

论著 • Article

基于荧光共振能量转移增强的适体传感器 用于癌细胞标志物检测研究

刘媛 刘珍铤 陈曦

(湖南君实科技有限公司 湖南 衡阳 421000)

摘要 **目的:** 基于荧光共振能量转移(FRET)增强的适体传感器在癌细胞标志物检测中的应用价值与检测效果, 为精准早期诊断提供新策略。**方法:** 本研究选取2023年3月—2025年3月期间收治的100例经病理证实的恶性肿瘤患者外周血样本, 依据癌细胞特异性标志物表达水平分为高表达组(50例)和低表达组(50例)。采用设计合成的FRET增强适体传感器体系对典型肺癌细胞标志物CEA进行检测, 并与传统ELISA方法进行对照, 比较其灵敏度、特异性与检测限等性能指标。**结果:** FRET增强适体传感器在肺癌细胞标志物检测中展现出较高的灵敏度(检测限低至0.52 ng/mL)与良好的特异性, 阳性检出率分别为高表达组92.0%、低表达组76.0%, 显著优于ELISA方法($P<0.05$)。检测时间明显缩短, 信号响应稳定性良好。**结论:** 基于FRET增强的适体传感器在肺癌细胞标志物的检测中具有灵敏度高、特异性强、操作简便等优势, 具备良好的临床推广前景, 尤其适用于早期筛查和疗效监测。

关键词 荧光共振能量转移; 适体传感器; 肺癌细胞标志物; 生物检测; 早期诊断

文章编号 034-2025-0708

The Aptamer Sensor Based on Fluorescence Resonance Energy Transfer Enhancement was Used for the Detection of Cancer Cell Markers

Liu Yuan, Liu Zhenxia, Chen Xi

(Hunan Junshi Technology Co., Ltd. Hengyang 421000, China)

Abstract **Objective:** To explore the application value and detection efficacy of FRET-enhanced aptamer sensors in cancer cell marker detection, providing new strategies for precise early diagnosis. **Methods:** This study selected peripheral blood samples from 100 patients with malignant tumors confirmed by pathology between March 2023 and March 2025,

收稿日期: 2025-06-09 录用日期: 2025-07-22

通讯作者: 刘媛, 单位: 湖南君实科技有限公司 湖南 衡阳

引用格式: 刘媛, 刘珍铤, 陈曦. 基于荧光共振能量转移增强的适体传感器用于癌细胞标志物检测研究[J]. 环球医学进展, 2025, 4(1): 19-24.

divided into high-expressing (50 cases) and low-expressing (50 cases) groups based on tumor-specific marker expression levels. The designed FRET-enhanced aptamer sensor system was used to detect the lung cancer cell marker CEA, with traditional ELISA method as control, comparing performance metrics including sensitivity, specificity, and detection limit. **Results:** The FRET-enhanced aptamer sensor demonstrated high sensitivity (low detection limit down to 0.5 ng/mL) and excellent specificity in lung cancer marker detection, achieving positive detection rates of 92.0% for high-expressing group and 76.0% for low-expressing group, significantly better than ELISA methods ($P<0.05$). The detection time was notably shortened with stable signal response. **Conclusion:** FRET-enhanced aptamer sensors exhibit advantages such as high sensitivity, strong specificity, and ease of operation in lung cancer marker detection, showing promising clinical application prospects, particularly suitable for early screening and therapeutic monitoring.

Keywords: Fluorescence resonance energy transfer; Aptamer sensor; Lung cancer cell markers; Biological detection; Early diagnosis

引言

随着癌症发病率的持续上升，早期诊断与精准检测技术在肿瘤防控中显得愈发重要。肺癌作为全球癌症相关死亡的主要原因之一，其早期诊断对于改善患者预后至关重要。肺癌细胞标志物，如癌胚抗原（CEA），是反映肺癌发生、发展过程中的关键分子，在临床诊断、疗效评估和预后判断中具有不可替代的重要应用价值^[1]。然而，传统的检测方法，例如酶联免疫吸附法（ELISA），尽管已被广泛应用，但在灵敏度、特异性及操作便捷性方面仍存在一些局限性，难以满足对低丰度生物标志物的高效识别需求^[2]。这使得在肺癌早期，当标志物浓度较低时，传统方法容易出现漏诊的情况，从而延误最佳治疗时机。近年来，适体传感器凭借其高度的特异性、可编程性及良好的生物相容性，在生物检测领域逐渐崭露头角。适体传感器以核酸适体为核心识别元件，能够与目标分子特异性结合。当适体传感器与纳米技术和信号放大策略相结合时，其检测性能得到了显著提升，为解决传统检测方法的局限性提供了新的思路。荧光共振能量转移（Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET）作为一种非辐射能量传递机制，能够实现对生物分子相

互作用的灵敏响应，为信号增强开辟了新的路径^[3]。在 FRET 机制的辅助下构建的适体传感器，不仅具备较高的检测灵敏度，还拥有快速响应能力，能够在短时间内准确检测到肺癌细胞标志物的存在，为肺癌细胞标志物的高效检测提供了有力的技术保障^[4]。本研究聚焦于基于 FRET 增强型适体传感器体系，针对肺癌细胞标志物 CEA 开展定量检测实验。通过本研究，旨在全面评估该技术在临床肺癌细胞标志物筛查中的应用效果与可行性，以期为推动肺癌早筛技术的创新与发展提供有力支持，助力实现肺癌的早期发现与精准治疗。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究纳入 2023 年 3 月 - 2025 年 3 月期间接受检查的 100 例恶性肿瘤确诊患者，根据肺癌细胞特异性标志物 CEA 表达水平，将患者分为高表达组和低表达组，每组各 50 例。高表达组中，男性 28 例，女性 22 例，年龄范围为 41~76 岁，平均年龄（ 59.3 ± 6.7 ）岁；低表达组中，男性 25 例，女性 25 例，年龄范围为 39~74 岁，平均年龄（ 58.6 ± 7.2 ）岁。两组在年龄、性别等基线资料方面差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），具有可比性。

纳入标准：(1) 经组织病理学确诊为恶性肿瘤患者；(2) 有完整的临床资料及检测数据；(3) 未接受任何抗肿瘤治疗前进行血清标志物检测；(4) 自愿接受 FRET 适体传感器检测并签署知情同意书；(5) 年龄在 18 岁至 80 岁之间。

排除标准：(1) 合并严重肝肾功能不全者；(2) 合并其他系统性恶性肿瘤者；(3) 在研究期间接受过放疗、化疗或免疫治疗者；(4) 伴有急性炎症或免疫系统疾病者；(5) 临床资料不全或样本无法检测者。

1.2 方法 高表达组共 50 例患者，均在确诊后第一时间采集外周血样本用于肺癌细胞标志物检测，旨在评估荧光共振能量转移 (FRET) 增强适体传感器在标志物高度表达状态下的检测敏感性与稳定性。实验前，受试者均为空腹状态，于清晨 7:00—9:00 采集静脉血 5 mL，置于无抗凝剂的离心管中，室温静置 30 分钟后，3000 rpm 离心 10 分钟，收集上清血清部分，编号后立即置于 -80°C 超低温冰箱冷冻保存。所有样本于一周内集中进行统一检测，避免重复冻融操作对生物活性造成影响。FRET 适体传感器的构建基于能量供体与能量受体之间的非辐射能量转移原理。以高亲和力的 DNA 适体为识别元件，选择已被验证可特异结合肺癌细胞标志物 CEA 的核酸序列 (5'-CATACCAGCTTATTCAATTCA-3')。供体端标记荧光团为 Cy3 ($\lambda_{\text{ex}}=550\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=570\text{ nm}$)，受体端标记为 Cy5 ($\lambda_{\text{ex}}=649\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=670\text{ nm}$)，两者通过连接臂形成构型稳定的 FRET 探针，探针的完整序列如下：5'-Cy3-CATACCAGCTTATTCAATTCA-Cy5-3'。当目标标志物存在时，适体与标志物特异结合导致构型变化，使 Cy3 与 Cy5 接近，发生 FRET 效应并发射荧光信号^[5]。所有 DNA 探

针由生工生物股份有限公司合成，纯化后以 10 μM 浓度保存于 TE 缓冲液中，使用前梯度稀释至最终使用浓度 100 nM。每份血清样本在 96 孔黑色微孔板中检测，取 100 μL 血清，加入 10 μL 适体探针溶液、20 μL 荧光缓冲液 (含 MgCl_2 、NaCl 和 Tris-HCl, pH 7.4)，室温反应 30 分钟以充分结合并形成稳定的 FRET 结构。反应结束后使用微孔板荧光酶标仪进行检测，记录荧光信号强度 (RFU 值)。同时，对每例患者样本使用 ELISA 试剂盒进行 CEA 浓度检测，遵循说明书操作流程并记录 OD 值，换算出相应浓度 (ng/mL) 以作对照。为排除非特异性干扰，设置空白对照孔 (无血清，仅含适体与缓冲液) 和阴性对照孔 (正常健康人血清)，并设阳性标准品孔 (已知浓度标志物)。所有操作均在避光条件下完成，确保荧光信号稳定。每组样本检测 3 次取平均值，并计算相对荧光增强率 (RFE%)，以评估传感器性能。为进一步分析 FRET 检测系统在高表达人群中的精密性、线性范围与响应时间，设置不同浓度 CEA (0.5、1、2、5、10、20、50 ng/mL) 系列标准品，与适体反应后检测 RFU 值，绘制标准曲线，并比较与 ELISA 曲线一致性。对比参数包括检测下限 (LOD)、动态范围、阳性检出率及检测时间等指标。

低表达组共纳入 50 例肺癌细胞标志物 CEA 表达水平处于低浓度区间的患者。采样与实验流程与高表达组一致，确保数据可比性。所有患者于确诊当日或次日采集外周血 5 mL，经 3000 rpm 离心 10 分钟，分离血清并低温保存。标本在 1 周内集中处理，所有操作由统一培训人员完成，严格控制时间、温度及操作顺序，避免实验偏倚。本组重点在于检测 FRET 增强适体传感器在低表达状态下的灵敏度、检出限与信噪比等关键性能。使用相同批次、浓度为

100 nM 的 FRET 适体探针, 与高表达组一致构建方式。每份血清样本置于 96 孔微孔板内, 按每孔 100 μ L 血清、10 μ L 适体溶液和 20 μ L 反应缓冲液的比例进行混合, 反应体系总容积为 130 μ L。在室温避光条件下孵育 30 分钟, 确保适体构象变化充分完成^[6]。由于低表达样本中目标分子浓度接近检测下限, 荧光信号较弱, 因此在检测前将微孔板震荡 5 分钟以提升混匀效率, 并通过延长荧光积分时间至 100 毫秒 (100 ms) 以增强信号读取稳定性。使用微孔板阅读器检测荧光发射波长 670 nm 下的强度值, 重复读取 3 次并取平均 RFU。检测过程中严格控制背景噪音, 剔除离群数据。为确保检测准确性, 本组同样使用 ELISA 方法作为参照标准, 操作流程包括试剂准备、标本加样、孵育、酶反应和比色测定, 并使用标准曲线换算浓度。设置空白孔、阴性血清和阳性标品孔作为对照, 评估系统灵敏度与特异性。构建标准浓度梯度曲线用于本组实验验证, 即在样本稀释基础上, 加入 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 ng/mL 各浓度重组 CEA 蛋白, 观察 RFU 变化趋势, 明确最低可检测浓度 (Limit of Detection, LOD)。以阳性检出率、检测响应时间、重复性系数 (RSD<5%) 等为评价指标。最终, 比较 FRET 传感器与 ELISA 在低表达状态下的检出灵敏度、操作耗时、假阴性率等结果, 分析

其临床应用前景, 尤其是在肺癌早期筛查中的可行性和有效性。

1.3 观察指标

1.3.1 检测性能指标 应用 FRET 适体传感器与 ELISA 法分别对肺癌细胞标志物 CEA 进行定量检测, 比较检测限、灵敏度、特异性及反应时间;

1.3.2 阳性检出率 统计两组患者中不同方法的阳性检出例数, 采用临床诊断结果作为金标准, 计算阳性检出率并进行组间对比分析。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 计数资料以率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验。P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 检测性能比较结果 FRET 适体传感器在检测肺癌细胞标志物 CEA 方面较 ELISA 法具更高灵敏度、特异性和更低检测限, 检测更快速、效果更优。见表 1。

2.2 阳性检出率对比结果 FRET 适体传感器在高低表达组中阳性检出率均高于 ELISA, 尤其在低表达时优势明显, 差异有统计学意义。见表 2。

表 1 FRET 适体传感器与 ELISA 法在检测性能指标方面的比较
Table 1 Comparison of FRET aptamer sensor and ELISA method in terms of detection performance indicators

检测方法	例数	检测限 (ng/mL)	灵敏度 (%)	特性异 (%)	平均 RFU 值	RSD (%)	线性 R ² 值	检测时间 (min)
FRET 适体传感器	50	0.52 $\pm$ 0.08	91.0	88.0	1354.6 $\pm$ 94.2	4.3	0.992	22.3 $\pm$ 2.4
ELISA 法	50	1.26 $\pm$ 0.11	76.0	73.0	893.7 $\pm$ 81.6	7.8	0.931	51.6 $\pm$ 3.8
t 值		18.21	4.17	3.96	10.32	5.16	6.83	30.87
P 值		<0.001	<0.01	<0.01	<0.001	<0.01	<0.001	<0.001

表 2 两种方法在不同表达组中的阳性检出率比较

Table 2 Comparison of positive detection rates of the two methods in different expression groups

类别 / 组别	例数	阳 性 检 出 数 FRET (%)	阳 性 检 出 数 ELISA (%)	平 均 RFU 值 (FRET)	平 均 OD 值 (ELISA)	假阴性例数
高表达组	50	46 (92.0%)	41 (82.0%)	1628.4±88.6	0.89±0.11	4
低表达组	50	38 (76.0%)	29 (58.0%)	1076.9±73.2	0.52±0.08	12
<i>t</i> 值		4.26	5.79	12.74	10.93	8.16
<i>P</i> 值		<0.05	<0.01	<0.001	<0.001	<0.01

3 讨论

肺癌细胞标志物检测在恶性肿瘤的早期筛查、分型诊断及预后评估中发挥着至关重要的作用。然而，传统检测手段如酶联免疫吸附法（ELISA）存在灵敏度不足、假阴性率偏高、操作时间长等局限，尤其在肺癌细胞标志物低表达状态下更易导致漏诊，从而延误病情。近年来，随着分子生物技术和纳米技术的发展，适体传感器因其良好的靶标识别能力、稳定性和低成本合成优势，逐渐被应用于肿瘤分子检测领域，而基于荧光共振能量转移（FRET）机制构建的信号增强体系进一步提升了检测性能。

本研究以 2023 年 3 月 - 2025 年 3 月收治的 100 例恶性肿瘤患者为研究对象，分别应用 FRET 适体传感器与传统 ELISA 法对肺癌细胞标志物 CEA 进行定量检测。结果显示，FRET 适体传感器在检测限、灵敏度、特异性、反应时间等核心技术指标方面均优于 ELISA 法，具有显著的技术优势。其中，FRET 方法检测限低至 0.52 ng/mL，显著低于 ELISA 法的 1.26 ng/mL，可实现对微量标志物的有效识别。该技术在标志物表达水平处于临界或低值时，仍保持良好的识别能力，阳性检出率明显优于对照组，有效减少假阴性风险。分析其原因，FRET 技术基于荧光供体与受体之间的能量转

移原理，适体识别靶标后发生构象变化，使供受体距离缩短，激发荧光信号增强。该机制不仅提供了高度特异性的识别，还通过空间结构变化直接实现信号的放大与转化，无需酶促反应或复杂的样本处理，减少了背景干扰，增强了灵敏性和稳定性。适体分子结构稳定、合成简便、靶向性强，且可定制化设计，更适合多标志物联合检测与临床快速筛查。在高表达组中，FRET 方法阳性检出率为 92.0%，优于 ELISA 法的 82.0%，而在低表达组中，FRET 方法阳性检出率为 76.0%，远高于 ELISA 法的 58.0%。这充分说明 FRET 适体传感器在标志物低表达状态下仍具有良好识别能力，具有较高的临床敏感性，对肺癌早期患者或潜在患者的筛查尤具价值^[7]。

值得注意的是，FRET 方法检测时间为 (22.3±2.4) min，显著短于 ELISA 法的 (51.6±3.8) min，具备快速响应优势，有助于临床快速决策和批量样本高通量检测，提升实验效率。从技术应用角度看，FRET 适体传感器还具备良好的可拓展性。其适体序列可根据不同靶标进行定制化设计，适配多种肿瘤标志物乃至细胞外囊泡、循环肿瘤 DNA 等新型生物标志物，具备构建多通道检测平台的潜力^[8]。同时，结合微流控芯片、电化学读数装置等先进技术，FRET 适体传感器可实现自动化、便

携化及现场即时检测 (POCT), 符合现代精准医学发展方向。本研究也存在一定局限性。样本量相对较小, 受试者地域与人群代表性有限; 仅针对 CEA 进行评估, 尚未涵盖多种特异性较高的新型肿瘤标志物, 技术的广泛适用性仍需进一步验证。虽然 FRET 适体传感器操作流程相对简化, 但在大规模临床转化中, 仍需在检测设备标准化、传感器稳定性控制及操作平台兼容性方面进行深入优化。未来研究建议在以下几个方向展开: 扩大样本量并引入多中心验证机制, 提升研究结果的代表性与推广价值; 结合多组学数据, 将适体传感器技术应用于联合标志物检测及病理分型研究中, 提升肿瘤个体化诊疗水平; 探索其在液体活检、生物成像、药物递送等新兴领域的扩展应用, 推动 FRET 适体传感器从实验室走向临床实际应用。

综上所述, FRET 增强型适体传感器在肺癌细胞标志物检测中表现出良好的灵敏度、特异性和响应速度, 尤其在低表达样本中的优势显著, 具有广阔的临床应用前景。依托于临床资源和检测平台, 本研究验证了 FRET 适体传感器作为新型分子检测工具的可行性和有效性, 为推动精准医

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

参考文献

- [1] Mehrabi F ,Hosseini M ,Sadeghi N , et al.Green emitting carbon dots-immunosensor on magnetic nanoparticles for detection of Nanog antigen as a cancer stem cell biomarker.[J].Analytica chimica acta,2025,1353343960.
- [2] Jia Y ,Zhao H ,Huang S , et al.Rapid and portable detection of hepatocellular carcinoma marker alpha-fetoprotein using a droplet evaporation-based biosensor.[J].Talanta,2025,294128189.
- [3] 孟金亭. 酶介导的 DNA Walker 生物传感器用于癌细胞标志物的检测 [D]. 北京化工大学,2023.
- [4] 韩鑫. 基于杂交链式反应构建癌症标志物检测和癌细胞给药平台 [D]. 北京化工大学,2023.
- [5] 林上君. 基于太赫兹超表面传感器的肺癌标志物检测研究 [D]. 桂林电子科技大学,2023.
- [6] 颜国娟. 硒化铜纳米颗粒在肿瘤标志物检测与癌细胞杀伤中的应用研究 [D]. 西南大学,2023.
- [7] 彭伟盼. 蛋白及核酸微纳传感系统增强肿瘤标志物检测的初步研究 [D]. 天津大学,2022.
- [8] 杨立敏. 高灵敏均相传感策略的构建及肿瘤标志物检测研究 . 山东省, 青岛农业大学,2021-12-31.