

综 述

生物标志物多模态检测：医学检验新方法的应用与研究进展

施华华¹, 曹汝菲², 段晓雷¹

(1. 遵义医科大学附属医院 医学检验科, 贵州 遵义 563000; 2. 遵义医科大学 基础医学院, 贵州 遵义 563006)

[摘 要] 随着精准医疗和即时检测(POCT)需求的日益增长,传统的单一信号检测模式在灵敏度、特异性和抗干扰能力方面逐渐显露出局限性。利用多种信号平台实现多信号输出的多模态检测,已成为生物传感领域的重要发展趋势。本文首先阐述多模态检测的基本原理与信号正交性设计策略。其次,重点讨论实现多信号输出的关键功能材料与纳米探针构建方法。随后,分类总结了多模检测体系在单一或多种生物标志物高灵敏检测中的应用实例。最后,深入分析当前多模态检测技术面临的困难与挑战,同时对多模态检测与人工智能辅助信号分析、可穿戴多模传感等实现诊疗一体化的未来发展方向进行展望。本综述期望为开发高效可靠的生物标志物检测方法提供理论参考和技术指引。

[关键词] 多模态检测; 即时检测; 纳米材料; 多重信号探针

[中图法分类号] R446.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2096-8159(2026)06-0677-12

Multi-modal detection of biomarkers: applications and research advances in medical laboratory

Shi Huahua¹, Cao Rufe², Duan Xiaolei¹

(1. Department of Clinical Laboratory, The Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi Guizhou 563000, China; 2. School of Preclinical Medicine, Zunyi Medical University, Zunyi Guizhou 563006, China)

[Abstract] With the growing demand for precision medicine and point-of-care testing (POCT), traditional single-signal detection methods are progressively demonstrating limitations in their sensitivity, specificity, and anti-interference capability. Multi-modal detection, which generates multi-signal output using multi-signal platforms, has emerged as a significant developmental trend in the field of biosensing. This review first elucidates the fundamental principles of multi-modal detection, as well as the strategies for designing signal orthogonality. It subsequently concentrates on key functional materials and nanoprobe construction methods for achieving multisignal output. Then, it categorizes and summarizes application examples of multi-modal detection systems for the highly sensitive detection of single or multiple biomarkers. Finally, it provides a comprehensive analysis of the current challenges faced by multi-modal detection technologies, while also examining prospective future directions integrating Multi-modal detection with AI-assisted signal analysis and wearable multimode sensing for diagnostics and therapeutic applications. This review seeks to provide theoretical insights and technical guidance for the development of efficient and reliable biomarker detection methods.

[Key words] multi-modal detection; point-of-care testing; nanomaterials; multiple signal probes

生物样本(如血液、尿液、细胞组织等)的准确检测是疾病诊断、环境监测和食品安全的关键^[1-3]。尽管传统的单一模式检测技术如酶联免疫吸附测

定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)、电化学传感已广泛应用于临床^[4-6],但在面对复杂生

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(NO:82160409,82560415);贵州省科技计划项目[NO:黔科合基础 MS(2026)907]。

[通信作者] 段晓雷,男,博士,副教授,博士生导师,研究方向:基于DNA自组装的医学检验新技术,E-mail:duanxl014@zmu.edu.cn。

物基质(如全血、血清、组织液)时,其局限性逐渐显现^[7]。首先,单一信号源易受环境干扰。例如,光学检测易受生物样本自发荧光背景及光漂白效应的影响^[8],电化学检测则可能受到电极表面非特异性吸附及氧化还原活性物质的干扰^[9]。其次,单一维度信息存在误判风险。在痕量标志物检测中,假阳性或假阴性结果可能导致严重的临床误诊^[10]。最后,单一模式难以提供多维特征^[11],仅凭浓度信息往往不足以全面反映标志物的生物活性、空间分布或结构异构体等特征^[12]。因此,依赖单一检测模式难以满足当前对高可靠性、高准确度诊断的严苛要求,为了突破单一检测模式的瓶颈,多模态检测应运而生。多模态检测又称多信号输出检测,是指在同一检测体系中,利用两种或两种以上不同的物理或化学信号传导机制,对同一目标或多个目标进行同步或序贯检测。这种策略能够通过信号间的相互验证提高检测的可信度,通过信号互补提高灵敏度,或通过不同通道实现多重检测^[13-14]。

多模态检测的核心理念并非追求检测目标的数量,而是聚焦于检测质量的提升。该策略类似于人类的嗅觉或味觉系统,采用多种交叉反应检测器使得单个靶标产生多个响应信号,从而提高检测结果的准确性^[15]。高性能多模式信号输出检测策略的核心在于传感通路以及多功能信号探针的合理设计^[16],针对一种生物标志物和多种生物标志物相应的设计思路侧重点不同,一种生物标志物的检测模式主要包括:(1)通过合理设计不同检测平台之间的通路交叉共享,使得单一靶标通过多个检测

平台产生多个检测信号。(2)通过合理设计多功能信号探针,使得单一靶标通过唯一平台就能产生多个信号。多种生物标志物的检测模式主要包括:(1)通过设计检测模块空间布局,使得不同的检测通道或检测坐标对应不同的靶标,从而实现在同一体系对多个靶标同时检测。(2)依据纳米材料的体积、颜色、波长等固有特性的不同,实现在同一检测平台内对多种生物标志物进行检测。近年来,生物标志物多模态检测新方法不断涌现,为疾病的精确诊断和即时检测提供了新的思路。在这篇综述中,主要讨论了构建多模态生物传感模式的传感方法、整合策略及临床生物标志物的检测应用。

1 一种生物标志物的多模式检测

在现代精准医疗与早期诊断体系中,生物标志物被视为洞察生命活动状态与疾病进程的“分子窗口”^[17]。无论是蛋白质、核酸还是小分子代谢物,特定生物标志物的浓度、结构或活性变化往往直接关联着癌症、心血管疾病及传染病的发生和发展^[18]。因此,实现对关键生物标志物的准确定量与定性分析,不仅是临床病理诊断的金标准,更是制定个性化治疗方案、评估药物疗效以及预测疾病预后的基石^[19]。随着医学检测需求的日益精细化,如何从复杂的生物样本中获取关于单一关键标志物的最可靠信息,已成为生物传感领域亟待解决的核心问题。如表1所示,研究人员通过多种传感平台偶联和多信号探针的构建设计了不同的多模式传感器实现一种生物标志物的精准检测^[20-25]。

表 1 检测一种生物标志物的不同多模式传感器对比

类别	传感模式	纳米酶/材料	检测靶标	最低检测限	参考文献
多种传感平台偶联	比色 + 光热	CoFeCe 三原子氢氧化物	谷胱甘肽	0.092 μmol/L	[20]
	光热 + 电化学发光	MBene@ TaSe2	白细胞介素-6	3.3 × 10 ⁻⁶ μg/L	[21]
	比色 + 电化学发光	Ru@ U6-Ru/Pt	猴痘病毒	10 amol/L	[22]
多信号探针构建	荧光 + 比色 + 光热	MDGP	乙酰甲胺磷	0.008 μg/L	[23]
	荧光 + 比色	Pt@ MOF	诺如病毒	18 copies/μL	[24]
	荧光 + 比色	NSCQDs@ MSN	谷胱甘肽	1.6 μmol/L	[25]

1.1 多种传感平台偶联实现多模式检测 临床疾病诊断的精确度很大程度上依赖于对关键生物标志物的精准量化。传统的单模态传感技术受限于背景噪声及特异性不足,其检测的准确性也难以保证^[26-27]。因此基于跨平台信号耦合的多模态检测

策略成为生物标志物检测的焦点^[28]。该策略通过整合比色、电化学、光热等不同传感机制,合理设计多个检测信号平台之间的通路交叉,得到多种信号的输出检测,实现了信号的正交验证与互补增强,更能确保检测结果的准确可靠^[29]。

1.1.1 比色和光热传感平台偶联 比色传感器的基本原理为将显色底物催化转化为增强的颜色信号,其具有肉眼即可识别信号、操作简便等特点,但其易受样本浊度和本底颜色影响造成假阳性^[30]。光热传感器通过材料的光热效应产生信号,其不受散射光、荧光等的干扰,在利用光热显微镜进行信号读取时可达单分子检测限^[31],但由于其热扩散较慢,极易造成假阴性。因此通过比色和光热传感器偶联,低浓度靶标利用光热定量,高浓度靶标比色直接读数可以实现 5~7 个数量级的宽检测范围并通过双通道交叉验证极大降低假阳性率。例如,2023 年,Shang 等^[20]整合滤纸、温度计和智能手机 3 种检测平台的优势,并设计合成了 CoFeCe 三原子氢氧化物,该酶具有类过氧化物酶活性,在加入显色底物后能够产生显著的比色变化与光热效应,然后借助滤纸、温度计和智能手机 3 个平台构建了比色-温度-颜色三模信号输出的生物传感器(图 1A),该传感器对谷胱甘肽(glutathione, GSH)的检测具有高灵敏度,检测限达 0.092 $\mu\text{mol/L}$ 。

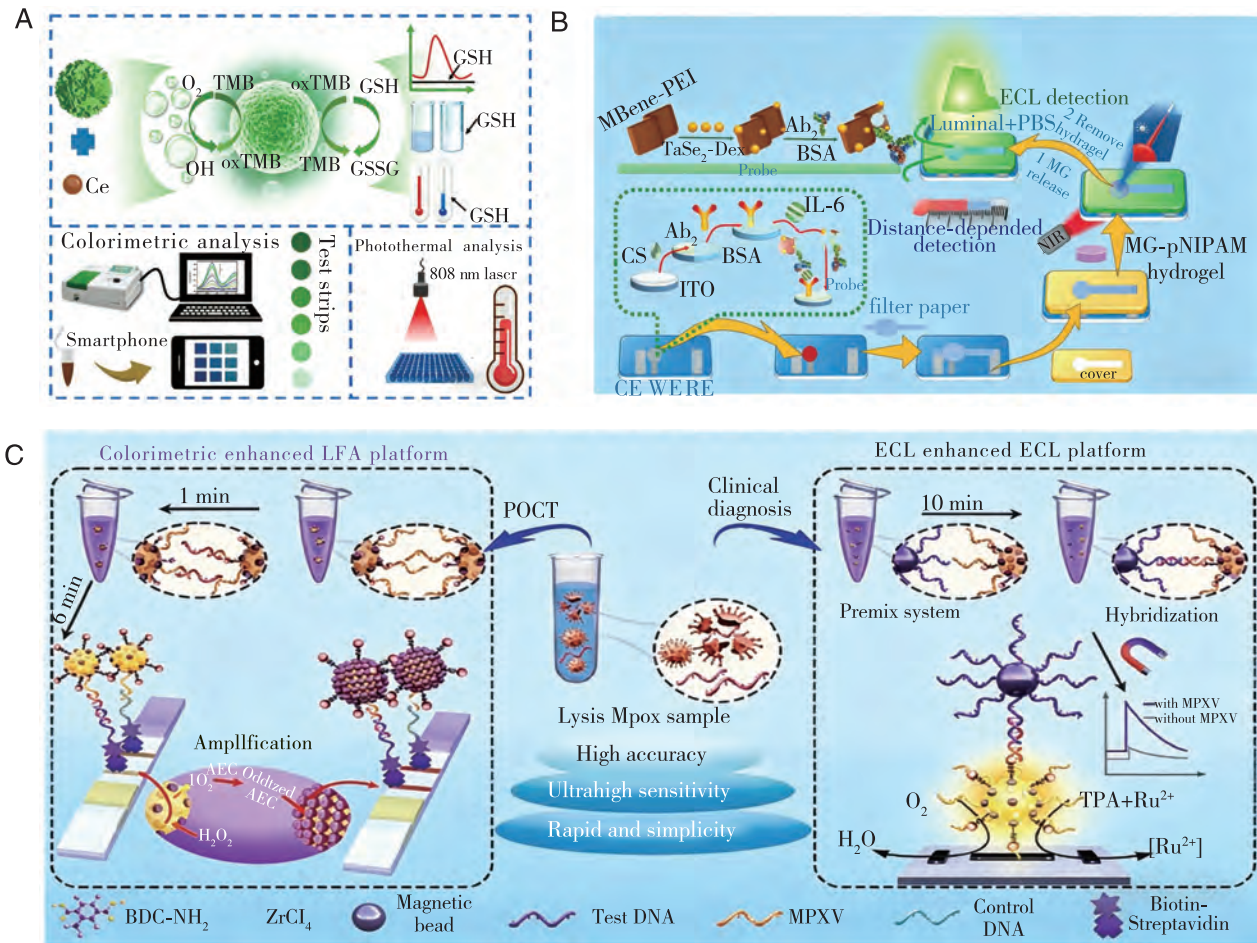
1.1.2 光热和电化学发光传感平台偶联 电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)是一种结合了电化学与化学发光的交叉技术,与光热传感器相似,其不受散射光和荧光本底等的干扰,灵敏度可至 amol/L ,但其易受蛋白吸附、气泡附着等的干扰^[32],因此将光热和电化学发光传感器偶联,可实现全血、组织液等复杂样本的直接检测,避免繁琐的前处理环节,同时通过双模读出系统可降低单机检测成本。例如,2023 年,Zhang 等^[21]将具有优异光热性能的多功能传感平台植入基于纸基 ECL 生物传感器的微型区域,然后通过自组装法制备多功能 MBene-TaSe₂ 复合材料(MBene@TaSe₂),并将其作为靶向关联光热元件引入纸基分析装置(paper-based analytical device, PAD),充当多信号的触发器(图 1B)。在激光照射下,MBene@TaSe₂ 探针不仅可以产生热量实现快速温度输出,还可触发热响应性聚(N-异丙基丙烯酰胺)水凝胶的相变行为,释放负载孔雀石绿(malachite green, MG)染料以实现基于距离的视觉读数。同时,释放的 MG 还作为有效淬灭剂降低鲁米诺的 ECL 信号,实现白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)的精准检测。这项研究为推进便捷快速多功能集成 PAD 在家庭监测和智能诊断中的应用发展提供了富有启

发性的见解^[21]。

1.1.3 比色和电化学发光传感平台偶联 将比色和电化学发光传感平台偶联,通常将具有催化活性的纳米酶修饰在电极表面,在进行共催化的同时显著提高电化学发光效率,达到 $1+1>2$ 的检测效果^[33]。例如,2024 年 Yang 等^[22]提出采用比色法与 ECL 信号增强技术的双模读出平台,用于不同场景下对猴痘病毒进行超灵敏的检测(图 1C)。以 Zr-MOF(UiO-66-NH₂)为载体,将双层 ECL 发光体与纳米酶整合构建新型纳米标记物 Ru@U6-Ru/Pt 纳米颗粒,该平台不仅能增强 ECL 与比色信号强度,且稳定性优于常规纳米标记物。双模平台在“样本导入”至“结果输出”步骤中仅需 15 min,无需核酸扩增过程。其视觉检测限为 0.1 pmol/L ,ECL 模式检测限低至 10 amol/L ^[22]。

以上研究提示,不同平台在灵敏度、动态范围、抗干扰能力及检测维度上各具特点,偶联整合可突破单一技术局限,实现宽量程、多参数同步读出。该种策略为临床生物标志物检测方法的开发提供了宝贵的研究思路和借鉴价值,同时对指导个体化医疗、疗效动态监测、优化用药策略等具有重要意义。

1.2 多信号探针构建实现多模式检测 在多模式信号检测中,为了规避多平台交叉导致的检测时间的增加以及检测成本的增高,使得检测技术能真正地服务于临床,实验人员通过设计多功能化的检测探针实现检测的多信号输出^[34]。这类探针通常由纳米材料或大分子组装而成,能够同时响应或产生多种物理化学信号,多功能探针的构建并非简单的功能单元物理混合,而是需要精密的化学设计与工程化组装,主要的构建方法包括异质结构组装、能量转移调控、材料表面功能化等^[35]。同时不同的材料体系决定了探针的信号产生能力和理化性质,用于生物传感器的材料主要有上转换纳米颗粒(upconversion nanoparticles, UCNPs)^[36]、量子点(quantum dots, QDs)^[37]、磁性纳米粒子^[38]、碳基纳米材料、金属有机框架等^[39]。它们都有各自独特的物理化学性质,其中上转换纳米颗粒能够将近红外光转换为可见光和紫外光,具有背景荧光低、组织穿透深等特点;碳基纳米材料具有较强的表面增强拉曼散射效应,具备光热转换能力;磁性纳米粒子具有超顺磁性,能够进行磁分离。这些性能使得其成为构建多功能探针的优秀组分。



A:整合滤纸、温度计和智能手机 3 种检测平台构建比色 - 温度 - 颜色三模信号输出的生物传感器;B: MBene-TaSe₂ 复合材料的光热效应以及触发水凝胶的相变实现温度读数与超灵敏 ECL 响应;C: 以 Zr- MOF (UiO-66-NH₂) 为载体实现比色法与 ECL 信号增强技术的双模读出。

图 1 多种传感平台偶联的一种生物标志物的多模式检测

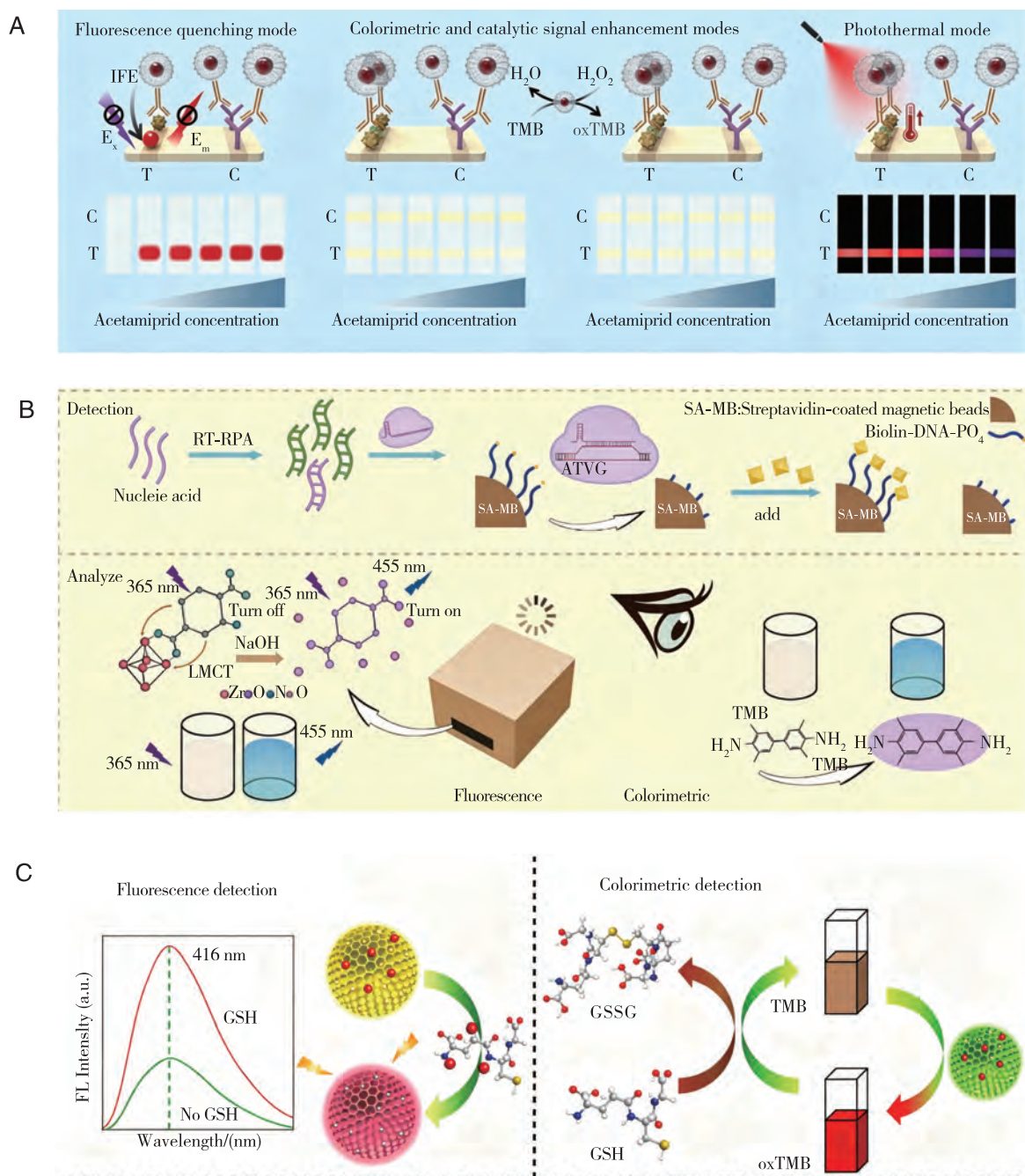
1.2.1 比色和光热多信号探针构建 构建具有比色和光热特性的多信号探针不是简单地将具有比色和光热特性的两种材料放在同一反应体系中,其核心在于将纳米酶催化机制与光 - 热转换机制集成于同一纳米载体。例如,2024 年,Wang 等^[23] 研究报道了一种具有“四合一”多功能的蒲公英状金@铂纳米颗粒(multifunctional dandelion-like gold@platinum nanoparticles,MDGP),MDGP 的固有特性宽吸收光谱、多孔蒲公英状纳米结构以及金铂双金属组成使得其具备双重光谱重叠荧光猝灭、光学读出、催化活性及光热效应等多重功能(图 2A)。得益于其多功能特性,将其应用于 LFIA 可实现荧光信号、比色信号及光热信号的多模态输出。该多模态的 MDGP-LFIA 对乙酰甲胺磷的检测范围为 0.01 ~ 50 $\mu\text{g/L}$,最低定性检测限与定量检测限分别为 0.5 $\mu\text{g/L}$ 和 0.008 $\mu\text{g/L}$ ^[23]。

• 680 •

1.2.2 荧光和比色多信号探针构建 与比色和光热多信号探针相似,构建荧光和比色多信号探针常将具有荧光特性的纳米材料(如 QDs、UCNPs 等)与具有催化底物显色的纳米酶集成于同一纳米载体中。例如,2025 年,Mao 等^[24] 将铂(platinum nanoparticles,PtNPs)纳米颗粒引入锆铁双金属有机框架材料中,成功制备出功能增强型纳米酶(Pt@MOF)。该酶可催化 TMB 的比色反应,实现比色分析。在 MOF 构建过程中,中心金属离子与有机荧光配体之间发生配体 - 金属电荷转移,导致有机配体荧光猝灭,同时通过碱诱导的去质子化反应可使 MOF 快速解体,从而恢复配体的荧光特性。基于此,通过 Pt@MOF 实现了双模式荧光 - 比色信号的独立输出(图 2B)^[24]。2024 年,Li 等^[25] 通过原位合成氮硫掺杂碳量子点(NSCQDs)于介孔二氧化硅纳米颗粒(MSN)中,制备了纳米复合材料

(NSCQDs@MSN)。通过在 NSCQDs@MSN 表面负载 Cu^{2+} , 开发出新型双模式传感器 (NSCQDs@MSN-Cu), 用于 GSH 的荧光检测与比色检测 (图 2C)。该双模式传感器成功应用于真实样本中 GSH 的检测, 实验结果进一步验证了双信号识别策略的准确性和实用性, 该策略不仅为多功能传感器的开发引入了创新性研究概念, 同时在早期疾病诊断和生化研究应用领域展现出显著潜力^[25]。

综上所述, 借助材料学与分子生物学等交叉学科构建的多信号探针用于多模式检测对单一靶标的检测有着得天独厚的优势, 其极大地缩减了检测的时间和成本, 有利于复杂基质中的微量生物标志物的检出, 同时通过集成化探针适配便携设备, 极大地推动了 (point-of-care testing, POCT) 检测策略的发展, 其有着极高的临床应用潜力。



A: 利用 MDPG 实现荧光信号、比色信号及光热信号的多模态输出; B: 利用 MDM 探针实现了双模式荧光 - 比色信号的独立输出; C: 利用 NSCQDs@MSN - Cu 实现荧光比色双模式信号输出。

图 2 多信号探针一种生物标志物的多模式检测

2 多种生物标志物的多模式检测

生物系统是复杂的有机组合体,本质上所有生物现象与反应均涉及多种生物分子,包括蛋白质、核酸、糖类及脂质等。这意味着,在分析增殖、免疫和代谢等复杂生物过程时,基于单一因素得出的任何结论都将具有局限性且存在一定主观性^[40]。其中多因素疾病(如癌症)很好地说明了这一点。例如,癌症生物标志物 CA125 可反映乳腺癌或卵巢

癌的发生风险,而 CA199 则与肺癌、结直肠癌、胰腺癌及胃癌相关^[41]。显然,仅检测单一癌症标志物不足以实现精准诊断^[42]。在此类情况下,多重生物检测技术能显著减少样本量、缩短检测时间、降低人力成本并生成海量数据^[34]。这些优势使得单次检测即可实现多种生物标志物的检测,相较常规检测方法具有明显的竞争力。如表 2 所示,研究人员通过空间多重化和信号多重化设计了不同的多模式传感器实现了多种生物标志物的精准检测^[43-52]。

表 2 检测多种生物标志物的不同多模式传感器对比

类别	传感模式	材料	检测靶标	最低检测限	参考文献
空间多重化	比色 + 侧流免疫层析	GO-Pt ₃₀ -AuPt ₅	SARS-CoV-2、H1N1	1.3 μg/L; 0.84 μg/L	[43]
	微流控 + 比色	Au/ LDO	天冬氨酸转氨酶、丙氨酸转氨酶、碱性磷酸酶	15、10、5 U/L	[44]
	侧流免疫层析	TC-UPT-LF	10 种流行性食源性病原体	10 CFU/0.6 mg	[45]
	微阵列扫描计量免疫	Au NPs	前列腺特异性抗原、人绒毛膜促性腺激素、α 甲胎蛋白	300 amol/L	[46]
	微流控 + 荧光	CLAMP	HPV16、HPV18	2 amol/L	[47]
信号多重化	免疫吸附测定法	cGO	癌胚抗原、神经元特异性烯醇化酶、细胞角蛋白-19 片段	100 μg/L	[48]
	微流控	PtNPs	肠沙门氏菌、大肠杆菌、李斯特菌	10 CFU/mL	[49]
	液体悬浮纳米芯片	Encoding NPs	miR-106a、miR-21、miR-15a	1.2 pmol/L、0.8 pmol/L、0.2 pmol/L	[50]
	电化学发光	QDs + GO	甲胎蛋白、癌胚抗原	0.4 fg/mL	[51]
	微阵列 + 荧光	QDs	miR-141、miR-21、miR-let-7d	1.27 fmol/L	[52]

2.1 利用空间多重化实现多种生物标志物检测

空间多重化技术是指在单一检测平台上,通过物理空间位置的分离,实现对多种目标分析物进行并行检测的策略^[53]。其核心思想是将不同的识别探针(如 DNA 寡核苷酸、抗体、适配体)固定在基底的不同坐标位置上^[54],当样本流过或接触基底时,目标物仅在特定位置发生结合反应,通过读取各位置信号即可实现多指标分析^[55]。由于不同检测通道在物理上隔离,空间多重化有效避免了光谱重叠带来的信号串扰问题,且理论上检测通道的数量仅受限于基底面积和加工精度,具有极高的扩展潜力。因此,空间多重化具有信号串扰低、扩展性强、易于集成等显著优势,已成为高通量筛选、基因组学、蛋白质组学及即时检测 POCT 领域的核心技术^[56]。

2.1.1 微流控芯片 利用微流控芯片实现多靶标的多重检测,其本质是通过微尺度流体控制与空间上的多模式读出,实现在单一芯片上的高通量和高特异性的定量分析,其主要包括平行通道型和级联通道型。例如,2024 年,Wang 等^[43]开发了一种三

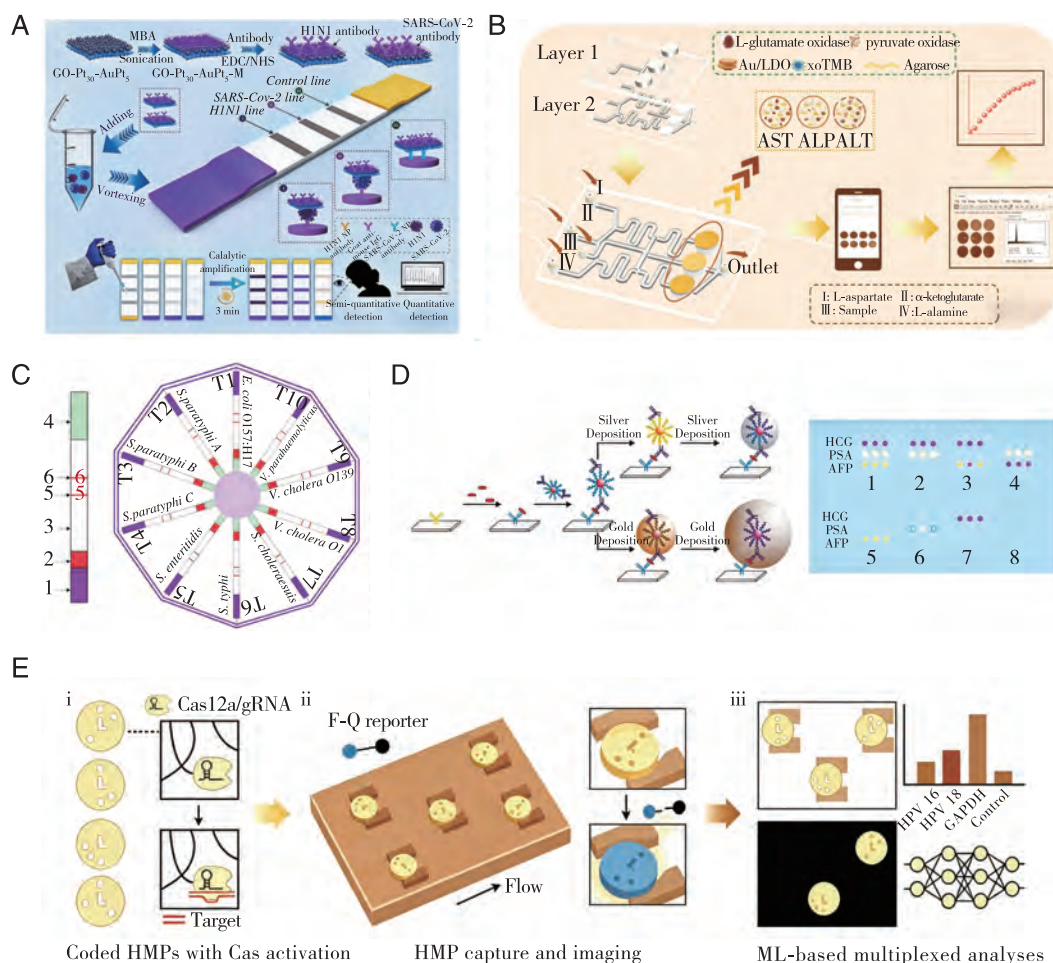
维(3D)薄膜状纳米酶(GO-Pt₃₀-AuPt₅),并将 GO-Pt₃₀-AuPt₅ 引入多重 LFA 中,实现了对两种重要呼吸道病毒的超灵敏同步检测(图 3A),灵敏度达到 1 pg/mL 水平。2022 年,Liu 等^[44]研究设计了一种新型比色即时检测 POCT 平台,用于测定 3 种肝脏相关生物标志物天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase,AST)、丙氨酸转氨酶(alanine Aminotransferase,ALT)和碱性磷酸酶(alkaline Phosphatase,ALP)。该平台将琼脂糖水凝胶集成于便携式设备中,水凝胶内负载纳米酶及不同反应物质以触发特异性反应并产生比色信号(图 3B)。AST 与 ALT 的检测基于生成过氧化氢的级联反应与纳米酶催化 TMB 的显色反应。ALP 则将 L-抗坏血酸-2-磷酸水解为抗坏血酸,然后在 Au/LDO 辅助下使 oxTMB 褪色。通过智能手机配合,水凝胶的比色信息可转换为色度值,实现 ALT、AST 及 ALP 的定量分析^[44]。2016 年,Zhao 等^[45]建立了一种基于 10 通道上转换荧光磷光技术的侧向流动检测法(TC-UPT-LF),用于快速同步检测 10 种流行性食

源性病原体(图 3C)。通过优化设计,将 10 种不同单靶标 UPT-LF 试纸条整合至同一 TC-UPT-LF 检测盘中。10 个检测通道无交叉反应性,可实现多重靶标特异性检测。未经富集处理时,该检测法对各病原体的检测灵敏度为 10^4 CFU/mL 或 10^5 CFU/mL;经样本富集后灵敏度提升至 10 CFU/0.6 mg^[45]。

2.1.2 微阵列 利用微阵列实现多靶标的多重检测,其核心在于将特异性探针固定在微米级的规律点阵上,通过二维空间的点阵实现多靶标的并行识别与编码,同时极大地提升检测的通量和速度。例如,2009 年, Kim 等^[46]报道了在基于微阵列的扫描计量免疫分析法中,采用化学镀金技术作为光散射信号增强剂的应用,该方法使用金纳米颗粒探针进行多重检测(图 3D)。与常规银显色法相比,金显色法可实现更强的信号增强效果,且多次金属显色处理较单次显色能显著提升检测信号强度,该技术

实现了对 3 种蛋白质癌症标志物在低皮摩尔浓度下缓冲液及 10% 血清环境中的高选择性检测^[46]。2023 年, Roh 等^[47]研发了一种基于水凝胶的 CRISPR/Cas12 系统(图 3E),称为 CLAMP(Cas 负载注释微粒)。该方法将 CRISPR/Cas 反应空间编码于水凝胶微粒(hydrogel microparticles, HMPs)中进行分隔,使每个 HMP 成为独立的检测载体,每种 HMP 类型通过空间编码标记,可特异性识别单一靶标,从而激活 HMPs 内的荧光信号。CLAMP 检测具有快速性、高灵敏度及单锅多重检测能力^[47]。

显而易见,利用合理的空间配置构建的多种生物标志物检测的生物传感器,实现了同步靶标筛查以及通过物理阻隔避免了信号的串扰,同时其核心架构便于标准化集成和制造,有利于检测的全自动化推进,显著降低了检测操作的门槛,对助力基层诊疗以及突发卫生事件筛查工作具有重要意义。



A:利用测流层析唯一路径同时检测两种呼吸道病毒;B:POCT 平台同时测定 3 种肝脏相关生物标志物;C:将 10 种不同单靶标试纸条整合至同一检测盘中,实现多重靶标特异性检测;D:利用微阵列免疫扫描技术实现多重靶标检测;E:将 CRISPR /Cas 反应空间编码于 HMPs 中,实现多重靶标检测。

图 3 空间多重化的多种生物标志物检测

2.2 利用信号多重化实现多种生物标志物检测

传统诊断多依赖于“单标志物—单信号”模式,但在面对癌症异质性、传染病及复杂代谢疾病时,单一指标往往存在灵敏度低、特异性差的问题。多重信号检测通过在同一体系中产生多种信号同时分析多种标志物,提供了更全面的疾病图谱^[57]。实现多重信号检测的技术瓶颈在于如何在一个复杂的反应体系中产生并区分来自不同目标物的信号。其核心在于利用信号的多维特性(如波长、颜色、体积等)构建编码体系^[58]。

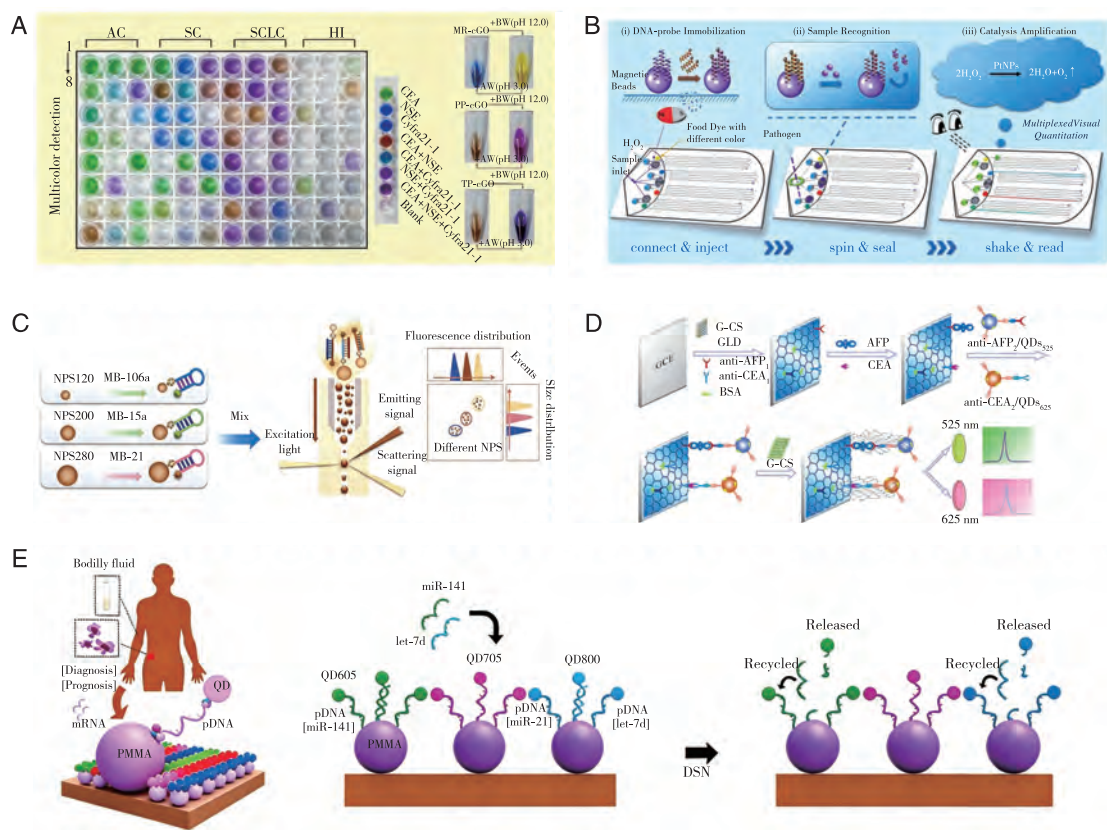
2.2.1 颜色信号多重化 利用颜色信号的多重化实现多靶标检测,是将不同的靶标映射为可区分的颜色特征(如色相、饱和度等),可以通过简易视觉和光学设备读取并解码样品信息的检测策略。例如,2016年,Li等^[48]首次报道了一种由小分子变色染料和抗体修饰的羧基氧化石墨烯(cGO)组成的新型信号放大方案(图4A)。这种改进的ELISA被命名为ALISA(变色-cGO连接免疫吸附测定法),其原理是通过向测试溶液中简单添加酸性或碱性水(AW或BW),即可快速释放与cGO表面紧密结合的显色染料。其使用的显色染料颜色会随着pH值的变化而改变,多种变色分子可作为彩色条形码使用,实现多色检测^[48]。2018年,Wei等^[49]构建了一种集成纳米颗粒介导磁性适体传感器的多重条形码旋转芯片(MB-SpinChip),其检测原理基于过氧化氢可被纳米颗粒催化分解产生氧气,随后食用色素在氧气压力作用下进入通道,形成具有不同颜色和长度的条形码信号(图4B),实现信号放大和肉眼检测。该传感器可定量检测肠沙门氏菌、大肠杆菌和李斯特菌等3种主要食源性病原体,检测限约为10 CFU/mL。

2.2.2 体积信号多重化 利用探针体积和尺寸差异实现多靶标检测,其属于物理编码型策略,通过将不同的靶标利用具有显著尺寸差异的探针或探针复合物进行标记,再结合差异显著的散射强度或角度实现靶标的分离、识别与定量。例如,2020年,Wang等^[50]研究报道了一种新型液体悬浮纳米芯片技术,通过同步检测分子信标修饰聚苯乙烯纳米颗粒的侧向散射光与荧光信号

实现微小RNA的多重检测(图4C)。聚苯乙烯纳米颗粒通过可调尺寸实现散射光强度差异化编码。在该检测系统中,靶向miRNA杂交导致分子信标从发夹结构转变为棒状结构,荧光信号得以恢复。经优化设计的液体悬浮纳米芯片系统实现了3种结直肠癌相关miRNA的定量检测,具有低检测限和高灵敏度优势^[50]。

2.2.3 波长信号多重化 利用探针波长的多重化实现多靶标检测是根据不同探针具有不同的光谱峰位(荧光发射、LSPR吸收和拉曼位移等),探针标记后不同的靶标对应不同的特征波长,从而实现在均相体系或单孔通道内的靶标定量。例如,2013年,Guo等^[51]研究开发了一种多路ECL免疫分析法,利用多色量子点作为标记物、石墨烯作为导电桥,实现两种不同肿瘤标志物——甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)和癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)的同步测定(图4D)。该方法在玻璃碳电极上构建了典型的夹心免疫复合物,分别用QDs525和QDs625标记于二抗抗AFP和抗CEA抗体上,从而获得可区分的ECL信号。同时采用石墨烯作为导电桥以促进量子点与电极间的电子转移,使ECL强度提升约30倍^[51]。2022年,Nam等^[52]报道了一种多色量子点阵列(polychromatic quantum dot array, PQDA),用于构建群体信号集合体,实现对miRNA的多重化精准定量分析(图4E)。该PQDA采用基于自组装聚甲基丙烯酸甲酯图案化技术。其设计原理是通过双链特异性核酸酶(DSN)的作用,释放靶向miRNA特异性荧光QDs集合体。基于释放的QD分布模式产生的群体信号集合体,可在高达6个数量级的宽动态范围内,以多重化方式实现对靶miRNA的超特异性识别^[52]。

因此,利用信号多重化的多种靶标检测的生物传感器不仅保留了传统多种生物标志物检测技术的高通量,并且由于无需物理分隔或复杂芯片结构,不同靶标通过特异性信号在同一反应体系内独立响应,实现了“一管多测”。检测步骤的精简,极大地降低了检测的时间和检测的成本,对推动检测的自动化和规模化具有重要意义。



A:小分子变色染料和抗体修饰的羧基氧化石墨烯(cGO)构建 ALISA 实现多靶标检测;B:多重条形图旋转芯片实现 3 种食源性病原体检测;C:新型液体悬浮纳米芯片技术实现微小 RNA 的多重检测;D:利用多色量子点作为标记物、石墨烯作为导电桥,实现两种不同肿瘤标志物的检测;E:PQDA 实现对 miRNA 的多重化精准定量分析。

图 4 信号多重化的多种生物标志物检测

3 展望

纳米科学与材料科学的兴起催生了众多多模态生物传感平台,且已在多个领域得到广泛应用^[59-60]。本文系统综述了构建多模态生物传感模式的传感方法、整合策略及临床生物标志物的检测应用。多模态生物传感平台相较于单模态生物传感平台有着显著的优越性:(1)通过融合各模式的独特优势,多模式信号输出规避了单一信号传感模式的固有局限,从而实现高性能的检测。(2)多模式信号输出产生的信号独立且互不干扰,支持自验证与自校正机制,从而提升检测的稳定性和可靠性。(3)不同信号输出模式在灵敏度、线性范围、信号采集方式上存在差异,用户可根据具体应用场景精准选择输出信号,以实现最佳分析效能。(4)通过不同信号的独立验证,可以实现对多个靶标的同时分析

检测,用户可以根据不同检测靶标之间的搭配实现对某一疾病的精准识别,达到快速诊断的目的。

尽管多模态传感领域已取得重大进展,但在临床广泛应用前仍面临若干挑战。(1)基于多模态的生物传感器用于临床生物标志物检测时,通常需分析血液等体液样本。然而血液中复杂的成分(包括内源性酶样物质、还原剂、脂质、金属离子等)可能对传感器产生干扰,因此开发具有强抗干扰特性的生物传感器至关重要^[61]。(2)尽管多模式生物传感技术在 POCT 及实验室诊断等场景中的应用已稳步拓展^[62],但为了实现技术原型向成熟临床检测工具的转化,其仍面临工艺标准化、设备集成度及操作便捷性等方面难题。针对多模态传感器的不足,研究人员已获得一些初见成效的解决方案:(1)通过开发基于抗体或者磁珠修饰的功能化的纳米材料,可有效降低和规避血液或其他体

液中的复杂基质的干扰^[40]。(2)通过整合医学检验、材料工程与纳米技术领域的最新研究成果^[8],多模式检测系统有望在工艺标准化、设备集成与操作便捷性上实现突破,从而赋予多模式传感策略卓越的转化潜力,并使其最终落地为稳定可靠的临床检测工具^[63]。

生物标志物多重检测技术是未来精准医疗发展的核心驱动力之一^[64]。其突破了单一指标的局限,显著提升了检测的数据通量和维度,并缩短了检测的周期,节约了珍贵的临床样本和检测成本。同时通过整合空间及多模态信号策略,结合纳米材料与生物纳米机器的高效放大,该技术已显著提升了对复杂疾病的诊断能力^[15]。随着人工智能、微纳制造及材料科学的交叉融合,多重检测系统正朝着更智能、更便携、更精准的方向演进。未来,它将成为疾病早期筛查、个性化治疗及健康监测不可或缺的工具,为实现“早发现、早诊断、早治疗”的医疗愿景奠定坚实基础。

[参考文献]

- [1] Hampel H, O'bryant S E, Molinuevo J L, et al. Blood-based biomarkers for alzheimer disease: mapping the road to the clinic [J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, 14: 639-652.
- [2] Ma L, Guo H, Zhao Y, et al. Liquid biopsy in cancer: current status, challenges and future prospects [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 336.
- [3] Yu D, Li Y, Wang M, et al. Exosomes as a new frontier of cancer liquid biopsy [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 56.
- [4] Cheon J, Qin J, Lee L P, et al. Advances in biosensor technologies for infection diagnostics [J]. *Acc Chem Res*, 2022, 55(2): 121-122.
- [5] 史峥, 周鹏新. 荧光定量 PCR 与酶联免疫吸附法检测急性呼吸道感染患者常见呼吸道病毒的应用价值 [J]. *航空航天医学杂志*, 2026, 37(5): 542-545.
- [6] 冯俊霞, 陈锦峰, 崔晓虎, 等. 实时荧光定量 PCR 检测猴痘病毒的方法研究 [J]. *遵义医科大学学报*, 2024, 47(5): 508-512.
- [7] Sun R, Li Y, Du T, et al. Recent advances in integrated dual-mode optical sensors for food safety detection [J]. *Trends Food Sci Tech*, 2023, 135: 14-31.
- [8] Coskun A F, Topkaya S N, Yetisen A K, et al. Portable multiplex optical assays [J]. *Advanced Optical Materials*, 2019, 7(4): 1801109.
- [9] Shen B, Wu Q, Fan Y, et al. TiO₂@ Ag nanozyme enhanced electrochemiluminescent biosensor coupled with DNA nanoframework-carried emitters and enzyme-assisted target recycling amplification for ultrasensitive detection of microRNA [J]. *Chem Eng J*, 2022, 445: 136820.
- [10] Wang M, Liu H, Fan K. Signal amplification strategy design in nanozyme-based biosensors for highly sensitive detection of trace biomarkers [J]. *Small Methods*, 2023, 7(11): 2301049.
- [11] Zheng M, Liu M, Ma F, et al. Novel colorimetric-fluorescent dual-mode biosensing platform for detecting acetylcholinesterase and screening acetylcholinesterase inhibitors based on trimetallic nanozymes [J]. *Chem Eng J*, 2025, 505: 159482.
- [12] Zhu H Y, Ding S N. Dual-signal-amplified electrochemiluminescence biosensor for microRNA detection by coupling cyclic enzyme with CdTe QDs aggregate as luminophor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2019, 134: 109-116.
- [13] Sun B, Panferov V, Guo X, et al. A novel triple-signal biosensor based on ZrFe-MOF@ PtNPs for ultrasensitive aflatoxins detection [J]. *Biosens Bioelectron*, 2025, 267: 116797.
- [14] Zhi L, Li M, Li M, et al. Realizing ultrasensitive and accurate point-of-care profiling for ATP with a triple-mode strategy based on the ATP-induced reassembly of a copper coordination polymer nanoflower [J]. *Anal Chem*, 2024, 96(16): 6202-6208.
- [15] Li K, Wang J, Wang J, et al. A programmable microfluidic paper-based analytical device for simultaneous colorimetric and photothermal visual sensing of multiple enzyme activities [J]. *Anal Chem*, 2024, 96(29): 12181-12188.
- [16] Qin J, Guo N, Yang J, et al. Recent advances in metal oxide nanozyme-based optical biosensors for food safety assays [J]. *Food Chem*, 2024, 447: 139019.
- [17] Ashley E A. Towards precision medicine [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17(9): 507-522.
- [18] Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakakis F, et al. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(8): 472-484.
- [19] Poste G. Bring on the biomarkers [J]. *Nature*, 2011, 469(7329): 156-157.
- [20] Shang H, Zhang X, Ding M, et al. A smartphone-assisted colorimetric and photothermal probe for glutathione detection based on enhanced oxidase-mimic CoFeCe

- three-atom nanozyme in food [J]. Food Chem, 2023, 423: 136296.
- [21] Zhang S, Huang Y, Ren H, et al. Facile and portable multimodal sensing platform driven by photothermal-controlled release system for biomarker detection [J]. Biosens Bioelectron, 2023, 235: 115413.
- [22] Yang H, Zheng J, Wang W, et al. Zr-MOF carrier-enhanced dual-mode biosensing platforms for rapid and sensitive diagnosis of mpox [J]. Adv Sci, 2024, 11(38): 2405848.
- [23] Wang Z, Zou R, Yi J, et al. "Four-in-one" multifunctional dandelion-like Gold@ platinum nanoparticles-driven multimodal lateral flow immunoassay [J]. Small, 2024, 20(29): 2310869.
- [24] Mao Z, Chen R, Huang L, et al. CRISPR analysis based on Pt@ MOF dual-modal signal for multichannel fluorescence and visual detection of norovirus [J]. Biosens Bioelectron, 2025, 273: 117153.
- [25] Li J, Cao C, Li H, et al. Highly sensitive quantitative detection of glutathione based on a fluorescence-colorimetric dual signal recognition strategy [J]. Sens Actuators B Chem, 2024, 409: 135597.
- [26] Zhi L, Zhang S, Li M, et al. Achieving ultrasensitive point-of-care assay for mercury ions with a triple-mode strategy based on the mercury-triggered dual-enzyme mimetic activities of Au/WO₃ hierarchical hollow nanoflowers [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2022, 14(7): 9442-9453.
- [27] Tang J, Liu L, Qin J, et al. Biocatalysis-mediated MOF-to-prussian blue transformation enabling sensitive detection of NSCLC-associated miRNAs with dual-readout signals [J]. Biosens Bioelectron, 2022, 206: 114139.
- [28] Luo X, Huang G, Bai C, et al. A versatile platform for colorimetric, fluorescence and photothermal multi-mode glyphosate sensing by carbon dots anchoring ferrocene metal-organic framework nanosheet [J]. J Hazard Mater, 2023, 443: 130277.
- [29] Su L, Liu B, Su Y, et al. NIR II light response-based PDA/AuPt@ CuS composites; simultaneous readout of temperature and pressure sensing strategy for portable detection of pathogenic bacteria [J]. Talanta, 2023, 260: 124629.
- [30] Zhu N, Liu C, Liu R, et al. Biomimic nanozymes with tunable peroxidase-like activity based on the confinement effect of metal-organic frameworks (MOFs) for biosensing [J]. Anal Chem, 2022, 94(11): 4821-4830.
- [31] Wu Q, Xi J, Li L, et al. "Cave effect" induces self-assembled bimetallic hollow structure for three-in-one lateral flow immunoassay [J]. Nano Letters, 2024, 24(20): 5993-6001.
- [32] Kong L, Lv S, Qiao Z, et al. Metal-organic framework nanoreactor-based electrochemical biosensor coupled with three-dimensional DNA walker for label-free detection of microRNA [J]. Biosens Bioelectron, 2022, 207: 114188.
- [33] Shen B, Li L, Liu C, et al. Mesoporous nanozyme-enhanced DNA tetrahedron electrochemiluminescent biosensor with three-dimensional walking nanomotor-mediated CRISPR/Cas12a for ultrasensitive detection of exosomal microRNA [J]. Anal Chem, 2023, 95(9): 4486-4495.
- [34] Wang H, Wang Y, Wang W, et al. Materials-functionalized point-of-care testing devices for pathogen detection [J]. Acc Mater Res, 2023, 4(12): 1083-1094.
- [35] Lin Z, Han Z, O'connell G E, et al. Graphene and MOF assembly: enhanced fabrication and functional derivative via MOF amorphization [J]. Adv Mater, 2024, 36(19): 2312797.
- [36] Liu X, Jiang C, Chen G. Brightening upconversion nanoparticles [J]. Acc Chem Res, 2026: 440-449.
- [37] Reiss P, Protiere M, Li L. Core/shell semiconductor nanocrystals [J]. Small, 2009, 5(2): 154-168.
- [38] Chen R, Chen X, Zhou Y, et al. "Three-in-one" multifunctional nanohybrids with colorimetric magnetic catalytic activities to enhance immunochromatographic diagnosis [J]. ACS Nano, 2022, 16(2): 3351-3361.
- [39] Li C, Li Y, Wu S, et al. Flexible scaffold modulation of spatial structure and function of hierarchically porous nanoparticle@ ZIF-8 composites to enhance field deployable disease diagnostics [J]. Small Methods, 2025, 9(1): 2400738.
- [40] Liu X, Wu W, Cui D, et al. Functional micro-/nanomaterials for multiplexed biodetection [J]. Adv Mater, 2021, 33(30): 2004734.
- [41] Von Hoff D D, Ramanathan R K, Borad M J, et al. Gemcitabine plus nab-paclitaxel is an active regimen in patients with advanced pancreatic cancer: a phase I/II trial [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(34): 4548-4554.
- [42] Wang X F, Wu Y H, Wang M S, et al. CEA, AFP, CA125, CA153 and CA199 in malignant pleural effusions predict the cause [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(1): 363-368.

- [43] Wang C, Shen W, Li Z, et al. 3D film-like nanozyme with a synergistic amplification effect for the ultrasensitive immunochromatographic detection of respiratory viruses [J]. ACS Nano, 2024, 18(37): 25865-25879.
- [44] Liu X, Mei X, Yang J, et al. Hydrogel-involved colorimetric platforms based on layered double oxide nanozymes for point-of-care detection of liver-related biomarkers [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2022, 14(5): 6985-6993.
- [45] Zhao Y, Wang H, Zhang P, et al. Rapid multiplex detection of 10 foodborne pathogens with an up-converting phosphor technology-based 10-channel lateral flow assay [J]. Sci Rep, 2016, 6(1): 21342.
- [46] Kim D, Daniel W L, Mirkin C A. Microarray-based multiplexed scanometric immunoassay for protein cancer markers using gold nanoparticle probes [J]. Anal Chem, 2009, 81(21): 9183-9187.
- [47] Roh Y H, Lee C Y, Lee S, et al. CRISPR-enhanced hydrogel microparticles for multiplexed detection of nucleic acids [J]. Adv Sci, 2023, 10(10): 2206872.
- [48] Li C, Yang Y, Wu D, et al. Improvement of enzyme-linked immunosorbent assay for the multicolor detection of biomarkers [J]. Chem Sci, 2016, 7(5): 3011-3016.
- [49] Wei X, Zhou W, Sanjay S T, et al. Multiplexed instrument-free bar-chart spinchip integrated with nanoparticle-mediated magnetic aptasensors for visual quantitative detection of multiple pathogens [J]. Anal Chem, 2018, 90(16): 9888-9896.
- [50] Wang X, Yuan W, Xu Y, et al. Sensitive multiplex detection of MicroRNAs based on liquid suspension nanochip [J]. Anal Chim Acta, 2020, 1112: 24-33.
- [51] Guo Z, Hao T, Du S, et al. Multiplex electrochemiluminescence immunoassay of two tumor markers using multicolor quantum dots as labels and graphene as conducting bridge [J]. Biosens Bioelectron, 2013, 44: 101-107.
- [52] Nam T W, Park Y, Jung Y S, et al. Polychromatic quantum dot array to compose a community signal ensemble for multiplexed miRNA detection [J]. ACS Nano, 2022, 16(7): 11115-11123.
- [53] Xu Z, Chen D, Li T, et al. Microfluidic space coding for multiplexed nucleic acid detection via CRISPR-Cas12a and recombinase polymerase amplification [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 6480.
- [54] Zhan X, Jiang Y, Li Z, et al. Split DNA tetrahedron-mediated spatiotemporal-hierarchy CRISPR cascade interrogated with Au@ Pt nanolabels and artificial intelligence for a cervical cancer microRNA bioassay [J]. ACS Nano, 2025, 19(25): 22849-22869.
- [55] Shi Y, Cai Y, Cao Y, et al. Recent advances in microfluidic technology and applications for anti-cancer drug screening [J]. TrAC Trends in Ana Chem, 2021, 134: 116118.
- [56] Gao X, Boryczka J, Kasani S, et al. Enabling direct protein detection in a drop of whole blood with an “on-strip” plasma separation unit in a paper-based lateral flow strip [J]. Anal Chem, 2020, 93(3): 1326-1332.
- [57] Cheng Y-Y, Chen Z, Cao X, et al. Programming bacteria for multiplexed DNA detection [J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 2001.
- [58] Hu F, Zeng C, Long R, et al. Supermultiplexed optical imaging and barcoding with engineered polyynes [J]. Nat Methods, 2018, 15(3): 194-200.
- [59] Jin C, Yang S, Zheng J, et al. based triple-readout nanosensor for point-of-care detection of glucose in urine [J]. Biosens Bioelectron, 2025, 269: 116931.
- [60] Li Y, Cui Z, Shi L, et al. Asymmetric nanobowl confinement-engineered “plasmonic storms” for machine learning-assisted ultrasensitive immunochromatographic assay of pathogens [J]. Anal Chem, 2024, 96(38): 15446-15456.
- [61] Jiang W, Feng Y, Jiang C, et al. Platinum-nickel nanoparticle-based oxidase-like nanozyme for colorimetric/photothermal dual-mode detection of organophosphorus pesticides [J]. Sens Actuators B Chem, 2024, 412: 135861.
- [62] Liang M, Cai X, Gao Y, et al. A versatile nanozyme integrated colorimetric and photothermal lateral flow immunoassay for highly sensitive and reliable aspergillus flavus detection [J]. Biosens Bioelectron, 2022, 213: 114435.
- [63] Yu X, Zhuang W, Bai W, et al. Nanozyme-based biosensors with different combinations of sensing modes for clinical biomarker detection; biosensing strategies, practical applications, and future perspectives [J]. Coord Chem Rev, 2025, 542: 216850.
- [64] Wu D, Zhao Q, Wang Y, et al. Fluorescent iron-doped polymer dot nanozyme-based cascade system for dual-mode detection of acetylcholinesterase activity and its inhibitors [J]. Anal Chem, 2024, 96(39): 15682-15691.

[收稿 2026-04-27; 修回 2026-05-19]

(编辑: 陈 婷)