

基于纳米材料的比色侧向层析试纸条信号放大策略

宋娜娜, 王晓琨*

青岛科技大学生物工程学院, 山东 青岛

收稿日期: 2026年6月27日; 录用日期: 2026年7月20日; 发布日期: 2026年7月24日

摘要

比色侧向层析测定(Colorimetric Lateral Flow Assay, CLFA)因具有操作简便、检测快速、成本低廉及无需复杂仪器等优势,已广泛应用于疾病诊断、食品安全和环境监测等现场即时检测领域。然而,传统基于胶体金纳米颗粒(AuNPs)的CLFA受限于信号强度不足,难以满足痕量分析物和早期生物标志物检测的需求。近年来,基于纳米材料的信号放大策略为提升CLFA灵敏度提供了重要途径。其中,一方面可通过优化AuNPs的尺寸、聚集状态及载体负载方式增强局域表面等离子体共振效应;另一方面,可利用具有类酶催化活性的纳米酶催化显色底物,实现高效信号放大。本文系统综述了近年来纳米材料增强CLFA的主要研究进展,重点介绍了AuNPs尺寸调控、聚集增强及载体负载策略,并进一步总结了贵金属纳米酶、金属有机框架(MOF)基纳米酶、金属氧化物纳米酶及其他复合纳米酶在催化放大中的应用特点与机制。同时,对不同类型纳米酶的性能差异、适用场景及发展潜力进行了综合比较。最后,对高灵敏度、低成本、多功能一体化CLFA的发展趋势及其临床转化前景进行了展望。

关键词

比色侧向层析测定, 金纳米颗粒, 纳米酶, 信号放大, 即时检测

Signal Amplification Strategies for Colorimetric Lateral Flow Assay Based on Nanomaterials

Nana Song, Xiaokun Wang*

College of Biological Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao Shandong

Received: June 27, 2026; accepted: July 20, 2026; published: July 24, 2026

*通讯作者。

文章引用: 宋娜娜, 王晓琨. 基于纳米材料的比色侧向层析试纸条信号放大策略[J]. 材料化学前沿, 2026, 14(3): 311-330. DOI: 10.12677/amc.2026.143031

Abstract

Colorimetric lateral flow assay (CLFA) has been widely applied in point-of-care testing owing to its simplicity, rapid response, low cost, and instrument-free operation. However, conventional colloidal gold nanoparticle (AuNP)-based CLFA suffers from insufficient signal intensity, which limits its applicability in trace-level analyte detection and early disease diagnosis. In recent years, nanomaterial-based signal amplification strategies have provided effective approaches to improve the sensitivity of CLFA. On one hand, the localized surface plasmon resonance effect can be enhanced through optimization of AuNP size, aggregation state, and carrier loading strategies. On the other hand, nanozymes with enzyme-like catalytic activities can catalyze chromogenic substrates to achieve significant signal amplification. This review systematically summarizes recent advances in nanomaterial-enhanced CLFA, with emphasis on AuNP size regulation, aggregation amplification, and carrier-assisted strategies. Furthermore, the catalytic mechanisms and application characteristics of noble metal nanozymes, metal-organic framework (MOF)-based nanozymes, metal oxide nanozymes, and other composite nanozymes are comprehensively discussed. Comparative analyses of different nanozyme systems in terms of catalytic performance, cost, stability, and application scenarios are also presented. Finally, the future perspectives of highly sensitive, low-cost, and multifunctionally integrated CLFA platforms for clinical and on-site applications are discussed.

Keywords

Colorimetric Lateral Flow Assay, Gold Nanoparticles, Nanozymes, Signal Amplification, Point-of-Care Testing

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

侧向层析测定(Lateral Flow Assay, LFA)是一类基于毛细作用驱动液体在多孔膜材料中迁移,并依赖特异性生物识别实现目标分析物快速检测的纸基分析技术。由于其具有操作简单、检测快速、成本低廉以及无需专业仪器等优势[1][2],LFA已广泛应用于疾病诊断、食品安全、环境监测及生物医学分析等领域。尤其在现场即时检测(Point-of-Care Testing, POCT)中,LFA凭借“一步法”操作和肉眼可读结果,成为最具应用潜力的检测平台之一[3][4]。

典型 LFA 试纸条通常由样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜(NC 膜)以及吸水垫等部分组成[5]。待测样品在毛细力作用下沿试纸条迁移,与结合垫中的纳米标记探针结合形成复合物,随后在检测线(T 线)区域被固定识别分子捕获并产生可视化信号。其中,比色侧向层析测定(Colorimetric LFA, CLFA)因无需复杂仪器即可实现结果判读,在资源受限地区和基层医疗检测中具有独特优势[6][7]。

目前,胶体金纳米颗粒(AuNPs)因其良好的生物相容性、稳定性及局域表面等离子体共振(Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR)特性,仍是 CLFA 中应用最广泛的比色信号标记材料。然而,传统 AuNPs-CLFA 通常依赖大量纳米颗粒在 T 线区域聚集形成肉眼可见信号,其检测灵敏度一般仅达到 ng/mL 至 $\mu\text{g/mL}$ 水平,难以满足早期疾病标志物、低丰度病毒抗原及痕量污染物的检测需求[8]。因此,如何在保持 CLFA 操作简便和低成本优势的基础上进一步提升检测灵敏度,已成为当前研究的重要方向。

近年来, 基于纳米材料的信号放大策略为突破 CLFA 灵敏度瓶颈提供了新的思路。一方面, 研究者通过调控 AuNPs 的尺寸、形貌、聚集状态以及载体负载方式, 提高其光学信号输出能力; 另一方面, 具有类天然酶催化活性的纳米酶(Nanozymes)被广泛引入 CLFA 体系, 通过催化显色底物生成更强的颜色信号, 实现显著的检测放大效果。与天然酶相比, 纳米酶具有稳定性高、成本低、易于制备及催化性能可调等优势[9]-[11], 因此在高灵敏 CLFA 中展现出广阔应用前景。

基于此, 本文围绕纳米材料增强 CLFA 的研究进展展开综述, 重点介绍 AuNPs 优化策略及不同类型纳米酶的催化信号放大机制与应用特点, 并对各类纳米酶体系的性能差异及适用场景进行综合分析, 最后展望高灵敏、多功能及智能化 CLFA 的发展趋势, 以期为新型 POCT 平台的设计与临床转化提供参考。

2. 基于金纳米颗粒的灵敏度增强技术

随着研究的深入, 研究者发现单纯依赖 AuNPs 尺寸优化所带来的信号提升有限, 因此逐渐转向通过调控颗粒间耦合效应实现更强的局域表面等离子体共振增强, 进而发展出模板法可控聚集等更高效的信号放大策略。

金纳米颗粒(Gold nanoparticles, AuNPs)是 LFA 中最经典的信号标记材料。AuNPs 化学惰性高、形貌规则、对生物分子具有高亲和力且易于功能化; 表面带负电荷, 可通过静电吸附与带正电荷的生物分子高效耦连。此外, AuNPs 由于具有局域表面等离子体共振效应而产生强烈的红色比色信号, 便于肉眼观察。然而, 传统 AuNPs-LFA 灵敏度有限(通常检测限在 ng/mL 至 $\mu\text{g/mL}$ 级别), 难以满足痕量检测需求[8][12]。为此, 研究者从 AuNPs 的尺寸、聚集状态及负载方式三个维度发展了多种增强策略。

2.1. AuNPs 尺寸优化

AuNPs 的尺寸直接影响其摩尔消光系数、颜色亮度及与抗体的偶联效率。理论上, 大尺寸 AuNPs 具有更高的摩尔消光系数, 可在 T 线产生更强的颜色信号; 但尺寸过大会带来空间位阻效应和层析流动受阻等问题[13]。因此, 存在一个最优尺寸范围。如图 1(A)所示, Kim 等[14]系统合成了 34~137.8 nm 的系列 AuNPs, 用于检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg), 通过优化抗体偶联条件发现, 42.7 ± 0.8 nm 的 AuNPs 在信噪比和检测限之间取得最佳平衡, 肉眼检测限达 0.1 ng/mL, 而小于 34 nm 的 AuNPs 颜色过淡, 大于 100 nm 的 AuNPs 则因空间位阻导致灵敏度下降。Song 等[15]在基于表面增强拉曼散射(SERS)的 LFA 中比较了 30~100 nm AuNPs 作为 SERS 标签的效果, 发现 50 nm AuNPs 产生的 SERS 信号最强, 使心肌肌钙蛋白 I(cTnI)的检测限低至 0.02 ng/mL, 比传统比色 LFA 低 78 倍(图 1(B))。

2.2. AuNPs 聚集调控

当多个 AuNPs 在 T 线处聚集时, 其局域表面等离子体共振峰发生红移且吸收强度显著增强(因耦合效应), 聚集体的颜色从红色变为蓝紫色, 与白色 NC 膜背景的反差更大, 从而提升肉眼识别度。根据聚集方式的不同, 可分为双 AuNPs 结合物策略和预聚集策略。Shen 等[16]开发了基于链霉亲和素-生物素系统的双 AuNPs 结合物 LFA, 将生物素化的抗体偶联到小 AuNPs (20 nm)上, 链霉亲和素偶联到大 AuNPs (40 nm)上。当 HBsAg 存在时, 小 AuNPs-抗体与抗原结合后被 T 线捕获, 随后加入的大 AuNPs-链霉亲和素通过生物素-链霉亲和素结合形成聚集体, 使检测限灵敏度提高约 30 倍(图 2(A))。

Choi 等[17]设计了集成式双 AuNPs 结合物 LFA, 将两种不同尺寸的 AuNPs 分别包被抗体和抗抗体, 并预置在结合垫上(图 2(B))。样品加样后, 10 nm AuNPs 首先与 cTnI 结合并被 T 线捕获; 随后 40 nm AuNPs 通过抗体与 10 nm AuNPs 上的抗体结合形成聚集, 整个过程无需额外操作, 使心肌肌钙蛋白 I 的检测灵敏度提高 100 倍。Ma 等人[18]构建了双靶标 LFA, 用于同时检测肝癌易感基因 CYP1A1 的单核苷

酸多态性位点和甲胎蛋白(AFP), 通过生物素-链霉亲和素介导的第二金纳米颗粒在 T 线上形成“双金堆积”, 在 20~250 ng/mL 范围内实现了 AFP 的良好线性检测(图 2(C))。此外, 利用寡核苷酸链杂交引导 AuNPs 聚集也可实现信号放大[19]。双 AuNPs 结合物策略显著提升灵敏度, 但存在聚集体大小不均一、批次间重复性差的挑战, 需要优化抗体比例和反应条件; 预聚集策略可获得尺寸更均匀的标签, 但制备步骤相对复杂。

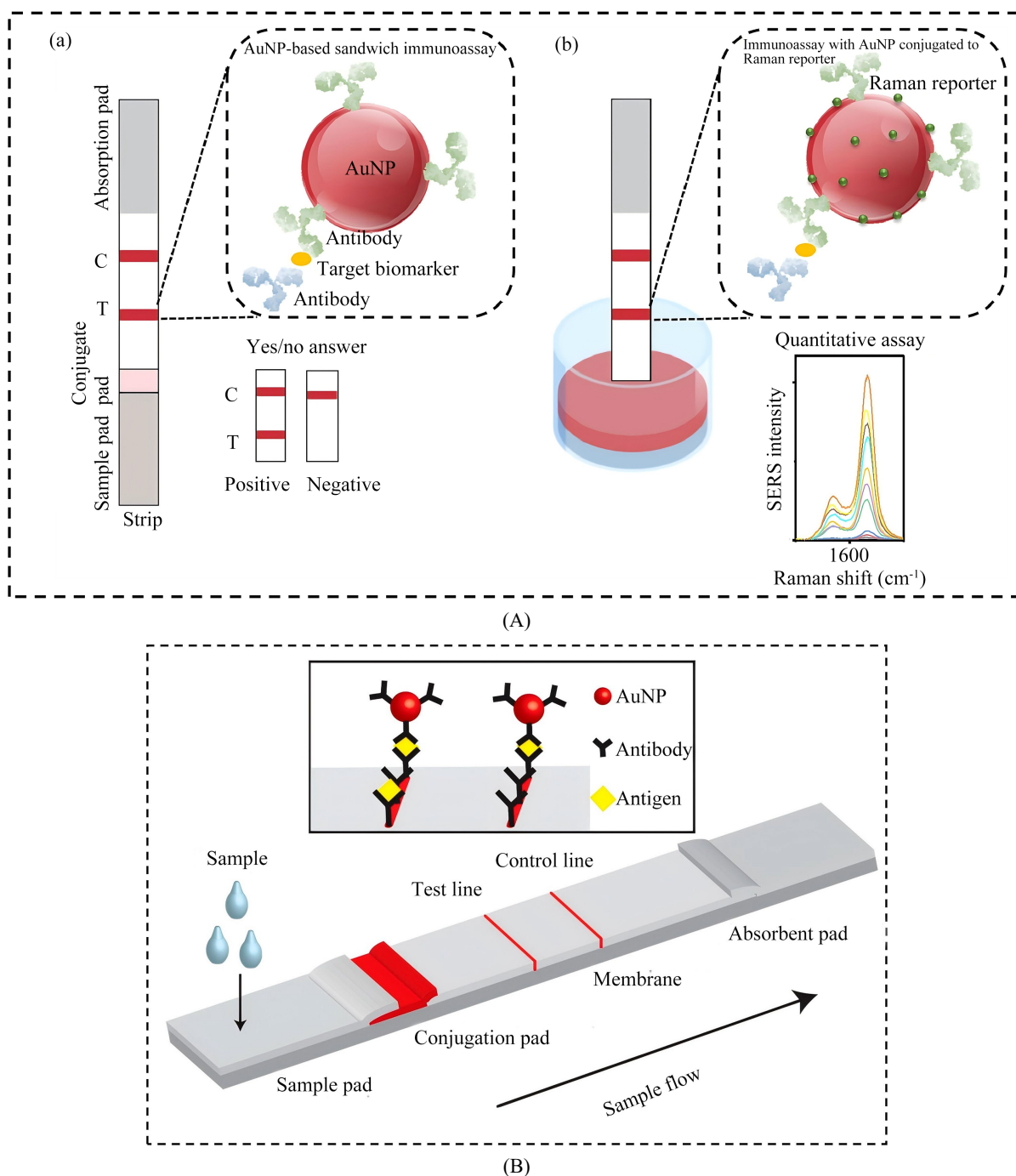
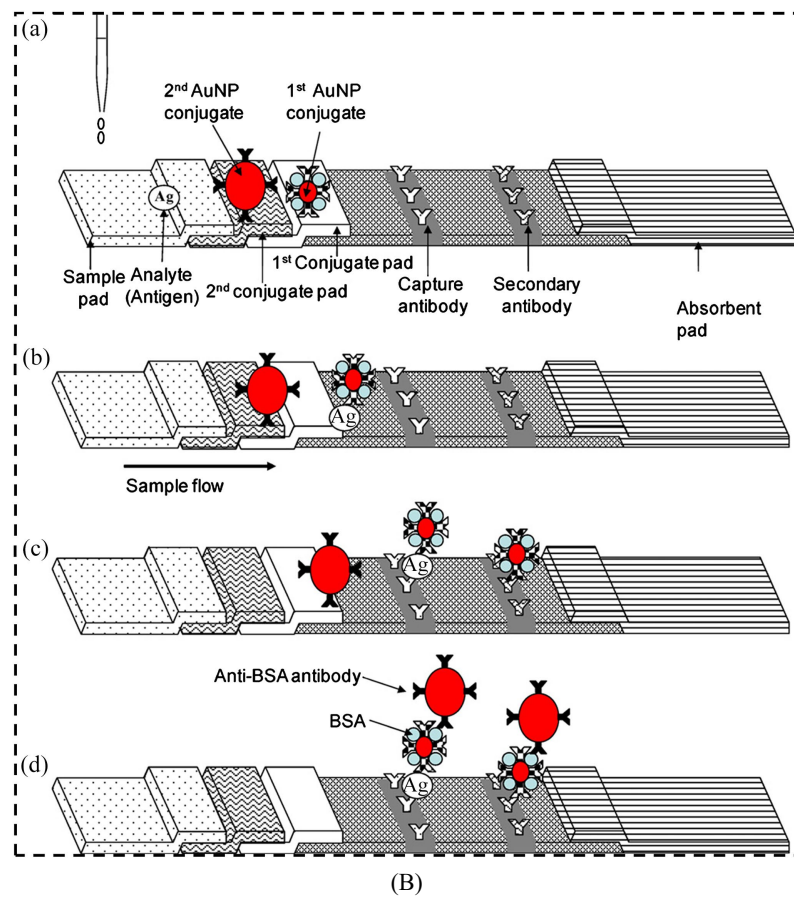
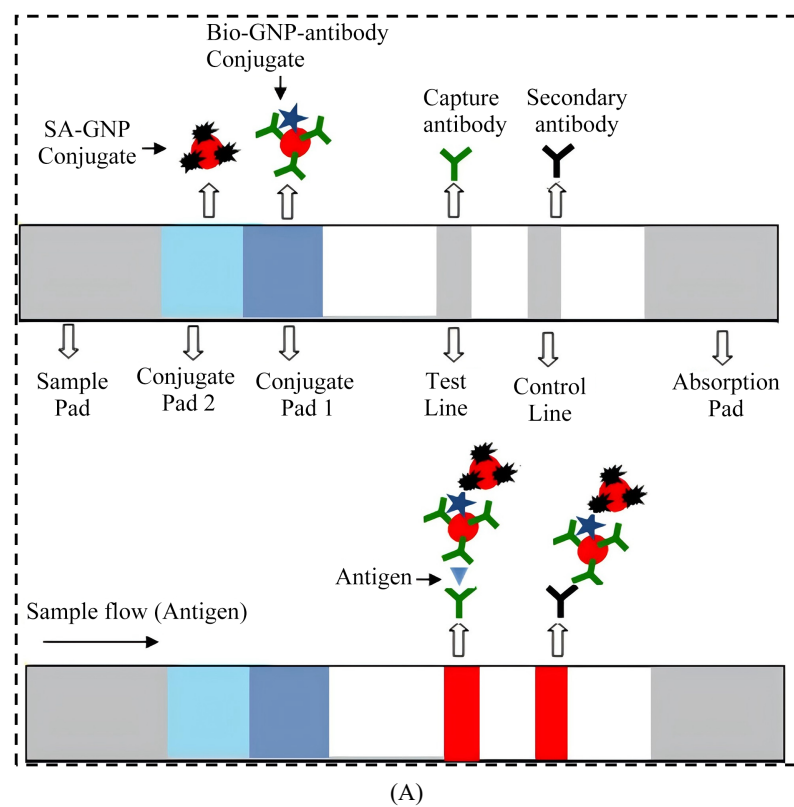


Figure 1. Signal amplification technology based on AuNPs size optimization [14] [15]

图 1. 基于 AuNPs 尺寸优化的信号放大技术[14] [15]



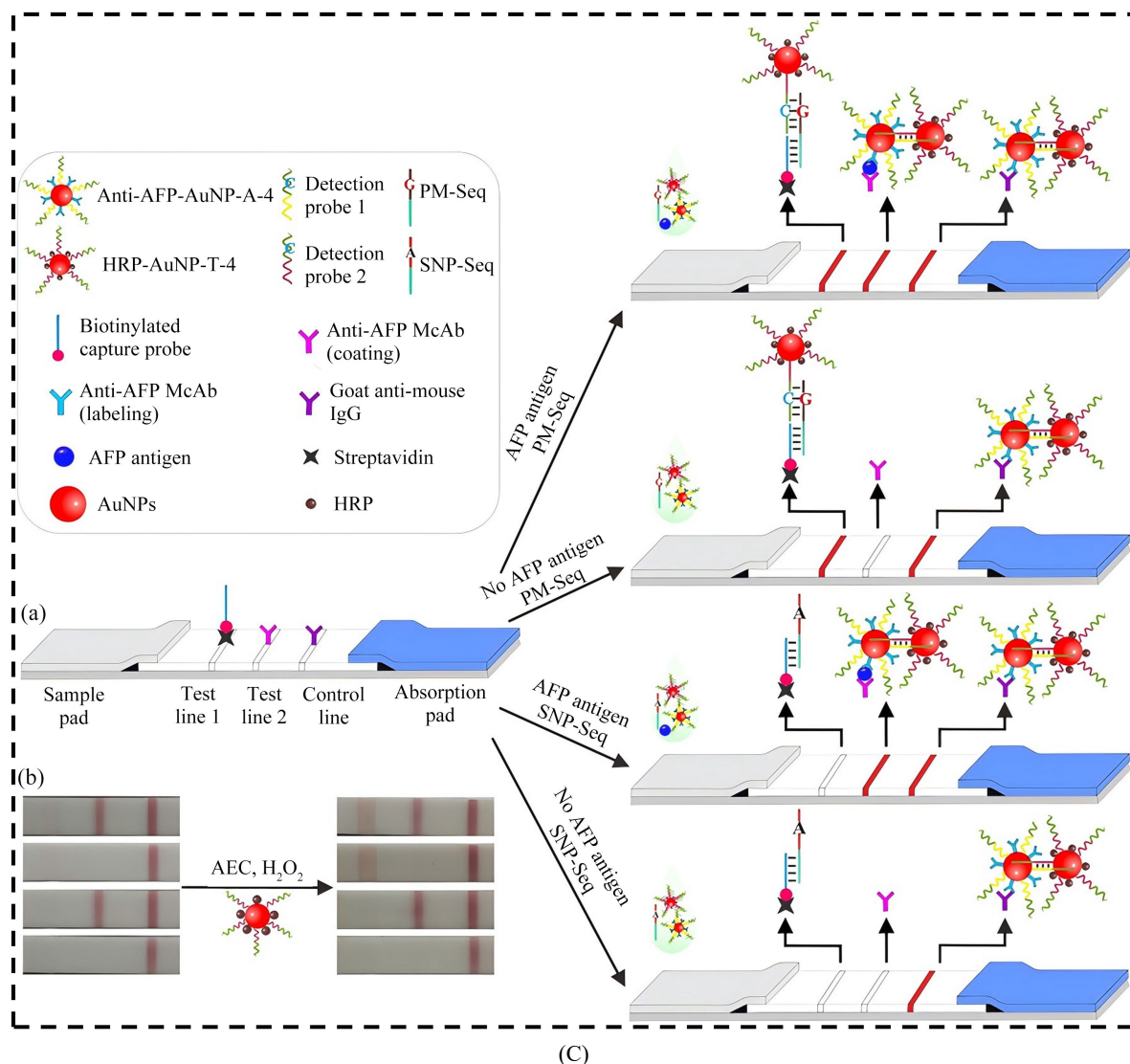


Figure 2. Signal amplification technology based on AuNPs aggregation regulation [16]-[18]

图 2. 基于 AuNPs 聚集调控的信号放大技术[16]-[18]

2.3. AuNPs 负载于载体

将多个 AuNPs 负载到微米或纳米级载体上,可在单个识别事件中引入大量信号单元,实现“一个载体等于成百上千个 AuNPs”的信号放大。与随机聚集不同,载体负载可获得形貌和尺寸均一的复合标签,便于标准化生产。Xu 等[20]通过种子介导法在二氧化硅纳米棒(SiNR, 直径 200 nm、长 3.4 μm)表面原位生长了约 10^4 个 16.7 nm 的 AuNPs,形成 AuNPs-decorated SiNR 复合物。用于夹心法检测兔 IgG 时,肉眼检测限为 0.01 ng/mL,比传统 AuNPs-LFA 低 50 倍。Liu 等[21]利用聚酰胺-胺型(PAMAM)树枝状大分子将金纳米颗粒聚集成金纳米团簇,增强显色效果,用于测定红酒中的赭曲霉毒素(OTA)时检测限可达 0.04 ng/mL (图 3)。树枝状大分子的优势在于其纳米级尺寸基本不影响层析流动,缺点是负载量有限。此外,将 AuNPs 负载于聚合物微球、磁性颗粒或细菌表面也被证明有效[22] [23]。载体负载策略尤其适合于复杂样品的前处理和预富集,但需要优化载体尺寸(通常 100~300 nm)以避免层析堵塞,同时可通过聚乙二醇或 BSA 修饰载体表面减少非特异性吸附。

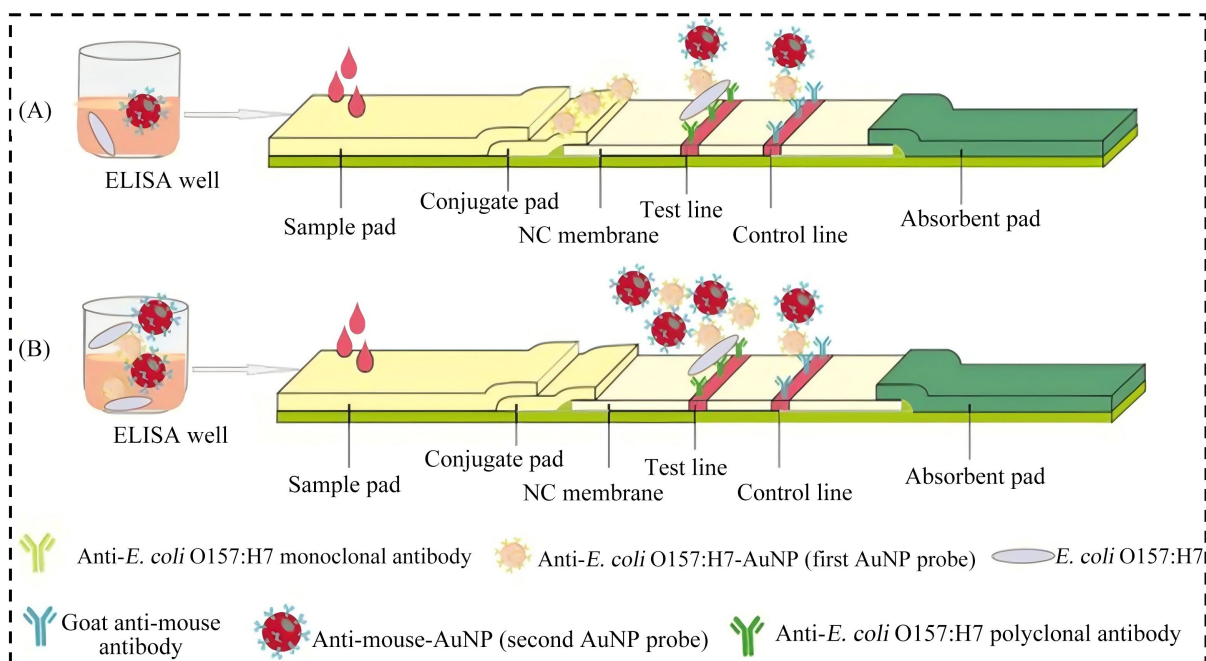


Figure 3. Signal amplification technology based on PAMAM-AuNPs-aptamer [21]

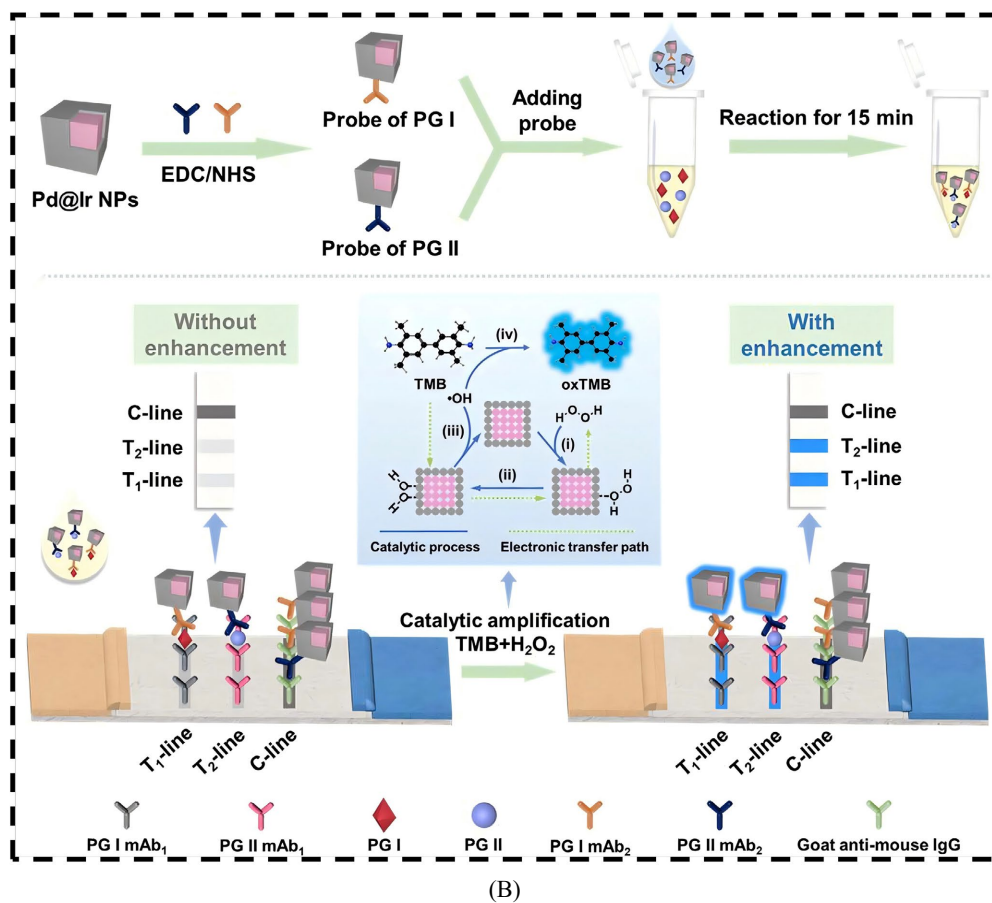
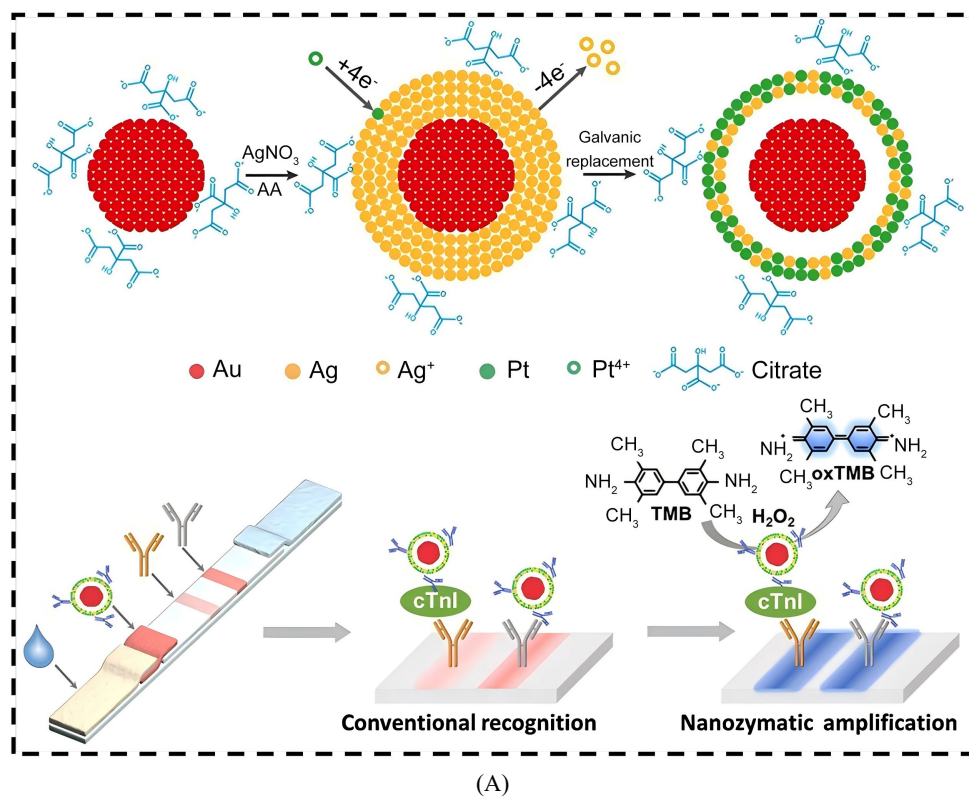
图 3. 基于 PAMAM-AuNPs-适配体的信号放大技术[21]

3. 基于纳米酶的信号放大策略

传统的比色 LFA 可以方便地通过肉眼读取,但其比色信号亮度不足,导致灵敏度和准确性有限,尤其在低浓度生物标志物分析中受到制约。为了克服这一局限性,利用纳米酶作为 LFA 中的标签成为替代传统胶体金标签的重要方向。纳米酶是一类具有类天然酶催化活性的纳米材料。与天然酶(如辣根过氧化物酶,HRP)相比,纳米酶具有成本低、稳定性高(耐热、耐酸碱、耐蛋白酶)、易于制备和功能化等优点[24]。在 CLFA 中,纳米酶不仅可通过自身颜色提供基础信号,更可通过催化显色底物(如 TMB、AEC、DAB)生成不溶性有色产物,使 T 线颜色显著加深,从而大幅提高灵敏度[25]。按照材料组成,纳米酶可分为贵金属纳米酶、金属有机框架基纳米酶、金属氧化物纳米酶以及其他复合纳米酶。

3.1. 贵金属纳米酶

贵金属纳米酶(Pt、Pd、Ir、Rh 及其合金)具有极高的类过氧化物酶活性[26]。单金属纳米酶虽具有一定的催化活性,但信号放大效果有限[27][28]。近年来,双金属及三金属纳米复合材料因其多功能和独特的协同效应而受到广泛关注,在 LFA 领域得到了广泛的应用[29][30]。Bai 等[31]开发了 Au@Ag-Pt 三金属纳米酶,用于 cTnI 检测,检测限低至 20 pg/mL(图 4(A))。Sun 等[32]制备了 Au@Pd@Pt 核壳纳米酶用于 SARS-CoV-2 核衣壳蛋白检测,催化 TMB 显色后检测限为 0.037 ng/mL,比未增强 LFIA 低 17 倍。Meng 等[33]设计了 Pd@Ir 核壳纳米酶,其催化常数比 HRP 高 2~3 个数量级,用于胃癌生物标志物胃蛋白酶原 I/II 检测,检测限达 10 pg/mL,灵敏度提高 200 倍(图 4(B))。Wang 等[34]构建的“四合一”蒲公英状 Au@Pt 纳米颗粒同时具有荧光猝灭、比色、催化和光热特性,实现了多模式输出检测吡虫啉(图 4(C))。Wei 等人[35]开发了一种以 Au-Ir NPs 作为探针标记的 CLFA,用于检测癌胚抗原(CEA)和前列腺特异性抗原(PSA)两种癌症生物标志物。Au-Ir 纳米颗粒通过传统 AuNP 表面包裹 Ir 形成核壳结构,具有超高的类过氧化物酶样催化活性。基于 Au-Ir NPs 的 CLFA 对两种癌症生物标志物的检测限达到了 pg/mL 水平,分别比基于 AuNPs 和 Au-Pt NPs 的 CLFA 低约 200 倍和 3 倍(图 4(D))。



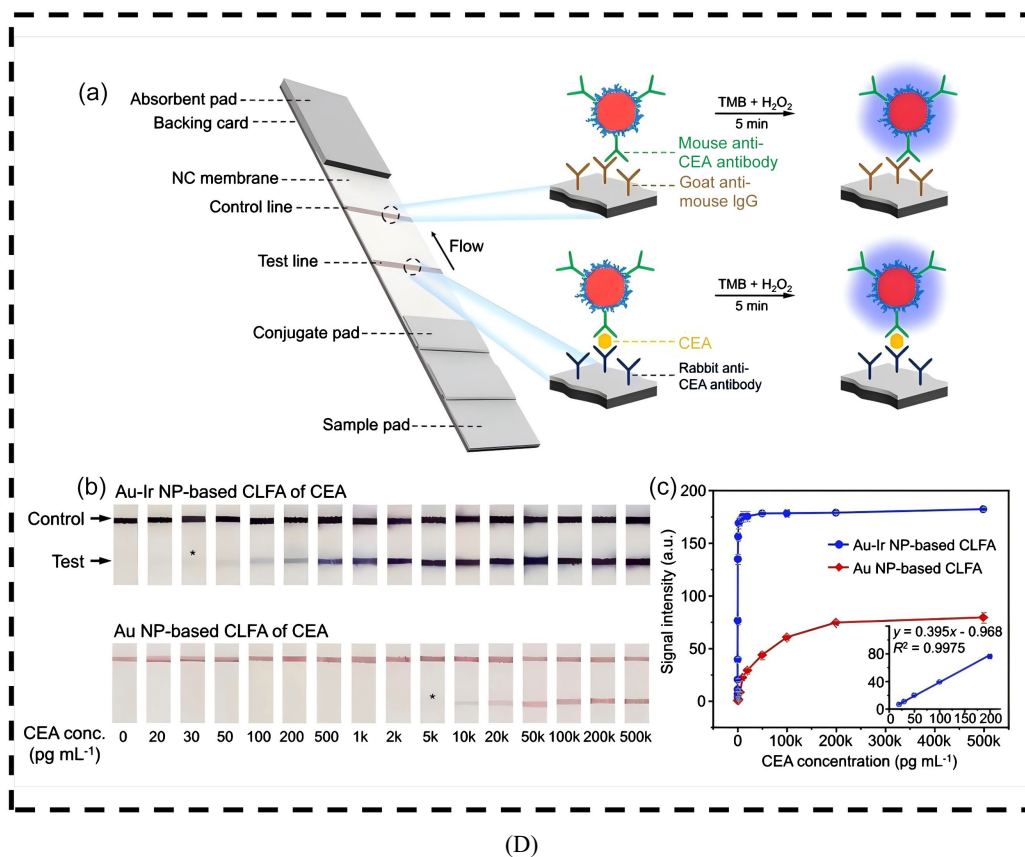
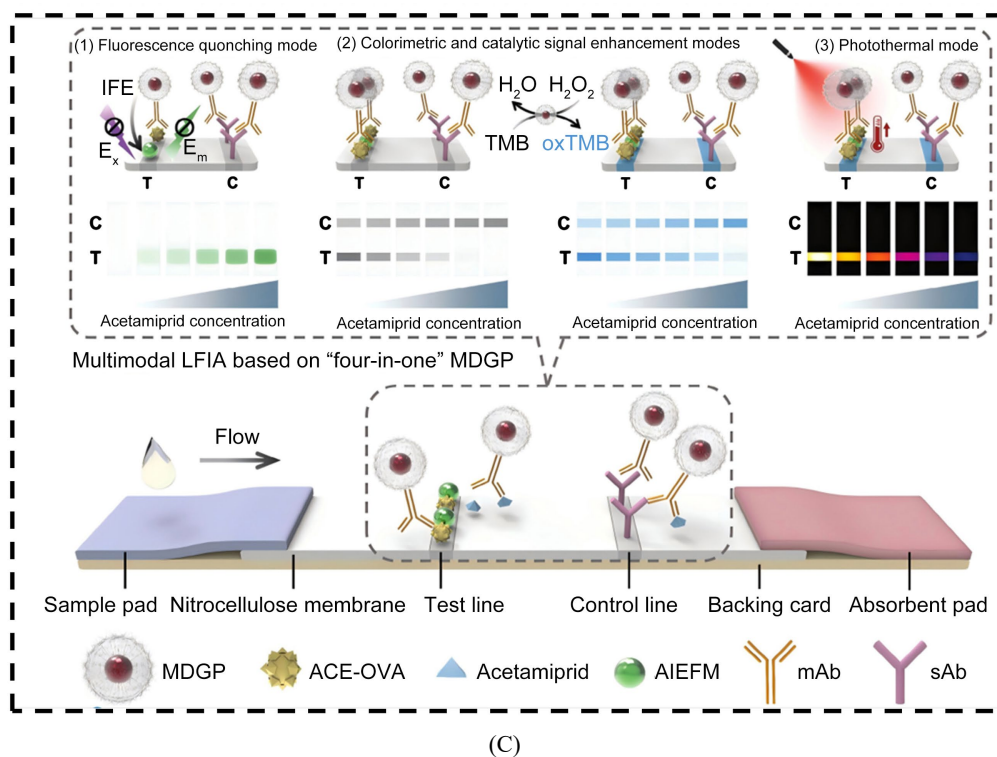
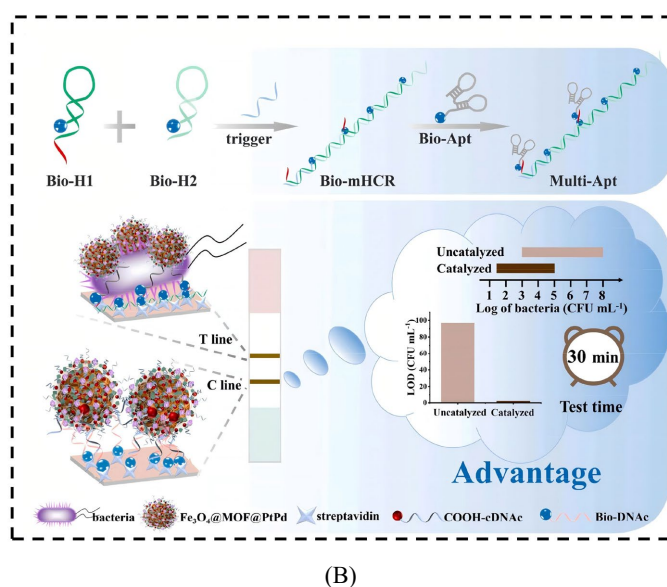
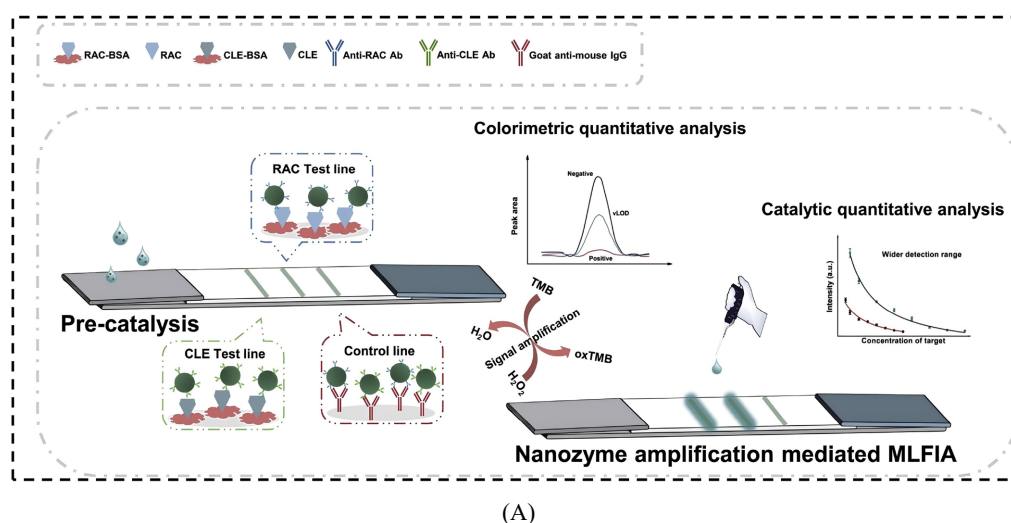


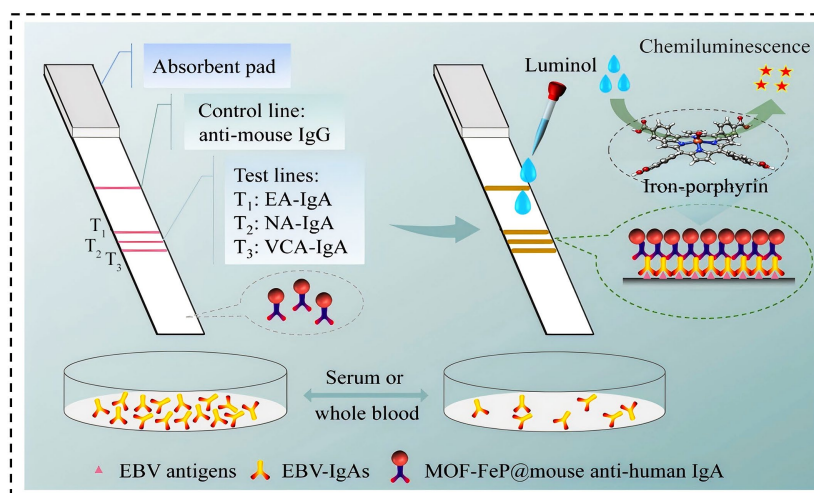
Figure 4. Signal amplification technology based on noble metal nanozymes [31] [33]-[35]

图 4. 基于贵金属纳米酶的信号放大技术[31] [33]-[35]

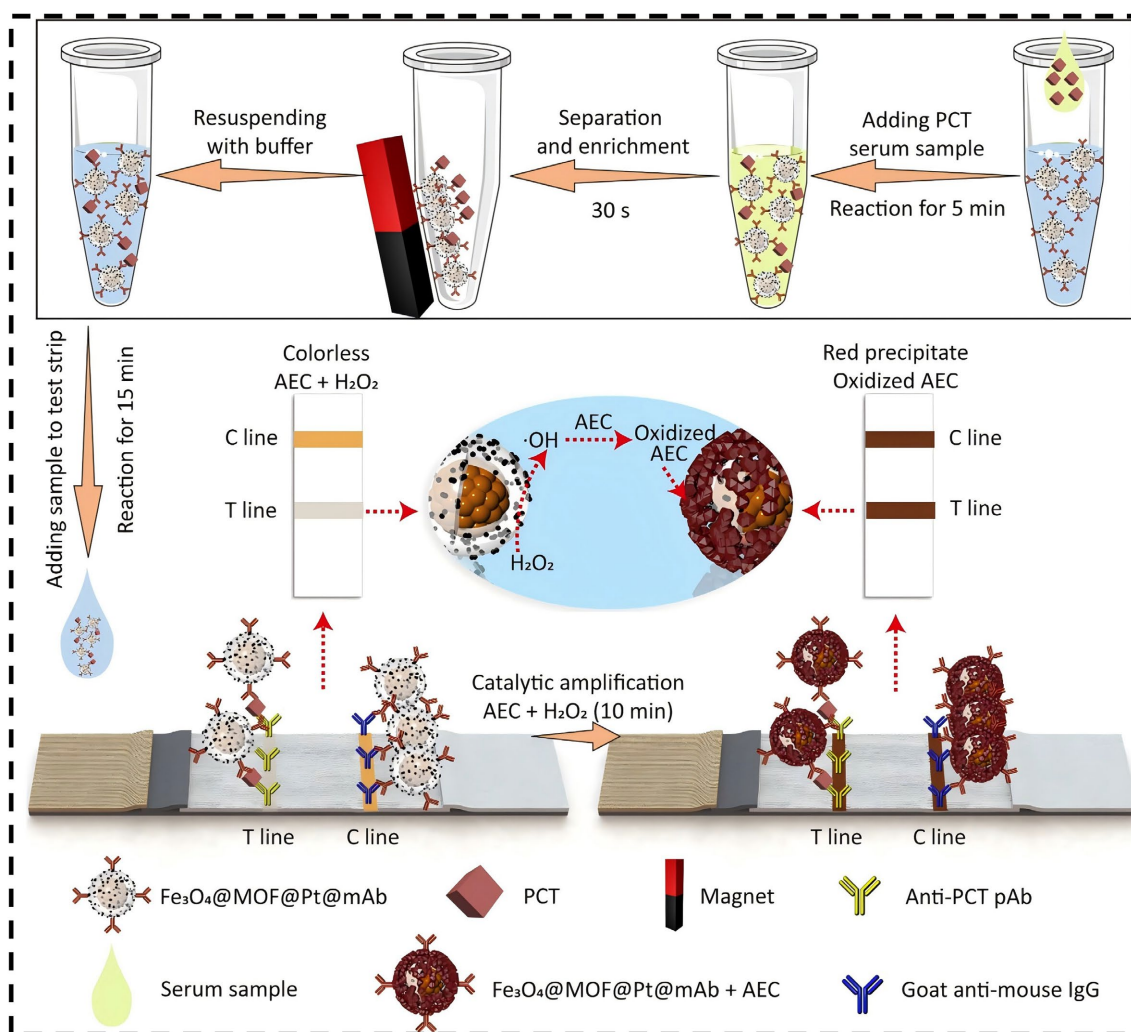
3.2. 金属有机框架(MOF)基纳米酶

金属有机框架(MOF)是一种孔径/通道可调、比表面积大、稳定性强的多孔聚合物,是负载纳米酶的理想载体[11]。Liu 等[36]建立了磁性普鲁士蓝纳米酶(MPBN)介导的双读数多重侧流免疫分析,用于同时检测莱克多巴胺和克仑特罗。MPBN 本身呈橄榄石色,可半定量判读;加入 TMB-H₂O₂ 后催化生成蓝色 oxTMB,实现定量分析(图 5(A))。Wang 等[37]合成了富含铁卟啉的 MOF 单原子纳米酶(MOF-FeP),用于快速筛查 EB 病毒(EBV)相关疾病。MOF-FeP 纳米酶具有优异的类过氧化物酶活性,酶动力学表明 MOF-FeP 比报道的 HRP 和 Fe-SANzyme 表现出更大的催化活性,可有效催化鲁米诺底物的化学发光。基于 MOF-FeP 的 LFA 能够同时检测三种 EBV-IgAs,灵敏度优于传统的酶联免疫吸附测定(ELISA)方法(图 5(B))。Li 等[38]构建了 Fe₃O₄@MOF@PtPd 多功能纳米酶,兼具磁性富集、多适配体识别和催化放大功能,对金黄色葡萄球菌的检测限低至 2 CFU/mL(图 5(C))。Chen 等[39]开发的 Fe₃O₄@MOF@Pt 三合一纳米杂化物,通过磁分离和过氧化物酶催化沉积,检测降钙素原的检测限低至 0.5 pg/mL,比传统 AuNP-LFIA 降低了约 2280 倍(图 5(D))。MOF 基纳米酶的优势在于其高比表面积可负载更多活性位点,同时 MOF 壳层可保护内部纳米颗粒并增强协同催化。





(C)



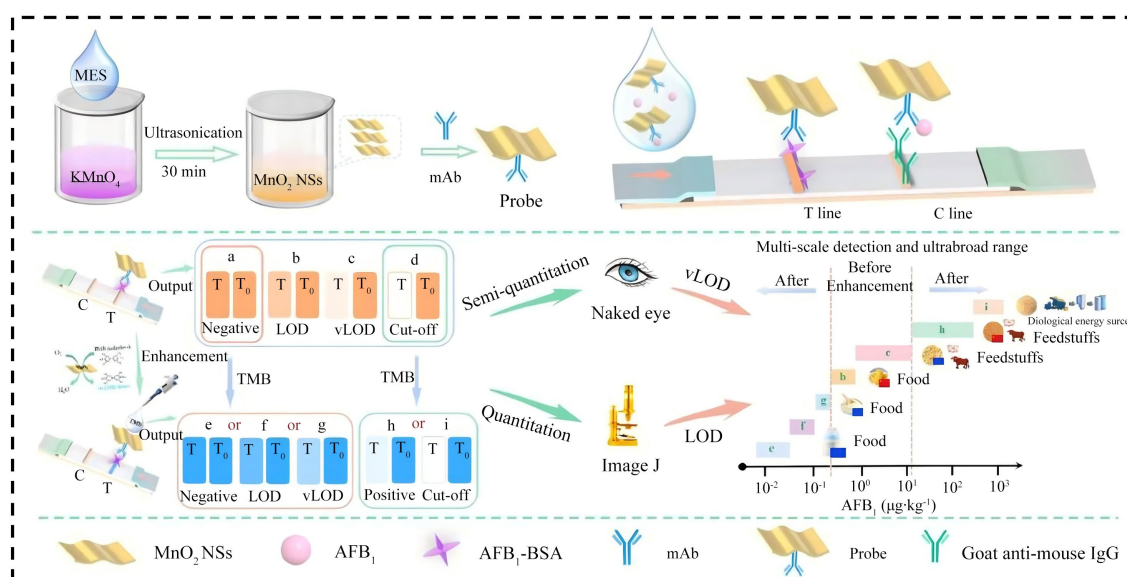
(D)

Figure 5. Signal amplification technology based on metal-organic framework nanozymes [36]-[39]**图 5.** 基于金属有机框架纳米酶的信号放大技术[36]-[39]

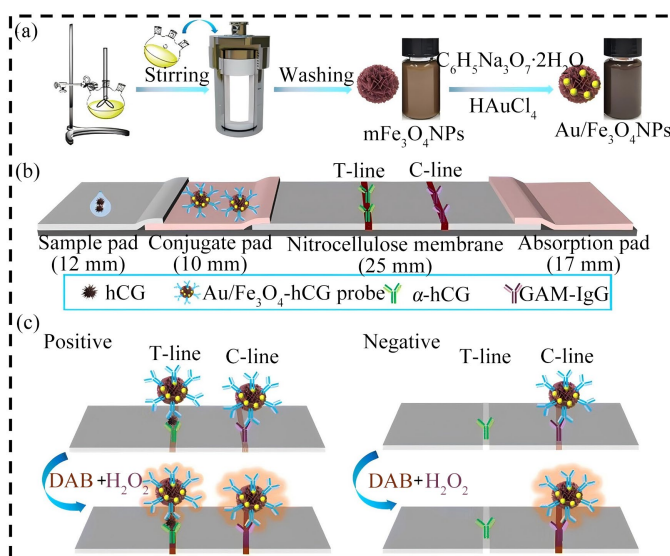
3.3. 金属氧化物纳米酶

除了贵金属纳米酶外, 近年来, 金属氧化物纳米酶因其具有成本低、制备步骤简单、独特的磁性、优性、介电性能等优点也受到高度关注[40]。根据其作用机制, 可大致分为两类: 一类是基于二氧化锰(MnO_2)的氧化酶/过氧化物酶模拟物, 另一类是基于铁氧化物的磁性纳米酶。

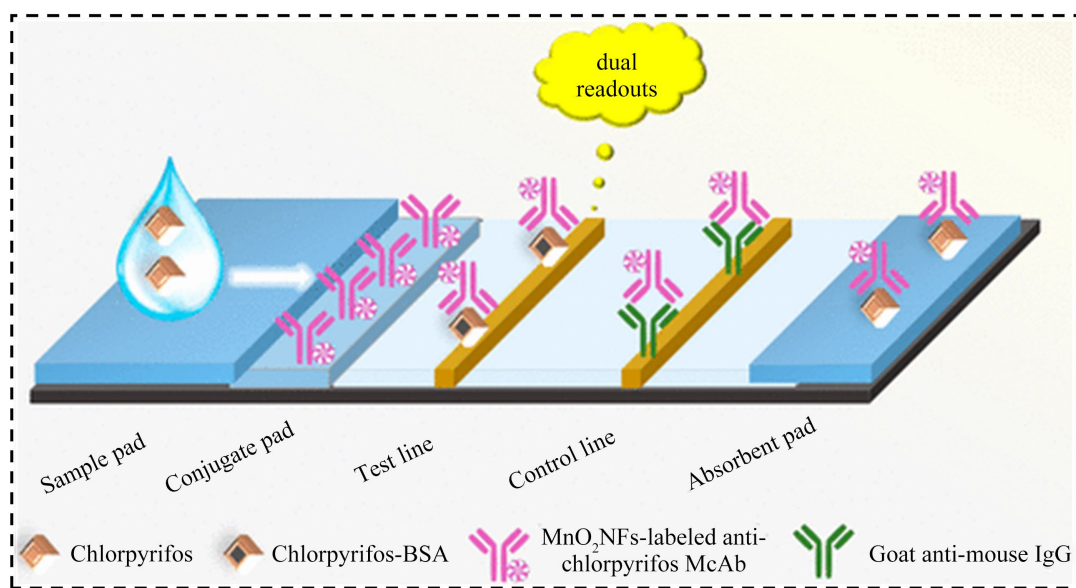
基于 MnO_2 的纳米酶主要利用其类氧化酶活性, 无需外加 H_2O_2 即可催化显色底物, 操作更为简便[41]。Cai 等[42]基于 MnO_2 纳米片的类氧化酶活性构建了黄曲霉毒素 B1 的竞争型免疫层析检测平台。 MnO_2 纳米片本身呈棕色, 可直接作为竞争信号标签; 在催化 TMB 显色后, 检测限低至 15 pg/mL , 检测范围达 $0.01 \sim 150 \text{ ng/mL}$ (图 6(A))。进一步地, Ouyang 等[43]将 MnO_2 纳米花用作化学发光增强剂, 通过 TMB- H_2O_2 化学发光体系检测毒死蜱, 检测限为 0.033 ng/mL (图 6(B))。以上研究表明, MnO_2 基纳米酶在无需额外氧化剂的条件下即可实现灵敏检测, 特别适合于资源有限场景。



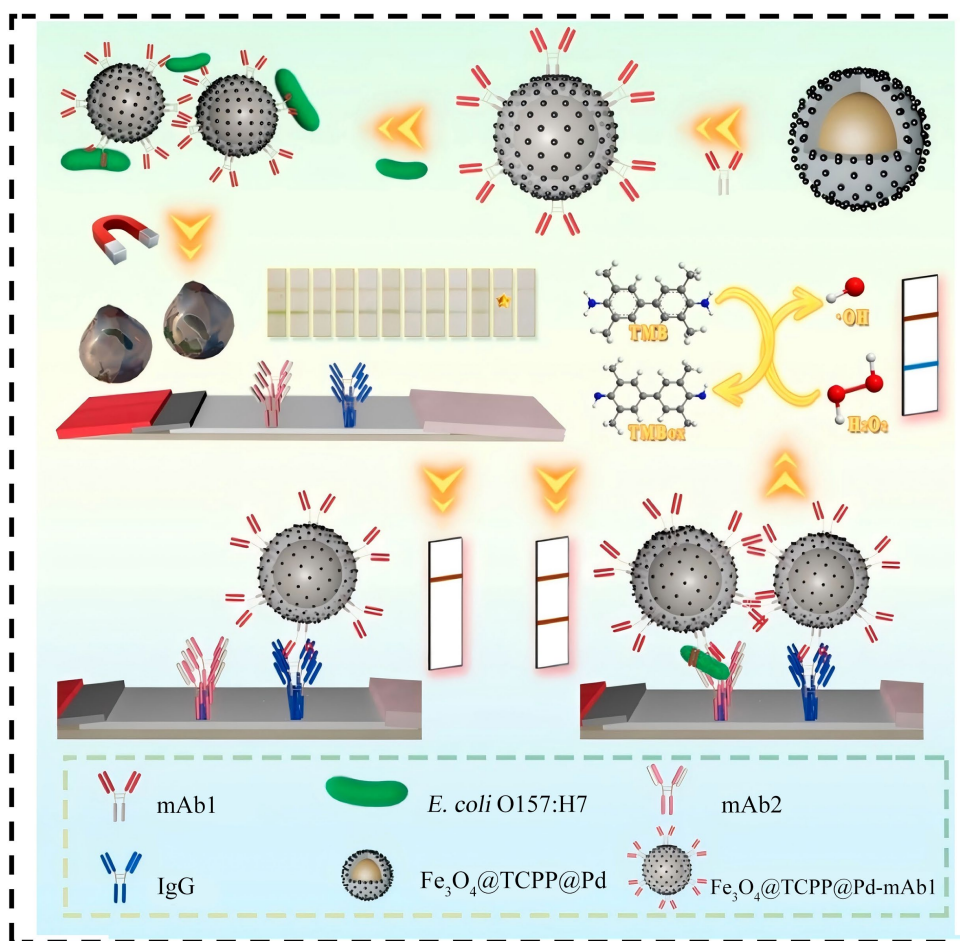
(A)



(B)



(C)



(D)

Figure 6. Signal amplification technology based on metal oxide nanozymes [42] [43] [47] [48]**图 6.** 基于金属氧化物纳米酶的信号放大技术[42] [43] [47] [48]

基于铁氧化物的纳米酶则兼具类过氧化物酶活性和超顺磁性, 可在信号放大的同时实现样品前处理和靶标富集[44][45]。Hong 等[46]将钴掺杂的 $\text{Fe}_3\text{O}_4(\text{CoFe}_2\text{O}_4)$ 纳米酶用于人体血红蛋白检测, 利用其深色本底和催化活性, 裸眼检测限低至 1 ng/mL , 比商业胶体金试纸(100 ng/mL)低 100 倍。Wang 等[47]开发了 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TCPP}@\text{Pd}$ 纳米复合材料, 通过卟啉(TCPP)层增强复合物的颜色亮度, 并负载高密度 Pd 纳米颗粒, 其催化效率比 HRP 高 11 倍。将该材料用于大肠杆菌 O157:H7 的 LFA 检测, 裸眼灵敏度达 77 CFU/mL (图 6(C))。Yang [48]等以 $\text{Au/Fe}_3\text{O}_4$ 纳米颗粒为标记, 利用金壳的红色本底和 Fe_3O_4 的类过氧化物酶活性, 检测人绒毛膜促性腺激素(hCG), 检测限为 0.05 mIU/mL , 比传统胶体金试纸低 500 倍(图 6(D))。此外, Yan 等[49]利用 $\beta\text{-FeOOH}$ 纳米棒作为纳米酶, 检测 hCG 的灵敏度较传统方法提高了 2 倍。

3.4. 其他复合纳米酶

除贵金属、MOF 和金属氧化物纳米酶外, 近年来过渡金属硫化物、聚多巴胺基复合材料以及自组装纳米催化剂等新型复合纳米酶也展现出优异的催化性能和信号放大能力。这些材料通过多组分协同作用, 不仅提高了类酶活性, 还赋予 LFA 平台更多的信号输出模式(如比色、催化、光热等)。

为进一步梳理近年来新型纳米酶的发展脉络, 本节按照材料体系将其划分为过渡金属硫化物基纳米酶、聚多巴胺基复合纳米酶以及自组装纳米催化体系三类。不同体系分别对应二维催化材料、多功能聚合物复合体系以及新型催化信号输出机制的发展方向。

过渡金属硫化物是一类具有类过氧化物酶活性的二维材料, 其高比表面积和丰富的表面活性位点使其能够高效吸附抗体, 无需复杂的交联剂修饰[50]。二硫化钒纳米片(VS_2NS)作为常见的过渡金属二硫化物材料, 与 HRP 相比, 表现出出色的过氧化物酶样活性强大的表面吸附能力。如图 7 所示, Chen [50]等利用 VS_2 纳米片建立双信号 LFIA 检测 17β -雌二醇。 VS_2 纳米片本身呈深色, 可作为比色标签; 同时其优异的类过氧化物酶活性可催化 TMB- H_2O_2 反应产生增强信号。该方法检测限为 0.065 ng/mL , 比传统胶体金法低 6 倍。过渡金属硫化物的优势在于制备简单、抗体偶联方便, 但其稳定性有待进一步提高。相较于前述贵金属和 MOF 基纳米酶, 过渡金属硫化物更强调二维结构带来的高比表面积与简易表面修饰能力, 因此在低成本、高负载检测体系中具有优势。

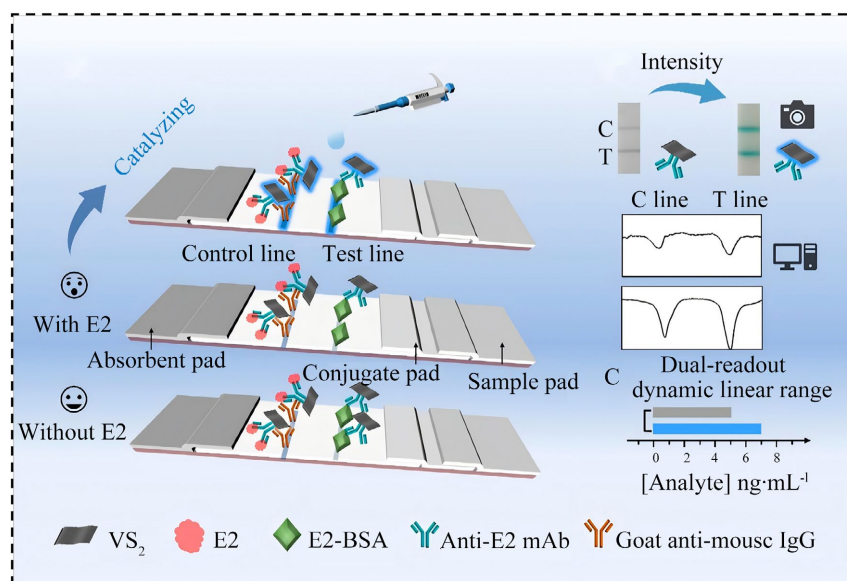


Figure 7. LFA based on VS_2 nanosheets [50]

图 7. 基于 VS_2 纳米片的 LFA [50]

聚多巴胺(PDA)基复合材料是另一类重要的复合纳米酶。PDA 具有良好的粘附性、生物相容性和丰富的官能团(例如醌、胺和亚胺),可在多种基底表面自聚合形成薄膜[41]。更重要的是, PDA 的黑色本底可提供视觉信号,而其表面的活性基团可原位还原或锚定金属离子,形成具有协同催化活性的 PDA-金属复合纳米酶。Zhu 等[51]设计了 CuCo@PDA 纳米酶,其中 PDA 作为载体和稳定剂,负载 Cu 和 Co 双金属。该复合物通过竞争型适配体 LFA 检测黄曲霉素 B1,催化 TMB-H₂O₂ 显色后检测限低至 2.2 pg/mL (图 8(A))。Dou[45]等构建了 Fe₃O₄@PDA@Pt 纳米复合材料,首先以 Fe₃O₄ 磁性核心实现靶标富集, PDA 层不仅增强了粘附性以捕获细菌,还为 Pt 纳米颗粒的沉积提供了活性界面。该材料用于大肠杆菌 O157:H7 的无标记双读数检测,比色检测限为 10² CFU/mL,催化信号放大后检测限进一步降至 10 CFU/mL (图 8(B))。PDA 基复合纳米酶的优点在于多功能集成(富集、粘附、催化),但 PDA 层的厚度和聚合条件需要精细控制。

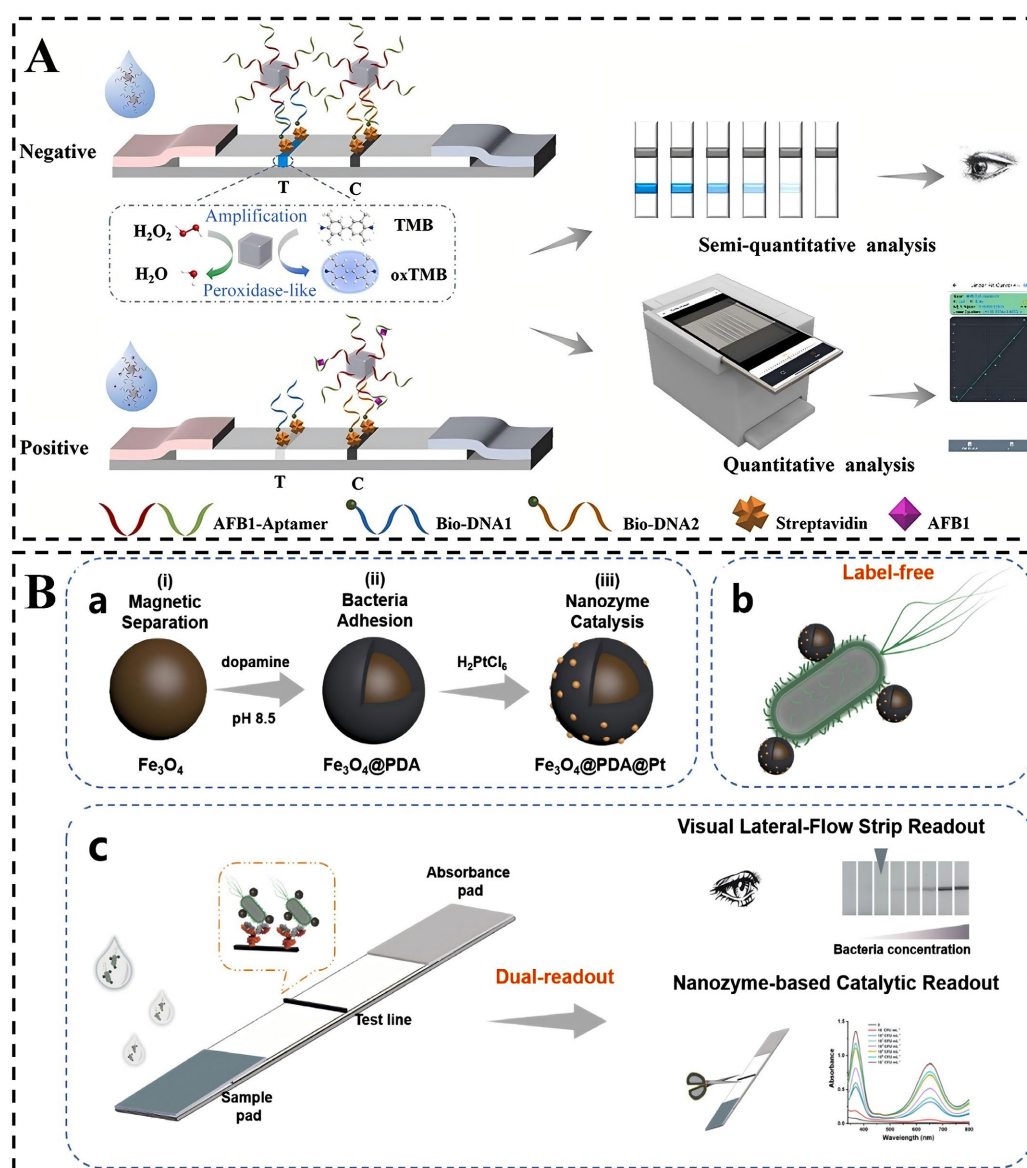


Figure 8. Signal amplification technology based on PDA [45] [51]

图 8. 基于 PDA 的信号放大技术[45] [51]

自组装异色纳米催化剂(SAN)代表了一种新颖的信号放大设计思路。与传统纳米酶不同, SAN 不依赖材料的本征催化活性, 而是将显色底物(如 TMB 或 AEC)直接封装在纳米颗粒内部。当样品中的 Cu^{2+} 和 H_2O_2 存在时, 封装在 SAN 内的底物被氧化产生不溶性有色产物, 在 T 线原位显色。Song 等[52]将 TMB 或 AEC 封装在 SAN 中, 用于心肌钙蛋白 I-肌钙蛋白 C 和肌红蛋白的双重检测, 检测限分别为 0.012 ng/mL 和 0.2 ng/mL (图 9)。这种设计避免了外加底物溶液的操作, 实现了“一步法”信号放大, 但封装效率和底物释放的可控性仍需优化。进一步地, 为减少传统纳米酶依赖外加显色底物的问题, 自组装纳米催化体系被提出, 其通过将显色分子预封装于纳米结构中, 实现一步法原位显色。

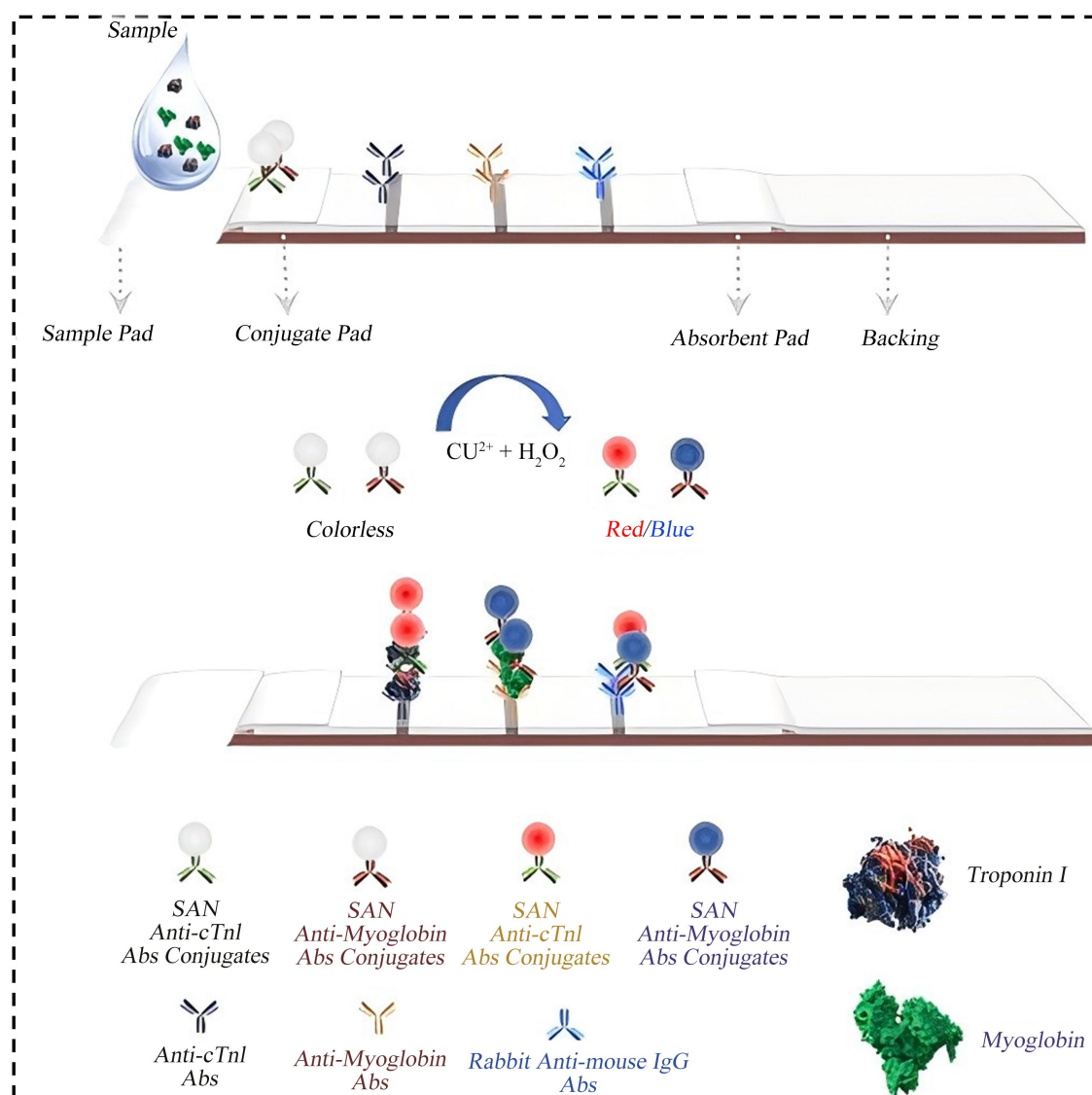


Figure 9. Signal amplification technology based on self-assembled heterochromatic nanocatalysts (SAN) [52]
图 9. 基于 SAN 的信号放大技术[52]

3.5. 不同类型纳米酶的综合比较与应用分析

尽管不同类型纳米酶均能够有效提升比色侧向层析试纸条(CLFA)的检测性能, 但其催化机理、催化效率、成本、稳定性及制备复杂度等方面仍存在明显差异。贵金属纳米酶通常表现出优异的类过氧化物

酶活性和快速电子传递能力, 因此能够实现更高的检测灵敏度; MOF 基纳米酶则依赖其高比表面积及丰富孔道结构, 为催化反应提供更多活性位点, 并具有良好的功能可设计性; 金属氧化物纳米酶具有成本低、稳定性好和易规模化制备等优点, 更适用于实际推广应用; 此外, 复合型纳米酶通过多组分协同效应进一步提高了催化效率和信号放大能力。因此, 在实际 CLFA 体系设计中, 应根据检测目标、应用场景及成本需求综合选择适宜的纳米酶体系(表 1)。

Table 1. Comparison of the performance of different types of nanosyms in CLFA
表 1. 不同类型纳米酶在 CLFA 中的性能比较

纳米酶类型	代表材料	主要催化机理	催化效率(kcat/Km)	成本	稳定性
贵金属纳米酶	Au@Pt、Pd@Ir、Au-Ir	促进 H ₂ O ₂ 分解并催化 TMB 显色	高(通常高于 HRP)	高	优异
MOF 基纳米酶	Fe ₃ O ₄ @MOF@PtPd、MOF-FeP	MOF 提供高比表面积与协同催化位点	较高	中等	优异
金属氧化物纳米酶	MnO ₂ 、Fe ₃ O ₄ 、CoFe ₂ O ₄	模拟氧化酶/过氧化物酶活性	中等	低	较好
复合型纳米酶	Au@Pt/MOF、磁性复合纳米酶	多组分协同增强电子传递	高	中高	优异

综合来看, 贵金属纳米酶在超高灵敏度检测领域具有明显优势, 尤其适用于肿瘤标志物和病毒抗原等痕量分析; MOF 基纳米酶因其结构可调控性和多功能集成能力, 更适用于复杂体系检测; 金属氧化物纳米酶则凭借低成本和高稳定性, 在食品安全与环境监测等领域具有较好的应用前景。未来, 开发兼具高催化活性、低成本及易规模化制备的新型复合纳米酶, 将成为推动 CLFA 临床转化与产业化的重要方向。

4. 结论

近年来, 基于纳米材料的信号放大策略显著推动了比色侧向层析测定(CLFA)在高灵敏现场检测领域的发展。通过优化金纳米颗粒(AuNPs)的尺寸、聚集行为及载体负载方式, 可有效增强局域表面等离子体共振效应, 提高比色信号强度; 而纳米酶的引入则进一步突破了传统 CLFA 灵敏度受限的问题, 利用其优异的类酶催化活性实现了对显色反应的高效放大, 使检测限可降低 1~3 个数量级。

目前, 不同类型纳米酶已展现出各自独特优势。贵金属纳米酶具有最高的催化效率和超灵敏检测能力, 适用于低丰度生物标志物检测; MOF 基纳米酶凭借高比表面积和可调孔道结构, 可实现催化、富集及多重检测等功能集成; 金属氧化物纳米酶则具有低成本、高稳定性和易规模化制备等优势, 更适合食品安全和环境监测等实际应用场景; 此外, 复合型纳米酶通过多组分协同作用进一步提升了催化性能与多模式检测能力, 为新型智能化 CLFA 平台的发展提供了重要方向。

尽管如此, 纳米材料增强 CLFA 仍面临一些挑战。例如, 部分高活性纳米酶制备成本较高、批次间重复性不足; 复杂样品体系中非特异性吸附与基质干扰问题仍然存在; 此外, 多数研究仍停留在实验室阶段, 距离临床与产业化应用尚需进一步验证。

未来研究可重点关注以下几个方向: 1) 开发高催化效率、低成本且具有良好底物特异性的新型纳米酶体系, 如单原子纳米酶和多酶级联纳米平台; 2) 构建集样品富集、分离、催化放大与多重检测于一体的多功能纳米探针, 实现真正意义上的“一步法”智能检测; 3) 结合微流控、智能手机读数及人工智能分析技术, 提升 CLFA 的定量化和智能化水平; 4) 加强纳米材料在复杂真实样本中的稳定性、生物安全性及长期储存性能研究, 推动其标准化与产业化应用。随着纳米科学、材料化学与 POCT 技术的不断融

合发展, 基于纳米材料的高灵敏 CLFA 有望成为下一代快速检测的重要平台, 并在精准医疗、公共卫生及食品安全等领域发挥更大作用。

参考文献

- [1] Liu, Y., Zhan, L., Qin, Z., Sackrison, J. and Bischof, J.C. (2021) Ultrasensitive and Highly Specific Lateral Flow Assays for Point-of-Care Diagnosis. *ACS Nano*, **15**, 3593-3611. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c10035>
- [2] 顾佳钰, 胡馨儿, 王晓飞, 等. 侧流免疫层析定量检测方法的研究进展[J]. 药学实践与服务, 2024, 42(7): 273-277+284.
- [3] Joung, Y., Han, D.K., Jang, H., Kang, T., Chen, L. and Choo, J. (2025) Dual-Pathway Lateral Flow Assay for Rapid and Sensitive SARS-CoV-2 RNA Detection via CRISPR/Cas13a-Mediated SERS. *ACS Sensors*, **10**, 6253-6262. <https://doi.org/10.1021/acssensors.5c02084>
- [4] 闫灵芝. 侧流免疫层析技术在食品安全检测中的研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 1-11.
- [5] Ye, H. and Xia, X. (2018) Enhancing the Sensitivity of Colorimetric Lateral Flow Assay (CLFA) through Signal Amplification Techniques. *Journal of Materials Chemistry B*, **6**, 7102-7111. <https://doi.org/10.1039/c8tb01603h>
- [6] Renzi, E., Piper, A., Nastri, F., Merkoçi, A. and Lombardi, A. (2023) An Artificial Miniaturized Peroxidase for Signal Amplification in Lateral Flow Immunoassays. *Small*, **19**, Article ID: 2207949. <https://doi.org/10.1002/smll.202207949>
- [7] 闫灵芝. 免疫层析试纸条信号放大技术研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(11): 34-44.
- [8] Moon, Y., Cho, H.H., Moon, H., Song, H., Ro, J.C., Lee, J.H., *et al.* (2024) Simultaneous Triplex Detection in a Single-Test-Line Lateral Flow Immunoassay Utilizing Distinct Nanoparticle Colorimetry. *BioChip Journal*, **18**, 247-256. <https://doi.org/10.1007/s13206-024-00140-8>
- [9] 朱青萌, 陈燕. 纳米酶: 对天然酶的“模拟”和“超越” [J]. 化学教育(中英文), 2025, 46(14): 1-7.
- [10] 余安安, 王宏赏, 陈洪宇. 双金属纳米酶的酶模拟催化活性和生物医学应用研究进展[J]. 分子催化(中英文), 2026, 40(1): 83-96.
- [11] Song, J., Xu, C., Zeng, S., Zuo, W., Yang, Q., Hu, Q., *et al.* (2025) Metal Ion-Based Chemical Coordination Amplification: A Chromophore *in Situ* Deposition Strategy for Visual Sensitivity-Enhanced Lateral Flow Immunochromatography Assays. *Analytical Chemistry*, **97**, 3477-3485. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.4c05781>
- [12] 董旭旭, 孙威, 曹攀, 等. 胶体金免疫层析试纸条技术在病毒检测领域的应用研究现状[J]. 生物工程学报, 2022, 38(9): 3243-3254.
- [13] Lou, S., Ye, J.Y., Li, K.Q. and Wu, A. (2012) A Gold Nanoparticle-Based Immunochromatographic Assay: The Influence of Nanoparticle Size. *The Analyst*, **137**, 1174-1181. <https://doi.org/10.1039/c2an15844b>
- [14] Kim, D., Kim, Y., Hong, S., Kim, J., Heo, N., Lee, M., *et al.* (2016) Development of Lateral Flow Assay Based on Size-Controlled Gold Nanoparticles for Detection of Hepatitis B Surface Antigen. *Sensors*, **16**, Article No. 2154. <https://doi.org/10.3390/s16122154>
- [15] Song, E., Kim, I., Jeon, C. and Pyun, S. (2023) Development and Optimization of Surface-Enhancement Raman Scattering-Based Lateral Flow Immunoassays for the Ultrasensitive Detection of Cardiac Troponin I. *Microchemical Journal*, **193**, Article ID: 108962. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.108962>
- [16] Shen, Y. and Shen, G. (2019) Signal-Enhanced Lateral Flow Immunoassay with Dual Gold Nanoparticle Conjugates for the Detection of Hepatitis B Surface Antigen. *ACS Omega*, **4**, 5083-5087. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03593>
- [17] Choi, D.H., Lee, S.K., Oh, Y.K., Bae, B.W., Lee, S.D., Kim, S., *et al.* (2010) A Dual Gold Nanoparticle Conjugate-Based Lateral Flow Assay (LFA) Method for the Analysis of Troponin I. *Biosensors and Bioelectronics*, **25**, 1999-2002. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.01.019>
- [18] Ma, L.H., Wang, H.B., Zhang, T., Xuan, Y., Li, C., Chen, W., *et al.* (2019) Visual Simultaneous Detection of Single Nucleotide Polymorphism of Tumor Susceptibility Gene and Marker Alpha-Fetoprotein Based on Double-Labeled Colloidal Gold Probe with Lateral Flow Strip Biosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **298**, Article ID: 126819. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126819>
- [19] Hu, J., Wang, L., Li, F., Han, Y.L., Lin, M., Lu, T.J., *et al.* (2013) Oligonucleotide-Linked Gold Nanoparticle Aggregates for Enhanced Sensitivity in Lateral Flow Assays. *Lab on a Chip*, **13**, 4352-4357. <https://doi.org/10.1039/c3lc50672j>
- [20] Xu, H., Chen, J., Birrenkott, J., Zhao, J.X., Takalkar, S., Baryeh, K., *et al.* (2014) Gold-Nanoparticle-Decorated Silica Nanorods for Sensitive Visual Detection of Proteins. *Analytical Chemistry*, **86**, 7351-7359. <https://doi.org/10.1021/ac502249f>
- [21] Liu, Y., Liu, D., Cui, S., Li, C., Yun, Z., Zhang, J., *et al.* (2022) Design of a Signal-Amplified Aptamer-Based Lateral

- Flow Test Strip for the Rapid Detection of Ochratoxin a in Red Wine. *Foods*, **11**, Article No. 1598. <https://doi.org/10.3390/foods11111598>
- [22] Liu, X., Yang, J., Li, Q., Wang, Y., Wang, Y., Li, G., *et al.* (2020) A Strip Test for the Optical Determination of Influenza Virus H3 Subtype Using Gold Nanoparticle Coated Polystyrene Latex Microspheres. *Microchimica Acta*, **187**, 1-7. <https://doi.org/10.1007/s00604-020-04255-1>
- [23] Huang, Q., Bu, T., Zhang, W., Yan, L., Zhang, M., Yang, Q., *et al.* (2018) An Improved Clenbuterol Detection by Immunochromatographic Assay with Bacteria@Au Composite as Signal Amplifier. *Food Chemistry*, **262**, 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.085>
- [24] Koczula, K.M. and Gallotta, A. (2016) Lateral Flow Assays. *Essays in Biochemistry*, **60**, 111-120. <https://doi.org/10.1042/ebc20150012>
- [25] Calabria, D., Calabretta, M.M., Zangheri, M., Marchegiani, E., Trozzi, I., Guardigli, M., *et al.* (2021) Recent Advancements in Enzyme-Based Lateral Flow Immunoassays. *Sensors*, **21**, Article No. 3358. <https://doi.org/10.3390/s21103358>
- [26] Scarsi, A., Pedone, D. and Pompa, P.P. (2023) A Multi-Line Platinum Nanozyme-Based Lateral Flow Device for the Colorimetric Evaluation of Total Antioxidant Capacity in Different Matrices. *Nanoscale Advances*, **5**, 2167-2174. <https://doi.org/10.1039/d2na00931e>
- [27] Pedone, D., Moglianetti, M., Lettieri, M., Marrazza, G. and Pompa, P.P. (2020) Platinum Nanozyme-Enabled Colorimetric Determination of Total Antioxidant Level in Saliva. *Analytical Chemistry*, **92**, 8660-8664. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01824>
- [28] Cai, X., Luo, Y., Zhu, C., Huang, D. and Song, Y. (2022) Rhodium Nanocatalyst-Based Lateral Flow Immunoassay for Sensitive Detection of Staphylococcal Enterotoxin B. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **367**, Article ID: 132066. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132066>
- [29] Wei, D., Zhang, X., Chen, B. and Zeng, K. (2020) Using Bimetallic Au@Pt Nanozymes as a Visual Tag and as an Enzyme Mimic in Enhanced Sensitive Lateral-Flow Immunoassays: Application for the Detection of Streptomycin. *Analytica Chimica Acta*, **1126**, 106-113. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.06.009>
- [30] Jin, X., Chen, L., Zhang, Y., Wang, X. and Zhou, N. (2021) A Lateral Flow Strip for On-Site Detection of Tobramycin Based on Dual-Functional Platinum-Decorated Gold Nanoparticles. *The Analyst*, **146**, 3608-3616. <https://doi.org/10.1039/d1an00403d>
- [31] Bai, T., Wang, L., Wang, M., Zhu, Y., Li, W., Guo, Z., *et al.* (2022) Strategic Synthesis of Trimetallic Au@Ag-Pt Nanorattles for Ultrasensitive Colorimetric Detection in Lateral Flow Immunoassay. *Biosensors and Bioelectronics*, **208**, Article ID: 114218. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114218>
- [32] Sun, Y., Xie, Z., Pei, F., Hu, W., Feng, S., Hao, Q., *et al.* (2022) Trimetallic Au@Ag-Pt Nanozyme-Enhanced Lateral Flow Immunoassay for the Detection of SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein. *Analytical Methods*, **14**, 5091-5099. <https://doi.org/10.1039/d2ay01530g>
- [33] Meng, X., Zuo, W., Wu, P., Song, Y., Yang, G., Zhang, S., *et al.* (2024) Bimetallic Nanozyme: A Credible Tag for in Situ-Catalyzed Reporter Deposition in the Lateral Flow Immunoassay for Ultrasensitive Cancer Diagnosis. *Nano Letters*, **24**, 51-60. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.3c03118>
- [34] Wang, Z., Zou, R., Yi, J., Wang, Y., Hu, H., Qi, C., *et al.* (2024) "Four-in-One" Multifunctional Dandelion-Like Gold@platinum Nanoparticles-Driven Multimodal Lateral Flow Immunoassay. *Small*, **20**, Article ID: 2310869. <https://doi.org/10.1002/sml.202310869>
- [35] Wei, Z., Luciano, K. and Xia, X.H. (2022) Catalytic Gold-Iridium Nanoparticles as Labels for Sensitive Colorimetric Lateral Flow Assay. *ACS Nano*, **16**, 21609-21617. <https://doi.org/10.1021/acsnano.2c10574>
- [36] Liu, S., Dou, L., Yao, X., Zhang, W., Zhao, M., Yin, X., *et al.* (2020) Nanozyme Amplification Mediated On-Demand Multiplex Lateral Flow Immunoassay with Dual-Readout and Broadened Detection Range. *Biosensors and Bioelectronics*, **169**, Article ID: 112610. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112610>
- [37] Wang, D., Wang, J., Liu, D., He, J., Wang, M., Huang, H., *et al.* (2023) Rapid and Sensitive Detection of Epstein-Barr Virus Antibodies in Nasopharyngeal Carcinoma by Chemiluminescence Strips Based on Iron-Porphyrin Single Atom Nanozyme. *Nano Research*, **17**, 1827-1836. <https://doi.org/10.1007/s12274-023-5915-4>
- [38] Li, X., Li, G., Pan, Q., Xue, F., Wang, Z. and Peng, C. (2024) Rapid and Ultra-Sensitive Lateral Flow Assay for Pathogens Based on Multivalent Aptamer and Magnetic Nanozyme. *Biosensors and Bioelectronics*, **250**, Article ID: 116044. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2024.116044>
- [39] Chen, R., Chen, X., Zhou, Y., Lin, T., Leng, Y., Huang, X., *et al.* (2022) "Three-in-One" Multifunctional Nanohybrids with Colorimetric Magnetic Catalytic Activities to Enhance Immunochromatographic Diagnosis. *ACS Nano*, **16**, 3351-3361. <https://doi.org/10.1021/acsnano.2c00008>
- [40] Nguyen, P.T., Lee, J., Cho, A., Kim, M.S., Choi, D., Han, J.W., *et al.* (2022) Rational Development of Co-Doped Mesoporous Ceria with High Peroxidase-Mimicking Activity at Neutral Ph for Paper-Based Colorimetric Detection of

- Multiple Biomarkers. *Advanced Functional Materials*, **32**, Article ID: 2112428. <https://doi.org/10.1002/adfm.202112428>
- [41] Dong, T., Zhang, X., Yuan, J., Lin, Z., Yin, P., Yu, H., *et al.* (2023) Sensitive Lateral Flow Immunoassay Based on Specific Peptide and Superior Oxidase Mimics with a Universal Dual-Mode Significant Signal Amplification. *Analytical Chemistry*, **95**, 12532-12540. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c02821>
- [42] Cai, X., Liang, M., Ma, F., Zhang, Z., Tang, X., Jiang, J., *et al.* (2022) Nanozyme-Strip Based on MnO₂ Nanosheets as a Catalytic Label for Multi-Scale Detection of Aflatoxin B1 with an Ultrabroad Working Range. *Food Chemistry*, **377**, Article ID: 131965. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131965>
- [43] Ouyang, H., Lu, Q., Wang, W., Song, Y., Tu, X., Zhu, C., *et al.* (2018) Dual-Readout Immunochromatographic Assay by Utilizing MnO₂ Nanoflowers as the Unique Colorimetric/Chemiluminescent Probe. *Analytical Chemistry*, **90**, 5147-5152. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b05247>
- [44] Wang, B., Moyano, A., Duque, J.M., Sánchez, L., García-Santos, G., Flórez, L.J.G., *et al.* (2022) Nanozyme-Based Lateral Flow Immunoassay (LFIA) for Extracellular Vesicle Detection. *Biosensors*, **12**, Article No. 490. <https://doi.org/10.3390/bios12070490>
- [45] Dou, L., Bai, Y., Liu, M., Shao, S., Yang, H., Yu, X., *et al.* (2022) “Three-to-One” Multi-Functional Nanocomposite-Based Lateral Flow Immunoassay for Label-Free and Dual-Readout Detection of Pathogenic Bacteria. *Biosensors and Bioelectronics*, **204**, Article ID: 114093. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114093>
- [46] Hong, J., Guo, Z., Duan, D., *et al.* (2024) Highly Sensitive Nanozyme Strip: An Effective Tool for Forensic Material Evidence Identification. *Nano Research*, **17**, 1785-1791.
- [47] Wang, Y., Feng, Q., Yan, H., Sun, R., Cao, Y., Wu, H., *et al.* (2024) Trifunctional Nanocomposites with Colorimetric Magnetic Catalytic Activities Labels in Sandwich Immunochromatographic Detection of *Escherichia coli* O157:H7. *Analytical Chemistry*, **96**, 1232-1240. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c04476>
- [48] Yang, D., Wang, L., Jia, T., Lian, T., Yang, K., Li, X., *et al.* (2023) Au/Fe₃O₄-Based Nanozymes with Peroxidase-Like Activity Integrated in Immunochromatographic Strips for Highly-Sensitive Biomarker Detection. *Analytical Methods*, **15**, 663-674. <https://doi.org/10.1039/d2ay01815b>
- [49] Yang, D., Lei, L., Yang, K., Gao, K., Jia, T., Wang, L., *et al.* (2022) An Immunochromatography Strip with Peroxidase-Mimicking Ferric Oxyhydroxide Nanorods-Mediated Signal Amplification and Readout. *Microchimica Acta*, **189**, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-05085-5>
- [50] Chen, Y., Ren, J., Yin, X., Li, Y., Shu, R., Wang, J., *et al.* (2022) Vanadium Disulfide Nanosheet Boosts Optical Signal Brightness as a Superior Enzyme Label to Improve the Sensitivity of Lateral Flow Immunoassay. *Analytical Chemistry*, **94**, 8693-8703. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c01008>
- [51] Zhu, X., Tang, J., Ouyang, X., Liao, Y., Feng, H., Yu, J., *et al.* (2024) A Versatile CuCo@PDA Nanozyme-Based Aptamer-Mediated Lateral Flow Assay for Highly Sensitive, On-Site and Dual-Readout Detection of Aflatoxin B1. *Journal of Hazardous Materials*, **465**, Article ID: 133178. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.133178>
- [52] Song, Y., Cai, X., Ostermeyer, G., Yu, J., Du, D. and Lin, Y. (2021) Self-Assembling Allochroic Nanocatalyst for Improving Nanozyme-Based Immunochromatographic Assays. *ACS Sensors*, **6**, 220-228. <https://doi.org/10.1021/acssensors.0c02148>