

## 特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2025-030

## 基于转录因子生物传感器的构建与应用进展

王宏<sup>1</sup>, 陆孔泳<sup>2</sup>, 郑洋洋<sup>1</sup>, 陈涛<sup>1</sup>, 王智文<sup>1,2</sup><sup>1</sup> 天津大学化工学院, 天津 300350; <sup>2</sup> 宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021

**摘要:** 微生物细胞工厂作为绿色生物制造的重要实现形式, 广泛应用于食品、化工、医药和能源等领域。然而, 利用传统代谢工程策略改造微生物细胞工厂生产目标产品时, 仍面临静态代谢调控的局限性与代谢通量实时监测的滞后性等问题, 制约着生物基产品的高效生物合成。基于转录因子生物传感器通过实时感知代谢物浓度信号或环境信号, 自动调控目的基因表达, 为微生物细胞工厂的高效构建与智能化调控提供了创新性解决方案。本文介绍了基于转录因子生物传感器的组成、分类及作用机制, 围绕传感器配体识别模块的设计和信号输出模块的元件重构, 总结了基于转录因子生物传感器的构建策略, 对基于转录因子生物传感器在微生物细胞工厂中的应用进展进行了综述, 包括高通量筛选、代谢工程靶点挖掘以及动态调控。聚焦目前基于转录因子生物传感器面临的代谢物响应元件匮乏、检测范围受限、配体识别特异性不足、转录依赖的耗时性和传感器元件鲁棒性缺陷等挑战, 对未来的研究方向进行展望, 为未来基于转录因子生物传感器的构建与应用提供借鉴。

**关键词:** 转录因子生物传感器; 微生物细胞工厂; 高通量筛选; 靶点挖掘; 动态调控

中图分类号: Q81 文献标志码: A

## Construction and advances in the applications of transcription factor-based biosensors

WANG Hong<sup>1</sup>, LU Kongyong<sup>2</sup>, ZHENG Yangyang<sup>1</sup>, CHEN Tao<sup>1</sup>, WANG Zhiwen<sup>1,2</sup><sup>1</sup> School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300350, China; <sup>2</sup> College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, Ningxia, China

**Abstract:** Microbial cell factories are pivotal in green biomanufacturing, with applications spanning various sectors, including food production, chemical engineering, pharmaceuticals, and energy. However, traditional metabolic engineering strategies, which rely on static regulation and are hindered by the inherent latency in real-time metabolic flux monitoring, face significant limitations in constructing microbial systems that efficiently synthesize target products. These constraints severely hinder the high-yield biosynthesis of bio-based compounds. Transcription factor-based biosensors (TFBs), which are cornerstone tools in synthetic biology and metabolic engineering, offer innovative

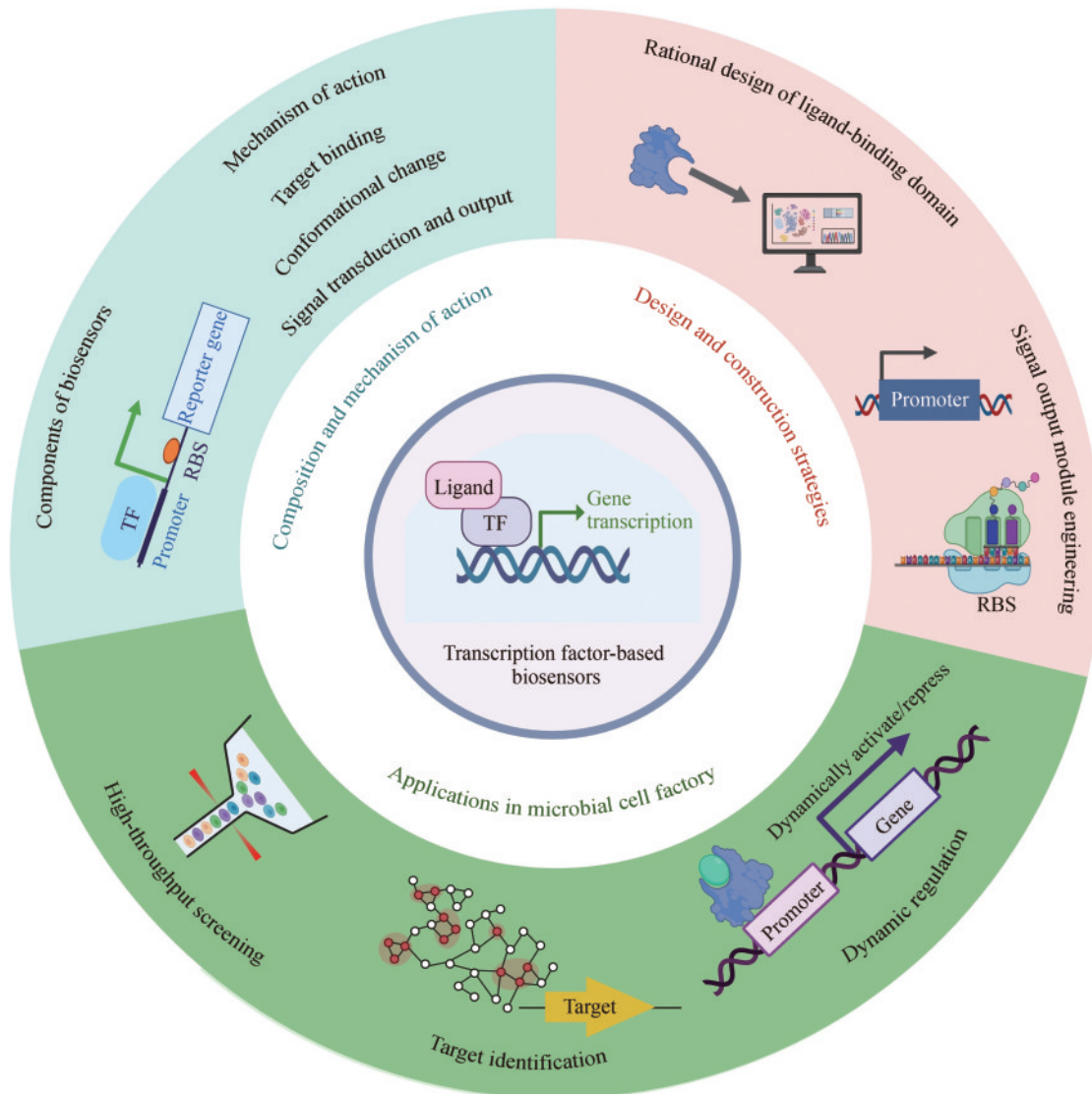
收稿日期: 2025-03-28 修回日期: 2025-05-29

基金项目: 宁夏重点研发基金资助项目 (2024BEE02005)

引用本文: 王宏, 陆孔泳, 郑洋洋, 陈涛, 王智文. 基于转录因子生物传感器的构建与应用进展[J]. 合成生物学, 2025, 6(4): 829-845

Citation: WANG Hong, LU Kongyong, ZHENG Yangyang, CHEN Tao, WANG Zhiwen. Construction and advances in the applications of transcription factor-based biosensors[J]. Synthetic Biology Journal, 2025, 6(4): 829-845

solutions by dynamically linking real-time perception of metabolite concentration signals or environmental cues with autonomous regulation of target gene expression. This integration allows for intelligent optimization and efficient construction of microbial production systems. This review systematically examines the molecular architecture, functional classification, and signal transduction mechanisms of TFBs, focusing on the rational design of ligand-recognition modules and the reconfiguration of signal-output components. Key strategies for constructing TFBs are summarized, including directed evolution and rational redesign of transcription factor ligand-binding domains (LBD), modular engineering of responsive promoters, and optimization of ribosome binding sites (RBS) for reporter genes. The review also highlights cutting-edge applications of TFBs in microbial cell factories, such as high-throughput screening platforms, identification of metabolic engineering targets, and dynamic regulation of metabolic pathways. Despite their transformative potential, several challenges remain, including the scarcity of metabolite-responsive elements, narrow ligand detection ranges, insufficient substrate recognition specificity, time-consuming transcription-dependent processes, and poor robustness of sensor components under industrial conditions. To address these bottlenecks, future research must prioritize the integration of synthetic biology with artificial intelligence (AI)-driven big data modeling. Such interdisciplinary efforts will accelerate the development of customizable, standardized plug-and-play modular components to overcome



limitations like the shortage of responsive elements. Concurrently, the establishment of scalable validation platforms across “lab-scale, pilot-scale, and industrial production” stages is essential to validate system scalability, laying the foundation for next-generation TFBs capable of supporting large-scale industrial biomanufacturing. These advancements are set to enhance the efficiency and intelligence of microbial cell factories while expanding their applications in critical areas such as food safety testing, environmental monitoring, and medical diagnostics and therapeutics. By offering critical insights into the design and application of TFBs, this review aims to drive the evolution of microbial cell factories into multifunctional, smart bioproduction systems that integrate precision, adaptability, and industrial robustness, ultimately fostering sustainable innovation in the bioeconomy.

**Keywords:** transcription factor biosensors; microbial cell factory; high-throughput screening; target mining; dynamic regulation

微生物细胞工厂作为绿色生物制造的重要实现形式，通过合成生物学与代谢工程技术重构微生物代谢网络，能够高效合成生物医药、生物燃料等高附加值产品。当前，以大肠杆菌、谷氨酸棒状杆菌及酿酒酵母为底盘的微生物细胞工厂，已成功突破复杂化合物的生物合成壁垒，相继实现异丁醇<sup>[1]</sup>、单萜类化合物<sup>[2]</sup>、青蒿酸<sup>[3]</sup>等物质的高效合成。然而，利用传统代谢工程策略改造微生物细胞工厂生产目标产品时，仍面临静态代谢调控的固有局限性<sup>[4]</sup>与代谢通量实时监测的滞后性<sup>[5]</sup>等问题。一方面，代谢网络的拓扑复杂性导致静态代谢调控难以实现目标产物合成途径代谢流的最优分配，如萜类合成途径中甲羟戊酸（MVA）与甲基赤藓糖磷酸（MEP）支路的碳代谢流竞争，常引发代谢中间体累积并产生细胞毒性效应<sup>[6]</sup>；另一方面，现有代谢通量解析技术依赖离线分析（如HPLC和MS），其时间延迟与操作成本严重制约了高通量菌株筛选与发酵过程动态优化的实施效率<sup>[7]</sup>。

为突破微生物细胞工厂面临的静态调控代谢流失衡与通量监测滞后等瓶颈，研究人员开发了基因编码型生物传感器（genetically encoded biosensors, GEB），用于响应特定的输入信号并输出既定信号，进而实现代谢网络途径的动态调控与高产菌株的快速筛选<sup>[8]</sup>。根据识别元件与信号转导方式的不同，GEB可以分为转录因子型、核糖开关型、双组分系统和荧光共振能量转移（FRET）型四大类<sup>[9]</sup>。其中，转录因子型、核糖开

关型和双组分系统生物传感器利用信号识别元件识别目标分子，并通过基因表达调控网络实现信号传递与转换。而FRET型生物传感器则通过信号识别元件特异性结合目标分子，利用荧光共振能量转移的物理特性将构象变化转换为可量化的荧光信号。虽然多数基于FRET的生物传感器识别元件也是转录因子，但它们并不是通过基因表达调控实现信号传递与转换<sup>[10]</sup>。这一特性也决定了基于FRET的生物传感器仅能够通过荧光信号监测目标代谢物的浓度，而不能像基于转录因子的基因回路生物传感器（以下简称为“基于转录因子生物传感器”）一样用于动态调控基因表达。

基于转录因子生物传感器（transcription factor-based biosensors, TFB）由于其天然配体特异性、胞内原位检测能力以及模块化设计潜力，成为合成生物学领域研究的热点<sup>[11-12]</sup>。TFB利用转录因子（transcription factor, TF）的天然配体特异性，可以感知特定代谢物浓度信号或环境信号，并将其转化为可检测的输出信号，如荧光信号、电信号或生长速率信号等<sup>[13]</sup>。基于这种感知-信号转导特性，TFB可以与绿色荧光蛋白等报告基因偶联，从大规模突变文库中快速筛选高产菌株，同时挖掘潜在的代谢工程靶点<sup>[9, 14]</sup>。此外，通过原位监测微生物胞内代谢物浓度变化，TFB还能够动态调控代谢网络相关基因的表达水平从而平衡代谢通量<sup>[15-17]</sup>。近年来，随着合成生物学、系统生物学与计算机辅助蛋白质定向进化等学科与技术的交叉融合，科研人员成功实现了对天然TF和

TF 响应型启动子等传感器元件的理性设计与功能重塑<sup>[18]</sup>, 为构建具有优异性能的 TFB 提供了技术支持与理论指导。TFB 的快速发展也使得 TFB 应用场景拓展至绿色生物制造、环境污染物监测、食品检测以及疾病诊断与治疗等领域<sup>[19-22]</sup>。

本文概述了 TFB 的组成、分类和作用机制; 围绕 TFB 配体识别模块的设计和信号输出模块的元件重构, 介绍了 TFB 的构建策略; 总结了 TFB 在高通量筛选、代谢工程靶点挖掘以及动态调控等领域的最新应用进展。聚焦目前 TFB 面临的代谢物响应元件匮乏、检测范围受限、配体识别特异性不足、转录依赖的耗时性和传感器元件鲁棒性缺陷等挑战, 对其未来发展方向进行展望。为今后 TFB 的构建与应用提供理论参考。

## 1 基于转录因子生物传感器

### 1.1 基于转录因子生物传感器的组成

TFB 是一类基于天然或工程化 TF 构建的基因编码型生物传感器, 其核心架构由配体响应模块和信号输出模块组成。TF 作为配体响应模块的核心组分, 其主要结构包含一个 C 端配体结合域 (ligand-binding domain, LBD) 和一个 N 端 DNA 结合域 (DNA-binding domain, DBD)。其中 LBD 负责配体的识别, 在与配体结合后自身发生构象变化; DBD 负责识别并结合启动子上游序列, 并与启动子区域相互作用, 抑制或激活下游基因的转录<sup>[23-25]</sup>。信号输出模块主要由 TF 响应型启动子、核糖体结合位点 (ribosome-binding site, RBS) 和

报告基因组成, 负责将配体浓度信号转换为可量化输出信号。其中, TF 响应型启动子含有转录因子结合位点 (transcription factor binding site, TFBS), TF 通过与该位点结合调控报告基因的转录输出; RBS 负责调控报告基因的翻译起始速率; 报告基因主要负责信号输出, 常见的报告基因如荧光蛋白基因、抗生素抗性基因以及微生物代谢途径酶基因, 它们可以将 TF 感知的代谢物浓度信号或环境信号转换为荧光强度、细胞生长水平或代谢途径酶基因表达水平<sup>[26]</sup>。

目前, 基于天然或工程化 TF 构建的生物传感器已经能够响应糖类、氨基酸、金属离子、抗生素、脂肪酸等多种物质信号, 以及 pH 值、温度和光等环境信号<sup>[26-27]</sup>, 这些 TFB 促进了绿色生物制造、食品检测、环境监测、医疗诊断等领域的快速与创新。

### 1.2 基于转录因子生物传感器的分类

TF 通常可以分为激活型 TF 和抑制型 TF, 即通过与目标启动子区域结合激活或抑制相关基因的转录输出。基于此特性, TFB 可以分为激活型 TFB 和抑制型 TFB。激活型 TFB 的 TF 结合特定目标配体后, 特异性识别并结合靶向 DNA 序列, 激活报告基因的转录, 进而产生信号输出<sup>[28]</sup> [图 1(a)]。例如, 在酿酒酵母中基于转录激活因子 Leu3p 构建的生物传感器, 当 Leu3p 与  $\alpha$ -苹果酸异丙酯 ( $\alpha$ -Isopropylmalate,  $\alpha$ -IPM) 结合后发生构象变化, 构象变化后的 Leu3p 通过 DNA 结合域靶向结合到下游基因的启动子区域, 激活下游荧光蛋白基因的表达<sup>[29]</sup>。抑制型 TFB 的 TF 在结合特定配体后发生构象变化,

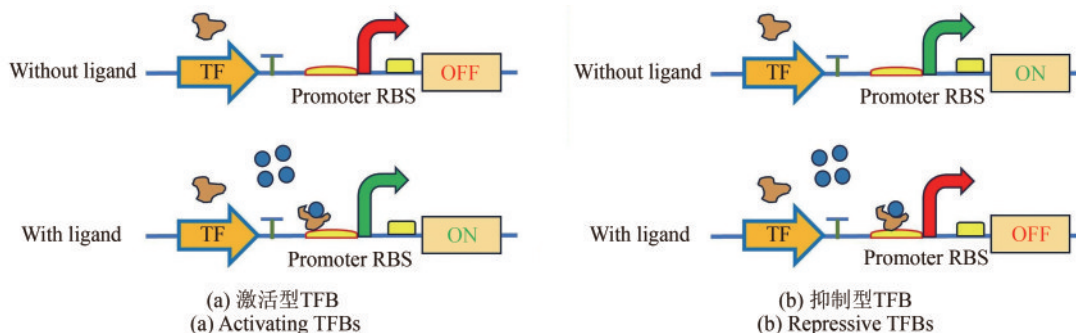


图1 激活型 TFB 和抑制型 TFB 示意图

Fig. 1 Schematic diagram of activating transcription factors (TFBs) and repressive transcription factors (TFBs)

与靶向DNA序列结合阻止RNA聚合酶识别启动子，抑制报告基因的转录[图1(b)]。例如，在大肠杆菌中基于转录因子TrpR1构建的L-色氨酸生物传感器，在存在L-色氨酸的情况下，TrpR1与L-色氨酸结合后发生构象变化，以二聚体形式与启动子结合，阻止RNA聚合酶识别启动子，从而抑制下游绿色荧光蛋白基因的转录<sup>[30]</sup>。

### 1.3 基于转录因子生物传感器的作用机制

TFB主要通过转录因子LBD的变构效应实现对配体的特异性识别，其分子机制可解析为三个连续过程：①配体（如代谢物、金属离子或环境信号）与转录因子LBD特异性结合后，触发变构效应导致TF空间构象重排，典型表现为TF通过配体结合增强与启动子的亲和力<sup>[31]</sup>。②对于激活型TFBs而言，构象变化后的TF通过DBD识别启动子上游的DNA结合基序（DNA-binding motif, DBM），招募RNA聚合酶和其他辅助蛋白质，形成转录起始复合物，激活报告基因转录<sup>[32-33]</sup>。而抑制型TFB的TF在发生构象变化后与启动子结合，阻碍RNA聚合酶识别启动子，抑制报告基因转录。③通过调控报告基因的表达，TFB将生物信号转化为荧光强度、细胞生长或代谢途径酶基因表达水平等可检测信号<sup>[34]</sup>（图2）。例如在大肠杆菌中基于转录因子AsnC构建的生物传感器，当胞内存在5-氨基乙酰丙酸（5-aminolevulinic acid, 5-ALA）时，AsnC与5-ALA特异性结合发生变构效应，进而特异性识别目标启动子，激活红色荧光蛋白表达，将5-ALA浓度与荧光输出信号建立动

态响应曲线，实现对胞内5-ALA浓度的实时监测<sup>[35]</sup>。总之，在检测到配体存在时，TF会与配体结合并诱导自身发生构象变化，改变TF与启动子之间的结合亲和力，从而实现对目标基因的调控。

## 2 基于转录因子生物传感器的构建策略

从系统生物学视角分析，TFB的功能本质上是由配体识别模块与信号输出模块的协同作用来实现的，这种协同作用既依赖于TF配体结合域对配体的特异性捕获能力，又受制于信号输出模块对输入信号的转译效率。本节主要介绍TFB的构建策略，包括配体识别模块的理性设计（如转录因子LBD的定向进化与理性设计）与信号输出模块的元件重构（如TF响应型启动子的元件重构及报告基因的RBS序列适配）。

### 2.1 配体识别模块的设计改造

TF作为配体识别模块的核心结构元件，其与配体的结合亲和力与结合特异性决定了TFB的底物检测范围和底物识别特异性。基于合成生物学理性设计原则及计算模拟驱动的定向进化改造策略，可系统解耦天然TF的功能约束，扩大TFB的底物检测范围、拓宽TFB信号输出的动态范围，重塑TFB的底物识别特异性。

#### 2.1.1 转录因子LBD定向进化扩大TFB底物检测范围

如图3所示，通过对TF定向进化扩大TFB底物检测范围的策略包括随机突变、计算机辅助的

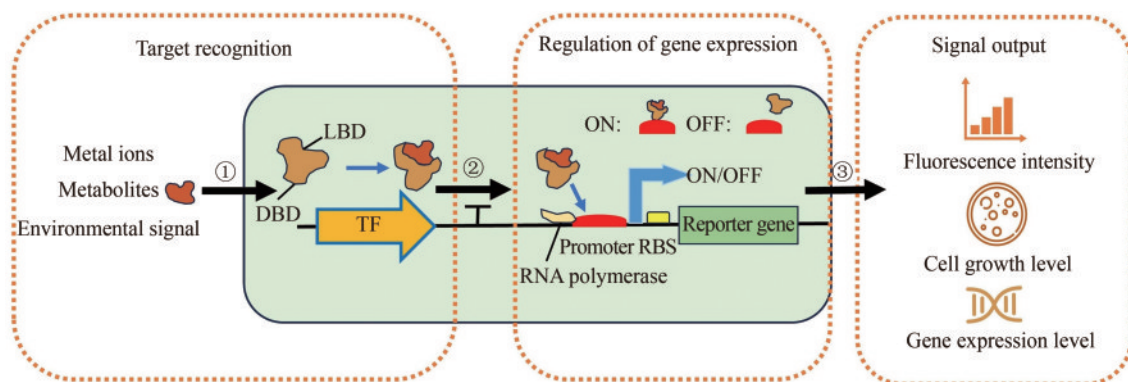


图2 基于转录因子生物传感器的作用机制示意图

Fig. 2 Transcription factor-based biosensors: schematic diagram of mechanism of action

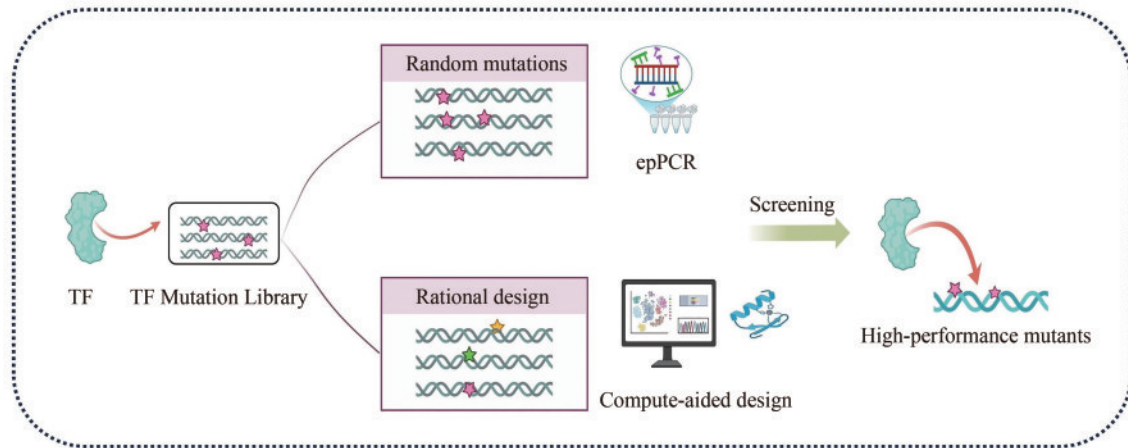


图3 转录因子的定向进化改造示意图

Fig. 3 Schematic diagram of directed evolution for transcription factor engineering

理性设计。随机突变是利用易错PCR在TF的LBD引入随机突变，改变TF与配体的结合亲和力，从而实现TFB底物检测范围的扩大。例如，Chen等<sup>[36]</sup>通过易错PCR在AlkS的LBD引入随机突变，筛选获得的突变体AlkS-M4对丙烷的检测范围下限由野生型的10  $\mu\text{mol/L}$ 降低至0.5  $\mu\text{mol/L}$ 。计算机辅助的理性设计是基于结构与功能的分析，对转录因子LBD关键区域进行定向进化，突破天然TF的功能约束。如Pu等<sup>[37]</sup>以转录因子LysG和BenM为研究对象，系统揭示了其LBD与DBD间铰链区（linker helix, LH）的变构信号转导路径。通过对LH（约30个氨基酸）进行定向进化，成功获得对 $\gamma$ -氨基丁酸（ $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA）检测范围下限由5  $\mu\text{mol/L}$ 降低至0.2  $\mu\text{mol/L}$ 的突变体。此外，在缺乏TF晶体结构时，可以采用蛋白质结构预测软件预测LBD三维构象，结合分子对接技术筛选潜在热点残基进行理性改造。例如，Teng等<sup>[38]</sup>采用AlphaFold2预测PoCR三维结构，明确其LBD与DBD的空间拓扑关系，并基于变构信号传递路径分析，设计多重协同突变体，最终得到的TFB的检测范围扩展至0~20 mmol/L（较原始系统拓宽20倍）。此类研究通过蛋白质结构预测、分子对接与分子动力学模拟等手段，系统解析TF与配体的结合机制并对关键位点进行理性设计，为基于非模式TF的生物传感器构建提供技术借鉴。

### 2.1.2 转录因子LBD理性设计改变TFB底物特异性

转录因子LBD的理性设计为重塑TFB配体特

异性、拓展TFB代谢物检测谱提供了重要策略。TF在天然状态下常表现出广谱配体识别特性，能够结合多种结构类似但功能迥异的化合物。典型实例包括FeaR和TyrR两类转录调控蛋白，其分别对苯乙胺和酪胺等神经递质类似物及苯丙氨酸和酪氨酸等芳香族氨基酸具有交叉响应特性，但缺乏对单一化合物的特异性识别能力<sup>[39-40]</sup>。Rottinghaus等<sup>[39]</sup>通过系统解析关键氨基酸残基与不同配体的相互作用网络，采用理性设计策略改造FeaR和TyrR，使其对苯丙氨酸、酪氨酸、苯乙胺及酪胺的交叉反应系数较野生型降低2~3个数量级。该类研究建立了“多配体响应→单配体专一”的理性设计改造范式。有趣的是，D'oelesnitz等<sup>[41]</sup>通过系统解析樟脑响应因子CamR的变构调控网络，通过对LBD的理性设计开发出可广谱识别桉油精、龙脑等双环单萜类化合物的生物传感器，其交叉反应性较野生型提升6.8倍，成功拓展了TFB的代谢物检测谱。这些研究通过“结构解析—计算模拟—理性设计”三位一体的改造策略，成功实现TF配体识别模式从“单一特异”到“多元兼容”的双向转变，为人工合成调控元件的模块化设计提供技术借鉴。

## 2.2 信号输出模块的元件重构

### 2.2.1 启动子工程拓宽TFB信号输出动态范围

通过对信号输出模块TF响应型启动子区域TFBS的拓扑构型进行理性设计，例如调整启动子

区域 TFBS 的数量、间距及空间排布模式，可以实现对重组载体表达水平的定量控制，拓宽生物传感器信号输出的动态范围。Dabirian 团队<sup>[42]</sup>通过在启动子-35 区与-10 区之间的间隔区域实施模块化改造策略，构建了具有不同空间排布模式的 TFBS 阵列，成功将传感器信号输出动态范围扩展 3.2 倍。Chen 等<sup>[43]</sup>在确定 MyrR 的 DNA 结合位点基础上，基于启动子结构分析设计了四组不同排列的 TFBS 阵列，获得的  $P_{myrC2}$  启动子使传感器信号输出动态范围提高 54 倍。这些研究证实，TFBS 在启动子架构中的数量、间距及空间取向等参数与 TFB 性能密切相关，需结合系统性实验与计算建模实现对启动子的最优设计。当目标 TF 的 TFBS 被明确解析后，通过理性设计将其功能模块整合至异源宿主内源性启动子中，可以构建具有宿主兼容性的人工杂合启动子。如 Lebovich 等<sup>[44]</sup>将枯草芽孢杆菌中转录因子 GabR（响应  $\gamma$ -氨基丁酸，GABA）的三个 DNA 结合位点插入大肠杆菌启动子 J23105 中构建人工杂合启动子  $P_{Gab105}$ ，成功构建跨宿主的  $\gamma$ -氨基丁酸生物传感器，突破了天然 TF 受宿主特异性限制的技术瓶颈。Wei 等<sup>[45]</sup>还在解脂耶氏酵母中将大肠杆菌中的转录因子 XylR 结合位点插入酵母启动子的 TATA 盒附近，形成人工杂合启动子，成功构建出木糖激活型生物传感器。该研究为原核生物 TF 在真核系统中无法直接结合启动子的宿主兼容性问题提供了解决方案。此外，通过对 TF 响应型启动子元件进行定向进化，可以调控信号输出模块的转录激活阈值，拓宽传感器信号输出的动态范围。例如，Beabout 等<sup>[46]</sup>对转录因子 BreR 响应型启动子进行定向进化改造，最终实现传感器信号输出动态范围从约 50 倍提高到约 470 倍。

### 2.2.2 RBS 序列适配实现 TFB 信号放大

通过系统筛选具有不同翻译起始速率的 RBS 元件，并将其与信号输出模块的报告基因进行标准化组装，可以实现 TFB 信号转导通路的级联放大效应。Ding 等<sup>[47]</sup>开创性地建立了基于深度学习的 RBS 协同调控模型，针对链霉菌来源的转录因子 CdaR 及其荧光报告蛋白 sfGFP，采用正交设计策略构建包含 512 组 RBS 组合的交叉文库。将文库精准划分为五个功能亚群并利用算法模型成功预

测了各亚文库性能参数。结果显示，传感器的平均信号输出动态范围呈现指数级增长趋势。此项研究揭示了通过调控 TF 和报告蛋白的翻译起始速率，可以实现 TFB 信号转导通路的级联放大效应，为模块化生物传感器的设计构建与性能预测提供机器学习驱动的工程化范式。类似地，为解决基于转录因子 BaPadR 构建的酚酸生物传感器在大肠杆菌中荧光信号较弱的问题，Li 等<sup>[48]</sup>利用人工设计的强 RBS 序列替换初始 RBS 序列，有效放大了传感器的输出信号。不仅如此，Zhao 等<sup>[49]</sup>通过替换报告基因的 RBS 序列，结合启动子工程微调报告基因的表达，显著降低了生物传感器的基底荧光泄漏。成功将 GABA 生物传感器的动态范围拓宽至 8.10 倍，相比原始系统提升 2.25 倍。

当前，TFB 的构建呈现出多尺度、协同优化趋势。基于 TFB 核心结构元件的定向进化以及理性设计策略扩大了传感器的检测范围，拓宽了传感器信号输出的动态范围，同时改变了其天然底物识别谱系。表 1 总结了近年来报道的 TFB 构建实例。然而，目前大部分 TFB 构建案例依赖经验式试错筛选，耗时长且成本高<sup>[63]</sup>。随着合成生物学与人工智能的进一步交叉融合，有望实现人工合成调控元件的高效开发以及传感器性能的准确评估<sup>[64]</sup>，加快 TFB 的构建。

## 3 基于转录因子生物传感器在微生物细胞工厂的应用

近年来，TFB 应用场景已延伸至天然产物生物制造、食品检测、环境监测及疾病诊断与治疗等多个领域。其中，在利用微生物细胞工厂生产生物基产品领域，TFB 展现出尤为突出的应用价值。本节主要介绍 TFB 在菌株高通量筛选、代谢工程靶点挖掘以及动态调控中的最新应用进展。

### 3.1 基于转录因子生物传感器在高通量筛选中的应用

伴随合成生物学技术的迭代发展，规模化构建基因多样性菌株文库已成为常规操作，如何从文库中高效筛选所需功能表型的菌株，成为制约

表1 基于转录因子构建的生物传感器

Table 1 Biosensors based on transcription factors

转录因子	宿主	响应物质	主要构建策略	传感器性能	参考文献
EryD	解脂耶氏酵母	赤藓糖醇	启动子筛选替换	检测范围扩展至0~400 mmol/L, 500 mmol/L时信号饱和	[50]
CouR	酿酒酵母	对香豆酰辅酶A	启动子元件重构	动态范围高达21.4倍, 具有高度底物特异性	[51]
TrpR	大肠杆菌	色氨酸	TrpR及启动子的定向进化	检测范围从125 mg/L扩展到500 mg/L	[52]
BsNadR	大肠杆菌	烟酸	BsNadR的定向进化	检测范围扩展至0~50 mmol/L	[53]
RamR	大肠杆菌	苜蓿异喹啉生物碱	RamR的定向进化	对5种BIA具有高特异性和灵敏度	[54]
AlkS	大肠杆菌	短链氯代脂肪烃	AlkS的定向进化	荧光输出增加150倍, 检测限降低至0.03 mg/kg	[55]
BenM	大肠杆菌	己二酸	BenM的理性设计	配体特异性改变, 灵敏度提高约3倍	[56]
MarR	大肠杆菌	阿司匹林	MarR的理性设计	配体特异性改变, 检测限低至0.01 mmol/L	[57]
FeaR	大肠杆菌	芳香胺	FeaR的理性设计	动态范围高达580倍, 对苯乙胺特异性响应	[39]
MyrR	大肠杆菌	$\beta$ -蒎烯	启动子元件重构	动态范围提高54倍, 检测范围扩展至0~160 mg/L	[43]
TtgV	大肠杆菌	3-甲基吡啶	启动子及质粒拷贝数优化	检测限低至10 $\mu$ mol/L, 检测范围扩展至10~1750 $\mu$ mol/L	[58]
LldR	大肠杆菌	乳酸	启动子元件重构	检测限低至2.34 mmol/L, 动态范围提高14倍	[59]
BreR	大肠杆菌	胆汁酸	启动子元件重构	动态范围提高至470倍, 检测限低至0.61 $\mu$ mol/L	[46]
MphR	大肠杆菌	红霉素	RBS替换优化MphR表达	获得了灵敏度差异超过10倍的传感器变体	[60]
CdaR	大肠杆菌	葡萄糖酸	交叉RBS组合文库筛选	动态范围从最初的9倍提升到最高247倍	[47]
FapR	大肠杆菌	丙二酰辅酶A	启动子与RBS替换	低浓度mCoA下表现出更高的荧光输出	[61]
CamR	恶臭假单胞菌	丁醇类	CamR的定向进化	特异性响应正丁醇, 展现出显著底物区分能力	[41]
LysG	谷氨酸棒状杆菌	$\gamma$ -氨基丁酸	LysG的定向进化	检测限降低至0.2 $\mu$ mol/L, 动态范围扩展至350倍	[37]
PdhR	枯草芽孢杆菌	丙酮酸	启动子元件重构	动态范围从0.6倍提升至30.7倍	[62]

菌株高效开发的关键瓶颈。TFB通过耦联传感器输出信号与目标代谢物合成水平, 可以实现高活性酶与高产菌株的快速、批量筛选<sup>[65]</sup>。在单基因水平上, TFB可用于从庞大的酶突变文库中快速筛选出催化活性显著提升的突变体。例如, Zhen等<sup>[66]</sup>在大肠杆菌中基于转录因子MetR开发了一种L-高半胱氨酸生物传感器。他们利用该传感器和比色法成功实现对咖啡酸3-O-甲基转移酶(AtComT)突变文库的高通量筛选, 获得催化效率较原始酶提升5.4倍的突变体。尽管基于微孔板阵列的筛选平台较传统单克隆检测效率大幅提高, 但在处理百万级超高通量文库时仍显现出通量限制。TFB与流式细胞荧光分选技术(fluorescence activated cell sorter, FACS)及荧光激活微液滴分选技术(fluorescence-activated droplet sorting, FADS)协同应用, 可以实现真正意义上的超高通量筛选[图4(a)]。例如, Li等<sup>[67]</sup>在大肠杆菌中基于转录因子PsiR构建了一种可响应D-阿洛酮糖的生物传感器。通过与FADS进行模块化耦合, 建立了用于酮糖3-差向异构酶定向进化的超高通量筛选平台

(每秒分析数万液滴), 成功筛选得到催化效率较原始酶提升17倍的突变体。在基因组水平上, TFB能够从大规模菌株突变文库中快速筛选出具有所需表型或产量提高的菌株。例如, Qiu等<sup>[68]</sup>在解脂耶氏酵母中通过紫外线-常压室温等离子体(ARTP)复合诱变技术构建了菌株诱变文库, 并利用基于转录因子EryD构建的生物传感器, 从1152个突变体中成功筛选到关键突变株yIiUA8, 该菌株在摇瓶培养中产物滴度相比初始菌株提高2.4倍。类似地, Gao等<sup>[69]</sup>在大肠杆菌中利用基于转录因子CcdR构建的生物传感器, 结合FACS成功从ARTP诱变文库中快速筛选得到L-半胱氨酸高产菌株, 其L-半胱氨酸产量相较于原始菌株提高2.36倍。虽然TFB在酶分子定向进化与菌株高通量筛选领域展现出显著优势, 但该技术工具在应用过程中仍面临诸多挑战。例如新型代谢物响应元件匮乏、传感器检测范围有限以及传感器特异性不足, 特别是在结构类似物共存的复杂代谢背景下, 筛选过程中容易出现假阳性等<sup>[70-72]</sup>。

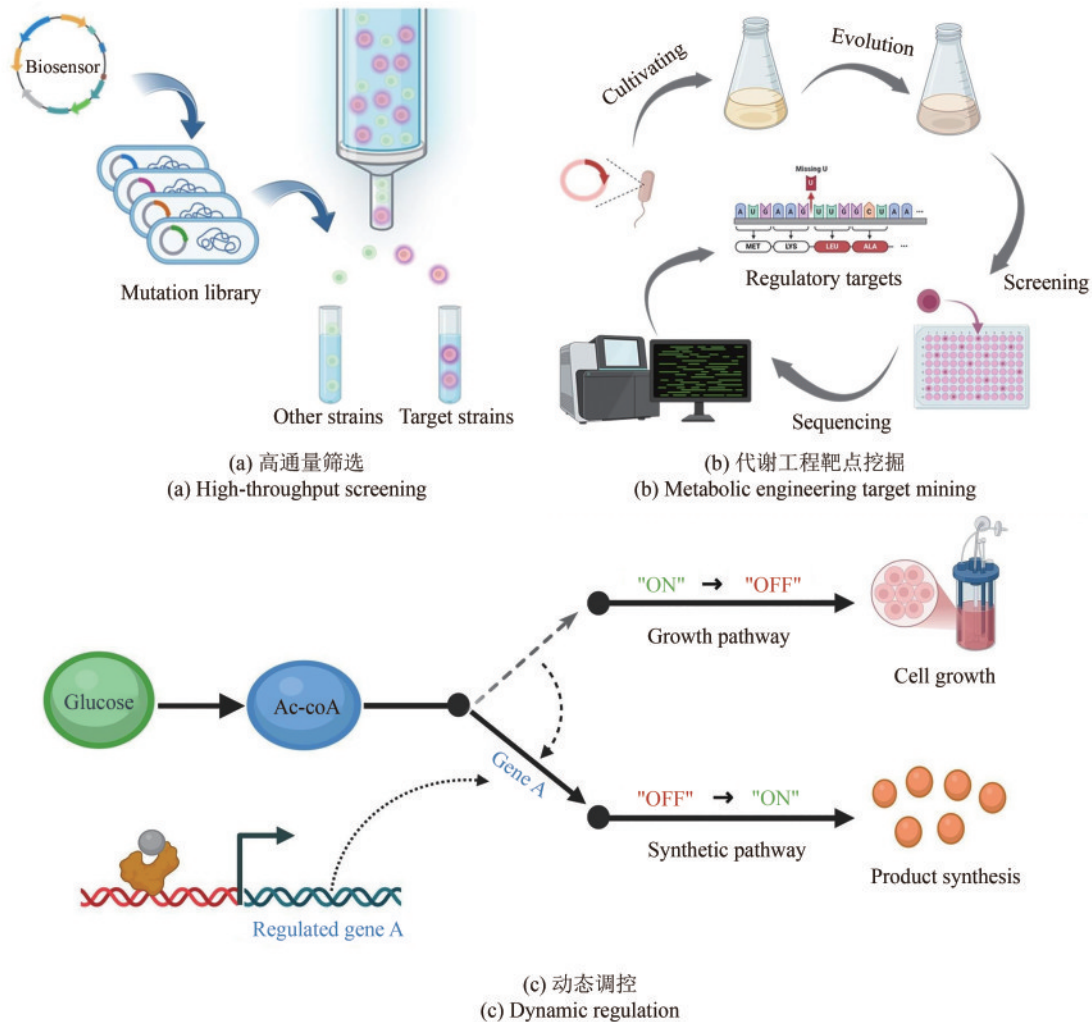


图4 基于转录因子生物传感器在微生物细胞工厂中的应用

Fig. 4 Applications of transcription factor-based biosensors in microbial cell factory

### 3.2 基于转录因子生物传感器在代谢工程靶点挖掘中的应用

传统代谢工程多聚焦于目标产物合成通路的直接优化，包括前体代谢流强化及竞争途径弱化等经典策略。然而，微生物胞内还存在许多隐形调控靶点，它们通过间接作用网络影响产物合成，包括全局转录调控、辅因子平衡调控及膜转运系统调控等<sup>[73-75]</sup>。TFB可以通过系统筛选基因组文库或定向进化菌群，挖掘此类隐性调控靶点，实现目标产物的高效合成 [图4(b)]。在TFB驱动的基因组扰动文库筛选中，Wang等<sup>[76]</sup>利用CRISPR干扰技术（CRISPRi）在大肠杆菌中构建了靶向对香豆酸合成通路基因的扰动文库。利用基于转录因子PadR构建的生物传感器对扰动文库进行筛选，

成功挖掘到两个与对香豆酸合成密切相关的靶点 *pfkA* 与 *ptsI*。实验数据显示，上述靶点的转录抑制可使对香豆酸产量提升超过25%。但受限于通路特异性文库设计，该研究仅能从对香豆酸合成通路挖掘调控靶点，无法获得跨途径隐性调控靶点。Peng等<sup>[77]</sup>则在运动发酵单胞菌中通过构建覆盖宿主基因组所有基因的CRISPRi系统性扰动文库，利用基于转录因子LldR构建的D-乳酸生物传感器，成功挖掘到与D-乳酸产量提升存在显著相关性的两个靶点 *ZMO1323* 和 *ZMO1530*。单基因敲除实验使D-乳酸产量分别提升15%和21%。与上述基因沉默策略形成对比，Baumann等<sup>[78]</sup>利用辛酸生物传感器在酿酒酵母基因组过表达文库中，成功挖掘到辛酸合成新型调控基因 *KCSI* 与 *FSH2*。

*KCSI* 和 *FSH2* 联合过表达使得辛酸产量提高 55%~60%，产率增加 84%。此类研究充分证明 TFB 可以从大规模基因组文库中高效挖掘隐性代谢工程靶点，优化目标产物合成通路。在 TFB 驱动适应性进化筛选中，Stella 等<sup>[79]</sup> 在谷氨酸棒杆菌中基于转录因子 Lrp 构建了一种 L-缬氨酸生物传感器，将菌株生长与细胞内 L-缬氨酸的浓度相耦合。通过适应性进化筛选获得具有生长优势的菌株，基因组测序显示进化菌株突变主要集中在 *AHAS* 基因，表明 *AHAS* 基因显著影响 L-缬氨酸生产。类似策略也成功应用于血红素生物合成研究中，揭示了血红素代谢跨通路隐性调控靶点 *cydD*<sup>[80]</sup>。

### 3.3 基于转录因子生物传感器在动态调控中的应用

在微生物细胞工厂中对目标产物合成途径进行代谢工程改造时，容易引起代谢通量失衡，使得细胞生长和产物合成形成竞争。还会导致中间产物蓄积，甚至诱发细胞毒性效应，严重制约目标产物的合成效率<sup>[24, 81]</sup>。TFB 可以通过实时感知细胞内代谢物浓度变化，并基于反馈调节机制动态调控关键基因表达水平，平衡细胞生长和产物合成 [图 4(c)]。例如，在大肠杆菌中基于转录因子 BenR 构建的苯甲酸 (benzoic acid, BA) 生物传感器，可以有效平衡细胞生长与产物合成之间的代谢竞争<sup>[82]</sup>。在菌株早期生长阶段，BA 浓度较低无法激活传感器，导致 *gltA*\* 表达水平较低，TCA 循环活性较弱，碳通量优先用于细胞生长。而在产物合成阶段，随着 BA 的积累，传感器被激活驱动 *gltA*\* 表达，将乙酰-CoA 从乙酸生成途径转向辅因子的供应，从而促进中间体向苯甲酸苄酯 (benzyl benzoate, BBZ) 的转化。动态调控策略的使用使 BBZ 产量达到 10.4 g/L，较静态调控菌株提高了 1.7 倍，成功解决了细胞生长与产物合成的代谢竞争问题。

TFB 在动态调控前体分流与产物合成的代谢竞争中也发挥着重要作用。Zhang 等<sup>[83]</sup> 在枯草芽孢杆菌中利用基于转录因子 LacI 构建的生物传感器，监测乳糖代谢流的实时波动并动态调控葡萄糖激酶基因 *glcK* 的表达强度。最终实现了对乳糖

转运与 GDP-L-岩藻糖前体合成模块间代谢流竞争的精准调控，使 2'-岩藻糖基乳糖 (2'-FL) 产量提升至 30.1 g/L，较传统静态调控策略提升 2.3 倍。Liu 等<sup>[51]</sup> 在酿酒酵母中基于转录因子 CouR 构建的对香豆酰辅酶 A 生物传感器，通过实时监测对香豆酰辅酶 A 的浓度，动态平衡前体分流与产物合成的代谢竞争，最终柚皮素产量提升 15 倍。此外，TFB 通过反馈调控网络可以动态调控有毒中间产物的合成与降解，维持细胞生理稳态。例如，Yu 等<sup>[84]</sup> 构建了一种血红素生物传感器。通过动态抑制血红素合成限速酶基因的转录水平，成功将血红素浓度稳定在最佳合成窗口，有效缓解血红素积累对细胞产生的毒性作用。值得关注的是，目前已有研究开创性地将 TFB 检测对象从传统代谢物检测拓展至底物摄取速率<sup>[85]</sup>。通过动态调控底物葡萄糖的摄取速率，实现碳代谢通量的动态平衡，提高产物合成效率。这种从代谢物动态监测到底物运输速率动态监控的技术跨越，为复杂发酵体系的精准动态调控提供了全新方案。表 2 总结了近年来 TFB 在微生物细胞工厂中的应用实例。

## 4 基于转录因子生物传感器面临的挑战

尽管目前已经构建出许多响应不同代谢物的 TFB，并成功应用于微生物细胞工厂生产生物基产品。但 TFB 的设计构建和应用仍面临多重技术挑战。响应元件匮乏是目前 TFB 构建与应用面临的首要问题。到目前为止，TFB 的设计构建多利用内源性 TF。但目前已被表征的 TF 数量有限，导致可检测代谢物的谱系受到限制。通过基因组挖掘获得先前未表征的 TF，可以有效扩充 TFB 响应元件库。如通过嗜芳烃新鞘氨醇菌的基因组测序，成功鉴定出特异性响应白藜芦醇的 TF<sup>[97]</sup>。但利用传统方法进行 TF 挖掘和表征存在耗时费力的问题，借助深度学习模型从宏基因组数据中挖掘潜在的 TF 成为研究人员关注的热点<sup>[98]</sup>。还有研究用已知的枯草芽孢杆菌转录因子 PadR 为模板，在解淀粉芽孢杆菌基因组使用 BLAST 工具比对，发现同源转录因子 *BaPadR*<sup>[48]</sup>。通过结构建模与功能验证，确定可能响应水杨酸、肉桂酸等代谢物，为挖掘新型 TF 并构建相应的 TFB 提供了新的方法选

表2 基于转录因子生物传感器在微生物细胞工厂中的应用

Table 2 Applications of transcription factor-based biosensors in microbial cell factory

转录因子	宿主	响应物质	应用领域	应用结果	参考文献
TtgR	大肠杆菌	2S-柚皮素	高通量筛选	筛选出催化活性提高2.34倍的查尔酮合酶突变体	[86]
BmoR	大肠杆菌	乙二醇	高通量筛选	筛选获得的SMM3F突变体催化活性提高1.52倍	[87]
YqhC	大肠杆菌	香兰素	高通量筛选	筛选获得的Mu176突变体催化活性提高7倍	[88]
XylS	大肠杆菌	3-甲基水杨酸	高通量筛选	筛选出催化效率比野生型提高15倍的突变酶	[89]
AlkS	大肠杆菌	异戊醇	高通量筛选	筛选出的异戊醇产量提高45倍的突变菌株	[90]
LysG	谷氨酸棒状杆菌	L-组氨酸	高通量筛选	筛选出100个独立的L-组氨酸高产菌株	[91]
Leu3p	酿酒酵母	$\alpha$ -异丙基苹果酸	高通量筛选	筛选出异丁醇产量高达725 mg/L的突变菌株	[29]
EryD	解脂耶氏酵母	赤藓糖醇	高通量筛选	筛选出赤藓糖醇产量较原始菌株提升4.4倍的突变菌株	[50]
PadR	大肠杆菌	对香豆酸	代谢工程靶点挖掘	挖掘到与对香豆酸生产相关的靶点 <i>pfkA</i> 和 <i>ptsI</i>	[76]
LldR	运动发酵单胞菌	D-乳酸	代谢工程靶点挖掘	挖掘到与D-乳酸生产相关的靶点 <i>ZMO1323</i> 和 <i>ZMO1530</i>	[77]
Lrp	谷氨酸棒状杆菌	支链氨基酸	代谢工程靶点挖掘	挖掘到与支链氨基酸合成相关的靶点 <i>AHAS</i>	[79]
CouR	酿酒酵母	对香豆酰辅酶A	动态调控	柚皮素产量达47.3 mg/L,与未调控相比提高15倍	[51]
Mlc	大肠杆菌	葡萄糖	动态调控	动态调控大肠杆菌葡萄糖摄取速率	[85]
GlcC	大肠杆菌	乙醇酸	动态调控	动态调控 <i>gltA</i> 、 <i>ycdW</i> 和 <i>aceA</i> 的表达水平,乙醇酸产量达到52.2 g/L	[92]
ivbL、BmoR	大肠杆菌	氨基酸、高级醇	动态调控	动态平衡氨基酸向高级醇转化,异丁醇产量达40.4 g/L	[93]
PadR	大肠杆菌	对香豆酸	动态调控	动态调控丙二酰辅酶A合成,覆盆子酮产量提高32.4倍	[94]
LacI	枯草芽孢杆菌	乳糖	动态调控	动态调控 <i>glcK</i> 表达,2'-岩藻糖基乳糖产量达到30.1 g/L	[83]
Rex	希瓦氏菌	NADH/NAD <sup>+</sup>	动态调控	动态调控异丁醇合成途径,异丁醇产量提高10.8倍	[95]
ChnR	谷氨酸棒状杆菌	戊内酰胺	动态调控	动态上调 <i>Acr</i> 的表达水平,戊内酰胺产量提高10倍以上	[96]

择。合成生物学与计算设计技术（如同源建模和分子动力学模拟）的进步，使研究人员能够系统性设计TF配体特异性结合口袋。结合实验筛选与迭代优化，为构建响应新型代谢物的TFB提供了一种很有前景的解决方案。然而，利用计算设计技术辅助的蛋白质半理性设计和定向进化，改造已有TF获得可以响应给定代谢物的工程化TF仍具挑战性。这是因为对计算设计获得的突变体文库进行筛选和表征耗时长且成本高。借助自动化无细胞基因表达（CFE）工作流程，可以在短时间内快速识别出性能优化的TF突变体，将TF的优化筛选缩短至数天<sup>[99]</sup>。通过从头设计和模块化组装构建人工TF，同样为构建无天然TF的特定代谢物TFB提供了新策略。如通过结构建模和分子动力学模拟分析，研究人员设计并组装了包含DNA结合域、配体结合域（负责特异性响应配体）和激活域的人工转录因子DLA和AdT。经实验验证，DLA和AdT可以特异性响应孕酮和雄-4-烯-3,17-二酮<sup>[100-101]</sup>。此外，还有研究通过偶联酶促反应将TF不能直接识别的代谢物转换成可识别的代谢物，

同样为解决TFB响应元件匮乏提供了新的方法选择。如酿酒酵母中目前并未发现可以直接响应异丁醇和异戊醇的TF。但 $\alpha$ -异丙基苹果酸（ $\alpha$ -IPM）可在酿酒酵母中通过酶促反应转化成异丁醇和异戊醇，且酿酒酵母中存在天然响应 $\alpha$ -IPM的转录因子Leu3p。研究人员利用Leu3p构建出间接响应异丁醇和异戊醇的TFB，实现了对TF无法直接识别物质的高效检测<sup>[29]</sup>。

TF响应范围有限和底物特异性不足，容易导致信号响应阈值外传感器无法发挥作用，同时可能会产生信号交叉干扰。针对TF响应范围有限以及特异性不足，通过构建蛋白质深度进化平台（如采用phage-assisted continuous evolution策略）<sup>[102]</sup>，或利用AI预测蛋白质结构<sup>[103]</sup>以及人工智能驱动的其他预测与设计工具，如ProBound（预测蛋白质-配体相互作用亲和力）<sup>[104]</sup>、DeepSEED（辅助设计合成启动子）<sup>[105]</sup>等。结合深度学习辅助的虚拟筛选，系统优化TF配体结合域结构及配体响应型启动子的拓扑结构，改变TFB的检测范围和底物特异性以满足特定应用需求。此外，TFB的信号输入与输

出之间存在固有时间延迟。这种延迟主要是由转录依赖的耗时性决定的,限制了TFB对代谢物的快速、灵敏检测<sup>[106]</sup>。利用无细胞系统构建基于TF的体外生物传感器,无需依赖活细胞生长,可在短时间内完成对代谢物的快速、灵敏检测<sup>[71]</sup>。虽然目前基于TF的体外生物传感器的研究仍处于早期探索阶段,但它独特的分子识别机制使其在目标物质快速检测领域中展现出广阔的应用前景。

现有的动态调控线路多基于实验室标准培养条件开发,其在工业生物制造中的规模化应用仍面临调控元件鲁棒性不足和信号饱和问题<sup>[107]</sup>。具体表现为调控线路缺乏对pH梯度和溶氧波动等工业级发酵条件扰动的感知-反馈能力,以及在高浓度目标代谢物浓度下调控元件出现信号饱和,使得传感器无法发挥作用等<sup>[108]</sup>。这些问题严重制约着TFB驱动的动态调控策略在工业生物制造中的规模化应用。随着基于人工智能和计算生物学辅助的合成生物学元件设计的快速发展,有望开发出具有环境参数自适应校准功能的智能调控元件<sup>[109-110]</sup>。结合构建涵盖“实验室—中试—生产”三级放大平台进行放大验证,为构建支持大规模工业生物制造的新一代TFB奠定基础。例如,在实验室阶段,通过酶促反应将目标代谢物柚皮素转化为下游代谢物山柰酚,间接扩展传感器信号阈值。中试阶段需要扩大培养规模,模拟工业生产中可能出现的各种干扰因素,如温度、pH变化来测试TFB的鲁棒性,并根据测试结果进行改进。在大规模生产中,利用先进的在线监控技术,结合反馈控制系统(如抗拮抗积分反馈控制器),实时监测TFB性能和生产过程中的各种参数并及时调整,以解决TFB在工业生产中因代谢波动和环境扰动导致的不稳定性问题<sup>[111]</sup>。

## 5 总结与展望

本文介绍了TFB的组成、分类和作用机制,总结了目前TFB的构建策略及其在微生物细胞工厂中的最新应用进展。聚焦目前TFB面临的挑战,提出相应的解决方案。基于合成生物学理性设计

原则和计算模拟驱动的多维度工程化重构技术,如TF的定向进化与理性设计、配体响应型启动子元件重构及RBS序列适配等,扩大了TFB的底物检测范围,拓宽了TFB信号输出的动态范围,同时改变了其天然底物识别谱系。值得关注的是,AI模型AlphaFold3等蛋白质结构预测工具和AutoDock等分子对接模拟工具的出现及快速发展,为TFB的构建提供了重要工具<sup>[37-38, 112]</sup>。与此同时,TFB在高通量筛选高活性酶和高产菌株、代谢工程靶点挖掘以及动态调控平衡代谢通量中的广泛应用,不仅为微生物细胞工厂高效生产生物基产品提供了坚实的技术支撑,更为绿色生物制造注入了强大动力。

然而,目前TFB的构建与应用仍面临响应元件匮乏、检测范围与底物特异性不足、转录依赖耗时以及传感器元件鲁棒性缺陷等挑战。利用深度学习模型辅助的基因组挖掘、借助计算设计技术系统设计TF配体结合口袋和寻找同源TF,可以有效扩充TFB响应元件库。模块化设计组装人工TF以及通过酶促反应将TF不能识别的代谢物转换成可识别的等方法,为构建无天然TF的特定代谢物TFB提供了新的方法选择。合成生物学与AI模型的深度融合,加速了蛋白质结构预测与结合位点理性设计,为突破天然TF的检测范围、实现底物特异性重构提供了关键技术支撑。同时也有望助力开发具有环境参数自适应校准功能的智能调控元件,解决TFB在工业应用中的鲁棒性缺陷。值得关注的是,针对TFB转录依赖机制的固有响应延迟问题,基于无细胞系统构建基于体外的TFB系统展现出广阔的应用前景。该技术通过解耦细胞内复杂调控网络,可以实现代谢物检测的实时响应与信号放大,为医疗诊断、环境监测等领域提供了全新的技术工具<sup>[71]</sup>。未来有待开展系统性研究与工程化验证。

总之,随着合成生物学和人工智能驱动的大数据模型进一步发展及交叉融合,有望开发出更多定制化、标准化和即插即用的模块化调控元件(如模块化TF)<sup>[113-115]</sup>,实现TFB的精准、快速设计和构建,驱动微生物细胞工厂高效、智能化发展,并进一步推动其在食品检测、环境监测以及疾病诊断与治疗等领域的应用。

## 参 考 文 献

- [1] SHI A Q, ZHU X N, LU J, et al. Activating transhydrogenase and NAD kinase in combination for improving isobutanol production[J]. *Metabolic Engineering*, 2013, 16: 1-10.
- [2] LUCKIE B A, KASHYAP M, PEARSON A N, et al. Development of *Corynebacterium glutamicum* as a monoterpene production platform[J]. *Metabolic Engineering*, 2024, 81: 110-122.
- [3] PADDON C J, WESTFALL P J, PITERA D J, et al. High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin [J]. *Nature*, 2013, 496(7446): 528-532.
- [4] 于政, 申晓林, 孙新晓, 等. 动态调控策略在代谢工程中的应用研究进展[J]. *合成生物学*, 2020, 1(4): 440-453.
- YU Z, SHEN X L, SUN X X, et al. Application of dynamic regulation strategies in metabolic engineering[J]. *Synthetic Biology Journal*, 2020, 1(4): 440-453.
- [5] MACHADO D, COSTA R S, FERREIRA E C, et al. Exploring the gap between dynamic and constraint-based models of metabolism[J]. *Metabolic Engineering*, 2012, 14(2): 112-119.
- [6] 程术, 邓子新, 卞光凯, 等. 萜类高效合成平台的搭建与萜类产物批量挖掘[J]. *生命科学*, 2019, 31(5): 449-457.
- CHENG S, DENG Z X, BIAN G K, et al. Construction of high-efficient terpenoid platform and the application in terpenoid discovery[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2019, 31(5): 449-457.
- [7] XU X H, LV X Q, BI X Y, et al. Genetic circuits for metabolic flux optimization[J]. *Trends in Microbiology*, 2024, 32(8): 791-806.
- [8] 洪霞, 田开仁, 乔建军, 等. 基因编码型生物传感器在微生物细胞工厂中的应用进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2023, 43(9): 62-76.
- HONG X, TIAN K R, QIAO J J, et al. Application progress of genetically encoded biosensors in microbial cell factory[J]. *China Biotechnology*, 2023, 43(9): 62-76.
- [9] YU W W, XU X H, JIN K, et al. Genetically encoded biosensors for microbial synthetic biology: from conceptual frameworks to practical applications[J]. *Biotechnology Advances*, 2023, 62: 108077.
- [10] VERMA A K, NOUMANI A, YADAV A K, et al. FRET based biosensor: principle applications recent advances and challenges[J]. *Diagnostics*, 2023, 13(8): 1375.
- [11] FERREIRA S S, ANTUNES M S. Re-engineering plant phenylpropanoid metabolism with the aid of synthetic biosensors[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 701385.
- [12] CARPENTER A C, PAULSEN I T, WILLIAMS T C. Blueprints for biosensors: design, limitations, and applications [J]. *Genes*, 2018, 9(8): 375.
- [13] LI C F, WANG C, ZHU J, et al. Advances and prospects of transcription-factor-based biosensors in high-throughput screening for cell factories construction[J]. *Food Bioengineering*, 2022, 1(2): 135-147.
- [14] TU R, ZHANG Y, HUA E B, et al. Droplet-based microfluidic platform for high-throughput screening of *Streptomyces*[J]. *Communications Biology*, 2021, 4: 647.
- [15] YI D, BAYER T, BADENHORST C P S, et al. Recent trends in biocatalysis[J]. *Chemical Society Reviews*, 2021, 50(14): 8003-8049.
- [16] KIM H, JU J, LEE H N, et al. Genetically encoded biosensors based on fluorescent proteins[J]. *Sensors*, 2021, 21(3): 795.
- [17] 赵静宇, 张健, 祁庆生, 等. 基于细菌双组分系统的生物传感器的研究进展[J]. *合成生物学*, 2024, 5(1): 38-52.
- ZHAO J Y, ZHANG J, QI Q S, et al. Research progress in biosensors based on bacterial two-component systems[J]. *Synthetic Biology Journal*, 2024, 5(1): 38-52.
- [18] CHEN L, ZHANG Z H, LI Z H, et al. Learning protein fitness landscapes with deep mutational scanning data from multiple sources[J]. *Cell Systems*, 2023, 14(8): 706-721.e5.
- [19] LI J W, QIN Z Q, ZHANG B H, et al. Development of transcriptional factor-based whole-cell biosensors to monitor and degrade antibiotics using mutant cells obtained via adaptive laboratory evolution[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 473: 134536.
- [20] KANG Z Q, ZHANG M M, GAO K Y, et al. An l-2-hydroxyglutarate biosensor based on specific transcriptional regulator LhgR[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 3619.
- [21] 周子莹, 宋晓东, 刘洋儿, 等. 变构转录因子生物传感器构建策略及在食品安全中的应用进展[J]. *生物技术通报*, 2024, 40(12): 20-33.
- ZHOU Z Y, SONG X D, LIU Y E, et al. Construction strategies of allosteric transcription factor biosensors and their application advances in food safety[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(12): 20-33.
- [22] LI M, CHEN Z Y, HUO Y X. Application evaluation and performance-directed improvement of the native and engineered biosensors[J]. *ACS Sensors*, 2024, 9(10): 5002-5024.
- [23] XIAO C F, PAN Y Y, HUANG M T. Advances in the dynamic control of metabolic pathways in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Engineering Microbiology*, 2023, 3(4): 100103.
- [24] MITCHLER M M, GARCIA J M, MONTERO N E, et al. Transcription factor-based biosensors: a molecular-guided approach for natural product engineering[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2021, 69: 172-181.
- [25] LIU Y E, ZHOU Z Y, WU Y F, et al. Engineered transcription factor-binding diversified functional nucleic acid-based synthetic biosensor[J]. *Biotechnology Advances*, 2024, 77: 108463.

- [26] DE PAEPE B, DE MEY M. Biological switches: past and future milestones of transcription factor-based biosensors[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2025, 14(1): 72-86.
- [27] CHAISUPA P, WRIGHT R C. State-of-the-art in engineering small molecule biosensors and their applications in metabolic engineering[J]. *SLAS Technology*, 2024, 29(2): 100113.
- [28] HUTTANUS H M, TRIOLA E H, VELASQUEZ-GUZMAN J C, et al. Targeted mutagenesis and high-throughput screening of diversified gene and promoter libraries for isolating gain-of-function mutations[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1202388.
- [29] ZHANG Y F, CORTEZ J D, HAMMER S K, et al. Biosensor for branched-chain amino acid metabolism in yeast and applications in isobutanol and isopentanol production[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 270.
- [30] LI H M, ZHANG W, HAN Y Y, et al. Programming a bacterial biosensor for directed evolution of tryptophan hydroxylase via high-throughput droplet sorting[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2025, 271: 117072.
- [31] 刘静, 李龙, 王云霞, 等. 细菌 DeoR 家族转录调控因子的研究进展[J]. *微生物学报*, 2022, 62(3): 906-917.  
LIU J, LI L, WANG Y X, et al. Progress on the DeoR family transcriptional regulators in bacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(3): 906-917.
- [32] YEOM S J, KIM M, KWON K K, et al. A synthetic microbial biosensor for high-throughput screening of lactam biocatalysts [J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 5053.
- [33] PHAM C, STOGIOS P J, SAVCHENKO A, et al. Advances in engineering and optimization of transcription factor-based biosensors for plug-and-play small molecule detection[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2022, 76: 102753.
- [34] SHEN Y P, PAN Y Y, NIU F X, et al. Biosensor-assisted evolution for high-level production of 4-hydroxyphenylacetic acid in *Escherichia coli*[J]. *Metabolic Engineering*, 2022, 70: 1-11.
- [35] SU H F, CHEN S J, CHEN X L, et al. Utilizing a high-throughput visualization screening technology to develop a genetically encoded biosensor for monitoring 5-aminolevulinic acid production in engineered *Escherichia coli*[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2025, 267: 116806.
- [36] CHEN D D, XU S M, LI S L, et al. Directly evolved AlkS-based biosensor platform for monitoring and high-throughput screening of alkane production[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2023, 12(3): 832-841.
- [37] PU W, CHEN J Z, LIU P, et al. Directed evolution of linker helix as an efficient strategy for engineering LysR-type transcriptional regulators as whole-cell biosensors[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2023, 222: 115004.
- [38] TENG Y X, GONG X Y, ZHANG J L, et al. Investigating and engineering an 1, 2-propanediol-responsive transcription factor-based biosensor[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2024, 13(7): 2177-2187.
- [39] ROTTINGHAUS A G, XI C G, AMROFELL M B, et al. Engineering ligand-specific biosensors for aromatic amino acids and neurochemicals[J]. *Cell Systems*, 2022, 13(3): 204-214.e4.
- [40] COULSON T J D, PATTEN C L. The TyrR transcription factor regulates the divergent *akr-*ipdC** operons of *Enterobacter cloacae* UW5[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0121241.
- [41] D'OELSCHNITZ S, NGUYEN V, ALPER H S, et al. Evolving a generalist biosensor for bicyclic monoterpenes[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2022, 11(1): 265-272.
- [42] DABIRIAN Y, LI X W, CHEN Y, et al. Expanding the dynamic range of a transcription factor-based biosensor in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2019, 8(9): 1968-1975.
- [43] CHEN C, LIU J J, YAO G, et al. A novel, genetically encoded whole-cell biosensor for directed evolution of myrcene synthase in *Escherichia coli*[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2023, 228: 115176.
- [44] LEOVICH M, ANDREWS L B. Surveying the genetic design space for transcription factor-based metabolite biosensors: synthetic gamma-aminobutyric acid and propionate biosensors in *E. coli* Nissle 1917[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 938056.
- [45] WEI W P, SHANG Y Z, ZHANG P, et al. Engineering prokaryotic transcriptional activator XylR as a xylose-inducible biosensor for transcription activation in yeast[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2020, 9(5): 1022-1029.
- [46] BEABOUT K, EHRENSWORTH BREEDON A M, BLUM S M, et al. Detection of bile acids in complex matrices using a transcription factor-based biosensor[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2023, 9(9): 5151-5162.
- [47] DING N N, YUAN Z Q, ZHANG X J, et al. Programmable cross-ribosome-binding sites to fine-tune the dynamic range of transcription factor-based biosensor[J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(18): 10602-10613.
- [48] LI C Y, ZHOU Y Y, ZOU Y S, et al. Identifying, characterizing, and engineering a phenolic acid-responsive transcriptional factor from *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2023, 12(8): 2382-2392.
- [49] ZHAO J Y, SUN H H, WANG G G, et al. Engineering chimeric chemoreceptors and two-component systems for orthogonal and leakless biosensing of extracellular  $\gamma$ -aminobutyric acid[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(25): 14216-14228.
- [50] LI L, ZHANG Q Q, SHI R R, et al. Multidimensional combinatorial screening for high-level production of erythritol in *Yarrowia lipolytica*[J]. *Bioresource Technology*, 2024, 406:

- 131035.
- [51] LIU D, SICA M S, MAO J W, et al. A *p*-coumaroyl-CoA biosensor for dynamic regulation of naringenin biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. ACS Synthetic Biology, 2022, 11(10): 3228-3238.
- [52] GONG X Y, ZHANG R H, WANG J, et al. Engineering of a TrpR-based biosensor for altered dynamic range and ligand preference[J]. ACS Synthetic Biology, 2022, 11(6): 2175-2183.
- [53] HAN L C, LIU X Y, CHENG Z Y, et al. Construction and application of a high-throughput *in vivo* screening platform for the evolution of nitrile metabolism-related enzymes based on a desensitized repressive biosensor[J]. ACS Synthetic Biology, 2022, 11(4): 1577-1587.
- [54] D'OELESNITZ S, KIM W, BURKHOLDER N T, et al. Using fungible biosensors to evolve improved alkaloid biosyntheses [J]. Nature Chemical Biology, 2022, 18(9): 981-989.
- [55] CHEN D D, ZHAO J D, XU S M, et al. Detection of short-chain chlorinated aliphatic hydrocarbons through an engineered biosensor with tailored ligand specificity[J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(39): 15614-15623.
- [56] PHAM C, STOGIOS P J, SAVCHENKO A, et al. Computation-guided transcription factor biosensor specificity engineering for adipic acid detection[J]. Computational and Structural Biotechnology Journal, 2024, 23: 2211-2219.
- [57] KIM Y, JEON Y, SONG K, et al. Development of an *Escherichia coli* cell-based biosensor for aspirin monitoring by genetic engineering of MarR[J]. Biosensors, 2024, 14(11): 547.
- [58] PHAM C, STOGIOS P J, SAVCHENKO A, et al. Design and characterization of a generalist biosensor for indole derivatives [J]. ACS Synthetic Biology, 2024, 13(7): 2246-2252.
- [59] XIAO D, HU C X, XU X Z, et al. A D, L-lactate biosensor based on allosteric transcription factor LldR and amplified luminescent proximity homogeneous assay[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2022, 211: 114378.
- [60] WANG Y, LI S X, XUE N, et al. Modulating sensitivity of an erythromycin biosensor for precise high-throughput screening of strains with different characteristics[J]. ACS Synthetic Biology, 2023, 12(6): 1761-1771.
- [61] KALKREUTER E, KEELER A M, MALICO A A, et al. Development of a genetically encoded biosensor for detection of polyketide synthase extender units in *Escherichia coli*[J]. ACS Synthetic Biology, 2019, 8(6): 1391-1400.
- [62] XU X H, LI X L, LIU Y F, et al. Pyruvate-responsive genetic circuits for dynamic control of central metabolism[J]. Nature Chemical Biology, 2020, 16(11): 1261-1268.
- [63] 杨璐, 吴楠, 白茸茸, 等. 基因回路型全细胞微生物传感器的设计、优化与应用[J]. 合成生物学, 2022, 3(6): 1061-1080.
- YANG L, WU N, BAI R R, et al. Design, optimization and application of whole-cell microbial biosensors with engineered genetic circuits[J]. Synthetic Biology Journal, 2022, 3(6): 1061-1080.
- [64] DING N N, YUAN Z N, MA Z, et al. AI-assisted rational design and activity prediction of biological elements for optimizing transcription-factor-based biosensors[J]. Molecules, 2024, 29(15): 3512.
- [65] 赵梅, 罗佳璐, 王震, 等. 基于转录因子的生物传感器研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(12): 362-369.
- ZHAO M, LUO J L, WANG Z, et al. Research progress on transcription-factor-based biosensors[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(12): 362-369.
- [66] ZHEN Z, XIANG L, LI S Z, et al. Designing a whole-cell biosensor applicable for *S*-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2025, 268: 116904.
- [67] LI C, GAO X, QI H B, et al. Substantial improvement of an epimerase for the synthesis of D-allulose by biosensor-based high-throughput microdroplet screening[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2023, 62(10): e202216721.
- [68] QIU X L, XU P, ZHAO X R, et al. Combining genetically-encoded biosensors with high throughput strain screening to maximize erythritol production in *Yarrowia lipolytica*[J]. Metabolic Engineering, 2020, 60: 66-76.
- [69] GAO J S, DU M H, ZHAO J H, et al. Design of a genetically encoded biosensor to establish a high-throughput screening platform for L-cysteine overproduction[J]. Metabolic Engineering, 2022, 73: 144-157.
- [70] TRIVEDI V D, MOHAN K, CHAPPELL T C, et al. Cheating the cheater: suppressing false-positive enrichment during biosensor-guided biocatalyst engineering[J]. ACS Synthetic Biology, 2022, 11(1): 420-429.
- [71] LI S S, LI Z L, TAN G Y, et al. *In vitro* allosteric transcription factor-based biosensing[J]. Trends in Biotechnology, 2023, 41(8): 1080-1095.
- [72] MORASKIE M, ROSHID M H O, O'CONNOR G, et al. Microbial whole-cell biosensors: current applications, challenges, and future perspectives[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2021, 191: 113359.
- [73] 贾男, 臧国伟, 李春, 等. 辅因子在微生物细胞工厂中的代谢调控与应用[J]. 中国生物工程杂志, 2022, 42(7): 79-89.
- JIA N, ZANG G W, LI C, et al. Metabolic regulations and applications of cofactors in microbial cell factories[J]. China Biotechnology, 2022, 42(7): 79-89.
- [74] DONG C, SCHULTZ J C, LIU W, et al. Identification of novel metabolic engineering targets for *S*-adenosyl-L-methionine production in *Saccharomyces cerevisiae* via genome-scale engineering[J]. Metabolic Engineering, 2021, 66: 319-327.
- [75] LI X Y, ZHOU M H, ZENG D W, et al. Membrane transport engineering for efficient yeast biomanufacturing[J].

- Bioresource Technology, 2025, 418: 131890.
- [76] WANG J, LI C Y, JIANG T, et al. Biosensor-assisted titratable CRISPRi high-throughput (BATCH) screening for over-production phenotypes[J]. Metabolic Engineering, 2023, 75: 58-67.
- [77] PENG Q Q, BAO W W, GENG B N, et al. Biosensor-assisted CRISPRi high-throughput screening to identify genetic targets in *Zymomonas mobilis* for high d-lactate production[J]. Synthetic and Systems Biotechnology, 2024, 9(2): 242-249.
- [78] BAUMANN L, BRUDER S, KABISCH J, et al. High-throughput screening of an octanoic acid producer strain library enables detection of new targets for increasing titers in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. ACS Synthetic Biology, 2021, 10(5): 1077-1086.
- [79] STELLA R G, GERTZEN C G W, SMITS S H J, et al. Biosensor-based growth-coupling and spatial separation as an evolution strategy to improve small molecule production of *Corynebacterium glutamicum*[J]. Metabolic Engineering, 2021, 68: 162-173.
- [80] KRÜGER A, GÖDDECKE J, OSTHEGE M, et al. Biosensor-based growth-coupling as an evolutionary strategy to improve heme export in *Corynebacterium glutamicum*[J]. Microbial Cell Factories, 2024, 23(1): 276.
- [81] GEORGE K W, THOMPSON M G, KIM J, et al. Integrated analysis of isopentenyl pyrophosphate (IPP) toxicity in isoprenoid-producing *Escherichia coli*[J]. Metabolic Engineering, 2018, 47: 60-72.
- [82] LU L Y, WANG X L, WANG T, et al. A bacterial platform for producing aromatic esters from glycerol[J]. Nature Chemical Engineering, 2024, 1(12): 751-764.
- [83] ZHANG Q W, XU X H, ZHANG W, et al. *De novo* 2'-fucosyllactose biosynthesis using glucose as the sole carbon source by multiple engineered *Bacillus subtilis*[J]. Metabolic Engineering, 2025, 88: 85-93.
- [84] YU F, LI C Y, ZHANG T, et al. Developing a novel heme biosensor to produce high-active hemoproteins in *Pichia pastoris* through comparative transcriptomics[J]. Metabolic Engineering, 2024, 84: 59-68.
- [85] DING D Q, ZHU Y R, BAI D Y, et al. Monitoring and dynamically controlling glucose uptake rate and central metabolism[J]. Nature Chemical Engineering, 2025, 2(1): 50-62.
- [86] TONG Y J, LI N, ZHOU S H, et al. Improvement of *Chalcone synthase* activity and high-efficiency fermentative production of (2*S*)-naringenin via *in vivo* biosensor-guided directed evolution[J]. ACS Synthetic Biology, 2024, 13(5): 1454-1466.
- [87] LI M, CHEN Z Y, ZHANG W Y, et al. Customization of ethylene glycol (EG)-induced BmoR-based biosensor for the directed evolution of PET degrading enzymes[J]. Advanced Science, 2025, 12(13): e2413205.
- [88] DONG P Y, FAN Y J, HUO Y X, et al. Pathway-adapted biosensor for high-throughput screening of *O*-methyltransferase and its application in vanillin synthesis[J]. ACS Synthetic Biology, 2024, 13(9): 2873-2886.
- [89] OGAWA Y, SAITO Y, YAMAGUCHI H, et al. Engineering the substrate specificity of toluene degrading enzyme XylIM using biosensor XylS and machine learning[J]. ACS Synthetic Biology, 2023, 12(2): 572-582.
- [90] BAHLS M O, PLATZ L, MORGADO G, et al. Directed evolution of biofuel-responsive biosensors for automated optimization of branched-chain alcohol biosynthesis[J]. Metabolic Engineering, 2022, 69: 98-111.
- [91] BAUMANN P T, DAL MOLIN M, ARING H, et al. Beyond rational-biosensor-guided isolation of 100 independently evolved bacterial strain variants and comparative analysis of their genomes[J]. BMC Biology, 2023, 21(1): 183.
- [92] YANG H N, HE Y C, ZHOU S H, et al. Dynamic regulation and cofactor engineering of *Escherichia coli* to enhance production of glycolate from corn stover hydrolysate[J]. Bioresource Technology, 2024, 398: 130531.
- [93] CHEN Z Y, YU S Z, LIU J, et al. Concentration recognition-based auto-dynamic regulation system (CRUISE) enabling efficient production of higher alcohols[J]. Advanced Science, 2024, 11(23): e2310215.
- [94] ZHOU S H, ZHANG Q Y, YUAN M W, et al. Static and dynamic regulation of precursor supply pathways to enhance raspberry ketone synthesis from glucose in *Escherichia coli*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(42): 23411-23421.
- [95] YU H, LI F, WANG Y X, et al. Electro-controlled distribution of reducing equivalents to boost isobutanol biosynthesis in microbial electro-fermentation of *S. oneidensis*[J]. Joule, 2025, 9(1): 101773.
- [96] ZHAO X X, WU Y L, FENG T Y, et al. Dynamic upregulation of the rate-limiting enzyme for valerolactam biosynthesis in *Corynebacterium glutamicum*[J]. Metabolic Engineering, 2023, 77: 89-99.
- [97] SUN H H, ZHAO H M, ANG E L. A new biosensor for stilbenes and a cannabinoid enabled by genome mining of a transcriptional regulator[J]. ACS Synthetic Biology, 2020, 9(4): 698-705.
- [98] HANKO E K R, JOOSAB NOOR MAHOMED T A, STONEY R A, et al. TFBMiner: a user-friendly command line tool for the rapid mining of transcription factor-based biosensors[J]. ACS Synthetic Biology, 2023, 12(5): 1497-1507.
- [99] EKAS H M, WANG B, SILVERMAN A D, et al. An automated cell-free workflow for transcription factor engineering[J]. ACS Synthetic Biology, 2024, 13(10): 3389-

- 3399.
- [100] LIU K, ZHANG Y S, LIU K, et al. *De novo* design of a transcription factor for a progesterone biosensor[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 203: 113897.
- [101] ZHAO M, HU M K, HAN R M, et al. Dynamics design of a non-natural transcription factor responding to androst-4-ene-3, 17-dione[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2024, 9(3): 436-444.
- [102] RICHTER M F, ZHAO K T, ETON E, et al. Phage-assisted evolution of an adenine base editor with improved Cas domain compatibility and activity[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(7): 883-891.
- [103] JUMPER J, EVANS R, PRITZEL A, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold[J]. *Nature*, 2021, 596(7873): 583-589.
- [104] RUBE H T, RASTOGI C, FENG S Q, et al. Prediction of protein-ligand binding affinity from sequencing data with interpretable machine learning[J]. *Nature Biotechnology*, 2022, 40(10): 1520-1527.
- [105] ZHANG P C, WANG H C, XU H W, et al. Deep flanking sequence engineering for efficient promoter design using DeepSEED[J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 6309.
- [106] BAYER T, HÄNEL L, HUSARCIKOVA J, et al. *In vivo* detection of low molecular weight platform chemicals and environmental contaminants by genetically encoded biosensors [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(26): 23227-23239.
- [107] TELLECHEA-LUZARDO J, STIEBRITZ M T, CARBONELL P. Transcription factor-based biosensors for screening and dynamic regulation[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1118702.
- [108] NEUBAUER P, JUNNE S. Scale-down simulators for metabolic analysis of large-scale bioprocesses[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2010, 21(1): 114-121.
- [109] 王晟, 王泽琛, 陈威华, 等. 基于人工智能和计算生物学的合成生物学元件设计[J]. *合成生物学*, 2023, 4(3): 422-443.  
WANG S, WANG Z C, CHEN W H, et al. Design of synthetic biology components based on artificial intelligence and computational biology[J]. *Synthetic Biology Journal*, 2023, 4(3): 422-443.
- [110] ZHANG C, LIU H, LI X J, et al. Modularized synthetic biology enabled intelligent biosensors[J]. *Trends in Biotechnology*, 2023, 41(8): 1055-1065.
- [111] BOADA Y, VIGNONI A, PICÓ J, et al. Extended metabolic biosensor design for dynamic pathway regulation of cell factories[J]. *iScience*, 2020, 23(7): 101305.
- [112] ABRAMSON J, ADLER J, DUNGER J, et al. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3[J]. *Nature*, 2024, 630(8016): 493-500.
- [113] CHAN C T Y, KENNEDY V, KINSHUK S. A domain swapping strategy to create modular transcriptional regulators for novel topology in genetic network[J]. *Biotechnology Advances*, 2024, 72: 108345.
- [114] DEMEESTER W, DE BAETS J, DUCHI D, et al. MoBioS: modular platform technology for high-throughput construction and characterization of tunable transcriptional biological sensors[J]. *Biosensors*, 2023, 13(6): 590.
- [115] LEE H, XIE T, KANG B, et al. Plug-and-play protein biosensors using aptamer-regulated *in vitro* transcription[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 7973.



**通讯作者:** 王智文(1981—),男,博士,教授,博士生导师。研究方向为基因组编辑与合成生物学元件开发、基因组尺度网络模型构建与途径模拟设计、合成高附加值生物医药与生物基化学品人工细胞工厂构建、微生物资源挖掘与利用等。

E-mail: zww@tju.edu.cn



**第一作者:** 王宏(1999—),男,硕士研究生。研究方向为代谢工程与合成生物学。

E-mail: wh17826529977@163.com



**共同第一作者:** 陆孔泳(1989—),女,博士,副教授,硕士生导师。研究方向为合成生物学、生物发酵与代谢调控、微藻生物技术、工业微生物技术等。

E-mail: lky@nxu.edu.cn