

DOI:10.12405/j.issn.2097-1486.2025.02.009

照亮细胞生命活动:基因编码荧光生物传感器的 前沿进展

郝敏¹, 赵子杰¹, 魏庆鹏¹, 王晶^{1,2*}

1. 北京大学 药学院化学生物学系 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191

2. 北京大学 国家生物医学成像中心, 北京 100191

摘要:细胞功能的精确调控依赖于高度复杂的信号网络系统,中心碳代谢作为细胞代谢的核心枢纽,通过将营养物质转化为生物质和能量前体,维持着生命活动的基本需求。然而,传统生化分析方法难以获取活体系统中代谢物的时空动态信息。基因编码荧光生物传感器的出现突破了这一技术瓶颈,其能够在活细胞及活体水平实现代谢物的快速、灵敏、特异性和实时检测,为代谢调控研究提供了革命性工具。本综述系统总结了近五年来基因编码荧光生物传感器在中心碳代谢研究中的最新进展,重点阐述了我们的团队在代谢物动态监测技术方面的创新性突破,包括谷氨酰胺代谢、能量状态和脂质代谢监测系统的开发与应用。

关键词:中心碳代谢;基因编码荧光生物传感器;荧光蛋白;代谢调控;活细胞成像

中图分类号:Q813

文献标志码:A

文章编号:2097-1486(2025)02-0226-13

Illuminating cellular life activities: recent advances in gene-encoded fluorescent biosensors

HAO Min¹, ZHAO Zijie¹, WEI Qingpeng¹, WANG Jing^{1,2*}

1. Department of Chemical Biology, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China

2. National Biomedical Imaging Center, Peking University, Beijing 100191, China

Abstract: The precise regulation of cellular functions relies on a highly complex signaling network system, with central carbon metabolism serving as the core hub of cellular metabolism. Central carbon metabolism maintains the fundamental requirements for life activities by converting nutrients into biomass and energy precursors. However, traditional biochemical analysis methods face challenges in obtaining spatiotemporal dynamic information of metabolites in living systems. The advent of gene-encoded fluorescent biosensors has overcome this technical bottleneck, enabling rapid, sensitive, specific, and real-time detection of metabolites at both the cellular and in vivo levels. This breakthrough provides revolutionary tools for metabolic regulation research. This review systematically summarizes the latest advances in gene-encoded fluorescent biosensors in central carbon metabolism research over the past five years, with a focus on the innovative breakthroughs made by our team in the development and application of dynamic monitoring systems for metabolites, including systems for monitoring glutamine metabolism, energy status, and lipid metabolism.

Keywords: central carbon metabolism; gene-encoded fluorescent biosensors; fluorescent proteins; metabolic regulation; live-cell imaging

* 通信作者

基金项目:国家自然科学基金(22277001;91853107)

收稿日期:2025-05-06;修回日期:2025-06-09

0 引言

中心碳代谢(Central Carbon Metabolism, CCM)作为细胞代谢调控的核心网络,通过糖酵解(Glycolysis)、磷酸戊糖途径(Pentose Phosphate Pathway, PPP)和三羧酸循环(TCA cycle)三大代谢通路的协同作用,在细胞生命活动中发挥着双重关键作用^[1](图1)。首先,CCM通过分解代谢产生ATP和还原当量(NADH/FADH₂)满足细胞的能量需求;更重要的是,它为核酸、蛋白质和脂质等生物大分子的合成提供了必需的前体物质^[2]。这一精密的代谢调控系统通过动态平衡关键代谢物的浓度,直接决定了细胞的命运抉择和能量稳态^[3]。

糖酵解途径作为葡萄糖分解代谢的核心通路,通过一系列酶促反应将葡萄糖转化为丙酮酸(图1)。该代谢过程起始于葡萄糖的磷酸化生成葡萄糖-6-磷酸(G6P),随后经过多步反应生成关键的甘油醛-3-磷酸中间体,最终形成代谢枢纽分子丙酮酸^[4]。值得注意的是,丙酮酸的代谢去向具有组织异质性,在含氧充足的生理环境下,丙酮酸通过线粒体丙酮酸转运体进入三羧酸循环进行完全氧化;而在缺氧

条件下,则经乳酸脱氢酶(LDH)催化还原为乳酸^[5]。特别需要强调的是,鸟苷三磷酸/鸟苷二磷酸(GTP/GDP)动态比率作为细胞能量状态的核心生物传感器,通过变构调节糖酵解限速酶,如磷酸果糖激酶-1(PFK-1)的活性,实现对糖酵解通量的精确调控^[6]。作为葡萄糖代谢的重要分支途径,磷酸戊糖途径主要产生5-磷酸核糖和NADPH。5-磷酸核糖不仅是核酸(DNA/RNA)合成的必需前体,也是腺苷三磷酸(ATP)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)和辅酶A(CoA)等辅因子的基本结构单元,为细胞增殖及能量代谢提供原料^[7]。还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)则具有多重生理功能:一方面作为还原力参与脂肪酸、胆固醇等生物合成的还原反应,另一方面通过维持谷胱甘肽(GSH/GSSG)、硫氧还蛋白等抗氧化系统的还原状态,保护细胞免受氧化损伤。此外, NADPH还支持解毒反应和免疫防御功能^[8]。该途径的代谢通量能动态响应细胞的生物合成需求与氧化应激水平,其调控异常与肿瘤代谢重编程、糖尿病并发症及神经退行性疾病等多种病理过程密切相关^[9]。

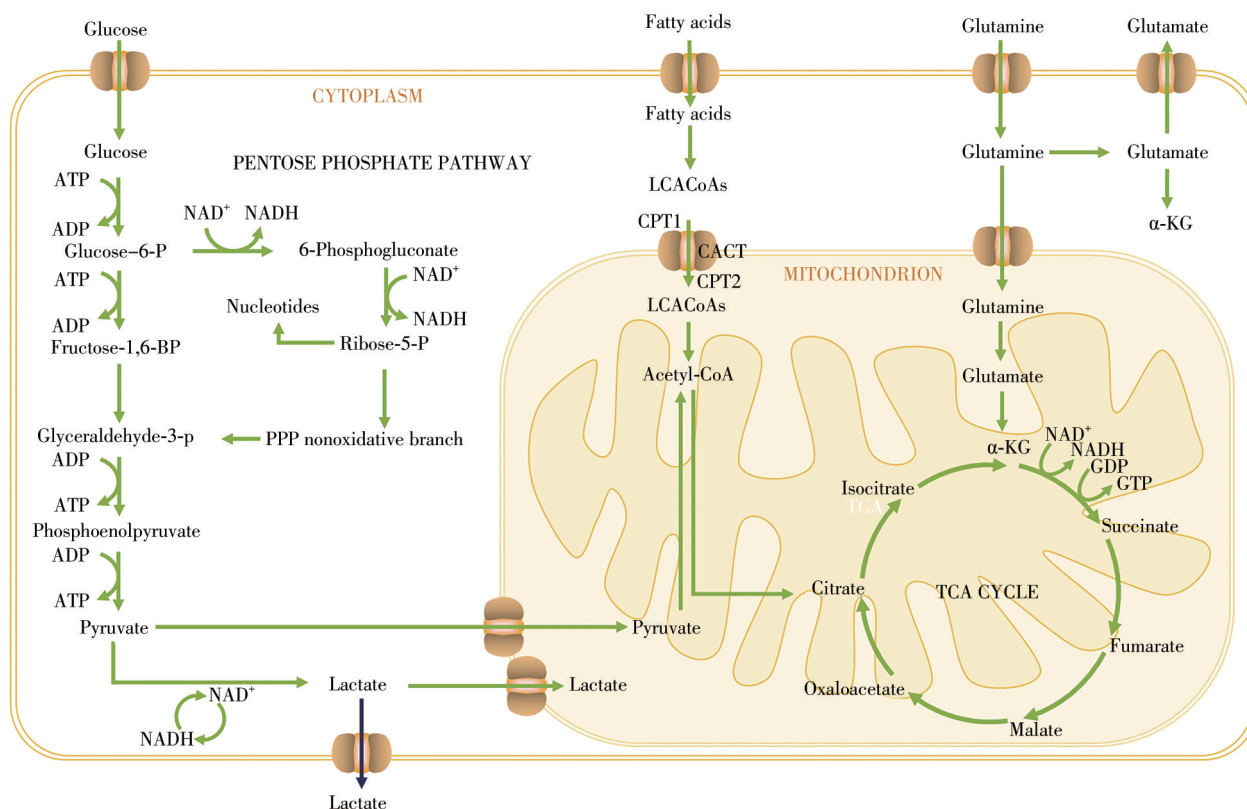


图1 中心碳代谢网络

Figure 1 Central carbon metabolic network

三羧酸循环(TCA循环)是中心碳代谢的核心枢纽,在能量代谢和生物合成中发挥双重作用。该循环通过氧化乙酰辅酶A(主要来源于葡萄糖、脂肪酸和氨基酸的分解代谢)生成还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH),还原型黄素腺嘌呤二核苷酸(FADH₂)和GTP,为氧化磷酸化提供还原当量(图1)。同时,TCA循环中间产物是多种生物合成途径的重要前体:柠檬酸可转运至胞质裂解为乙酰辅酶A用于脂肪酸合成; α -酮戊二酸(α -KG)不仅是谷氨酰胺代谢的枢纽产物,还是 α -KG依赖性双加氧酶的必需辅因子,参与低氧感应和表观遗传调控^[10];琥珀酸通过稳定缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)和激活G蛋白偶联受体91(GPR91)受体参与炎症反应^[11];苹果酸则可通过苹果酸酶反应生成NADPH,维持细胞的还原力平衡。值得注意的是,谷氨酰胺代谢通过生成 α -酮戊二酸补充TCA循环(回补反应),在快速增殖的肿瘤细胞中尤为活跃,表现为“谷氨酰胺成瘾”现象^[12]。TCA循环关键酶的突变会导致代谢异常:异柠檬酸脱氢酶(IDH)突变致2-羟基戊二酸累积^[13],竞争性抑制 α -KG依赖性酶;延胡索酸水合酶(FH)缺陷引起延胡索酸蓄积^[14],两者均可通过干扰表观遗传调控促进肿瘤发生。这些发现凸显了TCA循环在细胞代谢调控和疾病发生中的核心地位。

近年来,随着代谢组学技术和活细胞成像技术的快速发展,特别是高时空分辨率代谢监测技术的突破性进展,我们对CCM复杂调控机制的认识正在经历革命性的转变^[15]。这一认知的深化不仅为基础生物学研究提供了新的视角,更为代谢性疾病的精准诊断和靶向治疗带来了前所未有的机遇^[16]。在这一背景下,开发具有高时空分辨率的代谢监测技术,尤其是基因编码荧光生物传感器技术(Genetically Encoded Fluorescent Biosensors),对解析中心碳代谢的动态调控网络具有不可替代的重要意义^[17]。基因编码荧光生物传感器作为一种革命性的分子工具,通过将荧光蛋白与特异性代谢物结合域巧妙融合,实现了对活细胞内代谢活动的实时、动态、无创监测^[18]。与传统代谢检测方法相比,这类生物传感器具有以下突出优势:(1)亚细胞器特异性的靶向能力,可实现对线粒体、内质网等特定区室内代谢变化的精确监测^[19];(2)毫秒级的时间分辨率,能够捕捉代谢信号的瞬时波动^[20];(3)非破坏性的检测方式,支持长时间动态观察^[21]。这些特性使其成为研究代谢网络时空动态的理想

工具。

本综述系统梳理了荧光生物传感器在中心碳代谢研究中的最新进展。首先,从分子识别机制和信号转导原理两个维度深入解析了传感器的设计策略。其次,基于近五年的研究突破,我们全面梳理了四大类关键代谢监测传感器的研究进展:(1)糖酵解途径关键中间体实时监测传感器;(2)三羧酸循环代谢物动态追踪传感器;(3)吡啶核苷酸代谢平衡传感器;(4)细胞能量状态指示传感器。最后,重点展示了本团队在超高灵敏度中心碳代谢生物传感器研发中的创新性突破,包括新型分子识别元件的设计及其在活细胞动态监测中的应用。

1 基因编码荧光生物传感器的分类与结构特征

基因编码荧光生物传感器作为新一代分子传感工具,通过精巧的分子设计将特异性感知结构域与荧光报告模块有机结合,构建出高效的生物分子检测系统^[22]。这类生物传感器的核心工作机制依赖于感知结构域对目标生理信号(包括但不限于代谢物浓度^[21,23-27]、pH动态^[28-29]及膜电位变化^[30])的特异性识别,进而诱导蛋白质构象重排,最终通过荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)或荧光强度调制等机制转化为可定量检测的光学信号输出^[31]。相较于传统化学荧光生物传感器(如Ca²⁺指示剂Fluo-3^[32]),基因编码生物传感器具有革命性的突破,其完全由遗传密码决定,无需外源化学处理即可通过分子内自催化环化形成功能性荧光团^[33]。这一独特性质赋予了其在活细胞研究中的四大核心优势:(1)卓越的生物相容性,最大程度降低对细胞正常生理的干扰;(2)精准的亚细胞定位能力,通过添加靶向序列实现特定细胞器微环境的原位监测;(3)稳定的遗传持续性,确保长期实验中的生物传感器表达一致性;(4)超高的时空分辨率,支持毫秒级动态追踪和亚微米级空间解析。正是这些突破性特征,使基因编码荧光生物传感器成为揭示中心碳代谢网络动态调控机制不可替代的研究工具,为细胞代谢研究提供了前所未有的时空解析维度。

基因编码荧光生物传感器根据其工作原理和结构特征主要可分为三大类:基于循环重排荧光蛋白(circularly permuted fluorescent protein, cpFP)的cpFP生物传感器、基于荧光共振能量转移(FRET)的FRET生物传感器,以及基于荧光寿命成像(fluo-

rescence lifetime imaging microscopy, FLIM) 的 FRET-FLIM 生物传感器(图 2)。这三类生物传感器在结

构设计和应用特性上各具特色,为细胞代谢研究提供了多元化的技术选择(表 1)。

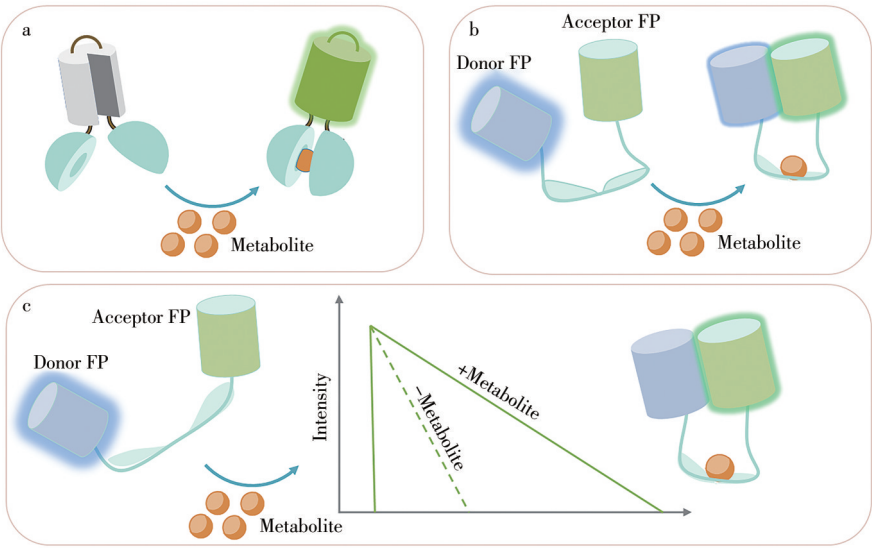


图 2 基因编码荧光生物传感器的技术分类与结构特征

Figure 2 Technical classification and structural characteristics of genetically encoded fluorescent biosensors

表 1 基因编码荧光生物传感器的特性比较

Table 1 Characteristic comparison of genetically encoded fluorescent biosensors

生物传感器类型	结构特征	分子量	动态范围	优势	局限性
cpFP 生物传感器	单荧光蛋白重构	约 25~30 kDa	可达 500%	响应快、信号强	易受环境干扰
FRET 生物传感器	双荧光蛋白系统	> 54 kDa	10%~150%	稳定性高	分子量大、信噪比低
FRET-FLIM 生物传感器	FRET+寿命检测	> 54 kDa	依赖系统	定量准确	设备复杂、速度慢

1.1 cpFP 生物传感器的结构与特性

cpFP 生物传感器通过基因工程技术对荧光蛋白进行 N 端和 C 端的重新排列,使荧光团对局部微环境变化(如 pH 波动、离子浓度梯度或配体结合)具有更高的敏感性^[34]。从结构上看,这类生物传感器通常采用单荧光蛋白架构,通过将荧光蛋白在 β-桶状结构的 loop 区域进行切割并重新连接,暴露出对微环境敏感的荧光发色团^[35](图 2a)。这种设计使其具有分子量小(约 25~30 kDa)的结构优势,最大程度降低了对宿主蛋白功能的干扰^[36]。在性能方面,cpFP 生物传感器展现出显著的响应幅度(最高可达 500%),配合其优异的光学信噪比,特别适用于低丰度代谢物的高灵敏度检测^[28]。然而,这类生物传感器也存在明显局限:其荧光信号易受细胞内 pH 和氧化还原状态的影响,可能导致假阳性结果;此外,相对较低的光稳定性限制了其在长时间活细胞成像中的应用^[37]。

1.2 FRET 生物传感器的结构原理

FRET 生物传感器采用双荧光蛋白系统,基于

供体荧光团与受体荧光团之间的非辐射能量转移机制工作^[38]。其典型结构包含:特异性结合靶分子的传感结构域、供体荧光蛋白(如 CFP)和受体荧光蛋白(如 YFP),三者通过柔性 linker 连接形成功能单元^[39](图 2b)。当靶分子结合引起传感结构域构象变化时,供受体间的距离(1~10 nm)和相对取向发生改变,导致 FRET 效率变化,表现为供体荧光淬灭和受体荧光增强的双重信号^[40]。这种设计赋予 FRET 生物传感器出色的稳定性,使其对细胞内环境波动具有较强的抗干扰能力,特别适合长时间动态监测。但值得注意的是,较大的分子量(通常 > 54 kDa)可能影响目标蛋白的正常功能,且受限于能量转移效率,其信号动态范围通常仅为 10%~150%,在复杂组织中的成像应用面临挑战^[40]。

1.3 FRET-FLIM 生物传感器的技术革新

FRET-FLIM 生物传感器代表了新一代的检测技术,其创新性地将 FRET 原理与荧光寿命检测相结合^[41](图 2c)。这类生物传感器在结构上虽然保留了 FRET 生物传感器的基本架构,但通过检测供

体荧光寿命(通常 1~4 ns)的变化来定量 FRET 效率,而非传统的荧光强度比值^[42]。这种检测方式具有三大独特优势:(1)荧光寿命作为荧光团的固有物理参数,不受生物传感器浓度分布、激发光强度波动和光漂白效应的影响,数据可靠性显著提高;(2)仅需监测供体荧光寿命变化,简化了生物传感器设计并避免了受体荧光团特性的干扰;(3)可实现代谢物浓度的绝对定量,在活细胞微环境研究中具有不可替代的价值。然而,该技术需要配备时间相关单光子计数(TCSPC)等精密光学系统,设备成本较高;且受限于信号采集速度(通常秒级时间分辨率),目前尚难以捕捉神经元电活动等毫秒级生理过程^[43]。

综上所述,基因编码荧光生物传感器在活细胞代谢动态监测方面具有不可替代的价值。这类生物传感器作为完全由基因编码的蛋白质分子,其核心优势在于:通过简单的 DNA 转染即可实现生物传感器高效表达,避免了传统方法中复杂的样品前处理过程;其次,利用组织特异性启动子可实现生物传感器的细胞类型特异性表达;最重要的是,这类生物传感器能够实现亚细胞器分辨率(~200 nm)和毫秒

级时间分辨率的实时监测,这是传统色谱技术无法企及的。这些特性使基因编码荧光生物传感器成为研究中心碳代谢网络时空动态调控的理想工具,特别是在解析代谢异常相关疾病机制方面展现出巨大潜力。目前,已开发出多种用于检测中心碳代谢的基因编码代谢物传感器。本综述将它们分为四类:糖酵解相关传感器、三羧酸循环相关传感器、吡啶核苷酸代谢相关传感器和能量相关传感器,详细介绍近 5 年中心碳代谢相关生物传感器的发展、优势、劣势和应用。

2 基因编码荧光生物传感器在中心碳代谢实时监测中的应用

基因编码荧光生物传感器技术的发展为实时、动态监测中心碳代谢网络提供了革命性工具。这些生物传感器不仅能够实现亚细胞水平的高时空分辨率成像,还能在活细胞中无创地追踪代谢物的动态变化,为研究细胞能量代谢调控机制开辟了新途径。根据代谢通路和检测靶点的不同,重点介绍近五年开发的核心碳代谢关键生物传感器(表 2)。

表 2 中心碳代谢相关生物传感器
Table 2 Biosensors related to central carbon metabolism

分类	传感器	检测靶点	响应 (~% & ~ns)	K _d or K _R (~μmol/L)	检测方式	文献
糖酵解	iGlucoSnFR	葡萄糖	232	7 700	cpGFP	[44]
	Red Glifons300	葡萄糖	430	320	mApple	[45]
	Red Glifons3000	葡萄糖	330	3 000	mApple	[45]
	qmTQ2-glucose	葡萄糖	0.5 ns	13.8	FLIM	[46]
	Pyronic	丙酮酸	120	195	FRET	[47]
	PyronicSF	丙酮酸	250	480	cpGFP	[48]
	GreenPy1Highest	丙酮酸	1 960	35	cpGFP	[49]
	GreenPy1High	丙酮酸	4 430	200	cpGFP	[49]
	GreenPy1Low	丙酮酸	4 100	370	cpGFP	[49]
	GreenPy1Lowest	丙酮酸	4 820	2 730	cpGFP	[49]
	ApplePy1Highest	丙酮酸	2 160	74	cpmApple	[49]
	ApplePy1High	丙酮酸	2 740	240	cpmApple	[49]
	ApplePy1Low	丙酮酸	2 760	470	cpmApple	[49]
	ApplePy1Lowest	丙酮酸	3 200	1 630	cpmApple	[49]
	iLACCO1	乳酸	2 970	360	cpGFP	[50]
	iLACCO1.1	乳酸	1 520	4 600	cpGFP	[50]
	iLACCO1.2	乳酸	2 840	17	cpGFP	[50]
	R-iLACCO1	乳酸	2 000	74	cpmApple	[51]
	R-iLACCO1.1	乳酸	2 200	230	cpmApple	[51]
	R-iLACCO1.2	乳酸	1 500	350	cpmApple	[51]
	GEM-IL3.0	乳酸	220	661	FRET	[52]

续表2 中心碳代谢相关生物传感器

Continued Table 2 Biosensors related to central carbon metabolism

分类	传感器	检测靶点	响应 (~% & ~ns)	K_d or K_R (~ $\mu\text{mol/L}$)	检测方式	文献
糖酵解	CanlonicSF	乳酸	290	293	cpGFP	[53]
	FiLa	乳酸	1 500	130	cpYFP	[54]
	FiLa-H	乳酸	2 600	20	cpYFP	[54]
	LiLac	乳酸	-1.2 ns	2 660	FLIM	[55]
	Lapronic	乳酸/丙酮酸	120	0.2	FRET	[56]
三羧酸循环	Malon	苹果酸	1 000	2 200	cpGFP	[57]
	DcuS-cpGFP	苹果酸	180	35	cpGFP	[57]
	Citron1	柠檬酸	900	1 100	GFP	[58]
	Citroff1	柠檬酸	1 900	5	GFP	[58]
	Citroff1 S244A	柠檬酸	2 000	35	GFP	[58]
	Citroff1 R250A	柠檬酸	1 700	153	GFP	[58]
	Citroff1 S244A Y199F	柠檬酸	1 100	965	GFP	[58]
	qmTQ2-citrate	柠檬酸	0.8ns	4 600	FLIM	[46]
	PancACe	乙酰辅酶A	200	274	cpGFP	[59]
	Malibu	丙二酰辅酶A	198	360	cpEGFP	[60]
	LACSer	长链脂肪酰辅酶A	C14:0: -50%	C14:0: 0.657	cpYFP	[61]
			C16:0: -60%	C16:0: 0.322		
			C18:1: -60%	C18:1: 0.45		
	LACSerHR	长链脂肪酰辅酶A	292	0.104	cpYFP	[62]
	GlutaR	谷氨酰胺	1 000	407	cpYFP	[63]
	GlutaR-M	谷氨酰胺	800	2 100	cpYFP	[63]
	iGluSnFR3. v82	谷氨酸	1 310	32	cpVenus	[64]
	iGluSnFR3. v857	谷氨酸	5 400	196	cpVenus	[64]
吡啶核苷酸代谢	Peredox-mCherry	NADH	220	1.2	FRET	[65]
	FiNad	NAD ⁺	800	Up to AXP	cpYFP	[66]
	NAPstar1	NADPH/NADP	150	0.000 6	FRET	[67]
	NAPstar2	NADPH/NADP	150	0.007 2	FRET	[67]
	NAPstar3	NADPH/NADP	150	0.028 4	FRET	[67]
	NAPstar6	NADPH/NADP	150	0.077 4	FRET	[67]
	NAPstar7	NADPH/NADP	150	0.045 7	FRET	[67]
	NAPstar3b	NADPH/NADP	150	0.018 2	FRET	[67]
	NAPstar4.3	NADPH/NADP	150	0.284 2	FRET	[67]
能量代谢	OAS1.0	ATP	-90%	1 200	cpVenus	[68]
	iATPSnFR2. A95A. A119L.	ATP	1 200	530	cpSFGFP	[69]
	HaloTag-JFX650					
	iATPSnFR2. A95K. HaloTag-	ATP	1 000	16	cpSFGFP	[69]
	JFX650					
	iATPSnFR2. S29W. A95K.	ATP	1 400	4	cpSFGFP	[69]
	HaloTag-JFX650					
	qmTQ2-ATP	ATP	-1.1 ns	1 300	FLIM	[46]
	qMaLioffG	ATP	-1.1 ns	2 200	FLIM	[70]
	GRISerHR	GTP/GDP	600	0.07	cpYFP	[71]
	HIPSer	IP6	400	3.4	cpEGFP	[72]

2.1 糖酵解相关荧光生物传感器

糖酵解作为细胞能量代谢的核心途径,其代谢物动态变化直接反映了细胞的能量状态。新一代糖酵解生物传感器通过基因编码设计,实现了对葡萄糖、丙酮酸和乳酸等关键代谢物的精准监测。其中,iGlucoSnFR生物传感器^[44]以其232%的高响应幅度和7 700 $\mu\text{mol/L}$ 的 K_d 值,成为研究葡萄糖动态变化的利器;而Red Glifons系列生物传感器^[45]则利用mApple荧光蛋白的红移特性,为多色成像实验提供了理想选择。在丙酮酸检测方面,GreenPy1系列生物传感器^[49]通过不同亲和力变体($K_d=35\sim 2\,730\,\mu\text{mol/L}$)的设计,满足了从基础研究到病理模型等不同应用场景的需求。FiLa系列生物传感器^[54],实现活体实时监测乳酸变化,并证实线粒体中含有乳酸。特别值得一提的是,Lapronic生物传感器^[56]创新性地实现了乳酸/丙酮酸双底物检测($K_d=0.2\,\mu\text{mol/L}$),为研究两者代谢平衡提供了独特工具。

2.2 三羧酸循环相关荧光生物传感器

三羧酸循环是细胞能量代谢的中枢,其代谢中间物的动态变化蕴含着丰富的调控信息。最新开发的TCA循环生物传感器通过精巧的蛋白质工程设计,实现了对多种关键代谢物的特异性检测。DcuS-cpGFP生物传感器^[57]($K_d=35\,\mu\text{mol/L}$)以其快速的响应特性(180%),为研究苹果酸的瞬时变化提供了可能。在柠檬酸检测方面,Citroff1系列生物传感器^[58]通过定点突变策略,实现了从5 $\mu\text{mol/L}$ 到965 $\mu\text{mol/L}$ 的宽范围 K_d 调节,可适应不同细胞类型的检测需求。特别值得注意的是,LACSerHR生物传感器^[62]对长链脂肪酰辅酶A的检测灵敏度达到惊人的0.104 $\mu\text{mol/L}$,为研究脂代谢与TCA循环的交互作用提供了关键工具。

2.3 吡啶核苷酸代谢相关荧光生物传感器

细胞氧化还原状态的精确调控对维持生命活动至关重要。新一代吡啶核苷酸生物传感器Peredox-mCherry^[65]($K_d=1.2\,\mu\text{mol/L}$)利用FRET机制,可灵敏反映NADH/NAD⁺比值的变化。而NAPstar系列生物传感器^[67]更是将检测灵敏度推向新高度,其中NAPstar1对NADPH的 K_d 值低至0.000 6 $\mu\text{mol/L}$,为研究氧化应激等生理过程提供了前所未有的分辨率。这些生物传感器的开发使研究者能够实时观测细胞在代谢应激、氧化损伤等条件下的动态响应。

2.4 能量代谢相关荧光生物传感器

ATP等能量分子的实时监测是理解细胞能量代谢调控的关键。最新开发的能量代谢生物传感器

通过多种技术路线的创新,实现了对高能分子的精准追踪。iATPSnFR2.S29W.A95K生物传感器^[69]($K_d=4\,\mu\text{mol/L}$)以其高亲和力特性,可检测微摩尔级的ATP浓度变化。而qmTQ2-ATP生物传感器^[46]采用FLIM检测模式,有效避免了传统荧光强度检测中的信号干扰问题。在GTP检测方面,GRISerHR生物传感器^[71]($K_d=0.07\,\mu\text{mol/L}$)的高灵敏度设计使其成为研究小G蛋白信号转导的理想工具。HIPSer生物传感器^[72]($K_d=3.4\,\mu\text{mol/L}$)则填补了IP6检测的技术空白,为研究磷酸肌醇代谢提供了新手段。

这些生物传感器通过cpFP、FRET、FLIM等不同检测机制的巧妙组合,构建了一个完整的代谢监测工具包。从基础机制研究到疾病模型分析,从单细胞成像到组织水平观测,这些工具正在推动代谢研究进入一个全新的时代。随着生物传感器性能的持续优化和应用场景的不断拓展,我们有望更深入地揭示细胞代谢网络的动态调控规律,为代谢性疾病的诊疗提供新的思路和方法。

3 本课题组开发的中心碳代谢相关荧光生物传感器

本课题组系统性地开发了一系列基因编码荧光传感器(图3),实现了对中心碳代谢关键节点的动态可视化监测。通过构建“代谢物-能量-脂质”多维传感体系,我们不仅突破了传统代谢检测技术的时空分辨率限制,更在代谢调控机制研究方面取得重要进展。这一研究体系的建立,不仅为代谢基础研究提供了强有力的工具,更为相关疾病的精准诊断和治疗靶点发现奠定了技术基础。通过实时监测这些关键代谢节点的动态变化,我们得以在分子水平上揭示细胞代谢调控的时空特征,为理解生命过程的化学本质提供了新的视角。

3.1 谷氨酰胺基因编码荧光传感器

谷氨酰胺作为中心碳代谢的关键节点分子,同时也是人体血液循环中浓度最高的条件必需氨基酸,其代谢网络在细胞能量和物质代谢中占据核心地位。该分子不仅作为重要的碳氮供体参与蛋白质生物合成、三羧酸循环能量代谢、核苷酸合成及蛋白质糖基化修饰等基础代谢过程,更通过调控核内三羧酸循环(nuclear TCA cycle)直接影响组蛋白乙酰化和DNA甲基化等表观遗传修饰过程。谷氨酰胺代谢紊乱与肌肉萎缩性疾病、肝性脑病及肿瘤代谢重编程等病理过程密切相关。

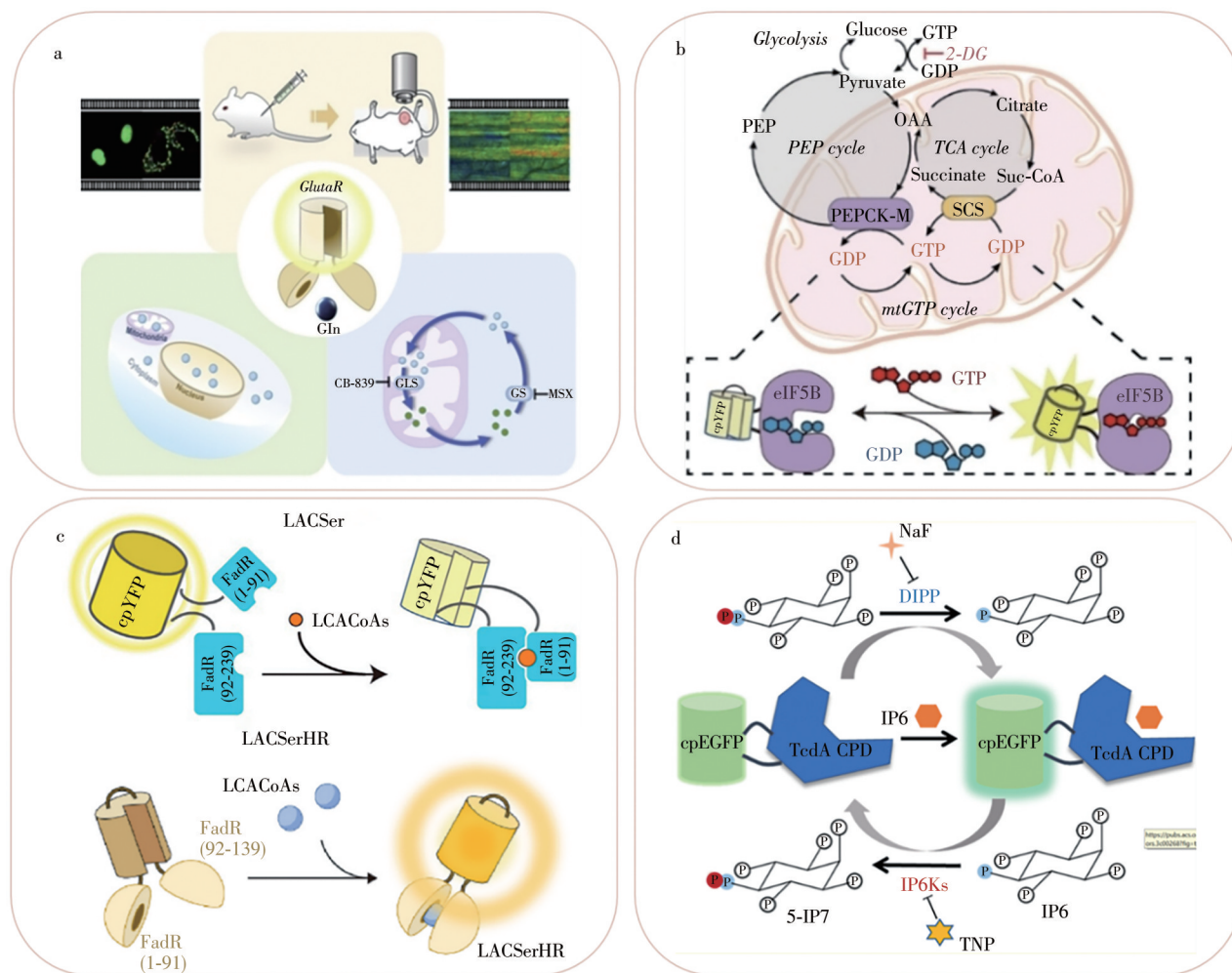


图3 本课题组开发的中心碳代谢相关基因编码荧光生物传感器

(a)谷氨酰胺基因编码荧光传感器^[63]; (b)GTP/GDP基因编码荧光传感器^[71]; (c)长链脂肪酰辅酶A基因编码荧光传感器^[62]; (d)肌醇六磷酸基因编码荧光传感器^[72]

Figure 3 Genetically encoded fluorescent biosensors related to central carbon metabolism developed by our group

(a) Glutamine genetically encoded fluorescent sensor^[63]; (b) GTP/GDP genetically encoded fluorescent sensor^[71]; (c) Long-chain fatty acyl-CoA genetically encoded fluorescent sensor^[62]; (d) Inositol hexakisphosphate genetically encoded fluorescent sensor^[72]

针对谷氨酰胺代谢动态监测的技术需求,新一代荧光生物传感器 GlutaR 展现出卓越性能^[63](图 3a)。该传感器具有三大技术突破:1)检测灵敏度显著提升,在生理浓度范围内(0.1~10 mmol/L)可产生 10 倍的荧光信号响应,能够精确捕捉微环境中的代谢波动;2)时间分辨率达到亚秒级,可实时动态监测不同亚细胞区室(如线粒体、细胞核)内谷氨酰胺的快速代谢变化;3)特异性显著提高,有效区分谷氨酰胺与其他结构类似氨基酸。这些特性使其成为研究中心碳代谢网络时空动态的理想工具。需要指出的是,由于谷氨酰胺代谢过程常伴随显著的细胞内 pH 波动(如肿瘤微环境中的“瓦氏效应”),而 GlutaR 传感器的荧光信号对 pH 变化较为敏感,未来研

究可通过开发双参数校正系统或构建 pH 稳定性突变体等策略进一步优化。

综上所述,作为目前最先进的谷氨酰胺荧光生物传感器,GlutaR 为揭示谷氨酰胺在中心碳代谢网络中的时空动态调控机制提供了强有力的研究工具,其应用将极大促进对代谢性疾病和肿瘤发生发展机制的深入理解。该传感器的开发也代表了代谢物检测技术的重要进步,为其他关键代谢物的实时监测提供了新的技术思路。

3.2 GTP/GDP 基因编码荧光传感器

GRISerHR 作为首个特异性监测细胞内 GTP/GDP 动态比率的荧光生物传感器,在中心碳代谢研究中具有开创性意义。该传感器的核心突破在于其

能够直接捕捉GTP/GDP这一关键“代谢天平”的动态变化,而非传统方法所测量的单一核苷酸绝对浓度^[71](图3b)。基于其独特的比率型荧光响应机制,GRISerHR展现出6倍的信号动态范围和秒级时间分辨率,使其能够:(1)灵敏检测能量应激(如葡萄糖剥夺)或鸟苷三磷酸酶(GTPase)信号异常导致的比值波动;(2)实时追踪ATP耗竭引发的GTP水解加速过程;(3)精确解析线粒体基质中琥珀酰辅酶A合成酶(GTP生成型)介导的底物水平磷酸化与磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(线粒体型)驱动的脱羧反应等核心代谢事件。这些特性为揭示TCA循环与磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)循环的代谢活性,以及鸟苷核苷酸代谢网络的调控机制提供了前所未有的时空分辨率。作为代谢监测领域的重大突破,GRISerHR不仅为理解中心碳代谢与能量传感的分子机制提供了关键工具,更为代谢性疾病和肿瘤治疗的创新策略开发奠定了重要技术基础。

3.3 长链脂肪酰辅酶A基因编码荧光传感器

长链脂肪酰辅酶A(LCACoAs)是中心碳代谢中一类关键的信号分子和代谢中间体,在能量代谢调控中具有枢纽地位。作为具有多重生物活性的脂质分子,LCACoAs不仅参与脂质合成和 β -氧化等基础代谢过程,更通过以下机制调控细胞功能:1)调节胰岛素分泌和葡萄糖代谢;2)调控细胞凋亡和自噬;3)影响免疫炎症反应和巨噬细胞极化;4)驱动神经元突触重塑。其代谢紊乱与脂肪肝、糖尿病、神经退行性疾病及肿瘤转移等多种重大疾病密切相关。然而,由于LCACoAs具有高度动态的亚细胞区室化分布特征,且其纳摩尔级浓度波动即可显著影响细胞功能,传统检测技术难以满足实时监测需求。为此,研究者开发了新一代荧光生物传感器LAC-SerHR^[62](图3c),该传感器在前代LACSer基础上实现了三大技术突破:1)检测灵敏度显著提升,亲和力达到生理相关范围(0~200 nmol/L),对棕榈酰辅酶A的K_d值为104 nmol/L;2)信号响应强度提高至2.92倍;3)荧光亮度提升约3倍。这些改进使其能够精确捕捉LCACoAs在亚细胞器水平的动态变化。尽管LACSerHR已展现出良好的应用前景,但仍需增强对特定碳链长度LCACoAs的选择性,以区分不同家族成员的功能差异。作为目前唯一能够实时监测LCACoAs的荧光生物传感器,LACSerHR为解析LCACoAs代谢网络与疾病关联提供了革命性研究工具,将极大推动代谢性疾病和肿瘤研究的进展。

3.4 肌醇六磷酸基因编码荧光传感器

肌醇六磷酸(IP6)作为真核细胞内最丰富的肌醇磷酸代谢物,在中心碳代谢调控中扮演着核心角色。这一多磷酸化分子通过调控细胞信号转导、DNA损伤修复、程序性死亡等基本生命过程维持细胞稳态,同时在肿瘤抑制、胆固醇代谢和抗氧化防御等病理生理过程中发挥关键作用。随着研究发现IP6参与整合体介导的非编码RNA加工等新功能,对其动态代谢网络的解析需求日益迫切,而传统检测方法因依赖细胞裂解且成本高昂难以满足研究需要。在这一背景下,荧光生物传感器HIPSer的开发实现了重大技术突破。该传感器首次实现了活细胞内IP6的实时动态监测,通过特异性分子识别机制产生约4倍的荧光信号响应,相比传统的放射性标记或质谱技术,不仅大幅降低了检测成本,更重要的是保留了代谢过程的时空动态信息^[72](图3d)。这一技术进步为揭示IP6在细胞代谢调控中的精确作用机制提供了全新研究工具。然而,HIPSer传感器对结构相似的IP5存在显著交叉响应,对IP7、IP8等衍生物也有一定识别能力,这在富含多种肌醇磷酸异构体的细胞微环境中可能导致信号解读偏差。这一局限性尤其影响其在IP6特异性代谢通路研究中的应用价值,如整合体依赖的RNA加工或DNA损伤修复过程。未来研究需要重点优化传感器的分子识别特性,通过改进结合口袋设计或引入辅助识别模块来提升对IP6的特异性,从而为深入解析IP6代谢网络与疾病关联提供更精准的研究工具。

4 总结与展望

基因编码荧光传感器已成为代谢研究领域的重要技术突破,其独特的亚细胞级空间分辨率(约200 nm)和毫秒级时间分辨率特性,使其在活细胞及体内代谢动态监测中展现出不可替代的优势。这类传感器从根本上克服了传统生化分析方法在实时性和空间特异性方面的固有局限,实现了从单细胞到亚细胞器水平的精准定量检测,为全面解析代谢物的摄取、转化和排泄动态过程提供了革命性研究工具。目前,基因编码荧光传感器已在多个研究领域取得重要应用进展:在基础研究方面,实现了代谢调控网络的可视化解析;在药物研发领域,为作用机制研究提供了高通量筛选平台;在临床诊断方向,展现出疾病相关代谢异常早期检测的潜力。然而,该技术发展仍面临显著挑战:中心碳代谢关键节点的传感器覆盖率不足(仅约30%),达到临床应用标准

的性能优化传感器数量有限,现有生物传感器的光谱覆盖范围主要局限于500~600 nm波段。为应对这些挑战,未来研究应重点关注三个发展方向:①开发多色生物传感器系统,特别是近红外区传感器,以实现代谢网络的多参数同步成像;②整合代谢组学和核磁共振等互补技术,构建更全面的代谢分析体系;③建立跨尺度、多维度的新型代谢研究范式。这种多技术融合的创新策略将为我们提供前所未有的代谢调控全景视角,不仅推动基础研究的重大突破,更为精准医学和转化研究开辟新的可能性。值得强调的是,随着光学成像技术、计算生物学和人工智能等领域的快速发展,基因编码荧光传感器正迎来新的技术革新机遇。通过跨学科协同创新,这一技术平台有望在未来实现更广泛的应用突破,为生命科学研究和医学发展做出更大贡献。

参考文献:

- [1] VANDER HEIDEN M G, CANTLEY L C, THOMPSON C B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation[J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1029-1033. DOI: 10.1126/science.1160809.
- [2] PAVLOVA N N, THOMPSON C B. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism[J]. *Cell Metab*, 2016, 23(1): 27-47. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.12.006.
- [3] LUNT S Y, VANDER HEIDEN M G. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2011, 27: 441-464. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154237.
- [4] GRAY L R, TOMPKINS S C, TAYLOR E B. Regulation of pyruvate metabolism and human disease[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71(14): 2577-2604. DOI: 10.1007/s00018-013-1539-2.
- [5] MARTÍNEZ-REYES I, CARDONA L R, KONG H, et al. Mitochondrial ubiquinol oxidation is necessary for tumour growth[J]. *Nature*, 2020, 585(7824): 288-292. DOI: 10.1038/s41586-020-2475-6.
- [6] HARDIE D G, ROSS F A, HAWLEY S A. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(4): 251-262. DOI: 10.1038/nrm3311.
- [7] PATRA K C, HAY N. The pentose phosphate pathway and cancer[J]. *Trends Biochem Sci*, 2014, 39(8): 347-354. DOI: 10.1016/j.tibs.2014.06.005.
- [8] LU S C. Glutathione synthesis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(5): 3143-3153. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.09.008.
- [9] STANTON R C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival[J]. *IUBMB Life*, 2012, 64(5): 362-369. DOI: 10.1002/iub.1017.
- [10] XIAO M, YANG H, XU W, et al. Inhibition of α -KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors[J]. *Genes Dev*, 2012, 26(12): 1326-1338. DOI: 10.1101/gad.191056.112.
- [11] TANNAHILL G M, CURTIS A M, ADAMIK J, et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α [J]. *Nature*, 2013, 496(7444): 238-242. DOI: 10.1038/nature11986.
- [12] ALTMAN B J, STINE Z E, DANG C V. From Krebs to clinic: glutamine metabolism to cancer therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(10): 619-634. DOI: 10.1038/nrc.2016.71.
- [13] DANG L, WHITE D W, GROSS S, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate[J]. *Nature*, 2009, 462(7274): 739-744. DOI: 10.1038/nature08617.
- [14] YANG M, SOGA T, POLLARD P J. Oncometabolites: linking altered metabolism with cancer[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(9): 3652-3658. DOI: 10.1172/jci67228.
- [15] CHEN W W, FREINKMAN E, WANG T, et al. Absolute Quantification of Matrix Metabolites Reveals the Dynamics of Mitochondrial Metabolism[J]. *Cell*, 2016, 166(5): 1324-1337.e11. DOI: 10.1016/j.cell.2016.07.040.
- [16] DEBERARDINIS R J, CHANDEL N S. Fundamentals of cancer metabolism[J]. *Sci Adv*, 2016, 2(5): e1600200. DOI: 10.1126/sciadv.1600200.
- [17] ZHAO Y, HU Q, CHENG F, et al. SoNar, a Highly Responsive NAD⁺/NADH Sensor, Allows High-Throughput Metabolic Screening of Anti-tumor Agents[J]. *Cell Metab*, 2015, 21(5): 777-789. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.04.009.
- [18] TANTAMA M, MARTÍNEZ-FRANÇOIS J R, MONGEON R, et al. Imaging energy status in live cells with a fluorescent biosensor of the intracellular ATP-to-ADP ratio[J]. *Nat Commun*, 2013, 4(1): 2550. DOI: 10.1038/ncomms3550.
- [19] HUNG Y P, ALBECK J G, TANTAMA M, et al. Imaging cytosolic NADH-NAD(+) redox state with a genetically encoded fluorescent biosensor[J]. *Cell Metab*, 2011, 14(4): 545-554. DOI: 10.1016/j.cmet.2011.08.012.
- [20] SAN MARTÍN A, CEBALLO S, RUMINOT I, et al. A genetically encoded FRET lactate sensor and its use

- to detect the Warburg effect in single cancer cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57712. DOI: 10.1371/journal.pone.0057712.
- [21] TAO R, ZHAO Y, CHU H, *et al.* Genetically encoded fluorescent sensors reveal dynamic regulation of NADPH metabolism[J]. *Nat Methods*, 2017, 14(7): 720-728. DOI: 10.1038/nmeth.4306.
- [22] HOCHREITER B, GARCIA A P, SCHMID J A. Fluorescent proteins as genetically encoded FRET biosensors in life sciences [J]. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 2015, 15(10): 26281-26314. DOI: 10.3390/s151026281.
- [23] ELLIS J M, WOLFGANG M J. A genetically encoded metabolite sensor for malonyl-CoA[J]. *Chemistry & biology*, 2012, 19(10): 1333-1339. DOI: 10.1016/j.chembiol.2012.08.018.
- [24] CAMERON W D, BUI C V, HUTCHINSON A, *et al.* Apollo-NADP(+): a spectrally tunable family of genetically encoded sensors for NADP(+)[J]. *Nature methods*, 2016, 13(4): 352-358. DOI: 10.1038/nmeth.3764.
- [25] CAMBRONNE X A, STEWART M L, KIM D, *et al.* Biosensor reveals multiple sources for mitochondrial NAD⁺ [J]. *Science (New York, NY)*, 2016, 352(6292): 1474-1477. DOI: 10.1126/science.aad5168.
- [26] BELOUSOV V V, FRADKOV A F, LUKYANOV K A, *et al.* Genetically encoded fluorescent indicator for intracellular hydrogen peroxide[J]. *Nature methods*, 2006, 3(4): 281-286. DOI: 10.1038/nmeth866.
- [27] LOBAS M A, TAO R, NAGAI J, *et al.* A genetically encoded single-wavelength sensor for imaging cytosolic and cell surface ATP[J]. *Nature communications*, 2019, 10(1): 711. DOI: 10.1038/s41467-019-08441-5.
- [28] TANTAMA M, HUNG Y P, YELLEN G. Imaging intracellular pH in live cells with a genetically encoded red fluorescent protein sensor[J]. *J Am Chem Soc*, 2011, 133(26): 10034-10037. DOI: 10.1021/ja202902d.
- [29] LI Y, TSIEN R W. pHTomato, a red, genetically encoded indicator that enables multiplex interrogation of synaptic activity[J]. *Nature neuroscience*, 2012, 15(7): 1047-1053. DOI: 10.1038/nn.3126.
- [30] MA Y, YAMAMOTO Y, NICOVICH P R, *et al.* A FRET sensor enables quantitative measurements of membrane charges in live cells[J]. *Nature biotechnology*, 2017, 35(4): 363-370. DOI: 10.1038/nbt.3828.
- [31] GREENWALD E C, MEHTA S, ZHANG J. Genetically Encoded Fluorescent Biosensors Illuminate the Spatiotemporal Regulation of Signaling Networks [J]. *Chem Rev*, 2018, 118(24): 11707-11794. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00333.
- [32] GOBET I, LIPPAI M, TOMKOWIAK M, *et al.* 4-aminopyridine acts as a weak base and a Ca²⁺ mobilizing agent in triggering oocyte meiosis reinitiation and activation in the Japanese clam *Ruditapes philippinarum* [J]. *The International journal of developmental biology*, 1995, 39(3): 485-491.
- [33] VILLA J K, TRAN H A, VIPANI M, *et al.* Fluorescence Modulation of Green Fluorescent Protein Using Fluorinated Unnatural Amino Acids [J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2017, 22(7): 1194. DOI: 10.3390/molecules22071194.
- [34] BAIRD G S, ZACHARIAS D A, TSIEN R Y. Circular permutation and receptor insertion within green fluorescent proteins[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(20): 11241-11246. DOI: 10.1073/pnas.96.20.11241.
- [35] CHEN T W, WARDILL T J, SUN Y, *et al.* Ultra-sensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity[J]. *Nature*, 2013, 499(7458): 295-300. DOI: 10.1038/nature12354.
- [36] DANA H, MOHAR B, SUN Y, *et al.* Sensitive red protein calcium indicators for imaging neural activity [J]. *Elife*, 2016, 5: 1-24. DOI: 10.7554/eLife.12727.
- [37] SHANER N C, CAMPBELL R E, STEINBACH P A, *et al.* Improved monomeric red, orange and yellow fluorescent proteins derived from *Discosoma* sp. red fluorescent protein[J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(12): 1567-1572. DOI: 10.1038/nbt1037.
- [38] JARES-ERIJMAN E A, JOVIN T M. FRET imaging [J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(11): 1387-1395. DOI: 10.1038/nbt896.
- [39] PILJIC A, SCHULTZ C. Simultaneous recording of multiple cellular events by FRET[J]. *ACS Chem Biol*, 2008, 3(3): 156-160. DOI: 10.1021/cb700247q.
- [40] VANDERKLISH P W, KRUSHEL L A, HOLST B H, *et al.* Marking synaptic activity in dendritic spines with a calpain substrate exhibiting fluorescence resonance energy transfer[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(5): 2253-2258. DOI: 10.1073/pnas.040565597.
- [41] BEREZIN M Y, ACHILEFU S. Fluorescence lifetime measurements and biological imaging [J]. *Chem Rev*, 2010, 110(5): 2641-2684. DOI: 10.1021/cr900343z.
- [42] WALLRABE H, PERIASAMY A. Imaging protein molecules using FRET and FLIM microscopy [J].

- Curr Opin Biotechnol*, 2005, 16(1): 19-27. DOI: 10.1016/j.copbio.2004.12.002.
- [43] NOBIS M, MCGHEE E J, MORTON J P, *et al.* In-travital FLIM-FRET imaging reveals dasatinib-induced spatial control of src in pancreatic cancer[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(15): 4674-4686. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4545.
- [44] KELLER J P, MARVIN J S, LACIN H, *et al.* In vivo glucose imaging in multiple model organisms with an engineered single-wavelength sensor[J]. *Cell Rep*, 2021, 35(12): 109284. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109284.
- [45] MITA M, SUGAWARA I, HARADA K, *et al.* Development of red genetically encoded biosensor for visualization of intracellular glucose dynamics[J]. *Cell Chem Biol*, 2022, 29(1): 98-108 e4. DOI: 10.1016/j.chembiol.2021.06.002.
- [46] ZHONG C, ARAI S, OKADA Y. Development of fluorescence lifetime biosensors for ATP, cAMP, citrate, and glucose using the mTurquoise2-based platform[J]. *Cell Rep Methods*, 2024, 4(11): 100902. DOI: 10.1016/j.crmeth.2024.100902.
- [47] YANG L, JIA C, XIE B, *et al.* Lighting up Pyruvate Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* by a Genetically Encoded Fluorescent Biosensor[J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(3): 1651-1659. DOI: 10.1021/acs.jafc.3c08724.
- [48] ARCE-MOLINA R, CORTES-MOLINA F, SANDOVAL P Y, *et al.* A highly responsive pyruvate sensor reveals pathway-regulatory role of the mitochondrial pyruvate carrier MPC[J]. *Elife*, 2020, 9: e53917. DOI: 10.7554/eLife.53917.
- [49] IMAI S, HARIO S, SUERTE C, *et al.* High-performance genetically-encoded green and red fluorescent biosensors for pyruvate[J/OL]. *bioRxiv*, (2025-04-17) [2025-05-12]. <https://doi.org/10.1101/2025.04.17.649293>.
- [50] HARIO S, LE G N T, SUGIMOTO H, *et al.* High-Performance Genetically Encoded Green Fluorescent Biosensors for Intracellular l-Lactate [J]. *ACS Cent Sci*, 2024, 10(2): 402-416. DOI: 10.1021/acscentsci.3c01250.
- [51] NASU Y, AGGARWAL A, LE G N T, *et al.* Lactate biosensors for spectrally and spatially multiplexed fluorescence imaging[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6598. DOI: 10.1038/s41467-023-42230-5.
- [52] BEKDASH R, QUEJADA J R, UENO S, *et al.* GEM-IL: A highly responsive fluorescent lactate indicator[J]. *Cell Rep Methods*, 2021, 1(7): 100092. DOI: 10.1016/j.crmeth.2021.100092.
- [53] ABURTO C, GALAZ A, BERNIER A, *et al.* Single-Fluorophore Indicator to Explore Cellular and Sub-cellular Lactate Dynamics[J]. *ACS Sens*, 2022, 7(11): 3278-3286. DOI: 10.1021/acssensors.2c00731.
- [54] LI X, ZHANG Y, XU L, *et al.* Ultrasensitive sensors reveal the spatiotemporal landscape of lactate metabolism in physiology and disease [J]. *Cell Metab*, 2023, 35(1): 200-211. DOI: 10.1016/j.cmet.2022.10.002.
- [55] KOVEAL D, ROSEN P C, MEYER D J, *et al.* A high-throughput multiparameter screen for accelerated development and optimization of soluble genetically encoded fluorescent biosensors[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 2919. DOI: 10.1038/s41467-022-30685-x.
- [56] GALAZ A, CORTES-MOLINA F, ARCE-MOLINA R, *et al.* Imaging of the Lactate/Pyruvate Ratio Using a Genetically Encoded Forster Resonance Energy Transfer Indicator[J]. *Anal Chem*, 2020, 92(15): 10643-10650. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c01741.
- [57] RICKS N J, BRACHI M, MCFADDEN K, *et al.* Development of Malate Biosensor-Containing Hydrogels and Living Cell-Based Sensors[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(20). DOI: 10.3390/ijms252011098.
- [58] ZHAO Y, SHEN Y, WEN Y, *et al.* High-Performance Intensiometric Direct- and Inverse-Response Genetically Encoded Biosensors for Citrate[J]. *ACS Cent Sci*, 2020, 6(8): 1441-1450. DOI: 10.1021/acscentsci.0c00518.
- [59] SMITH J J, VALENTINO T R, ABLICKI A H, *et al.* A genetically encoded fluorescent biosensor for visualization of acetyl-CoA in live cells[J]. *Cell Chem Biol*, 2025, 32(2): 325-337. DOI: 10.1101/2023.12.31.573774.
- [60] RANZAU B L, ROBINSON T D, SCULLY J M, *et al.* A Genetically Encoded Fluorescent Biosensor for Intracellular Measurement of Malonyl-CoA [J]. *ACS Bio Med Chem Au*, 2025, 5(1): 184-193. DOI: 10.1021/acsbiochemau.4c00103.
- [61] WANG W, WEI Q, ZHANG J, *et al.* A Ratiometric Fluorescent Biosensor Reveals Dynamic Regulation of Long-Chain Fatty Acyl-CoA Esters Metabolism [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 60(25): 13996-14004. DOI: 10.1002/anie.202101731.
- [62] WANG W, WANG P, ZHU L, *et al.* An optimized fluorescent biosensor for monitoring long-chain fatty acyl-CoAs metabolism in vivo [J]. *Biosens Bioelec-*

- tron, 2024, 247: 115935. DOI: 10.1016/j.bios.2023.115935.
- [63] LIU B, ZHAO Z, WANG P, *et al.* GlutaR: A High-Performance Fluorescent Protein-Based Sensor for Spatiotemporal Monitoring of Glutamine Dynamics In Vivo[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2025, 64(4): e202416608. DOI: 10.1002/anie.202416608.
- [64] AGGARWAL A, LIU R, CHEN Y, *et al.* Glutamate indicators with improved activation kinetics and localization for imaging synaptic transmission[J]. *Nat Methods*, 2023, 20(6): 925-934. DOI: 10.1038/s41592-023-01863-6.
- [65] STEINBECK J, FUCHS P, NEGRONI Y L, *et al.* In Vivo NADH/NAD(+) Biosensing Reveals the Dynamics of Cytosolic Redox Metabolism in Plants[J]. *Plant Cell*, 2020, 32(10): 3324-3345. DOI: 10.1105/tpc.20.00241.
- [66] ZOU Y, WANG A, HUANG L, *et al.* Illuminating NAD(+) Metabolism in Live Cells and In Vivo Using a Genetically Encoded Fluorescent Sensor[J]. *Dev Cell*, 2020, 53(2): 240-252. DOI: 10.1016/j.devcel.2020.02.017.
- [67] SCHERSCHEL M, NIEMEIER J O, JACOBS L, *et al.* A family of NADPH/NAD(+) biosensors reveals in vivo dynamics of central redox metabolism across eukaryotes[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 10704. DOI: 10.1038/s41467-024-55302-x.
- [68] XIAO L, WANG X, LIU D, *et al.* Genetically Encoded Single-Wavelength Sensor with High Specificity for Imaging ATP in Living Cells[J]. *ACS Sens*, 2025, 10(2): 1398-1406. DOI: 10.1021/acssensors.4c03389.
- [69] MARVIN J S, KOKOTOS A C, KUMAR M, *et al.* iATPSnFR2: A high-dynamic-range fluorescent sensor for monitoring intracellular ATP[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2024, 121(21): e2314604121. DOI: 10.1073/pnas.2314604121.
- [70] ARAI S, ITOH H, VU C Q, *et al.* qMaLioffG: A single green fluorescent protein FLIM indicator enabling quantitative imaging of endogenous ATP[J]. *bioRxiv*, (2023-08-31)[2025-05-14]. <https://doi.org/10.1101/2023.08.29.555275>.
- [71] ZHANG M, YANG B, ZHANG J, *et al.* Monitoring the Dynamic Regulation of the Mitochondrial GTP-to-GDP Ratio with a Genetically Encoded Fluorescent Biosensor[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2022, 61(33): e202201266. DOI: 10.1002/anie.202201266.
- [72] LI X, WEI Q, ZHAO K, *et al.* Monitoring Intracellular IP6 with a Genetically Encoded Fluorescence Biosensor[J]. *ACS Sens*, 2023, 8(12): 4484-4493. DOI: 10.1021/acssensors.3c00268.



王晶, 博士, 北京大学药学院研究员, 博士生导师, 药学院化学生物学系副主任, 天然药物及仿生药物全国重点实验室首席研究员, 北京大学国家生物医学成像科学中心首席研究员(兼)。入选国家海外高层次人才计划。长期致力于开发高特异性、高灵敏度和高时空分辨率的化学生物学技术(化学标记、组学、生物传感器和成像技术)实现细胞信号分子动态的精准检测和分子机制研究。至今以第一或通讯作者身份在 *Nat. Chem.*, *Nat. Biotechnol.*, *Nat. Protoc.*, *J. Am. Chem. Soc.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, *Biosens. Bioelectron.*, *ACS Sens.* 等国际重要学术期刊上发表多篇学术论文。目前担任中国药理学会分析药理学专业委员会委员和青年委员会常委。获得北京大学拜耳研究员奖、医学部青年科技奖等奖励。Email: wangjingsioc@pku.edu.cn

(责任编辑: 陈立)