于核酸分子光开关的闭管可视化环介导等温扩增检测方法[J]. 分析测试学报, 2022, 41(4):646
- WANG F, DONG J, LI YN, *et al.* A visualized closed-tube detection method for loop-mediated isothermal amplification based on nucleic acid molecular light switch [J]. *J Instrum Anal*, 2022, 41(4):646
- [12] SASAKI Y, NAGUMO S. Rapid identification of *Curcuma longa* and *C. aromatica* by LAMP [J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(11):2229
- [13] YANG L, WANG WR, ZHANG H, *et al.* Rapid identification of *Dendrobium officinale* using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method [J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(5):337
- [14] WU L, WANG B, ZHAO M, *et al.* Rapid identification of Official Akebiae Caulis and its toxic adulterant *Aristolochiae Manshuriensis* Caulis (*Aristolochia manshuriensis*) by loop-mediated isothermal amplification [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7:887
- [15] 王姝涵, 隋爱华, 韩斐斐, 等. 基于环介导等温扩增技术的巴戟天检测方法的建立[J]. 精准医学杂志, 2021, 36(3):217
- WANG SH, SUI AH, HAN YF, *et al.* Establishment of a detection method for *Morinda officinalis* how based on loop-mediated isothermal amplification [J]. *J Precis Med*, 2021, 36(3):217
- [16] 邓华明, 徐晓可, 黄启红, 等. 基于环介导等温扩增技术的中药材蕲蛇真伪鉴别方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(7):1263
- DENG HM, XU XK, HUANG QH, *et al.* Authentication of *Aghistrodon acutus* based on loop-mediated isothermal amplification [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(7):1263
- [17] 张环宇, 谭伟, 高晗, 等. 中药地龙中参环毛蚓环介导等温扩增快速检测方法[J]. 天津中医药, 2021, 38(4):535
- ZHANG HY, TAN W, GAO H, *et al.* Rapid identification of *Pheretima asperglum* based on loop-mediated isothermal amplification [J]. *Tianjin J Tradit Chin Med*, 2021, 38(4):535
- [18] ZHAO M, SHI Y, WU L, *et al.* Rapid authentication of the precious herb saffron by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) based on internal transcribed spacer 2 (ITS2) sequence [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:25370
- [19] LI M, WONG YL, JIANG LL, *et al.* Application of novel loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for rapid authentication of the herbal tea ingredient *Hedyotis diffusa* Willd. [J]. *Food Chem*, 2013, 141(3):2522
- [20] LAI GH, CHAO J, LIN MK, *et al.* Rapid and sensitive identification of the herbal tea ingredient *Taraxacum formosanum* using loop-mediated isothermal amplification [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(1):1562
- [21] CHEN SL, YIN XM, HAN JP, *et al.* DNA barcoding in herbal medicine; retrospective and prospective [J]. *J Pharm Anal*, 2023, 13(5):431
- [22] 许淑莹, 王冬梅, 欧阳松应. 基于RPA的病原体快速诊断策略[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 2024, 40(1):34
- XU SY, WANG DM, OUYANG SY. RPA-based rapid diagnostic strategies for pathogens [J]. *J Fujian Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2024, 40(1):34

(本文于2024年1月18日收到)