

多价DNA适配体传感器：从纳米结构设计到复杂生物样本分析

张小寒, 龙梦飞, 陈春发, 高沁琳, 杨予涵, 黄承志, 左 华*

(西南大学 药学院·中医药学院, 重庆 400700)

摘要: 生物传感器在临床诊断、食品安全检测及环境监测等领域具有不可替代的作用, 以DNA适配体作为生物传感器信号分子的分析应用正在快速发展。然而, 传统单价DNA适配体在复杂基质和异质性靶标分析中, 常面临亲和力有限及易受微环境干扰等问题。近年来, 得益于结构DNA纳米技术的快速演进, 多价DNA适配体传感策略应运而生, 为突破上述技术瓶颈提供了新思路。该文系统综述了基于多价DNA适配体的高性能生物传感策略的最新研究进展。首先, 深入探讨了多价纳米支架在精准调控界面空间构型、克服空间位阻, 以及通过多位点协同效应显著提升检测器对靶标亲和力方面的核心机制。其次, 系统分析了多价体系在信号转导与级联放大网络中的枢纽作用, 阐述了其作为信号分子集束化平台及动态反应引擎的信号增益机制。此外, 还总结了该技术在电化学、仿生及光学三大主流传感平台中的前沿应用范式, 特别强调了其在解析复杂生物样本中的卓越分析性能。最后, 总结了该领域的核心优势与面临的挑战, 并展望了其在即时检测(POCT)与智能化诊疗一体化平台中的发展潜能, 为下一代高性能生物传感平台的构建提供了理论依据。

关键词: 多价DNA适配体; 生物传感器; DNA纳米技术; 信号级联放大; 复杂生物样本

中图分类号: O657; G535.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)08-0001-09

Multivalent DNA Aptamer Sensors: from Nanostructure Design to Analysis of Complex Biological Samples

ZHANG Xiao-han, LONG Meng-fei, CHEN Chun-fa, GAO Qin-lin, YANG Yu-han,
HUANG Cheng-zhi, ZUO Hua*

(College of Pharmaceutical Science, Southwest University, Chongqing 400700, China)

Abstract: Biosensors play an indispensable role in clinical diagnostics, food safety analysis, and environmental monitoring, and the analytical application of DNA aptamers as signaling molecules in biosensors is rapidly evolving. However, when analyzing complex matrices and heterogeneous targets, traditional monovalent DNA aptamers often suffer from limited binding affinity and susceptibility to microenvironmental interference. In recent years, driven by the rapid evolution of structural DNA nanotechnology, multivalent DNA aptamer-based sensing strategies have emerged, offering a novel paradigm to overcome these technical bottlenecks. This review systematically summarizes the recent progress in high-performance biosensing strategies utilizing multivalent DNA aptamers. First, it delves into the core mechanisms by which multivalent nanoscaffolds precisely regulate interfacial spatial configurations, overcome steric hindrance, and significantly enhance target binding affinity via multi-site synergistic effects. Second, it systematically analyzes the pivotal role of multivalent systems within signal transduction and cascade amplification networks, elucidating their signal amplification mechanisms as clustering platforms for signaling molecules and dynamic reaction engines. Furthermore, this paper outlines the cutting-edge application paradigms of this technology across three mainstream sensing platforms—electrochemical, biomimetic, and optical—with particular emphasis on its exceptional analytical performance in profiling complex biological samples. Finally, this paper summarizes the core advantages and current challenges within this field, and explores its

收稿日期: 2026-04-28; **修回日期:** 2026-06-22

基金项目: 国家自然科学基金(22134005, 22274135); 重庆市自然科学基金(CSTB2024TIAD-CYKJCCX0039, CSTB2024NSCQ-MSX0907); 四川省人民医院超声心脏电生理学及生物力学四川省重点实验室开放课题(2024KFKT01)

* **通讯作者:** 左 华, 博士, 教授, 研究方向: 核酸纳米技术、核酸药物、生物大分子相互作用、新型生物材料、纳米生物医学等,
E-mail: zuohua@swu.edu.cn

developmental potential in point-of-care testing (POCT) and intelligent integrated theranostic platforms, thereby providing a theoretical foundation for the construction of next-generation, high-performance biosensing platforms.

Key words: multivalent DNA aptamer; biosensor; DNA nanotechnology; cascade signal amplification; complex biological samples

生物传感器能够将生物识别事件转化为可定量信号, 凭借高灵敏度、强特异性及操作简捷等优势, 在临床诊断、食品安全与环境监测等领域展现出广阔的应用前景^[1-3]。传统传感平台多依赖抗体或单链 DNA 探针作为识别元件。相较而言, 多价 DNA 适配体具备成本低廉、亲和力高、特异性强及易于修饰等显著优势^[4-6]。然而, 在全血或食品提取物等复杂实际样本分析中, 传感器常面临痕量靶标难以捕获、基质干扰严重, 以及靶标(如发生上皮-间质转化的循环肿瘤细胞)异质性等严峻挑战^[7-8]。因此, 开发兼具高亲和力、优异稳定性及强大信号放大能力的新型识别元件与传感策略, 是推动生物传感器迈向临床与实际应用的关键。

近年来, 结构 DNA 纳米技术的蓬勃发展为解决上述问题提供了新的方法学支持。DNA 不仅是遗传信息的载体, 更是一种具备高度可编程性、结构可预测性与纳米级精准度的自组装材料^[9-10]。随着研究的深入, 学界对这种材料属性的基础认知仍在不断深化。例如, DNA 与 RNA 基序因双螺旋几何差异而呈现出不同的高阶组装偏好性^[11]。此外, DNA 的可编程性已从单纯的结构构建拓展至复杂的功能设计。基于此, 研究者们构建了形态各异的精巧 DNA 纳米结构, 涵盖线性组装体^[12]、柏拉图多面体支架^[13]、二维单层纳米片^[14-15]、分子容器结构^[16]、球形结构^[17]、四面体 DNA 框架^[18]、DNA 纳米花^[19-20]、DNA 水凝胶^[21]以及通过滚环扩增^[22]或杂交链式反应^[23]产生的长链核酸聚合物。这些结构被广泛引入适配体传感器的设计中, 在电化学与光学检测界面展现出卓越的形貌调控与信号转换能力^[24]。

在此背景下, 多价 DNA 适配体策略应运而生。适配体作为体外筛选出的短链寡核苷酸, 能够特异性识别从金属离子、小分子到蛋白质及全细胞等多种靶标^[25-26]。将多个适配体单元定点组装于 DNA 纳米支架, 能够提升体系对靶标的表观亲和力及在复杂环境中的结构稳定性^[27-29]。然而, 多价效应的实现远非简单连接数个识别单元。Hu 等^[30]利用凝血酶与其两个正交适配体(HD22 和 RE31)的晶体结构, 设计了一种由半刚性 DNA 支架桥连的二价适配体。该支架通过精确匹配两个结合位点的空间间距与相对取向, 确保适配体单元能以天然构象无应力地协同结合靶蛋白。相较于柔性连接的对照组, 此策略将解离常数(K_d)提升至 2.8 nmol/L, 并有效抑制了非特异性多聚复合物的形成。除优化前端识别界面外, DNA 纳米支架亦可作为信号分子的集束化平台与动态级联放大的反应枢纽^[31]。通过高密度负载荧光染料、催化酶或纳米颗粒^[32], 或构建供 DNA 步行器(DNA walker)运行的分子轨道^[7], 多价系统实现了对痕量靶标的指数级放大检测。目前, 多价 DNA 适配体通过与核酸外切酶^[33]、CRISPR-Cas 系统^[22]及仿生细胞膜涂层^[7]的协同耦合, 提升了传感体系的抗污性能、多靶标并行处理能力及信号转换效率。

鉴于该领域的快速发展, 本文旨在系统梳理近年来基于多价 DNA 适配体的高性能生物传感策略的核心进展。文章聚焦于该技术在电化学、仿生以及光学三大传感平台中的结构设计与作用机制, 深入探讨其如何通过精确的分子编程实现对核酸、蛋白质、重金属离子、小分子代谢物、食源性病原体及异质性循环肿瘤细胞等多元靶标的超灵敏检测(图 1)。最后, 本文分析了该领域当前面临的技术挑战, 并对其向临床转化的发展趋势进行了前瞻性展望, 以期为下一代智能生物传感平台的构建提供理论指导与方法学参考。

1 基于多价 DNA 适配体的电化学传感器

电化学传感器凭借操作简便、响应迅速、成本低廉及易于微型化等优势, 在生物分子检测领域应用广泛。近年来, 四面体 DNA 框架、DNA 步行器及 DNAzyme 等 DNA 纳米结构, 因具备高度可编程性、结构刚性与优异的生物相容性, 成为构建高性能电化学生物传感器的理想支架。结合多价识别机制与信号放大策略, 此类传感器在循环肿瘤细胞(CTC)、病毒 DNA 及重金属离子等靶标的超灵敏检测中展现出巨大潜力。此外, 金、银等金属纳米颗粒由于具有独特的光电特性与高比表面积, 常通过信号增强或催化作用进一步优化传感性能^[34]。上述研究共同为多价 DNA 适配体与纳米材料的复合构建奠定了材料学基础。

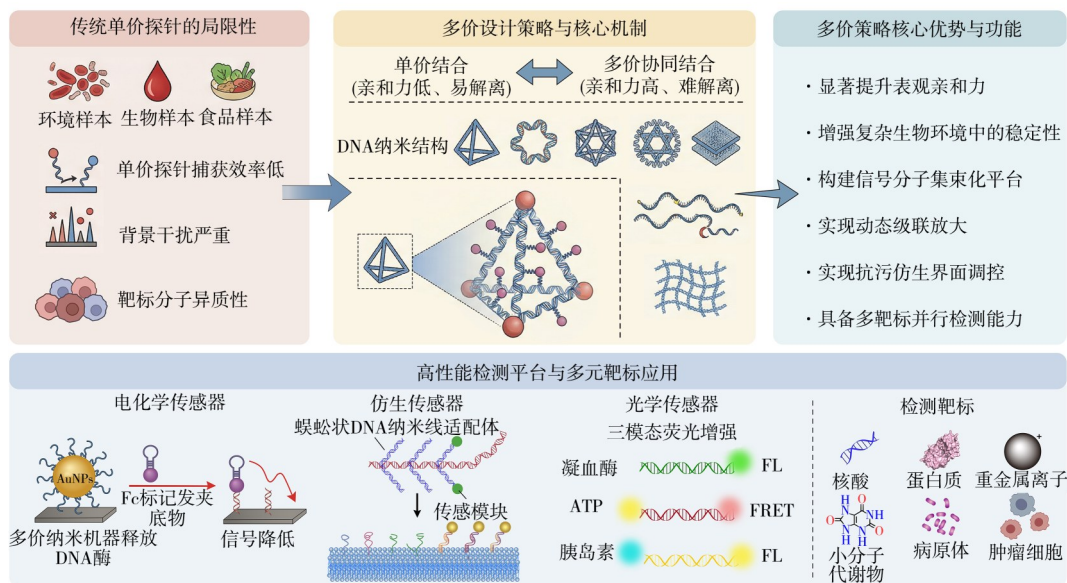


图1 多价DNA适配体传感器的设计策略与传感平台

Fig. 1 Design strategies and sensing platforms of multivalent DNA aptamer sensors

1.1 基于DNA纳米结构的电极界面空间调控

传统电化学传感器多将单链DNA探针直接固定于电极表面, 常因探针取向随机与密度不可控导致识别效率低及非特异性吸附。为此, Wang等^[18]构建了基于双四面体DNA框架(DTDF)的电化学传感器, 用于CTC的超灵敏检测与无损释放(图2A)。该系统以修饰于电极表面的直立四面体DNA框架(UTDF)为刚性支架, 结合倒置四面体DNA框架(ITDF)顶点延伸的SYL3C适配体实现多价识别。相较于单链或单TDF探针, 该传感器显著提升了捕获效率与信号强度, 检出限低至1 cell/mL, 且释放后的细胞存活率高达98%。

此外, Jang和Kim^[35]将三重多价适配体修饰的四面体DNA纳米结构固定于电化学还原氧化石墨烯(ERGO)电极, 实现了 Hg^{2+} 的超灵敏检测(图2A)。得益于四面体结构提供的刚性支架、有序的空间排列以及多价结合位点, 该修饰电极较线性多价适配体展现出更快的响应速度与更低的检出限(4.1 zmol/L), 显著增强了界面靶标捕获能力。

为契合临床转化与低成本即时检测的需求, 多价适配体亦被整合至丝网印刷金电极表面。多价修饰不仅大幅增强了探针的表现亲和力, 还显著拓宽了电化学传感的动态线性范围, 该策略已成功应用于生物体液中乳铁蛋白等疾病标志物的高灵敏筛查^[36](图2A)。

1.2 基于多价识别的靶标亲和力与信号输出增强

多价识别是提升传感器灵敏度与特异性的核心策略。针对胶质瘤细胞在上皮-间质转化(EMT)过程中的表型异质性, Wang等^[8]设计了一种多价适配体纳米支架(MAS)电化学传感器。该支架将EpCAM与CSV两种适配体通过DNA自组装形成刚性双链结构, 并固定于金电极表面(图2B)。该传感器能够精准识别EMT各阶段的CTC, 检出限达6 cells/mL, 经DNase I处理后可实现细胞的无损释放, 并保持90%以上的细胞活性。

此外, Guo等^[31]开发了一种基于三联分子信标的纳米孔传感策略。该策略利用靶标DNA或双价抗体触发分子信标构象重排, 释放经特定修饰的DNA探针, 随后通过 α -HL纳米孔进行电信号检测。该系统成功实现了对HIV DNA(检出限5 pmol/L)及多种抗体的定量分析, 并具备单一体系内多靶标同时检测的能力。

除了在纳米支架上组装多个适配体, 利用分离探针同时结合同一靶蛋白的邻近杂交分析(PHA)亦可产生协同识别效应。Chen等^[37]设计了一种三嵌段polyA探针, 以其居中的polyA片段锚定金电极, 两端的捕获序列则用于结合识别靶蛋白(PDGF-BB)的两个适配体探针。研究表明, 通过精确调控polyA片段的长度, 使探针间距与靶蛋白分子尺寸高度匹配时, 可获得最佳传感性能(检出限低至4 fg/mL)(图2B)。该工作为多价识别体系提供了“双位点协同”的空间调控策略。

1.3 基于多价纳米机器的级联信号放大策略

DNA 纳米结构也可用于构建动态纳米机器以驱动信号级联放大。Tian 等^[32]设计了一种结合核酸外切酶 III (Exo III) 辅助靶标循环的多价 DNAzyme 纳米机器, 用于乙肝病毒 (HBV) DNA 的超灵敏检测 (图 2 C)。该策略将 DNAzyme 与其沉默链的杂交体修饰于金纳米颗粒 (AuNPs) 表面。HBV DNA 的引入触发链置换反应并激活 DNAzyme, 随后 Exo III 特异性降解沉默链, 使靶标释放并进入下一次循环。多轮扩增后, AuNPs 表面暴露出大量活性 DNAzyme 形成多价纳米机器, 其在 Na^+ 辅助下切割电极表面的电活性发夹底物, 引起电化学信号的显著降低。该体系利用 AuNPs 表面的高局部浓度效应显著加速了反应动力学, 检出限低至 45 amol/L。

除酶辅助扩增外, 能量转移与电子转移双重猝灭机制也为传感器提供了高效的信号调节途径。Ni 等^[38]构建了基于双配体 Zn-MOF 的电致化学发光 (ECL) 发射体系, 并利用铜掺杂 WO_3 实现双重信号猝灭 (图 2 C)。在该系统中, 多价适配体作为连接发光供体与猝灭受体的分子开关, 在靶标存在时发生特异性解离, 促使 ECL 信号恢复。该传感器的检出限达 5.5×10^{-14} g/L, 线性范围跨越 8 个数量级, 充分验证了多价识别与双猝灭机制协同放大的优异性能。

此外, 多价级联放大策略在纳米级生物标志物分析中同样展现出巨大潜力。近期研究通过滚环扩增技术 (RCA) 合成了具有高柔性的多价 EpCAM 适配体, 并结合多级级联核酸扩增策略 (cascade PER), 开发了一种无标记超灵敏电化学传感平台。该平台成功将多价界面的高亲和力识别事件转化为指数级放大的电化学信号, 不仅实现了对肿瘤相关细胞外囊泡 (tEVs) 的超灵敏检测, 还具备对临床血清样本进行精准区分的能力^[39] (图 2 C)。

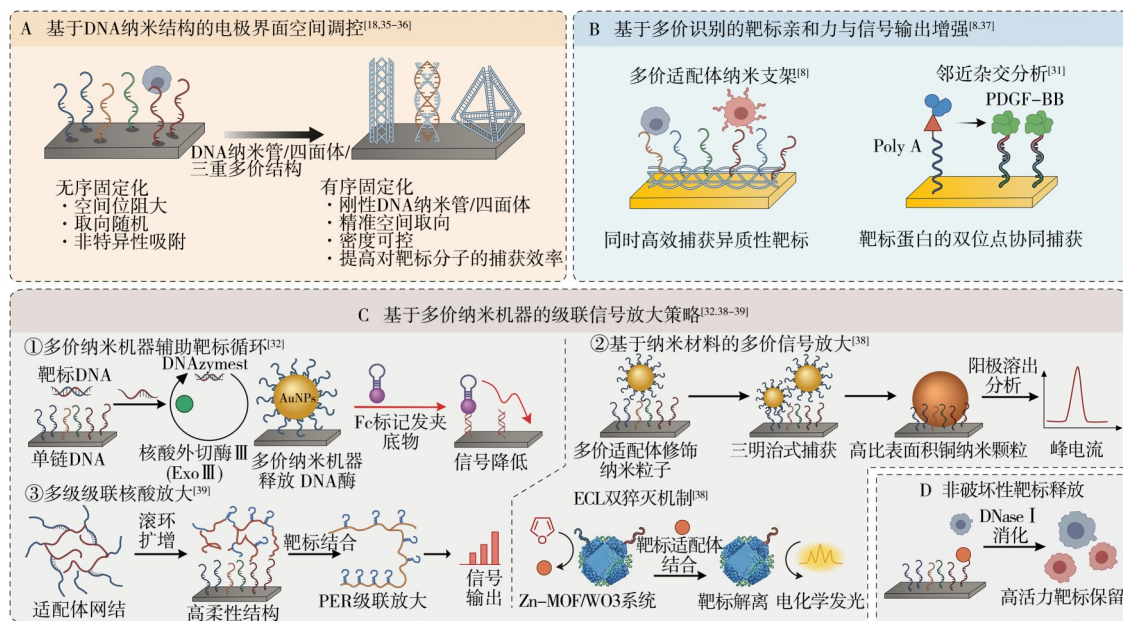


图2 多价DNA适配体电化学传感器识别与信号放大原理示意图

Fig. 2 Schematic diagrams of the recognition and signal amplification principle of multivalent DNA aptamer electrochemical sensors

2 多价DNA适配体仿生传感器

仿生传感器通过模拟生物体的界面环境、识别机制及信号放大网络, 有效克服了传统传感器在复杂基质中非特异性吸附严重、靶标捕获效率低及难以应对生物异质性等局限。在多价DNA适配体传感体系中, 仿生策略主要涵盖界面仿生、多靶点协同识别与系统级集成三个层面。

2.1 基于高纯度靶标富集技术的界面仿生传感器策略

复杂生物样本 (如血液) 中的非特异性吸附严重制约了循环肿瘤细胞 (CTC) 的高效捕获。为此, Jia 等^[7]构建了基于白细胞膜包覆磁性微球的仿生传感器 (图 3A 左)。该设计利用白细胞膜天然的抗污特性, 赋予传感界面卓越的抗非特异性吸附能力。相较于传统修饰方法, 该仿生界面在维持靶标识别活

性的同时,显著抑制了背景杂质干扰,实现了复杂基质中稀有CTC的高纯度富集。

在探针的膜界面锚定方面,Guo等^[40]受蜈蚣形态启发,通过杂交链式反应(HCR)组装了多分枝DNA纳米线(图3A右)。该纳米线一侧编码多种膜锚定适配体以实现多价结合,另一侧则负载环形传感模块。凭借多价相互作用,该传感器在细胞膜表面的锚定密度较单价探针提升了35倍,为细胞外代谢物的高时空分辨率成像提供了新策略。

2.2 基于动力学级联放大技术与多靶标协同的识别仿生传感器策略

针对CTC在转移过程中因上皮-间质转化(EMT)引发的表面标志物异质性,仿生传感器通过“多靶标协同识别”机制模拟了天然生物系统对多变量信息的整合。例如,Guo等^[33]基于三维多价适配体识别技术开发了针对EpCAM与MUC1的双靶向系统(图3B上)。该仿生模式不仅通过多配体协同结合有效克服了单一标志物识别的局限性,实现了对不同表型CTC的高效识别(捕获效率达88.7%);为进一步将微弱的分子识别事件转化为宏观可读信号,该研究还将此三维多价识别体系与DNA步行器及共价有机框架(COFs)相融合,利用COFs的多孔限域效应显著增强了电化学发光信号。

此外,在引入动态元件作为信号放大引擎方面,Jia等^[7]整合了滚环扩增(RCA)衍生的多价适配体与Exo III驱动的DNA步行器(图3B下)。该设计成功将单细胞识别事件转化为数百个荧光分子的信号级联输出,从而实现了处于不同EMT阶段CTC的超灵敏检测。

2.3 基于微流控平台与多路并行分析的集成传感器策略

面向实际应用需求,仿生传感器需兼顾复杂的识别网络与高通量样本处理能力。Xu等^[41]开发了基于微流控芯片的仿生传感平台,用于多种食源性病原体的同步检测(图3C)。该系统利用修饰有4-巯基苯硼酸的金搅拌棒模拟生物分子对糖类的特异性亲和捕获,将靶标富集过程限域于特定界面。通过将多价DNA步行器与微流控电泳技术相集成,该平台成功实现了对副溶血性弧菌、鼠伤寒沙门氏菌及金黄色葡萄球菌的并行定量分析。该平台创新性地直接将靶细菌直接作为DNA步行器的步行轨道,在病原体表面利用 Zn^{2+} 驱动的脱氧核酶完成靶标特异性的级联切割放大后,再由微流控芯片对产生的不同长度DNA片段进行电泳分离与检测。这一设计不仅克服了传统纳米颗粒轨道的空间位阻,有效消除了多靶标检测间的交叉干扰,更展现出在便携式即时诊断领域的巨大潜力。

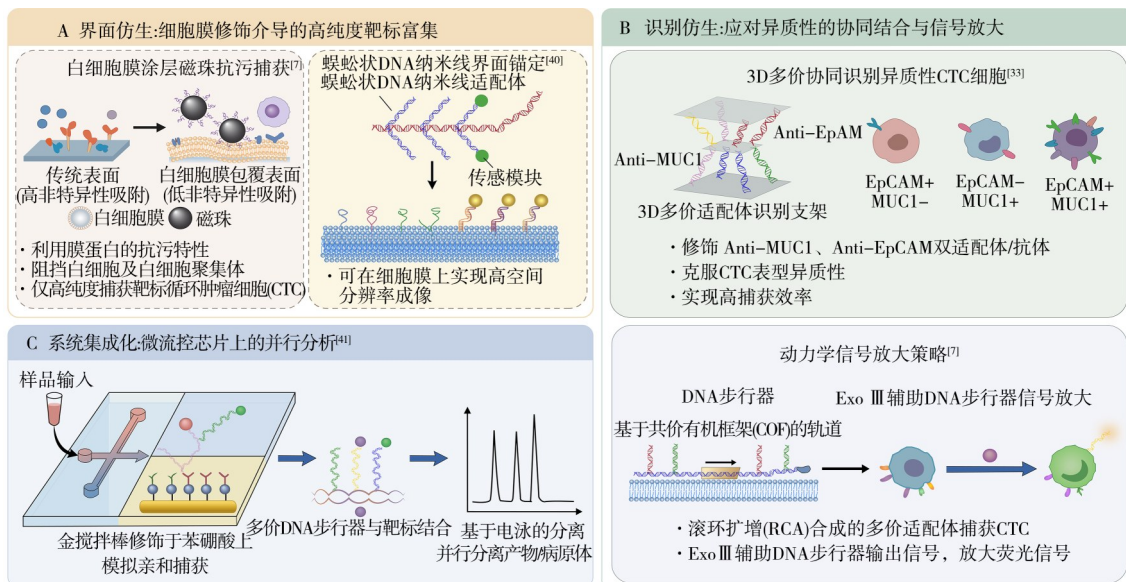


图3 多价DNA适配体仿生传感器识别与信号放大原理示意图

Fig. 3 Schematic diagrams of the recognition and signal amplification principle of multivalent DNA aptamer biomimetic sensors

3 基于多价DNA适配体的光学传感器

光学生物传感器凭借操作简便、响应快速、可视化读数及适用于现场检测等优势,在食品安全、环境监测及临床诊断等领域应用广泛。近年来,研究人员将多价DNA适配体与荧光共振能量转移(FRET)、比率型检测及光热转换等技术相融合,开发了多种高性能光学生物传感平台。此类传感器充

分利用了多价适配体的高亲和力与协同结合效应,实现了对真菌毒素、过敏原、致病菌及小分子代谢物等痕量靶标的超灵敏分析。

3.1 基于 DNA 纳米结构的多价识别平台

3.1.1 刚性纳米框架的空间模式匹配 精确的空间排列以实现模式匹配是多价 DNA 适配体传感器的核心优势。Kwon 等^[42]基于登革病毒表面 ED3 蛋白簇的自然分布特征,设计了一种星形 DNA 纳米结构(图 4A 左)。该结构将 10 个靶向 ED3 的适配体精准锚定于其 10 个顶点,不仅实现了对病毒的高灵敏检测,还展现出卓越的病毒抑制能力(抑制效率较单价适配体提升 7 500 倍)。类似地,针对志贺毒素 2 型(Stx2)B 亚基呈等边三角形分布的活性位点,Duan 等^[43]构建了边长约 2 nm 的四面体 DNA 纳米框架(TDN)(图 4A 右)。通过将 3 种中和适配体分别修饰于 TDN 的顶点,实现了探针与靶标蛋白的精确空间匹配。该多价探针对于 Stx2 的亲和力显著高于游离适配体混合物,不仅在体外实现了高效的毒素抑制,还有效减轻了活体模型中的脏器损伤。上述研究确立了空间模式匹配在多价适配体设计中的关键地位,为适配体技术从体外诊断向体内治疗的拓展提供了新范式。

3.1.2 复杂 DNA 纳米组装体的多重靶标识别 Dai 等^[12]开发了一种基于三维三角形 DNA 纳米管的多价识别平台,实现了对凝血酶、ATP 和胰岛素的同步识别与空间定位(图 4B 上)。该研究利用双链连接链将三角形 DNA “横档”纵向编织成长程有序的纳米管,3 种适配体分别整合于纳米管的三条边,形成“豌豆-豆荚”状周期性空间构型。该平台整合了 3 种独立的荧光机制,通过提取特征性“指纹”光谱实现了多靶标的精准区分。荧光各向异性分析及原子力显微镜成像证实,多价结构显著增强了探针亲和力,并确保靶标在纳米管表面的特异性周期分布。

3.1.3 纳米支架与柔性连接的多模式检测 多模式信号输出可有效提升检测结果的可靠性。Ma 等^[44]基于 DNA 纳米三角形支架构建了用于沙门氏菌定量的比色/荧光双模式传感器。该支架组装了 3 个适配体,多价亲和力较单价提升了 4.8 倍。系统通过负载辣根过氧化物酶与 SYBRaGreen I 染料,结合磁分离技术,在复杂食品基质中展现出优异的回收率。同时,TDN 同样适用于双模式检测,Xiao 等^[45]将 4 个沙门氏菌适配体-cDNA 双链组装于 TDN 顶点,构建了四价竞争探针。靶标结合引发 cDNA 释放,进而触发催化发夹组装(CHA)反应,同步输出荧光与比色双信号,结合 3D 打印暗室实现了实际样品的现场高灵敏检测。

除刚性框架外,利用柔性连接子或超长 DNA 链构建多价网络也是提升亲和力的有效策略。Xia 等^[46]通过 oligo-T 序列连接两个截短优化的苦杏仁苷适配体,构建了具有对称结合位点的二价探针。该二价适配体的解离常数较单价探针提高约 2 倍,结合具漆酶样活性的 Ag₂O 纳米颗粒,构建的比色传感器实现了对苦杏仁苷的超灵敏检测,为小分子靶标的多价设计提供了简洁范式。

3.1.4 柔性多价聚合物与三维集成网络 滚环扩增(RCA)作为一种等温扩增技术,可通过环状模板和 DNA 聚合酶高效合成具有重复序列的长单链 DNA^[47]。Qi 等^[19-20]利用 RCA 技术合成了富含串联适配体的 DNA 纳米花,分别构建了用于过敏原蛋白和真菌毒素检测的传感器(图 4C 上)。这种柔性多价网络提供三维识别支架,通过链取代或构象变化直接介导 FRET 或染料释放,实现了靶标的高灵敏定量。

此外,Tang 等^[21]设计了一种集识别、富集与检测于一体的 DNA 超分子水凝胶。该网络由富含多价适配体与分子信标的长链 DNA 交联而成,靶标细胞外囊泡的捕获可触发水凝胶的级联组装并输出多色荧光信号,成功实现了临床血清样本中肿瘤标志物的高效筛查。

3.1.5 可穿戴集成与诊疗一体化 多价传感器的应用维度正不断拓展。在模式识别方面,Chen 等^[48]将 3 种癌细胞靶向适配体整合于三角形 DNA 折纸上,构建了 5 种多价探针阵列(图 4D 左)。利用这些探针针对不同细胞差异化的结合模式形成特征性荧光指纹图谱,结合线性判别分析,实现了对 5 种癌细胞的精准盲样识别,准确率达 95%,即“化学鼻”策略。

在可穿戴集成方面,Luan 等^[23]将多价荧光 DNA 结构集成至微流控芯片,实现了对汗液中皮质醇、乳酸和尿酸的同步检测(图 4D 右)。该系统利用杂交链式反应(HCR)构建长链 DNA 骨架并组装荧光猝灭识别单元,靶标结合后荧光恢复。研究证实,柔性长链比刚性框架在此类界面上表现出更高的检测灵敏度。

在诊疗一体化方面,Weng 等^[49]与 Ning 等^[50]利用 RCA 构建了超长单链 DNA 支架,自组装多个靶向适配体(如 AS1411、MUC1)、化疗药物(DOX)及光敏试剂。多价协同显著增强了纳米载体对乳腺癌细

胞的特异性摄取, 在光照射下实现了高效的化学-光热/光动力协同杀伤。

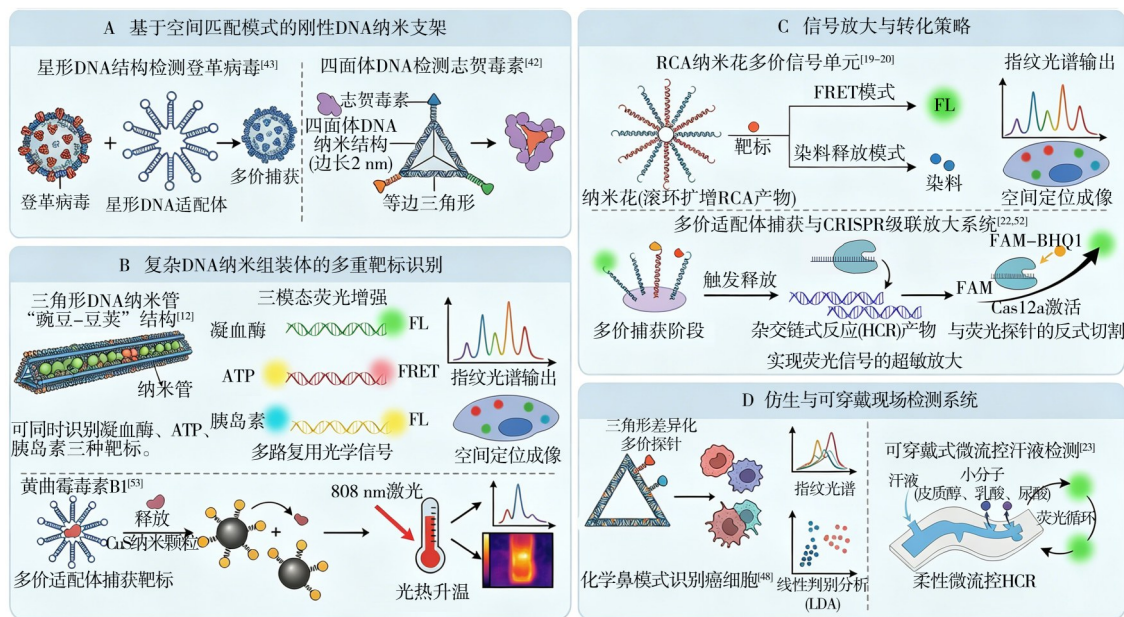


图4 多价DNA适配体光学传感器识别与信号转换原理示意图

Fig. 4 Schematic diagrams of the recognition and signal transduction principle of multivalent DNA aptamer optical sensors

3.2 级联放大与CRISPR/Cas系统的融合集成

为突破传统光学传感的灵敏度瓶颈, 多价适配体被与新兴基因编辑技术结合。CRISPR-Cas系统凭借其可编程靶向识别机制与反式切割活性, 已发展为高灵敏的核酸分子诊断工具^[51]。Lv等^[22]构建了多价双链适配体网络, 当靶细胞存在时, 适配体构象变化释放激活链, 启动CRISPR-Cas12a的反式切割活性并裂解荧光报告探针(图4C下)。为进一步提升信号, Li等^[52]引入HCR, 构建了多价识别-HCR-CRISPR/Cas12a三重放大体系。靶标结合触发HCR生成含大量Cas12a结合位点的长链DNA, 极大地放大了切割信号, 实现了阿尔茨海默病标志物P-tau181的超痕量检测(检出限0.069 pg/mL)。

3.3 基于多价支架的光热适配体传感器

光热转换为便携式检测提供了新思路。Li等^[53]开发了基于多价DNA支架的光热传感器, 用于黄曲霉毒素B1的检测(图4B下)。该体系利用多价支架与偶联有硫化铜(CuS)纳米颗粒的信号探针杂交。靶标结合导致支架解离, 释放出的CuS纳米颗粒在上清液中经近红外激光(808 nm)照射产生显著温升效应。借助便携式温度计或热成像仪即可完成毒素的定量分析。

4 总结与展望

多价DNA适配体与结构DNA纳米技术的深度交叉, 为高性能生物传感器的构建提供了坚实的方法学基础。系统梳理现有研究表明, 多价策略在提升传感器分析性能方面展现出显著的协同优势。为直观展示多价体系相较于单价或对照体系的性能提升, 本文选取了代表性案例进行量化对比(表1)。可以看出, 多价设计在亲和力增强、信号放大及病毒抑制效率等方面均展现出显著优势, 充分验证了多价策略在提升传感性能中的普适性与高效性。首先, 在增强亲和力与特异性方面, 通过刚性三维框架(如四面体^[18,35]、星形结构^[42]、纳米管^[12])实现精确的空间模式匹配, 或利用柔性聚合物(如HCR^[23]、RCA纳米花^[19-20])提供高密度识别位点, 多价策略大幅提升了探针与多位点靶标的表观亲和力; 同时, 在同一界面集成靶向不同标志物的适配体, 有效克服了循环肿瘤细胞上皮-间质转化等过程中的表型异质性难题^[8,33]。其次, DNA纳米支架不仅是识别元件的载体, 更是高效的信号转导与放大平台。体系内可高度集成动态元件(如DNA步行器^[8])、多模式信号分子(如荧光染料^[44,46]、光热转换剂^[53])以及新兴级联放大网络(如HCR联合CRISPR-Cas系统^[25,52,54]), 将特异性分子识别转化为宏观信号的双模式甚或指数级放大输出。此外, 结合细胞膜仿生涂层^[7]、磁分离^[22,44]或微流控富集^[41]技术, 多价传感器能够在全血等强干扰基质中完成高纯度靶标检测。值得注意的是, 通过界面抗污设计与不依赖pH的氧化

还原报告分子修饰, 电化学适配体传感器已初步实现活体脑部动态监测及肿瘤微环境药代动力学的原位追踪^[55], 展现出极强的临床实用潜力。

表1 多价DNA适配体传感器相较于对照体系的代表性性能提升

Table 1 Representative performance enhancements of multivalent DNA aptamer sensors compared to control systems

Target	Sensing platform	Performance metric	Enhancement factor/effect
登革病毒 ^[42]	光学	病毒抑制效率(EC_{50})	抑制效率提升 7 500 倍
T-2 毒素 ^[20]	光学	灵敏度	灵敏度提升 20 倍以上
凝血酶 ^[12]	光学	解离常数(K_d)	亲和力提高约 3 倍
志贺毒素 2 型 ^[43]	光学	解离常数(K_d)	亲和力提高约 1.6 倍
苦杏仁苷 ^[46]	光学	解离常数(K_d)	亲和力提高约 2 倍

尽管多价DNA适配体传感技术已取得突破性进展, 但其从实验室概念验证迈向临床应用与商业化转化, 仍需攻克一系列技术瓶颈并把握未来机遇。

首要挑战在于纳米结构的简化与标准化。现有多价核酸聚合物制备步骤繁琐且易产生批次差异, 未来亟需开发更高效可控的组装策略(如利用简短柔性连接子构建二价探针^[45]), 并深入探究探针修饰密度与空间位阻效应之间的构效关系^[23], 以建立系统的结构表征与质量控制体系。在此方面, Anusha 等^[56]的研究表明, AlphaFold 3 等深度学习结构预测工具能够精准模拟DNA基序的三维构象。这使研究者能够在计算机辅助下快速优化构象参数, 将高昂的实验试错转化为高效的理性设计, 为纳米结构标准化模型的建立提供了强有力的技术支撑。

其次, 传感系统的自动化与便携集成是实现即时检测的关键。将多价识别网络与微流控芯片、智能可穿戴设备深度融合^[23,41], 并结合丝网印刷电极^[57]等低成本的制造工艺, 将大幅推进该技术在无创连续监测及现场筛查中的普及应用。

在功能拓展方面, 多价纳米机器正加速向智能化与诊疗一体化平台演进。通过共载多价靶向适配体与化疗/光敏药物^[49-50], 或集成光热转换试剂^[53], 该平台已初步实现靶向识别与协同治疗的诊疗闭环; 进一步引入DNA逻辑门电路与CRISPR系统^[58], 更赋予了传感器处理多输入信号的布尔运算能力, 为复杂疾病微环境的精确鉴别与可控药物释放提供了前沿方案。此外, 多价DNA平台在免疫治疗与疫苗开发等生物医学领域也展现出巨大的转化潜力^[59-60]。

最后, 临床转化是最终目标。为满足真实的临床需求, 必须在多中心、大规模队列中严格验证其长期稳定性、抗基质干扰能力及检测重现性。将新型传感系统与现有临床金标准(如ELISA、qPCR和LC-MS)进行系统性的平行比对并积累详实的循证医学数据, 是推动该技术最终走向临床转化的决定性前提。

参考文献:

- [1] Felix F S, Angnes L. *Biosens. Bioelectron.*, **2018**, 102: 470-478.
- [2] Furst A L, Francis M B. *Chem. Rev.*, **2019**, 119(1): 700-726.
- [3] Mishra G K, Sharma V, Mishra R K. *Biosensors*, **2018**, 8(2): 28.
- [4] Liu M, Yu X C, Chen Z, Yang T, Yang D D, Liu Q Q, Du K K, Li B, Wang Z F, Li S, Deng Y, He N Y. *J. Nanobiotechnol.*, **2017**, 15(1): 81.
- [5] Yang L F, Ling M, Kacherovsky N, Pun S H. *Chem. Sci.*, **2023**, 14(19): 4961-4978.
- [6] Vorobyeva M, Vorobjev P, Venyaminova A. *Molecules*, **2016**, 21(12): 1613.
- [7] Jia L L, Hu Q, Zhang T T, Wang Z J, Wu D, Xie X Y, Wang S C. *Small*, **2023**, 19(38): 2302542.
- [8] Wang G, Zhang Y C, Tang S, Chen S N, Zou F B, Yuan H X, Jiao J. *Biosens. Bioelectron.*, **2023**, 226: 115140.
- [9] Harroun S G, Prévost-Tremblay C, Lauzon D, Desrosiers A, Wang X, Pedro L, Vallée-Bélisle A. *Nanoscale*, **2018**, 10(10): 4607-4641.
- [10] Zuo H, Mao C D. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2019**, 147: 22-28.
- [11] Zuo H, Wu S Y, Li M, Li Y L, Jiang W, Mao C D. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, 54(50): 15118-15121.
- [12] Dai Z, Gao Q, Cheung M C, Leung H M, Lau T C K, Sleiman H F, Lai K W C, Lo P K. *Nanoscale*, **2016**, 8(43): 18291-18295.
- [13] Bhatia D, Mehtab S, Krishnan R, Indi S S, Basu A, Krishnan Y. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48(23): 4134-4137.
- [14] Baker M A B, Tuckwell A J, Berengut J F, Bath J, Benn F, Duff A P, Whitten A E, Dunn K E, Hynson R M, Turberfield A J, Lee L K. *ACS Nano*, **2018**, 12(6): 5791-5799.
- [15] Tu Z X, Guday G, Adeli M, Haag R. *Adv. Mater.*, **2018**, 30(33): 1706709.
- [16] Ke Y G, Sharma J, Liu M H, Jahn K, Liu Y, Yan H. *Nano Lett.*, **2009**, 9(6): 2445-2447.
- [17] Huang R C, Chiu W J, Po-Jung Lai I, Huang C C. *Sci. Rep.*, **2015**, 5(1): 10292.

- [18] Wang C, Xu Y, Zhao X, Li S, Qian Q, Wang W, Mi X. *Analyst*, **2021**, 146(21): 6474–6481.
- [19] Qi S, Dong X Z, Hamed E M, Jiang H T, Cao W B, Yau Li S F, Wang Z P. *Anal. Chem.*, **2024**, 96(18): 6947–6957.
- [20] Qi S, Dong X Z, Ye H, Hamed E M, Lu X, Su E, Wang Z P. *Food Biosci.*, **2025**, 74: 107946.
- [21] Tang J P, Cui Z, Li Q, Ke B, Liu P F, Yang D Y, Yao C. *Adv. Funct. Mater.*, **2026**, 36(2): e12115.
- [22] Lv Z X, Wang Q Q, Yang M H. *Anal. Chem.*, **2021**, 93(38): 12921–12929.
- [23] Luan Y, Xiong Q, Ma M, Huang Y, Liu J, Luo L, Wang Q, Huang J, Liu J, Yang X, Wang K. *ACS Sens.*, **2026**, 11(1): 667–676.
- [24] Sameiyan E, Bagheri E, Ramezani M, Alibolandi M, Abnous K, Taghdisi S M. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 143: 111662.
- [25] Ku T H, Zhang T, Luo H, Yen T M, Chen P W, Han Y, Lo Y H. *Sensors*, **2015**, 15(7): 16281–16313.
- [26] Adachi T, Nakamura Y. *Molecules*, **2019**, 24(23): 4229.
- [27] Liu X, Yan H, Liu Y, Chang Y. *Small*, **2011**, 7(12): 1673–1682.
- [28] Hasegawa H, Savory N, Abe K, Ikebukuro K. *Molecules*, **2016**, 21(4): 421.
- [29] Mao M X, Chen X J, Cai Y N, Yang H J, Zhang C Z, Zhang Y, Wang Z P, Peng C F. *Sens. Actuators B*, **2023**, 378: 133148.
- [30] Hu X L, Tang L L, Zheng M X, Liu J, Zhang Z, Li Z, Yang Q, Xiang S B, Fang L, Ren Q, Liu X M, Huang C Z, Mao C D, Zuo H. *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144(10): 4507–4514.
- [31] Guo B Y, Sheng Y Y, Zhou K, Liu Q S, Liu L, Wu H C. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57(14): 3602–3606.
- [32] Tian S, Ding F, Wang H Y, Wang L. *Sens. Actuators B*, **2025**, 428: 137260.
- [33] Guo M H, Shen B, He W, Li X Y, Li X M, Li M H, Hu R W, Zhang M X, Yan Y R. *Chem. Eng. J.*, **2024**, 481: 148606.
- [34] Hou Y X, Sun L L, Liang R R, Mao Y W, Dong P C, Zhang Y M, Zhu L X, Yang X Y, Liu M Z, Liu Y G. *Food Ferment. Ind.* (侯昱璇, 孙立龙, 梁荣蓉, 毛衍伟, 董鹏程, 张一敏, 朱立贤, 杨啸吟, 刘民泽, 刘昀阁. 食品与发酵工业), **2026**: 1–10. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.044839.
- [35] Jang S J, Kim T H. *Biosens. Bioelectron.*, **2024**, 249: 116039.
- [36] Naseri M, Halder A, Mohammadniaei M, Prado M, Ashley J, Sun Y. *Electrochim. Acta*, **2021**, 389: 138644.
- [37] Chen Y R, Wen Y L, Wang L L, Huo Y B, Tao Q, Song Y N, Xu L, Yang X, Guo R Y, Cao C M, Yan J, Li L Y, Liu G. *Anal. Chem.*, **2024**, 96(17): 6692–6699.
- [38] Ni Y, Jiang D, An X M, Wang W C, Sun Z, Li H B, Shiigi H, Chen Z D. *Microchim. Acta*, **2024**, 191(12): 761.
- [39] Ma Y, He X L, Du J Q, Pan M M, Wang M, Jiang M, Yu X, Xu L. *Anal. Chem.*, **2026**, 98(3): 2214–2224.
- [40] Guo Z, Xue H, Wang Y, Qiu Y, Chen P, Zhang J, Huang M, Zhang F, Yang Q, Zhang K. *Anal. Chem.*, **2025**, 97(43): 24050–24057.
- [41] Xu Z L, Wang J Q, Jia Z J, Wu Y X, Gan N, Yu S N. *Analyst*, **2023**, 148(5): 1093–1101.
- [42] Kwon P S, Ren S, Kwon S J, Kizer M E, Kuo L, Xie M, Zhu D, Zhou F, Zhang F, Kim D, Fraser K, Kramer L D, Seeman N C, Dordick J S, Linhardt R J, Chao J, Wang X. *Nat. Chem.*, **2020**, 12(1): 26–35.
- [43] Duan M, Chang Y, Wu K, Kang L, Feng J, Wang Z, Wu S, Duan N. *Anal. Chem.*, **2025**, 97(45): 25346–25355.
- [44] Ma N, Sun M N, Shi H X, Xue L L, Zhang M, Yang W G, Dang Y L, Qiao Z H. *Foods*, **2023**, 12(20): 3853.
- [45] Xiao W, Sun C, Chen S, Xue L, Wei H, Jia R, Huang T, Yang W, Xing J, Zuo E, Qiao Z. *ACS Sens.*, **2025**, 10(9): 6542–6552.
- [46] Xia L, Zheng J, Su J, Tang Y, Wu Z, Niu X J, Wu Y G. *Talanta*, **2026**, 301: 129299.
- [47] Gao Y F, Yan Y C, Cao J Y, Bi S. *J. Instrum. Anal.* (高雨菲, 闫永存, 曹景玉, 毕赛. 分析测试学报), **2022**, 41(4): 601–609.
- [48] Chen Q J, Wang X W, Chen J, Xiang Y, Xiao M S, Pei H, Li L. *Anal. Chem.*, **2022**, 94(28): 10192–10197.
- [49] Weng T X, Zhang G D, Ding K X, Huo X B, Wang X F, Zhou T, Wang F, Zhang Z Q. *Colloids Surf. B*, **2026**, 257: 115201.
- [50] Ning G, Wang F, Zhang R Y, Du H, Weng T X, Wang X F, Zhou T, Zhang G D, Zhang Z Q. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2025**, 310: 143343.
- [51] Wang K, Yu Y Q, Yang T H, Lei C H, Wu H. *J. Instrum. Anal.* (王珂, 于亦清, 杨铁虹, 雷春阳, 吴红. 分析测试学报), **2026**, 45(3): 664–672.
- [52] Li X Y, Chen B J, Xie Y Y, Luo Y, Zhu D, Wang L H, Su S. *Anal. Chem.*, **2025**, 97(1): 793–798.
- [53] Li S L, He Z Y, Meng Y H, Li B X, Liu M. *LWT*, **2025**, 223: 117714.
- [54] Yuan Q Q, Li H, Han Y, Sun Y S. *Chin. J. Anal. Lab.* (元晴晴, 李浩, 韩尧, 孙岩松. 分析试验室), **2026**: 1–10.
- [55] Jiang B A, Xie S F, Li Y T. *Chemistry* (江泊安, 谢书凡, 李玉桃. 化学通报(中英文)), **2026**, 89(1): 1–14.
- [56] Anusha, Zhang Z, Li J Y, Zuo H, Mao C D. *J. Am. Chem. Soc.*, **2024**, 146(37): 25422–25425.
- [57] Jiang J, Wu H Y, Su Y, Liang Y, Shu B W, Zhang C S. *Anal. Chem.*, **2020**, 92(11): 7708–7716.
- [58] Yang X, Shi X, Lv C, Liu W, Zhang F, Liu B. *ACS Omega*, **2025**, 10(13): 13634.
- [59] Zeng J, Fu W H, Qi Z P, Zhu Q S, He H W, Huang C Z, Zuo H, Mao C D. *Small*, **2019**, 15(26): 1805552.
- [60] Chen F F, Huang Y H, Huang Z Y, Jiang T T, Yang Z L, Zeng J, Jin A S, Zuo H, Huang C Z, Mao C D. *Acta Biomater.*, **2023**, 164: 387–396.