

α -突触核蛋白检测在帕金森病诊断中的应用

谭 汛, 张宝荣*

浙江大学医学院附属第二医院神经内科, 浙江 杭州

收稿日期: 2026年2月5日; 录用日期: 2026年2月27日; 发布日期: 2026年3月9日

摘 要

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是全球第二大神经退行性疾病, 传统诊断主要依赖临床症状学评估, 存在误诊、漏诊和早期诊断困难等问题。病理性 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn)的聚集是PD的核心病理特征, 在脑脊液、皮肤、血液等多种生物样本中均可检出, 为开发分子诊断标志物奠定了基础。 α -syn检测技术经历了从总量测定到构象特异性识别的演进, 其中, 脑脊液种子扩增检测(seed amplification assay, SAA)在临床研究中表现出优异的诊断效能, 但腰椎穿刺的侵入性限制其临床推广; 皮肤活检虽提供了神经病理的外周窗口, 但处理流程复杂、操作依赖性强; 血液检测最具临床推广潜力, 新兴的单分子成像技术通过直接观察病理聚集体、构象特异性识别等优势, 有望突破红细胞干扰和低浓度检测等瓶颈。本文围绕 α -syn检测技术在PD诊断中的应用现状与进展进行综述, 系统梳理各技术的原理、在不同样本中的诊断效能及临床转化前景, 为推动PD诊断从症状学评估向无创、精准的分

关键词

α -突触核蛋白, 帕金森病, 生物标志物, 种子扩增检测, 单分子检测

Application of α -Synuclein Detection in the Diagnosis of Parkinson's Disease

Xun Tan, Baorong Zhang*

Department of Neurology, The Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang

Received: February 5, 2026; accepted: February 27, 2026; published: March 9, 2026

Abstract

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease worldwide, with

*通讯作者。

traditional diagnosis relying on clinical symptomatology, which suffers from difficulty in early detection and high rates of misdiagnosis. Pathological α -synuclein (α -syn) aggregation is the hallmark neuropathology of PD and can be detected in multiple biological specimens including cerebrospinal fluid (CSF), skin, and blood, providing a molecular basis for biomarker development. Detection methodologies for α -syn have evolved from quantification of total α -syn to conformation-specific recognition. Among these, CSF seed amplification assay (SAA) demonstrates excellent diagnostic accuracy in clinical research but is limited by the invasiveness of lumbar puncture. Skin biopsy offers a peripheral neuropathological window, yet the processing procedures are complex and operator-dependent. Blood-based detection shows the greatest clinical potential. Emerging single-molecule imaging techniques show promise for overcoming red blood cell interference and low-concentration detection challenges through direct visualization of pathological aggregates and conformation-specific recognition. This review comprehensively summarizes the current status and advances of α -syn detection techniques in PD diagnosis. We elucidate the principles of various methods, their diagnostic performance in different samples, and prospects for clinical translation, providing insights to advance PD diagnostics from symptom-based assessment toward non-invasive, precision molecular diagnosis.

Keywords

α -Synuclein, Parkinson's Disease, Biomarker, Seed Amplification Assay, Single-Molecule Detection

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

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是全球第二大神经退行性疾病,全世界约有1000万患者。传统诊断主要依赖于运动迟缓、静止性震颤、肌强直等临床症状学特征的评估。然而,这些易于识别的症状往往出现于疾病中晚期,且PD与其他神经退行性疾病之间存在症状谱重叠,导致早期诊断困难、误诊漏诊问题突出,严重影响患者的及时治疗。

病理性 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn)的异常聚集被公认为PD及其他突触核蛋白病的核心病理特征。 α -syn在脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)、皮肤、血液等多种生物样本中的存在及其聚集形式变化,为PD的分子诊断奠定了生物学基础[1]-[3]。近年来, α -syn检测技术取得了显著进展,从早期的总蛋白量测定(如ELISA)逐步发展到具有构象特异性的新型检测方法(如免疫红外传感器、单分子成像等),为建立客观、可靠的PD诊断标准提供了新的机遇。

当前 α -syn检测技术面临的主要挑战包括:脑脊液种子扩增检测(seed amplification assay, SAA)虽然特异性高,但腰椎穿刺的侵入性严重限制了其临床推广和人群筛查的可行性;皮肤活检处理程序复杂、结果高度依赖操作规范和病理判读能力;血液检测虽然最具临床推广潜力(无创、易获取、便于纵向监测),但面临红细胞严重干扰、病理性聚集态 α -syn浓度极低且难以区分等核心瓶颈[4][5]。突破这些瓶颈,发展无创、高效、可普及的PD分子诊断方法,是当前该领域的关键科学问题。

本综述从 α -syn检测技术角度出发,系统阐述定量和定性检测方法的原理与进展,重点总结各技术在脑脊液、皮肤、血液等生物样本中的应用现状与诊断效能,深入探讨新兴单分子成像技术在血液检测中的突破潜力,为推动PD从传统症状学诊断迈向无创、精准的分

2. α -Syn 定量检测技术

2.1. ELISA 和单分子阵列(Single Molecule Array, SIMOA)

酶联免疫吸附测定(ELISA)是基于抗原-抗体特异性结合的传统定量方法。在 CSF 中, 多项研究使用 ELISA 检测总 α -syn 水平, 但结果并不一致: 部分研究报告 PD 患者 CSF 中总 α -syn 下降[6] [7] (可能因 α -syn 被包裹在 Lewy 小体中), 另有研究则发现升高[8] [9]。更为关键的问题是 PD 患者与对照组间检测值重叠范围大, 个体诊断能力受限[10], 这严重制约了 ELISA 作为诊断标志物的应用价值。

单分子阵列(SIMOA)通过磁性微珠捕获靶分子、荧光抗体标记和单分子成像计数, 可检测皮摩尔至亚皮摩尔浓度的蛋白质。在 CSF 中检测 α -syn 原纤丝、硫酸化 α -syn 等亚型, 虽有学者尝试, 但诊断价值未充分证实[11][12]。令人鼓舞的是, 2022 年刘卫国等人使用 SIMOA 技术检测受试者血浆 α -syn 水平, 发现 PD 患者显著高于对照[13], 提示其在早期诊断中的潜力。然而, 总量测定方法本质上无法区分病理与非病理聚集体, 因此检测能力仍有局限。

2.2. 免疫磁化还原技术(Immunomagnetic Reduction, IMR)

IMR 技术利用抗体偶联的超顺磁性纳米颗粒, 通过高温超导量子干涉仪磁力计检测靶分子结合引起的磁感应强度变化, 实现超低浓度蛋白检测[14]。2023 年杨谢乐团队的研究显示, IMR 检测限为 0.3 fg/ml, 相比 ELISA 灵敏度提升 25 万倍。在血浆样本中, 来自健康志愿者、PD 患者和帕金森病性痴呆患者的 α -syn 浓度呈疾病相关递增趋势, 组间差异显著($p < 0.001$) [15]。IMR 的磁性筛选机制可有效排除异嗜性抗体等干扰因素, 展现出监测疾病进展的临床潜力。但其目前仅有小样本单中心验证, 临床泛化能力和诊断阈值的稳定性尚需多中心大规模研究确认。

2.3. 融入构象信息的新型定量检测

2.3.1. 免疫红外传感器(Immuno-Infrared Sensor, iRS)

传统定量方法无法获取蛋白构象信息。iRS 技术通过捕获抗体富集靶蛋白, 利用红外光谱反映蛋白二级结构变化, 实现无需标记的构象测量[16]。2025 年 Schuler 等人应用 iRS 分析 PD/多系统萎缩(Multiple system atrophy, MSA)患者 CSF, 发现患者脑脊液中 α -syn 从 α -螺旋或无规卷曲转变为富含 β -折叠的错误构象, 由此将患者与对照区分开, AUC 达 0.90 [17]。iRS 还能通过双阈值法将患者分层为高低风险组, 为早期诊断和风险评估开创新途径。

2.3.2. 基于表面捕获的单分子成像技术

点累积纳米尺度拓扑成像(Point Accumulation for Imaging in Nanoscale Topography, PAINT)利用荧光探针与蛋白靶点反复短暂结合产生闪烁信号, 经累积重建得纳米级分辨图像。纳米级拓扑结构成像的 DNA 点位累积法与适配体导向的 PAINT 技术(Aptamer-Directed PAINT, AD-PAINT)可分辨 20~200 nm 的聚集体[18][19]。2022 年 Lobanova 等人用 AD-PAINT 检测血清和 CSF 中的 α -syn, 单独的聚集体检测效果不理想; 但结合 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)数据进行联合分析, PD 组 α -syn/(α -syn + A β)比例显著升高, AUC 达 0.982 [20]。PAINT 的局限在于 β -sheet 适配体对不同淀粉样聚集体区分能力有限, 且信号采集耗时长、通量受限。

单分子下拉技术(single-molecule pull-down, SiMPull)通过免疫捕获结合单分子荧光成像直接观察聚集体, 获取尺寸和形态信息。应用于脑组织、CSF 和血清样本中, SiMPull 表现出极高灵敏度和特异性, 适合解析外周体液中痕量的病理性 α -syn [19][21]。但同样需要与其他标志物联合分析才能达到临床诊断水平(AUC 0.93)。SiMPull 的优势包括: (1) 无需扩增即可直接检测痕量聚集体; (2) 信息维度丰富, 可获得

数量、形态和强度分布; (3) 针对性强, 贴近错误折叠和聚集的病理过程。

单分子成像技术的临床转化也面临技术挑战: (1) 表面功能化的批间一致性: 抗体偶联密度和取向在不同批次间可能存在 20%~50% 的变异[22]; (2) 实验室间验证不足: 现有研究多为单中心小样本, 缺乏多中心对照验证; (3) 图像分析标准化: 信号识别的阈值设定存在主观性, 影响结果可比性; (4) 通量和成本限制: TIRF 或共聚焦显微镜设备昂贵, 单样本检测耗时[19], 难以满足临床大规模应用需求。未来需要通过微流控集成、自动化分析算法和标准化操作流程来克服这些障碍。

3. α -Syn 定性检测技术

3.1. 免疫组织化学和构象特异性检测

免疫组织化学和免疫荧光基于抗原-抗体结合, 可在脑组织、皮肤、肠黏膜等组织样本中直观观察 α -syn 的空间分布。2021 年 Melli 团队在皮肤活检中应用近邻连接分析, 特异性检测神经毒性 α -syn 寡聚体, 与磷酸化 α -syn 和构象特异抗体对照比较, 发现不同检测策略对病理构象的敏感性存在差异, 可能反映疾病不同阶段的病理特征[23]。2025 年杨靖团队将皮肤检测拓展至亚型分层: 通过远端小腿和颈后两部位取材, 结合磷酸化 α -syn 免疫染色和实时震荡诱导转化种子活性分析, 发现 body-first 亚型的磷酸化 α -syn 阳性率更高, 呈远端向近端递增的分布梯度, 播种动力学更快, 而 brain-first 亚型则以近端皮肤受累为主[24]。皮肤 α -syn 负荷与非运动症状和自主神经功能损害程度相关, 可用于 PD 亚型区分。但皮肤活检存在取材操作依赖性大、病理判读需要专业训练、健康对照中也可出现少量阳性信号(假阳性风险)等局限, 亟需多中心标准化流程。

肠黏膜活检也显示出诊断价值。PD 患者病理性 α -syn 可早期沉积于肠神经系统(enteric nervous system, ENS), 内镜可常规获取肠黏膜样本, 通过种子活性扩增或磷酸化 α -syn 免疫组化实现检测[25][26]。此外, 唾液腺和嗅黏膜中的 α -syn 聚集也具有检测潜力。

3.2. 种子扩增检测(SAA)

SAA 基于 α -syn 的朊病毒样播散特性, 利用病理性聚集体作为“种子”诱导正常单体错误折叠, 通过体外循环扩增实现信号放大[27][28]。

3.2.1. 蛋白质错误折叠循环扩增(Protein Misfolding Cyclic Amplification, PMCA)

PMCA 通过反复的孵育-超声破碎循环实现 α -syn 聚集体的指数级扩增。在 CSF 样本检测中表现优异, Shahnawaz 等人报道敏感性 88.5%、特异性 96.9% [29]。PMCA 在鉴别不同突触核蛋白病方面具有独特优势: MSA 的 α -syn 聚集体表现出较快聚集动力学但较低的最大荧光强度(150~2000 AU), 而路易体病(PD 和路易体痴呆)的硫黄素 T (Thioflavin T, ThT) 荧光峰值为 2000~8000 AU, 这一差异可辅助鉴别诊断[30][31]。但 PMCA 需 5~13 天完成, 操作复杂, 不同实验室间方案差异可能影响重复性。

3.2.2. 实时震荡诱导转化(Real-Time Quaking-Induced Conversion, RT-QuIC)

RT-QuIC 采用间歇性剧烈震荡代替超声破碎, 通过 ThT 荧光实时监测聚集过程。相比 PMCA, 该技术速度快(可在 1~2 天内完成), 易于自动化, 可获得丰富的动力学参数(滞后期、T50、最大荧光强度等)[32]。在 PD 诊断中表现优异, 文献报道敏感性 75%~100%、特异性 80%~100% [33]。一项纳入 76 项研究的 Meta 分析显示, RT-QuIC 鉴别路易体病与对照的总体敏感性 91%、特异性 95% [34]。该技术还可应用于特发性快速眼动睡眠行为障碍(iRBD)患者 CSF 的检测, 敏感性达 90%~100%, 提示其在疾病前驱期识别中的价值[35][36]。RT-QuIC 已拓展至嗅黏膜、皮肤、唾液等外周组织样本。

但 RT-QuIC 同样具有局限性: 阿尔茨海默病患者中约 12%~30% 的 CSF 样本 RT-QuIC 呈阳性, 提示

共病理现象的存在,这增加了结果解读的复杂性[37][38];在MSA诊断中RT-QuIC敏感性显著低于PMCA(30% vs 57%) [34]。为克服上述限制,静态种子扩增技术(Quiescent SAA, QSAA)采用70°C高温孵育和静态培养,避免机械震荡对样本结构的破坏,在脑组织和皮肤切片检测中敏感性和特异性均超过90% [39]。目前QSAA仍处研究阶段,扩增速度相对较慢,对样本中 α -syn种子浓度要求较高,需进一步完善。

总之,在真正投入临床应用前,SAA技术仍面临重要的技术瓶颈:(1) 实验室间重现性问题:不同实验室在底物选择、反应条件、阈值判定标准上存在差异,影响结果可比性[40];(2) 标准品缺乏:目前尚无商品化的 α -syn种子标准品,各实验室自行制备的对照品一致性不足[30];(3) 自动化程度低:样本预处理、结果判读高度依赖人工操作,限制了高通量筛查的可行性;(4) 分析软件依赖:动力学曲线分析需要专业软件,算法差异可能影响结果判定[41]。这些问题凸显了在临床推广前建立标准化流程和质控体系的紧迫性。

4. α -突触核蛋白检测的突破方向与展望

4.1. 临床转化的系统性挑战

(1) 缺乏大规模前瞻性验证研究

现有大多数研究为回顾性或小样本的单中心研究,缺乏多中心、大样本、前瞻性队列验证。不同人群(种族、年龄、共病情况)、不同疾病阶段(前驱期、早期、晚期)的诊断效能尚不明确。此外,纵向随访数据稀缺,无法评估生物标志物水平与疾病进展速度、治疗反应的关系。

(2) 监管审批与临床认证流程漫长

作为体外诊断(IVD)产品, α -syn检测试剂盒需通过严格的临床性能验证和监管机构(如FDA、NMPA)审批才能进入临床应用。这一过程需要大量的临床试验数据、质量体系文件和成本投入,通常耗时数年。目前尚无 α -syn检测产品获得FDA或NMPA批准用于PD诊断,限制了其临床推广。

(3) 成本效益与医保覆盖的不确定性

SAA和单分子检测的试剂、设备成本远高于传统生化检测,单次检测费用可能达数百至数千元。在缺乏明确医保覆盖政策的情况下,患者经济负担重,限制了技术的可及性。此外,成本效益分析需要综合考虑早期诊断对减少误诊、优化治疗、延缓疾病进展的长期社会效益,但相关卫生经济学研究尚不充分。

4.2. 基于当前证据的检测选择策略

鉴于不同 α -syn检测技术在样本来源、侵入性、诊断效能和成本等方面存在显著差异,临床应用需要根据患者具体情况进行个体化选择。基于现有证据,我们提出以下检测选择建议(图1):

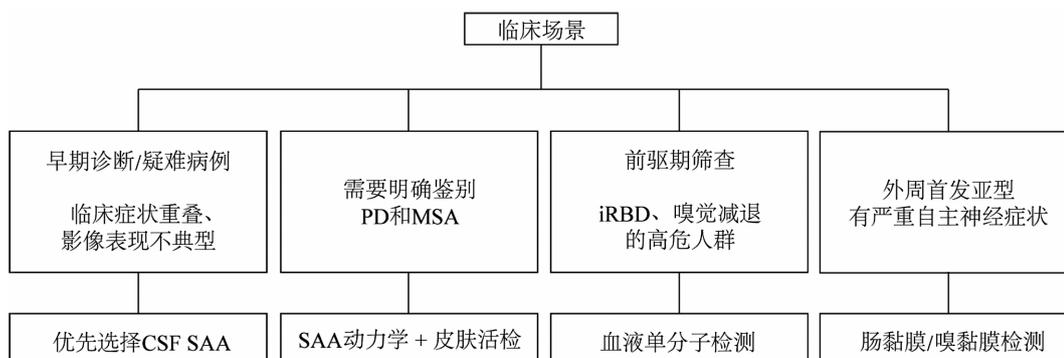


Figure 1. Flowchart for α -syn detection method selection

图1. α -syn检测选择策略流程图

值得注意的是, 单一生物标志物的诊断效能往往受限于疾病异质性和技术敏感性。未来应探索多模态生物标志物联合应用策略, 例如: CSF SAA (评估 α -syn 病理活性) + 影像学标志物(评估多巴胺能神经元丢失) + 临床评估(运动和非运动症状), 构建综合诊断模型, 以提高诊断准确性和疾病分期精度。此外, 对于共病理现象(如 12%~30%阿尔茨海默病患者 CSF SAA 阳性), 需结合 tau 蛋白、 $A\beta$ 等其他标志物进行鉴别, 避免误诊。

4.3. 血液检测的临床潜力

血液样本具有无创性、可重复性和易获得性, 是最具临床推广潜力的样本来源。然而, 血液中 α -syn 浓度极低, 红细胞严重干扰, 直接检测全血或简单血清处理多失败[39][42]。近期研究通过靶向富集神经来源细胞外囊泡(neuron-derived extracellular vesicle, NEs)和单分子检测技术实现突破。

2022 年 Zunke 等人从血浆分离富集 NEs, 用构象特异抗体(MJFR、OC 等)在非变性条件下检测[40], 发现 PD 患者 NEs 中病理性 α -syn 显著升高, 扩增产物呈 β 折叠富集, 透射电镜下可见纤维样结构, PD 与对照几乎无重叠[43]。2023 年 Okuzumi 等人将检测“去载体化”至血清, 用免疫沉淀富集 α -syn 后结合 IP/RT-QuIC 放大血清种子, 实现较高诊断效能, 扩增纤维呈疾病相关形态差异, 并保持一致的播散与致病特性[44]。这些结果提示血液中的病理性 α -syn 聚集体含有与脑病理相关的关键信息, 为无创诊断奠定了基础。

单分子检测(如 SiMPull)直接观察血清中的 α -syn 聚集体, 结合形态和强度分析, 展现出突破红细胞干扰的潜力。未来通过微流控平台、抗体工程和图像算法的进步, 血液单分子构象检测有望成为 α -syn 检测的主流方法。

5. 结论

α -syn 生物标志物检测技术正推动 PD 诊断范式深刻变革。从总量测定到构象识别、从侵入性采样到无创检测的进展, 体现了该领域的快速发展。定量方法在灵敏度上取得进展, 但传统方法无法区分病理聚集; 定性 SAA 方法(尤其 RT-QuIC)在脑脊液检测中已展现出临床应用潜力, 但其侵入性限制了推广; 新兴的单分子成像和血液检测技术为实现无创诊断指明了方向。

未来研究应聚焦于: (1) 深化对 α -syn 聚集构象多样性与临床表型的对应关系的认识, 实现更精准的疾病分型和进展预测; (2) 加快推进血液检测的临床转化, 克服技术难题, 建立标准化检测流程; (3) 整合种子活性、构象负荷、单分子影像和多组学数据, 构建系统完整的分子诊断框架, 为早期筛查、精准分层、疾病监测和治疗评估提供支撑。随着基础研究、技术创新和临床实践的不断融合, α -syn 生物标志物将助力 PD 迈向“可早诊、可分层、可监测”的精准医学新时代。

参考文献

- [1] Dickson, D.W., Braak, H., Duda, J.E., Duyckaerts, C., Gasser, T., Halliday, G.M., *et al.* (2009) Neuropathological Assessment of Parkinson's Disease: Refining the Diagnostic Criteria. *The Lancet Neurology*, **8**, 1150-1157. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(09\)70238-8](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(09)70238-8)
- [2] Lv, K., and Ae, L. (2015) Parkinson's Disease. *The Lancet*, **386**, 2284-2303.
- [3] Beach, T.G., Adler, C.H., Sue, L.I., Vedders, L., Lue, L., White III, C.L., *et al.* (2010) Multi-Organ Distribution of Phosphorylated A-Synuclein Histopathology in Subjects with Lewy Body Disorders. *Acta Neuropathologica*, **119**, 689-702. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0664-3>
- [4] Majbour, N.K., Vaikath, N.N., van Dijk, K.D., Ardah, M.T., Varghese, S., Vesterager, L.B., *et al.* (2016) Oligomeric and Phosphorylated Alpha-Synuclein as Potential CSF Biomarkers for Parkinson's Disease. *Molecular Neurodegeneration*, **11**, Article No. 7. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0072-9>
- [5] Donadio, V., Incensi, A., Rizzo, G., Furia, A., Bonvenga, S., Olivola, E., *et al.* (2025) Skin Intraneural Phosphorylated

- α -Synuclein Is a Highly Specific Biomarker for Early Parkinson's Disease. *Brain*, awaf313. <https://doi.org/10.1093/brain/awaf313>
- [6] Agnello, L., Lo Sasso, B., Vidali, M., Scazzone, C., Gambino, C.M., Piccoli, T., *et al.* (2022) Evaluation of Alpha-Synuclein Cerebrospinal Fluid Levels in Several Neurological Disorders. *Journal of Clinical Medicine*, **11**, Article 3139. <https://doi.org/10.3390/jcm11113139>
- [7] Winkel, I., Ermann, N., Żelwetro, A., Sambor, B., Mroczko, B., Kornhuber, J., *et al.* (2021) Cerebrospinal Fluid *A* Synuclein Concentrations in Patients with Positive AD Biomarkers and Extrapyrarnidal Symptoms. *Journal of Neural Transmission*, **128**, 817-825. <https://doi.org/10.1007/s00702-021-02351-x>
- [8] Tokuda, T., Qureshi, M.M., Ardah, M.T., Varghese, S., Shehab, S.A.S., Kasai, T., *et al.* (2010) Detection of Elevated Levels of *A*-Synuclein Oligomers in CSF from Patients with Parkinson Disease. *Neurology*, **75**, 1766-1770. <https://doi.org/10.1212/wnl.0b013e3181fd613b>
- [9] Tsao, H., Huang, C. and Wu, Y. (2022) Detection and Assessment of Alpha-Synuclein in Parkinson Disease. *Neurochemistry International*, **158**, Article 105358. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2022.105358>
- [10] Smith, L.M., Schiess, M.C., Coffey, M.P., Klaver, A.C. and Loeffler, D.A. (2012) *A*-Synuclein and Anti-*a*-Synuclein Antibodies in Parkinson's Disease, Atypical Parkinson Syndromes, REM Sleep Behavior Disorder, and Healthy Controls. *PLOS ONE*, **7**, e52285. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052285>
- [11] von Euler Chelpin, M., Söderberg, L., Fälting, J., Möller, C., Giorgetti, M., Constantinescu, R., *et al.* (2020) Alpha-synuclein Protofibrils in Cerebrospinal Fluid: A Potential Biomarker for Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's Disease*, **10**, 1429-1442. <https://doi.org/10.3233/jpd-202141>
- [12] Bellomo, G., Stoops, E., Vanbrabant, J., Demeyer, L., Francois, C., Vanhooren, M., *et al.* (2025) Phosphorylated α -Synuclein in CSF and Plasma Does Not Reflect Synucleinopathy. *npj Parkinson's Disease*, **11**, Article No. 232. <https://doi.org/10.1038/s41531-025-01086-w>
- [13] Ren, J., Pan, C., Wang, Y., Xue, C., Lin, H., Xu, J., *et al.* (2022) Plasma α -Synuclein and Phosphorylated Tau 181 as a Diagnostic Biomarker Panel for De Novo Parkinson's Disease. *Journal of Neurochemistry*, **161**, 506-515. <https://doi.org/10.1111/jnc.15601>
- [14] Yang, S., Chiu, M., Lin, C., Horng, H., Yang, C., Chieh, J., *et al.* (2016) Development of an Ultra-High Sensitive Immunoassay with Plasma Biomarker for Differentiating Parkinson Disease Dementia from Parkinson Disease Using Antibody Functionalized Magnetic Nanoparticles. *Journal of Nanobiotechnology*, **14**, Article No. 41. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0198-5>
- [15] Lee, K., Hsu, M., Chen, H. and Yang, S. (2023) Analyzer-to-Analyzer Variations in Assaying Ultralow Concentrated Biomarkers Associated with Neurodegenerative Diseases Using Immunomagnetic Reduction. *ACS Measurement Science Au*, **3**, 488-495. <https://doi.org/10.1021/acsmesuresciau.3c00029>
- [16] Nabers, A., Hafermann, H., Wiltfang, J. and Gerwert, K. (2019) A β and Tau Structure-Based Biomarkers for a Blood- and CSF-Based Two-Step Recruitment Strategy to Identify Patients with Dementia Due to Alzheimer's Disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, **11**, 257-263. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2019.01.008>
- [17] Schuler, M., Gerwert, G., Mann, M., Woitzik, N., Langenhoff, L., Hubert, D., *et al.* (2025) Alpha-Synuclein Misfolding as Fluid Biomarker for Parkinson's Disease Measured with the IRS Platform. *EMBO Molecular Medicine*, **17**, 1203-1221. <https://doi.org/10.1038/s44321-025-00229-z>
- [18] Chung, K.K.H., Zhang, Z., Kidd, P., Zhang, Y., Williams, N.D., Rollins, B., *et al.* (2022) Fluorogenic DNA-PAINT for Faster, Low-Background Super-Resolution Imaging. *Nature Methods*, **19**, 554-559. <https://doi.org/10.1038/s41592-022-01464-9>
- [19] Zhang, Y.P., Lobanova, E., Emin, D., Lobanov, S.V., Kouli, A., Williams-Gray, C.H., *et al.* (2023) Imaging Protein Aggregates in Parkinson's Disease Serum Using Aptamer-Assisted Single-Molecule Pull-Down. *Analytical Chemistry*, **95**, 15254-15263. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c02515>
- [20] Lobanova, E., Whiten, D., Ruggeri, F.S., Taylor, C.G., Kouli, A., Xia, Z., *et al.* (2021) Imaging Protein Aggregates in the Serum and Cerebrospinal Fluid in Parkinson's Disease. *Brain*, **145**, 632-643. <https://doi.org/10.1093/brain/awab306>
- [21] Je, G., Croop, B., Basu, S., Tang, J., Han, K.Y. and Kim, Y. (2017) Endogenous Alpha-Synuclein Protein Analysis from Human Brain Tissues Using Single-Molecule Pull-Down Assay. *Analytical Chemistry*, **89**, 13044-13048. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04335>
- [22] Jain, A., Liu, R., Xiang, Y.K. and Ha, T. (2012) Single-Molecule Pull-Down for Studying Protein Interactions. *Nature Protocols*, **7**, 445-452. <https://doi.org/10.1038/nprot.2011.452>
- [23] Vacchi, E., Senese, C., Chiaro, G., Disanto, G., Pinton, S., Morandi, S., *et al.* (2021) Alpha-Synuclein Oligomers and Small Nerve Fiber Pathology in Skin Are Potential Biomarkers of Parkinson's Disease. *npj Parkinson's Disease*, **7**, Article No. 119. <https://doi.org/10.1038/s41531-021-00262-y>

- [24] Liu, M., Wen, T., Luo, H., Yang, T., Kong, Y., Jin, Y., *et al.* (2025) Distinct Cutaneous α -Synuclein Signatures in Body-First and Brain-First Parkinson's Disease Subtypes. *Brain*, awaf395. <https://doi.org/10.1093/brain/awaf395>
- [25] Fenyi, A., Leclair-Visonneau, L., Clairembault, T., Coron, E., Neunlist, M., Melki, R., *et al.* (2019) Detection of Alpha-Synuclein Aggregates in Gastrointestinal Biopsies by Protein Misfolding Cyclic Amplification. *Neurobiology of Disease*, **129**, 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.05.002>
- [26] Vascellari, S., Orrù, C.D., Groveman, B.R., Parveen, S., Fenu, G., Pisano, G., *et al.* (2023) A -Synuclein Seeding Activity in Duodenum Biopsies from Parkinson's Disease Patients. *PLOS Pathogens*, **19**, e1011456. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011456>
- [27] Siderowf, A., Concha-Marambio, L., Lafontant, D., Farris, C.M., Ma, Y., Urenia, P.A., *et al.* (2023) Assessment of Heterogeneity among Participants in the Parkinson's Progression Markers Initiative Cohort Using α -Synuclein Seed Amplification: A Cross-Sectional Study. *The Lancet Neurology*, **22**, 407-417. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(23\)00109-6](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(23)00109-6)
- [28] Kuang, Y., Mao, H., Huang, X., Chen, M., Dai, W., Gan, T., *et al.* (2024) A -Synuclein Seeding Amplification Assays for Diagnosing Synucleinopathies: An Innovative Tool in Clinical Implementation. *Translational Neurodegeneration*, **13**, Article No. 56. <https://doi.org/10.1186/s40035-024-00449-2>
- [29] Shahnawaz, M., Tokuda, T., Waragai, M., Mendez, N., Ishii, R., Trenkwalder, C., *et al.* (2017) Development of a Biochemical Diagnosis of Parkinson Disease by Detection of α -Synuclein Misfolded Aggregates in Cerebrospinal Fluid. *JAMA Neurology*, **74**, 163-172. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.4547>
- [30] Shahnawaz, M., Mukherjee, A., Pritzkow, S., Mendez, N., Rabadia, P., Liu, X., *et al.* (2020) Discriminating α -Synuclein Strains in Parkinson's Disease and Multiple System Atrophy. *Nature*, **578**, 273-277. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-1984-7>
- [31] Bougea, A., Colosimo, C., Falup-Pecurariu, C., Palermo, G. and Degirmenci, Y. (2025) Fluid Biomarkers in Atypical Parkinsonism: Current State and Future Perspectives. *Journal of Neural Transmission*, **132**, 921-941. <https://doi.org/10.1007/s00702-025-02930-2>
- [32] Groveman, B.R., Orrù, C.D., Hughson, A.G., Raymond, L.D., Zanusso, G., Ghetti, B., *et al.* (2018) Rapid and Ultra-Sensitive Quantitation of Disease-Associated α -Synuclein Seeds in Brain and Cerebrospinal Fluid by α Syn RT-QuIC. *Acta Neuropathologica Communications*, **6**, Article No. 7. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0508-2>
- [33] Giannakis, A., Pechlivani, L., Sioka, C., Alexiou, G., Konitsiotis, S. and Kyritsis, A.P. (2025) Seed Amplification Assay for α -Synuclein: Diagnostic Applications in Synucleinopathies. *International Journal of Molecular Sciences*, **26**, Article 7817. <https://doi.org/10.3390/ijms26167817>
- [34] Grossauer, A., Hemicker, G., Krismer, F., Peball, M., Djamshidian, A., Poewe, W., *et al.* (2023) A -Synuclein Seed Amplification Assays in the Diagnosis of Synucleinopathies Using Cerebrospinal Fluid—A Systematic Review and Meta-Analysis. *Movement Disorders Clinical Practice*, **10**, 737-747. <https://doi.org/10.1002/mdc3.13710>
- [35] Miglis, M.G., Adler, C.H., Antelmi, E., Arnaldi, D., Baldelli, L., Boeve, B.F., *et al.* (2021) Biomarkers of Conversion to A -Synucleinopathy in Isolated Rapid-Eye-Movement Sleep Behaviour Disorder. *The Lancet Neurology*, **20**, 671-684. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(21\)00176-9](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(21)00176-9)
- [36] Kuzkina, A., Bargar, C., Schmitt, D., Röbke, J., Wang, W., Schubert, A., *et al.* (2021) Diagnostic Value of Skin RT-QuIC in Parkinson's Disease: A Two-Laboratory Study. *npj Parkinson's Disease*, **7**, Article No. 99. <https://doi.org/10.1038/s41531-021-00242-2>
- [37] Bellomo, G., Paciotti, S., Concha-Marambio, L., Rizzo, D., Wojdała, A.L., Chiasserini, D., *et al.* (2023) Cerebrospinal Fluid Lipoproteins Inhibit α -Synuclein Aggregation by Interacting with Oligomeric Species in Seed Amplification Assays. *Molecular Neurodegeneration*, **18**, Article 20. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37005644/>
- [38] Abdelnour, C., Young, C.B., Shahid-Besanti, M., Smith, A., Wilson, E.N., Ramos Benitez, J., *et al.* (2024) Plasma Ptau181 Reveals a Pathological Signature That Predicts Cognitive Outcomes in Lewy Body Disease. *Annals of Neurology*, **96**, 526-538. <https://doi.org/10.1002/ana.27003>
- [39] Mao, H., Kuang, Y., Feng, D., Chen, X., Lu, L., Xia, W., *et al.* (2024) Ultrasensitive Detection of Aggregated α -Synuclein Using Quiescent Seed Amplification Assay for the Diagnosis of Parkinson's Disease. *Translational Neurodegeneration*, **13**, Article No. 35. <https://doi.org/10.1186/s40035-024-00426-9>
- [40] Concha-Marambio, L., Pritzkow, S., Shahnawaz, M., Farris, C.M. and Soto, C. (2023) Seed Amplification Assay for the Detection of Pathologic Alpha-Synuclein Aggregates in Cerebrospinal Fluid. *Nature Protocols*, **18**, 1179-1196. <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00787-3>
- [41] Metrick, M.A., Ferreira, N.d.C., Saijo, E., Kraus, A., Newell, K., Zanusso, G., *et al.* (2020) A Single Ultrasensitive Assay for Detection and Discrimination of Tau Aggregates of Alzheimer and Pick Diseases. *Acta Neuropathologica Communications*, **8**, Article No. 22. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-0887-z>
- [42] Bellomo, G., Toja, A., Paolini Paoletti, F., Ma, Y., Farris, C.M., Gaetani, L., *et al.* (2024) Investigating Alpha-synuclein

Co-pathology in Alzheimer's Disease by Means of Cerebrospinal Fluid Alpha-Synuclein Seed Amplification Assay. *Alzheimer's & Dementia*, **20**, 2444-2452. <https://doi.org/10.1002/alz.13658>

- [43] Kluge, A., Bunk, J., Schaeffer, E., Drobny, A., Xiang, W., Knacke, H., *et al.* (2022) Detection of Neuron-Derived Pathological *A*-Synuclein in Blood. *Brain*, **145**, 3058-3071. <https://doi.org/10.1093/brain/awac115>
- [44] Okuzumi, A., Hatano, T., Matsumoto, G., Nojiri, S., Ueno, S., Imamichi-Tatano, Y., *et al.* (2023) Propagative α -Synuclein Seeds as Serum Biomarkers for Synucleinopathies. *Nature Medicine*, **29**, 1448-1455. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02358-9>