

# 基于适配体结合滚环扩增技术的喹乙醇代谢物残留检测方法的建立

韩龙宇, 毛喜颖, 张弘雨, 石明\*, 栗坤\*

(燕山大学 环境与化学工程学院, 河北省 秦皇岛 066000)

**摘要:** 喹乙醇是一种广泛用于饲料添加剂的抗菌药物, 其代谢物3-甲基喹啉-2-羧酸(MQCA)具有潜在的遗传毒性和致癌性。该研究基于前期筛选获得的高特异性MQCA核酸适配体(Apt-S2), 构建了一种基于滚环扩增(RCA)技术的适配体传感器, 用于猪肝组织中MQCA的定量检测。MQCA与磁珠表面固定的适配体的竞争性结合, 导致互补链引物释放, 从而触发后续RCA反应, 产生大量DNA产物, 其荧光信号强度与MQCA浓度正相关。通过对T4 DNA连接酶用量、环化时间、Phi29 DNA聚合酶用量及dNTP添加量等关键参数进行系统优化, 建立了稳定的检测体系。结果表明, 该方法在0.1  $\mu\text{mol/L}$ ~1 mmol/L MQCA浓度范围内, 荧光信号强度与MQCA浓度对数值( $\lg c$ )呈现良好线性关系( $r^2 = 0.9745$ ), 检出限(LOD)为100 nmol/L。该研究构建的RCA检测方法具有操作简便、成本较低、无需复杂仪器的优点, 为MQCA现场筛查提供了一种有潜力的新方法。

**关键词:** 喹乙醇代谢物(MQCA); 核酸适配体; 滚环扩增(RCA); 残留检测

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-08

## Method for Detecting Olaquinal Metabolite Residues Using Aptamer-based Rolling Circle Amplification

HAN Long-yu, MAO Xi-ying, ZHANG Hong-yu, SHI Ming\*, LI Kun

(School of Chemical Engineering, Yanshan University, Qinhuangdao 066000, China)

**Abstract:** Olaquinox is an antimicrobial agent widely used as a feed additive. Its primary metabolite, 3-methylquinoxaline-2-carboxylic acid (MQCA), exhibits potential genotoxicity and carcinogenicity, necessitating the development of rapid, cost-effective methods for detecting MQCA. In this study, we constructed a novel rolling circle amplification (RCA)-based aptasensor for quantitatively detecting MQCA in porcine liver using our previously selected DNA aptamer (Apt-S2) as a highly specific recognition element. The sensor operates via a competitive displacement mechanism: specifically binding MQCA to the aptamer (immobilized on magnetic beads) releases the complementary DNA primer (cDNA), which subsequently initiates the RCA reaction to generate massive single-stranded DNA amplicons. The resulting fluorescence intensity is positively correlated with the MQCA concentration. The key experimental parameters, including the volume of T4 DNA ligase, ligation time, dosage of Phi29 DNA polymerase, and volume of dNTP mix, were optimized to establish a robust detection platform. Under optimal conditions, a strong linear relationship was observed between the fluorescence intensity and logarithm of the MQCA concentration ( $\lg c$ ) over the range of 0.1 – 1 mmol/L, with a correlation coefficient ( $r^2$ ) of 0.9745. The limit of detection was calculated as 100 nmol/L. This RCA-based technique has the benefits of operational simplicity, low cost, and instrument-free operation, thus offering a promising alternative for the on-site screening of MQCA residues in food safety monitoring.

**Key words:** olaquinox metabolite (MQCA); nucleic acid aptamer; rolling circle amplification (RCA); residue detection

喹乙醇作为一种广泛使用的饲料添加剂, 经动物体内分解, 产生的代谢物3-甲基喹啉-2-羧酸

收稿日期: 2026-05-15; 修回日期: 2026-07-03

\* 通讯作者: 石明, 博士, 研究方向: 核酸适配体, E-mail: shiming78@ysu.edu.cn;

栗坤, 博士, 教授, 研究方向: 核酸适配体, E-mail: likun@ysu.edu.cn

(MQCA) 具有潜在的遗传毒性和致癌性<sup>[1-3]</sup>。为确保动物源性食品安全, 中国及欧盟等国家和地区已对动物组织中 MQCA 最大残留限量 (MRL) 做出严格规定。因此, 发展针对 MQCA 高效检测技术对保障公共健康与加强市场监管具有重要意义。

目前, MQCA 主流检测方法包括液相色谱-质谱联用 (LC-MS)<sup>[4-6]</sup> 和酶联免疫吸附测定 (ELISA)<sup>[7-9]</sup>。虽然 LC-MS 法灵敏度高、特异性好<sup>[10]</sup>, 但存在仪器昂贵、操作复杂、且需专业技术人员及前处理繁琐等局限, 难以满足现场快速筛查需求。而 ELISA 检测虽较简便, 但其核心识别元件——抗体, 制备成本高、批次差异大, 且稳定性易受环境影响<sup>[11]</sup>, 因此寻找一种新型检测方法十分必要。

核酸适配体是通过体外筛选技术 (SELEX) 获得的一类能高亲和力、高特异性结合靶标分子的单链 DNA 或 RNA<sup>[12]</sup>。相较于抗体, 适配体具有易于化学合成、成本可控、稳定性好、便于修饰等独特优势, 已成为构建新型生物传感器的理想识别元件<sup>[13]</sup>。近期, 本课题组通过 Capture-SELEX 技术成功筛选出对 MQCA 具有高亲和力 ( $K_d = 25.63 \text{ nmol/L}$ ) 与良好特异性的截短适配体 Apt-S2<sup>[14]</sup>, 为建立新型检测方法奠定了基础。

RCA (滚环扩增) 是一种高效的等温核酸扩增技术<sup>[15]</sup>。利用环状 DNA 模板和具有链置换活性的 DNA 聚合酶, 以引物为起点, 沿环状模板进行持续复制, 可在短时间内产生数百至数千个重复单元组成的超长单链 DNA 产物<sup>[16]</sup>。该技术具有扩增效率高、操作简便、无需精密温控设备等优点, 常被用于构建高灵敏度生物传感器<sup>[17]</sup>。

基于此, 本研究将筛选获得的 MQCA 特异性适配体 Apt-S2 与 RCA 信号放大技术结合, 利用适配体与靶标 MQCA 结合后发生的构象变化, 调控 RCA 反应引物释放, 将靶标浓度信号转化为可被指数级放大荧光信号。本研究系统优化了 RCA 反应关键参数, 评估了所构建方法的检测性能。该方法不依赖大型仪器, 有望发展为一种适用于现场、低成本、快速检测 MQCA 残留的新技术。

## 1 实验部分

### 1.1 材料与仪器

MQCA、喹喔啉-2-羧基 (QCA)、喹乙醇标准品 (上海源叶生物科技有限公司); 羧基磁性微球 (课题组自制); 适配体、引物及生物素修饰的引物 (上海生工生物工程有限公司); 链霉亲和素 (北京索莱宝科技有限公司); Gelgreen、50bp DNA maker、DNA loading buffer (北京兰杰柯科技有限公司); Phi29 DNA 聚合酶、T4 DNA 连接酶、辣根过氧化物酶标记链霉亲和素 (上海碧云天生物技术有限公司)。

磁力架 (佛山市勒力磁电设备有限公司); 凝胶成像系统 (上海申生科技有限公司); 多功能酶标仪 (美国 Molecular Devices 有限公司); 旋转摇床 T415220 (上海拜普实业发展有限公司) 等。

实验所需具体序列见表 1。

表 1 RCA 用 DNA 序列

Table 1 DNA sequences used for rolling circle amplification

| Name       | Sequence (5' to 3')                     |
|------------|-----------------------------------------|
| 环状模板       | ATGCTTTTTTATATATCGTGTATATGTGTGTGTTGCAGT |
| 适配体 Apt-S2 | TAGCAGTATGCTT                           |
| 互补 cDNA    | AAAAGCATACTG                            |

### 1.2 RCA 检测条件优化

**1.2.1 T4 DNA 连接酶最佳添加量的确定** 为获得稳定、高效的锁式探针滚环扩增反应体系, 提升荧光检测灵敏度, 本实验采用单变量控制策略, 以荧光相对强度 (RFU) 为评价指标, 分别考察 T4 DNA 连接酶用量、探针环化时间、Phi29 DNA 聚合酶添加量及 dNTP 用量对扩增效果的影响。

**1.2.2 T4 DNA 连接酶用量优化** 在含  $10 \mu\text{L}$   $1 \mu\text{mol/L}$  锁式探针、 $10 \mu\text{L}$   $1 \mu\text{mol/L}$  扩增引物、 $10 \mu\text{L}$  T4 连接酶缓冲液的反应体系中, 分别加入 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5  $\mu\text{L}$  T4 DNA 连接酶。25  $^{\circ}\text{C}$  恒温孵育 1.5 h 完成探针环化, 65  $^{\circ}\text{C}$  热处理 10 min 灭活连接酶终止反应。

取 15  $\mu\text{L}$  环化产物为模板, 加入 2  $\mu\text{L}$  Phi29 DNA 聚合酶缓冲液、1  $\mu\text{L}$  10 mmol/L dNTP 混合液和 1

$\mu\text{L}$  10 U/ $\mu\text{L}$  Phi29 DNA 聚合酶，混匀后于 30 °C 等温扩增 1 h，65 °C 热处理 10 min 终止扩增。

取 10  $\mu\text{L}$  扩增产物，经 200  $\mu\text{L}$  超纯水稀释后加入 5  $\mu\text{L}$  荧光染料，室温避光孵育 30 min，测定各组体系 RFU 值。

**1.2.3 探针环化时间优化** 固定环化反应体系：10  $\mu\text{L}$  1  $\mu\text{mol/L}$  锁式探针、10  $\mu\text{L}$  1  $\mu\text{mol/L}$  引物、10  $\mu\text{L}$  T4 连接酶缓冲液、0.3  $\mu\text{L}$  T4 DNA 连接酶。25 °C 条件下分别孵育 15、30、45、60、75、90 min，反应结束后 65 °C 灭活 10 min。

取各组环化产物 15  $\mu\text{L}$ ，加入 2  $\mu\text{L}$  Phi29 DNA 聚合酶缓冲液、1  $\mu\text{L}$  10 mmol/L dNTP 及 1  $\mu\text{L}$  10 U/ $\mu\text{L}$  Phi29 DNA 聚合酶，30 °C 扩增 1 h，65 °C 灭活 10 min。扩增产物经稀释、荧光染色避光孵育后，测定体系 RFU 值。

**1.2.4 Phi29 DNA 聚合酶用量优化** 采用最优环化条件制备模板：锁式探针与引物经 T4 连接酶体系于 25 °C 孵育 1.5 h，65 °C 灭活 10 min。取 15  $\mu\text{L}$  环化产物，依次加入 2  $\mu\text{L}$  Phi29 缓冲液、1  $\mu\text{L}$  10 mmol/L dNTP，分别添加 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7  $\mu\text{L}$  Phi29 DNA 聚合酶。30 °C 等温扩增 1 h，65 °C 灭活 10 min 终止反应。

收集各组扩增产物，经超纯水稀释、荧光染料避光染色处理后，检测 RFU 荧光信号，确定 Phi29 DNA 聚合酶最佳用量。

**1.2.5 dNTP 用量优化** 在最优探针环化体系及反应条件下制备环化模板，取 15  $\mu\text{L}$  环化产物，加入 2  $\mu\text{L}$  Phi29 DNA 聚合酶缓冲液，分别添加 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7  $\mu\text{L}$  10 mmol/L dNTP 溶液，体系中加入 1  $\mu\text{L}$  10 U/ $\mu\text{L}$  Phi29 DNA 聚合酶混匀。30 °C 恒温扩增 1 h，65 °C 热处理 10 min 终止扩增反应。扩增产物经稀释、避光染色处理后，测定各组 RFU 值，优化 dNTP 的最佳添加量。

### 1.3 RCA 检测方法性能研究

采用 EDC/NHS 活化 25 ~ 80  $\mu\text{m}$  磁珠：悬浮液 150  $\mu\text{L}$  磁珠经 2-吗啉乙磺酸 (MES) 洗涤后，分别加入 500  $\mu\text{L}$  EDC、NHS 溶液室温孵育 30 min；MES 洗涤除去残余活化试剂，再加入链霉亲和素溶液 37 °C 孵育 30 min 实现共价固定，缓冲液洗涤后得到链霉亲和素修饰磁珠。

等摩尔适配体与互补 DNA 混匀，梯度退火形成双链复合物，依靠生物素-链霉亲和素作用固载于磁珠表面。加入梯度浓度 MQCA 室温振荡孵育 3 h，靶标竞争置换释放游离互补链，收集上清备用。

取 10  $\mu\text{L}$  上清参与环化反应，体系含引物、锁式探针、T4 连接酶与对应缓冲液，25 °C 孵育 90 min，65 °C 加热 10 min 灭活连接酶终止环化。

以 15  $\mu\text{L}$  环化产物为模板构建 RCA 体系，30 °C 等温扩增 1 h，65 °C 灭活聚合酶。扩增产物稀释后加入荧光染料避光孵育，通过荧光仪检测相对荧光强度实现 MQCA 定量。

### 1.4 加标回收实验

新鲜猪肝样品购自本地商超，实验前充分匀浆备用。准确称取 (1.00 $\pm$ 0.01) g 猪肝匀浆样品置于 10 mL 离心管中，加入 5 mL 乙腈-水混合提取液 (体积比 9: 1)，超声萃取 10 min 后，于 4 000 r/min 条件下离心 10 min。离心后体系分层清晰，上层为乙腈-水有机相、中层为蛋白凝胶层、下层为组织残渣，收集上层有机相溶液。将所得上清液经旋转蒸发浓缩至体积为 1 mL，再采用超纯水定容稀释至 5 mL，得到猪肝样品提取液，置于 4 °C 冰箱冷藏保存、备用。

为验证本方法对实际样品中 MQCA 的检测适用性与准确性，向上述猪肝提取液中分别添加不同浓度的 MQCA 标准溶液，采用本文建立的磁珠适配体-滚环扩增荧光检测方法对样品中 MQCA 含量进行测定。依据检测结果计算样品加标回收率，计算公式为：加标回收率 = (样品检测值 - 样品本底值) / 标准品添加量  $\times$  100%，以此评价本方法在复杂生物基质样品中的实际检测效能。

### 1.5 数据处理

为保证数据可靠性，所有实验均在相同条件下进行 3 次平行测定，结果以平均值  $\pm$  标准偏差 (mean  $\pm$  SD) 表示。数据处理采用 Excel 2024 和 SPSS 19.0 进行统计分析，并使用 Origin 2024 进行图表绘制。

## 2 结果与讨论

### 2.1 RCA 检测方法原理

本方法的检测机理如图1所示, 首先将生物素化的 MQCA 适配体与互补cDNA 链(同时作为 RCA 引物)杂交, 通过生物素-链霉亲和素系统将复合物固定于磁珠表面。在不存在靶标 MQCA 时, 适配体-引物复合物结构稳定, cDNA 引物受空间位阻效应限制, 无法游离启动扩增反应, 背景信号极低。当样品中存在 MQCA 时, 适配体因对其具有更高的亲和力而发生特异性识别, 引发构象改变并从磁珠表面解离, 从而释放出游离的 cDNA 引物进入溶液。在 T4 DNA 连接酶催化下, 游离 cDNA 引物与环状 RCA 模板共价连接形成闭合环状结构。在 dNTPs 存在条件下, Phi29 DNA 聚合酶以环状模板为起点进行等温扩增, 将单个环状模板延伸为包含数百至数千个重复单元的长单链 DNA 产物。加入荧光染料 SYBR Green I, 其与单链 DNA 特异性结合产生荧光信号。由于信号强度取决于触发 RCA 反应的引物数量, 体系输出的荧光强度与样品中 MQCA 浓度呈正相关, 从而实现对靶标的定量检测。

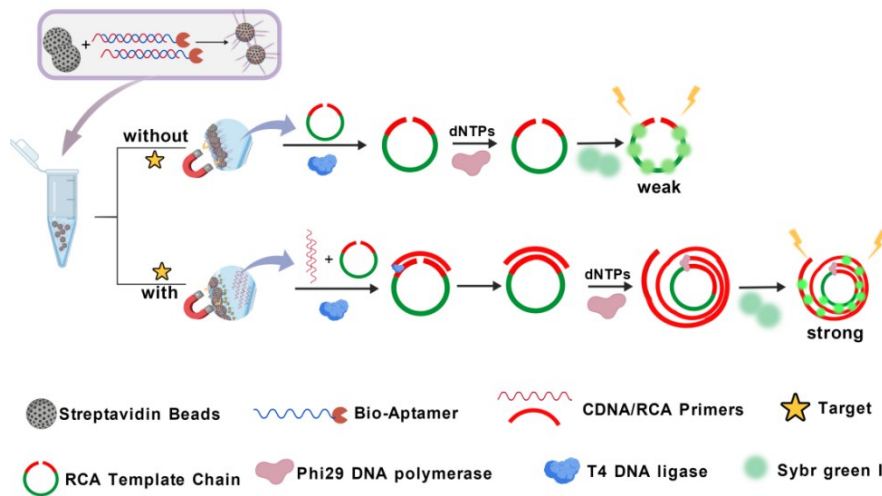


图1 RCA 检测方法原理图

Fig. 1 Schematic of the detection principle based on rolling circle amplification

### 2.2 基础 RCA 体系的构建

为保障 RCA 检测体系稳定可靠, 本研究采用琼脂糖凝胶电泳完成体系可行性验证。互补链长度直接影响其与锁式探针的杂交及环化效率, 因此对比了 8、10 bp 两种互补链: 热力学结果显示 8 bp 互补链杂交稳定性差, 难以完成探针环化; 10 bp 互补链可与锁式探针稳定配对, 顺利介导 T4 DNA 连接酶成环(图2A), 故选择 10 bp 互补链作为 RCA 引物。该序列既能在 MQCA 与适配体特异性结合后释放引物, 又可与环状模板高效配对, 兼顾置换效率与扩增性能。体系特异性电泳结果(图2B)表明: 仅同时存在环状模板与互补引物时, 才出现高分子量 RCA 扩增条带; 仅有模板或仅有引物的对照组无扩增产物, 无引物二聚体、模板自连等非特异性反应, 充分验证了本 RCA 体系设计可为后续靶标检测与参数优化提供支撑。

### 2.3 引物浓度对 RCA 反应效率的影响

本研究结合琼脂糖凝胶电泳与荧光定量检测, 验证“靶标竞争释放 cDNA 并启动 RCA 扩增”的剂量响应可行性(图3)。电泳结果(图3A)表明, cDNA 浓度 15~62 nmol/L 时引物不足, RCA 扩增微弱; 浓度升至 125~500 nmol/L 后高分子量扩增条带显著增强, 证明 cDNA 是启动 RCA 的关键限速因子。荧光定量结果(图3B)显示: 15.625~125 nmol/L 区间荧光信号平缓, 对应低靶标产生低背景; 125~500 nmol/L 区间荧光随 cDNA 浓度快速上升, 可区分不同 MQCA 竞争释放的 cDNA 水平。“低浓度 cDNA 无扩增(低背景)”与“中高浓度 cDNA 强响应(高灵敏度)”的检测窗口, 既有效抑制了非特异性背景干扰, 又为后续建立宽范围定量标准曲线提供了关键的理论依据。

### 2.4 T4 DNA 连接酶量优化结果

T4 DNA 连接酶介导锁式探针环化, 酶添加量显著影响环化效率与体系背景。本研究设置 0.1~0.5

$\mu\text{L}$ 的酶用量梯度,探究其对RCA扩增性能的作用(图4)。结果表明,酶用量0.3  $\mu\text{L}$ 时扩增条带最亮、荧光信号达到最大值;进一步提高酶量后扩增信号轻微衰减。分析认为,0.3  $\mu\text{L}$ 即可实现探针充分环化,过量连接酶易与核酸发生非特异性结合,抑制Phi29聚合酶链延伸。综合扩增性能与实验成本,选择0.3  $\mu\text{L}$ 作为T4 DNA连接酶最优用量。

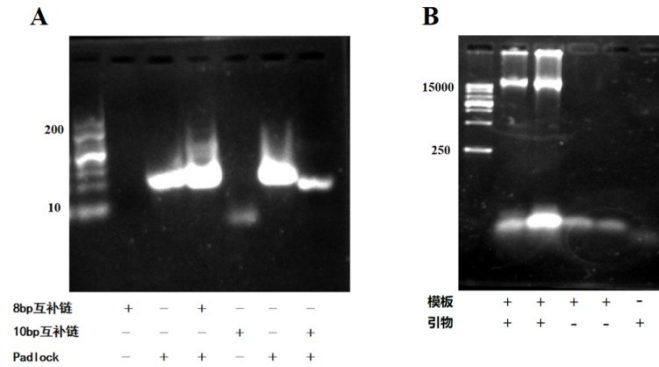


图2 8bp和10bp互补链与模板链的互补结果(A);基础体系验证电泳结果(B)

Fig. 2 Complementarity verification between 8bp/ 10bp complementary strands and the padlock probe/ template strand (A); electrophoresis for validating the basic RCA system (B)

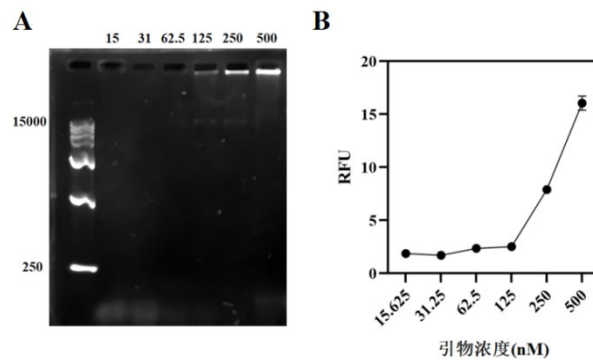


图3 不同引物浓度RCA反应的电泳结果图(A);不同引物浓度RCA反应荧光结果图(B)

Fig. 3 Electrophoresis results (A) and fluorescence results (B) of RCA reactions with different primer concentrations

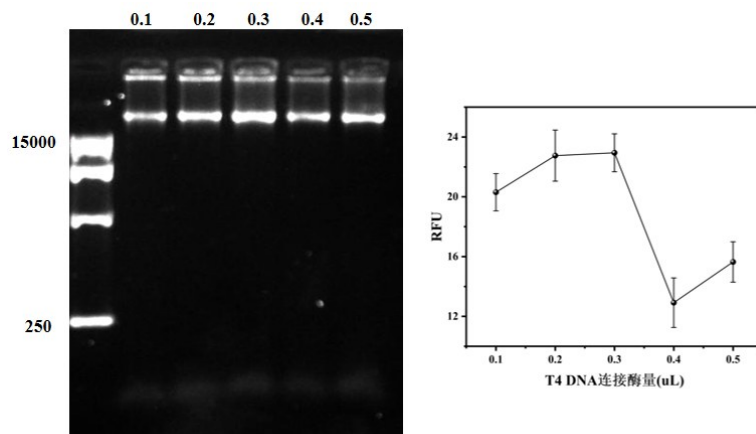


图4 T4 DNA连接酶添加量优化

Fig. 4 Optimization of T4 DNA ligase volume

## 2.5 环化时间优化结果

环化孵育时长直接影响锁式探针成环效率与RCA扩增信号。本研究设置15~90 min梯度孵育时间,考察其对扩增产物的影响(图5)。荧光结果显示15 min时信号峰值最高,推测此时连接酶催化活性

强,短时间内即可生成足量环状模板;随着孵育时间延长,荧光信号逐步降低,可能是长时间恒温造成环状模板降解或后续Phi29聚合酶活性受损。综合电泳图谱分析,15 min时荧光最优但易受温度不均、批次差异干扰;30 min时扩增条带明亮且稳定性更好。为兼顾检测灵敏度与体系重复性,最终选取30 min为最优环化时间,以保障复杂基质样品检测时环化效率稳定。

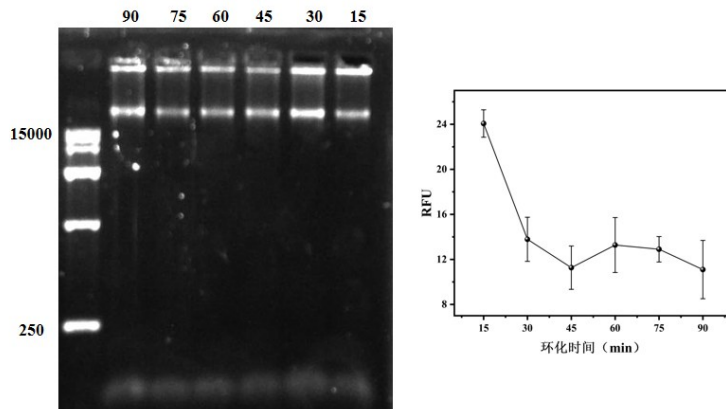


图5 环化时间优化

Fig. 5 Optimization of the circularization time

## 2.6 Phi29 DNA聚合酶量优化结果

Phi29 DNA聚合酶具有强链置换活性与高保真特性,是RCA反应的核心催化酶,其用量直接影响扩增产物产量与片段长度。其用量优化结果显示,酶用量0.5  $\mu\text{L}$ 时扩增条带亮度最高、弥散区间宽,荧光信号达到平台;低于0.5  $\mu\text{L}$ 会造成扩增不完全,条带微弱;超过0.5  $\mu\text{L}$ 信号无明显提升,过量酶还易诱发非特异性扩增、抬高背景。综合扩增效率与实验成本,选取0.5  $\mu\text{L}$ 作为Phi29 DNA聚合酶最优用量。

## 2.7 dNTP添加量优化结果

dNTP是Phi29聚合酶的DNA合成底物,用量直接影响RCA扩增产物产量与片段长度。本研究设置0.2~1.2  $\mu\text{L}$  dNTP梯度进行考察。电泳与荧光结果表明,该区间内无底物抑制效应,扩增产物条带亮度、荧光信号均随dNTP用量升高持续提升,底物浓度为扩增反应的限速因素。综合检测灵敏度与实验成本,选用1.2  $\mu\text{L}$ 为最优dNTP添加量。

## 2.8 RCA检测MQCA的标准曲线的建立

为评估该方法对目标物MQCA的检测性能,采用0.1、1、10、100、1000  $\mu\text{mol/L}$  MQCA标准品验证本方法的定量检测性能并建立标准曲线。电泳结果显示,高浓度MQCA可诱导产生大量RCA高分子量扩增条带;随靶标浓度降低,扩增条带逐步减弱,低浓度组别几乎无可见条带,体系响应呈明显浓度依赖特征。基于荧光信号(Y)与MQCA浓度对数(X)拟合得到标准曲线方程 $Y = 0.1414X + 7992$ ,相关系数( $r^2 = 0.9745$ ),检出限(LOD)为100 nmol/L。综上,该RCA体系可在0.1~1000  $\mu\text{mol/L}$ 范围内对MQCA实现定量检测,但针对痕量样本的检测灵敏度仍有待提升。

## 2.9 RCA特异性验证

以MQCA为目标分析物,选取QCA、MQCA、替米考星(TIL)、喹乙醇(OLA)以及水(空白对照)对所构建的RCA传感体系进行特异性考察。结果如图6所示,仅在MQCA存在时,琼脂糖凝胶电泳出现明亮的高分子量扩增条带,同时荧光信号显著升高;而其他干扰物与空白对照组均未产生明显扩增条带,荧光信号维持在低水平。表明该传感体系对MQCA具有高度的识别特异性,可有效区分目标物与结构类似物及共存干扰物质,为复杂基质中MQCA的选择性检测提供了可靠保障。

## 2.10 加标回收实验

采用本方法与商品化MQCA ELISA试剂盒同步检测加标猪肝样品,对比二者的实际检测性能(表2)。在18.8、94.1、941  $\mu\text{g/kg}$ 三个加标水平下,本方法回收率为92.4%~98.7%,ELISA试剂盒回收率为95.7%~111%;低浓度组ELISA存在明显正偏差,本方法回收率更贴近理论加标量。两种方法的相对

标准偏差 (RSD) 均低于 15%，重复性满足检测要求；低浓度下本方法精密度略优于 ELISA，中浓度下 ELISA 重复性更佳，高浓度二者无明显差异。总体而言，本方法无需抗体、操作简便且成本更低，检测准确度与精密度和 ELISA 试剂盒相近，具备实际样品检测应用价值。

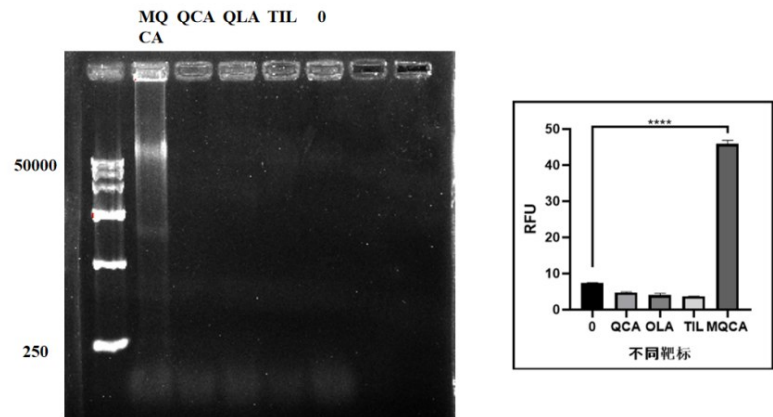


图 6 RAC体系特异性验证结果  
Fig. 6 Results of the specificity validation for the RAC system

表 2 猪肝样本中 MQCA 的回收实验  
Table 2 Recovery test for MQCA in porcine liver samples

| Added ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )  | This method |         | ELISA |         |
|----------------------------------------------|-------------|---------|-------|---------|
|                                              | R (%)       | RSD (%) | R (%) | RSD (%) |
| 0.1 (18.8 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) | 92.4        | 10.87   | 111.2 | 12.03   |
| 0.5 (94.1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) | 94.5        | 6.88    | 98.9  | 3.17    |
| 5 (941 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )    | 98.7        | 1.53    | 95.65 | 2.38    |

3 结 论

本研究成功构建了一种适配体识别与 RCA 信号放大技术相结合的 MQCA 检测方法。在最优实验条件下，该方法在 0.1  $\mu\text{mol/L}$ ~1 mmol/L 浓度范围内，荧光信号强度与 MQCA 浓度的对数值呈现良好的线性关系 ( $r^2 = 0.9745$ )，检出限达 100 nmol/L。本方法无需昂贵的精密仪器与复杂的样品前处理，仅需恒温孵育即可完成检测，显著降低了检测成本与操作门槛。与传统的免疫分析法相比，该体系采用化学合成的核酸适配体替代抗体，不仅规避了抗体制备周期长、批次差异大及稳定性差等问题，还结合了 RCA 技术强大的原位信号放大能力，展现出优异的特异性识别性能。尽管该方法在 MQCA 残留筛查中显示出巨大潜力，但目前 100 nmol/L 的灵敏度尚无法满足复杂生物基质中超痕量残留的检测法规要求。未来的研究将致力于通过引入二级信号放大策略进一步提升检测灵敏度，并重点开展实际样品的加标回收与基质效应消除研究，以推动该适配体-RCA 传感器从实验室验证走向实际的现场快速检测应用。

参考文献：

[1] Zhang H Y, Qu W, Ding C Y, Han J C, Xie S Y, Liu Z L, Huang L L, Pan Y H, Yuan Z H. *Front. Vet. Sci.*, **2021**, 8: 638358.

[2] Zhang Q, Yang X Y, Gao Q. *Fujian Anal. Test.* (张强, 杨秀英, 高琴. 福建分析测试), **2025**, 34 (5): 50-55.

[3] Meng H. *Preparation of Magnetic Molecularly Imprinted Polymers and Their Application in Analytical Detection of Olaquin-dox*. Baoding: Hebei Agricultural University (孟贺. 喹乙醇磁性分子印迹聚合物制备及其在分析检测中的应用 保定: 河北农业大学), **2022**.

[4] Zou S, Jiang Y, Feng J. *J. Food Saf Qual.* (邹淼, 蒋莹, 冯静. 食品安全质量检测学报), **2020**, 11 (19): 6942-6946.

[5] He Y, Yan H, Cui F Y. *J. Food Saf Qual.* (何悦, 严华, 崔凤云. 食品安全质量检测学报), **2020**, 11 (15): 4989-4994.

[6] Zhang J H, Shen G X, Liu R. *J. Food Saf Qual.* (张嘉慧, 沈祥广, 刘戎. 食品安全质量检测学报), **2021**, 12 (9): 3764-3770.

[7] Liu M Y, Zhang J R, Lin C H. *J. Food Saf Qual.* (柳义茂, 张瑾如, 林长虹. 食品安全质量检测学报), **2024**,

- 15 (23): 18–25.
- [8] Lin B B, Wei Q M, Liu F. *Popular Sci. Technol.* (林勃勃, 韦庆敏, 刘发. 大众科技), **2022**, 24 (12): 34–38.
- [9] Fei D, Xu J, Guang Y L. *Chin. J. Anal. Lab.* (费丹, 徐俊, 广业兰. 分析实验室), **2025**, 44 (3): 418–423.
- [10] Liu Y, Sun S J, Zhao L J, Zhang L. *J. Instrum. Anal.*  
刘雅, 孙书晶, 赵丽娟, 张雷. 分析测试学报
- [11] Wen Z H, Hu X L, Yan S F, Wang W X, He M, Song Y, Wang S, Wang X H, Tang Y W. *Food Chem.*, **2023**, 406: 135081.
- [12] Yin Q H, Lv J H, Chen J Q, Chen L, Zhang S L, Li W, Li Y P, Zhu Y Q. *Chin. J. Anal. Chem.* (殷勤红, 吕建华, 陈俊秋., 陈蕾, 张硕玲, 李唯, 李云鹏, 朱艳琴. 分析化学), **2025**, 53 (12): 1988–2000.
- [13] Wang Y, Nie M. *Biosensors*, **2025**: 15: 641.
- [14] Mao X Y, Sun H Q, Li L, Zhang H Y, Shi M, Xie C H, Li K. *Microchem. J.*, **2026**, 221: 116854.
- [15] Liu J, Xie G, Lv S. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2023**, 160: 116953.
- [16] Qi X, Wang L X, Xu W Y. *China Port Sci. Technol.* (齐欣, 王龙祥, 徐文英. 中国口岸科学技术), **2026**, 8 (1): 30–35.
- [17] Yang H H, Qiu Z Y, Huang S S, Peng J, Huang T, Zhou Q X, Guo W Y, Chen J X, Li M M, Dai Z, Xu W, Chen J. *Anal. Chem.*, **2026**, 98 (10): 7541–7550.

(责任编辑: 盛文彦)