

特约评述

DOI:10.12211/2096-8280.2025-045

遗传编码荧光探针在疾病诊断中的最新进展

李睿^{1,2,3}, 左方婷^{1,2,4}, 杨弋^{1,2}

(¹ 华东理工大学光遗传学与合成生物学跨学科研究中心, 生物反应器工程国家重点实验室, 上海 200237; ² 华东理工大学药学院, 上海市细胞代谢光遗传学技术前沿科学研究基地, 上海 200237; ³ 南方医科大学深圳医院, 广东 深圳 518110; ⁴ 同济大学附属杨浦医院, 上海 200090)

摘要: 近年来, 遗传编码荧光探针在结构优化与疾病诊断应用中取得了快速发展。通过蛋白质工程, 荧光蛋白在光稳定性、灵敏度和光谱范围方面显著提升, 并涌现出多种新型传感机制, 实现了离子、代谢物及神经递质等生理信号的实时可视化。与此同时, 荧光RNA在折叠稳定性、激活效率和亮度上不断突破, 多色工具箱的建立使RNA动态成像成为可能。这两类探针已广泛应用于肿瘤代谢、糖尿病及神经疾病研究, 在代谢监测、病理状态识别和早期诊断等方面展现出独特优势, 推动了疾病机制解析与诊断技术进步。未来, 随着探针性能持续优化和设计创新, 遗传编码荧光探针有望在基础研究和临床转化中发挥更大作用, 为精准诊断和个性化医疗提供有力支持。

关键词: 遗传编码荧光探针; 荧光蛋白; 荧光RNA; 分子成像; 疾病诊断

中图分类号: Q816 **文献标志码:** A

Recent advances in genetically encoded fluorescent sensors for disease diagnosis

LI Rui^{1,2,3}, ZUO Fangting^{1,2,4}, YANG Yi^{1,2}

(¹ Interdisciplinary Research Center of Optogenetics and Synthetic Biology, State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; ² Shanghai Advanced Research Base of Cell Metabolism Genetics, School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; ³ Shenzhen Hospital, Southern Medical University, Shenzhen 518110, Guangdong, China; ⁴ Yangpu Hospital, Tongji University, Shanghai 200090, China)

Abstract: In recent years, significant advances have been made in genetically encoded fluorescent sensors. Fluorescent protein-based sensors have seen continuous improvements in performance, with researchers employing protein engineering techniques to develop brighter and more photostable fluorescent protein variants, as well as extending their emission spectra into the far-red region for deeper tissue imaging. Concurrently, innovative sensing

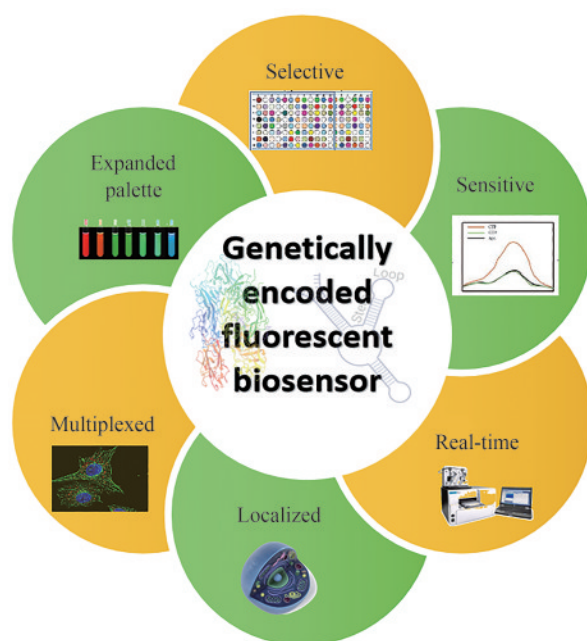
收稿日期: 2025-05-13 修回日期: 2025-08-28

基金项目: 国家重点研发计划“基因表达时空精准操控技术研究”(2022YFC3400100); 国家自然科学基金-创新研究群体项目“细胞代谢监测与调控”(32121005); 上海市青年科技英才扬帆计划“近红外荧光RNA的开发与应用研究”(24YF2709300); 博士后创新人才支持计划“基于新型胆汁酸生物传感器在肠道菌群中时空动态监测与调控”

引用本文: 李睿, 左方婷, 杨弋. 遗传编码荧光探针在疾病诊断中的最新进展[J]. 合成生物学, 2026, 7(1): 102-112

Citation: LI Rui, ZUO Fangting, YANG Yi. Recent advances in genetically encoded fluorescent sensors for disease diagnosis[J]. Synthetic Biology Journal, 2026, 7(1): 102-112

mechanisms have emerged, such as the incorporation of genetically encoded unnatural fluorescent amino acids to construct miniaturized fluorescent reporter molecules, and strategies utilizing protein conformational changes or Förster resonance energy transfer (FRET) to sensitively detect biological signals. Researchers have also developed highly specific fluorescent sensors targeting particular biomarkers, including genetically encoded sensors for detecting ions, metabolites, or enzyme activities, providing powerful tools for precise monitoring of cellular physiological processes. Meanwhile, RNA fluorescent aptamers, another major category of genetically encoded sensors, have achieved substantial progress in structural optimization and functional expansion. Newly screened and engineered fluorescent aptamers exhibit enhanced affinity and specificity toward their fluorescent ligands, significantly improving fluorescence activation efficiency. Certain aptamer-ligand complexes now exhibit brightness comparable to, or even exceeding, traditional fluorescent proteins. Various combinations of aptamers and fluorophores currently cover emission spectra ranging from visible to near-infrared. These RNA-based sensors have successfully enabled the labeling and visualization of endogenous RNA molecules in living cells, facilitating real-time tracking of RNA localization and dynamics. Furthermore, combining fluorescent aptamers with small-molecule recognition aptamers has enabled the creation of novel fluorescent “switch” sensors, whose fluorescence is activated through conformational changes triggered by the presence of specific metabolites. Both types of genetically encoded sensors demonstrate substantial values in disease diagnosis. For instance, fluorescent protein-based biosensors can monitor abnormal fluctuations of intracellular metabolites and signaling molecules, such as glucose or ATP levels, aiding in the elucidation of metabolic characteristics in diseases like diabetes and cancers. Utilizing improved near-infrared fluorescent proteins and fluorescent aptamers *in vivo* allows deeper tissue penetration and facilitates early detection of pathological changes, such as tumors. Additionally, fluorescent sensors specifically designed for pathological states—such as oxidative stress, pH imbalance, or particular enzyme activities—can directly report disease signals at the cellular level, supporting precise diagnostics. Overall, these advancements significantly enhance the sensitivity and specificity of biological imaging and molecular diagnostics. Looking forward, as sensor performance continues to improve and new sensing principles emerge, genetically encoded fluorescent sensors will increasingly play prominent roles in more complex biological systems and clinical diagnostics, exhibiting tremendous potentials for future applications.



Keywords: genetically encoded fluorescent sensors; fluorescent proteins; fluorescent RNA; molecular imaging; disease diagnosis

近年来,精准医学的兴起对生物医学成像技术提出了更高的要求,推动了活细胞和分子层面实时监测技术的飞速发展。然而,传统医学影像方法,如磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、正电子发射断层成像(positron emission tomography, PET)、计算机断层扫描(computed tomography, CT)等尽管广泛应用于临床诊断,却无法实时、动态且特异地追踪疾病在细胞内部的微观演变过程。这种技术上的局限性成为深入理解疾病发生、发展机制的重要瓶颈。荧光成像技术因其高敏感性、卓越的空间分辨率以及实时监测的能力,成为突破这一瓶颈的关键工具。尤其值得关注的是遗传编码荧光探针技术的迅速崛起,这一技术将荧光报告分子通过基因工程手段精准引入活细胞,使得科学家能够以前所未有的精度特异性标记和监测疾病相关的生物学事件。遗传编码荧光探针涵盖了基于荧光蛋白的蛋白质探针以及基于荧光RNA的探针两大类,各自在研究中表现出独特的优势和应用潜力。例如,以绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)为代表的荧光蛋白探针已成功应用于细胞类型特异性标记与亚细胞结构动态监测;而RNA荧光适配体探针则以其卓越的灵敏度和动态响应能力,展现了对细胞内代谢物及特定RNA分子的精准实时检测能力^[1-2]。与传统的化学合成荧光染料相比,遗传编码探针的内源表达特性、出色的生物相容性和高特异性,使其在活细胞乃至整体动物水平上的应用前景更加广阔。

鉴于上述背景,本综述将分别围绕遗传编码蛋白生物传感器和化学-遗传编码传感器,系统梳理近年来的研究成果,并深入探讨其在体内代谢物检测、分子成像、病理状态实时监测等疾病诊断相关领域的应用进展。文章将首先回顾遗传编码探针技术的最新发展,随后详细剖析这两类探针的设计原理和关键技术创新,最后总结其当前面临的挑战和未来的发展方向,以期对相关领域的研究者提供全新的

视角和有益的启示。

1 遗传编码荧光探针设计的研究进展

1.1 遗传编码蛋白生物传感器

研究者目前在不断探寻新的传感机制,以精准监测细胞内特定分子的动态变化(图1)。其中一种广泛应用的策略是构建荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)探针,通过将两个荧光蛋白与可感知目标分子的感应元件连接,目标分子浓度的变化可引起供受体之间的距离或构象发生改变,进而导致FRET效率变化,产生可检测的荧光信号[图1(a)]。近年来,FRET探针在灵敏度和动态检测范围上均获得了显著提升。例如,2023年北京大學邹鹏课题组^[5]报道了一种基于FRET机制的新型红色荧光膜电位探针Cepheid1b和Cepheid1s,不仅实现了多色同时成像,还在急性脑切片及胰岛组织中表现出卓越的膜电位检测性能。FRET探针利用双荧光蛋白之间的能量转移信号,往往能够提供更宽的动态范围和更高的信噪比,同时通过多色荧光实现空间与时间上的多维信息获取。其次,环境敏感型单荧光蛋白探针则依赖荧光蛋白构象或微环境的改变,具有分子量小、构建简单、信号输出直接的特点,更适合在高时空分辨的活细胞成像中应用。此外,遗传编码电压指示器的出现,使得对神经元电活动的实时光学记录成为可能,为脑机接口与神经疾病机制研究开辟了全新路径。近年来,基于单一荧光蛋白环境敏感特型单分子探针技术也迅速发展,催生出一系列细胞代谢状态实时监测的新型探针[图1(b)、(c)]。例如,新一代的遗传编码钙离子指示器jCaMP系列探针(如2023年报道的jCaMP8)^[6],展示出更快的动力学响应和更高的灵敏度,在神经元瞬时钙信号检测中表现出色。美国纽约州立医科大学Stewart

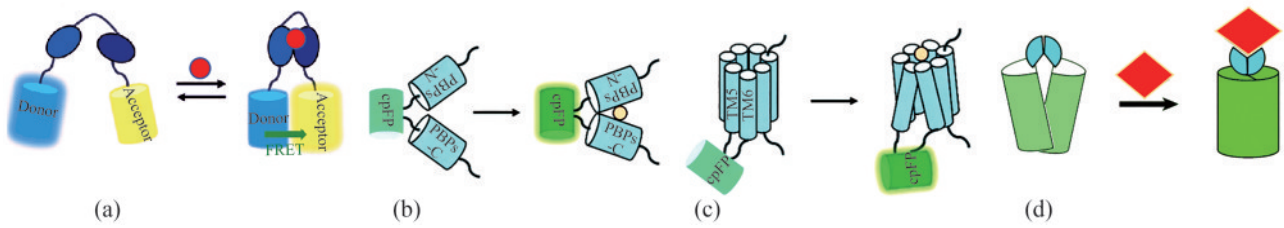


图1 遗传编码荧光探针设计构建图^[3-4]

(a) 基于 FRET 原理构建遗传编码荧光探针的示意图；(b) 基于周质结合蛋白构建的遗传编码荧光探针，结合底物后其构象变化将会改变环化荧光蛋白（circularly permuted fluorescent protein, cpFP）的荧光；(c) 基于 G 蛋白偶联受体构建的遗传编码荧光探针，cpFP 通常插入在 G 蛋白偶联受体位于胞内的第五和第六跨膜结构域之间，结合底物后 G 蛋白偶联受体的构象变化将会改变 cpFP 的荧光^[3]；(d) 基于 ATOM 原理构建遗传编码荧光探针，配体结合诱导荧光蛋白结构域折叠，恢复其天然构象，使发色团成熟^[4]

Fig.1 Design and construction of genetically encoded fluorescence sensors^[3-4]

(a) Diagram of genetically encoded fluorescent sensors based on the FRET principle; (b) PBP-based genetically encoded indicators, following substrate binding, the conformational changes of PBPs can change fluorescence of cpFP; (c) GPCRs-based genetically encoded indicators, cpFP is inserted into the intracellular loop of GPCRs between transmembrane domains 5 and 6, following substrate binding, the conformational changes of GPCRs can change the fluorescence of cpFP^[3]; (d) ATOM-based genetically encoded fluorescence indicators, ligand is bound to the fluorescence protein domain, restored its natural conformation, and matured the chromophore^[4]

N. Loh 团队^[4]开发了一类自适应开启成熟（adaptable turn-on maturation, ATOM）荧光生物传感器 [图 1(d)]。该探针通过在荧光蛋白中插入单体蛋白或纳米抗体，实现对任意目标分子的模块化、快速检测，具有显著的普适性与定制化优势。ATOM 等新机制通过引入模块化识别单元，使得探针的通用性和可定制性大幅提升，能够快速适配不同靶标分子，突破了传统探针“一对一”设计周期长、适用性有限的瓶颈。综上，基于新传感机制的荧光探针不仅在灵敏度、响应速度和适用范围上均优于传统设计，还为复杂细胞代谢过程、跨尺度生理活动的动态可视化提供了更强有力的工具。

1.2 化学-遗传编码探针

化学-遗传编码探针融合了化学染料与遗传编码荧光蛋白的双重优势，近年来逐渐成为生物成像领域的重要研究工具。例如，复旦大学王璐团队^[7]开发了能够实时监测活细胞内 NADPH 动态变化的化学-遗传编码探针 FOCS，有助于揭示肿瘤代谢重编程与抗氧化耐药机制。北京大学刘涛教授团队^[8]则设计了一类新型荧光分子转子型氨基酸（fluorescent molecular rotor amino-acid, FMR-AA）。这种探针策略结合了荧光蛋白的遗传编码特性与化学染料的小型化、可拓展性优势，不仅能高效构建各类人工荧光蛋白，还可开发出高灵敏

度的细胞代谢状态生物传感器。

此外，作为另一类遗传编码工具的荧光 RNA 探针技术近年来也取得快速进展。荧光 RNA 基于 RNA 适配体激活荧光染料分子发光的原理，具有分子量小、不依赖蛋白表达以及能够直接报告 RNA 动态变化等突出优势，特别适合于示踪细胞内 RNA 的时空分布及构建代谢传感器^[9-12]。然而，传统荧光 RNA 存在折叠效率低、荧光亮度不足、光稳定性较差等问题，极大限制了其在活细胞中长时间动态研究的应用。针对这些不足，研究人员近年来对荧光 RNA 进行创新性改造和优化^[13]。例如，华东理工大学杨弋教授团队开发的 Pepper-HBC 系列荧光 RNA，结构中不含 G-四链体，具有优异的荧光亮度与高信噪比成像能力，荧光发射光谱涵盖青色至红色，实现了对多类目标 RNA 的高效成像，在实际应用上取得重要突破^[14]。近期，多个研究团队以 Pepper 荧光 RNA 为基础，构建了针对内源性 RNA^[15-16]和细胞代谢物^[17-18]的高性能检测探针。杨弋团队最新报道了多个高性能荧光 RNA 家族，如 Clivia^[19]、Okra^[20]、Myosotis^[21]等。Clivia-NBSI 系列荧光 RNA 具有单体、高稳定性、小型化以及超大斯托克斯位移（高达 108 nm）的特性，可实现单次激发下的双色成像，并成功用于活细胞中小核 RNA 的精确定位与动态成像。此外，该团队利用 Clivia 开发了基于生物发光共振能量转移的 RNA-蛋白质

交互探针,为多种RNA相关生物学研究提供了创新工具^[19]。Okra-ACE绿色荧光RNA的光稳定性及荧光强度显著高于同类探针,提升了至少一个数量级,使其在活细胞中mRNA长时程动态示踪方面表现出优异性能,并实现了与Pepper620组合后的双色超分辨成像^[20]。Myosotis青色荧光RNA则能与Pepper530、Clivia624组合,可实现大肠杆菌RNA三色成像^[21]。此外,李幸团队^[22]通过结构优化获得了近红外染料分子,与Squash适配体结合,实现了动物模型中RNA的近红外荧光成像。聂舟团队^[23]开发了新型荧光RNA适配体mSquash及其荧光团DFHBPFD,并成功构建了可光激活的荧光RNA探针,为RNA的多重成像开辟了新思路(图2)。

然而,目前研究对荧光RNA传感器的结构与功能理解大多集中于直接影响荧光团结合的结构变化,缺乏明确的设计原则,导致针对非核酸靶标的传感器构建需经历烦琐的序列筛选和验证过程。为解决这一技术瓶颈,近年来研究者开始借

助人工智能和先进结构预测工具进行创新探索。例如,中国科学院谭蔚泓院士和韩达研究员团队^[24]近期提出了一种高效的核磁共振技术策略,可在无需获得蛋白质-核酸复合物结构的条件下,快速解析核酸适配体的结合机制并优化其功能。该方法不仅为研究靶向膜蛋白的核酸适配体结构与功能提供了崭新的思路与技术路径,也揭示了长程三级相互作用在DNA复杂结构形成及其功能实现中的关键作用。此外,麻省理工学院James Collins团队开发了基于序列结构预测的深度学习平台RhoDesign,用于从头设计。该平台能够设计结构类似但序列差异较大的荧光RNA,在小分子靶标存在下激发荧光,从而极大提高了适配体设计的灵活性与高效性^[25]。综上所述,这些新颖的化学-遗传编码探针设计思路和方法,使得荧光RNA探针在折叠稳定性、配体结合亲和力以及荧光量子产率等方面均获得显著提升,从而大幅提高了其在复杂生物环境中的适用性和可靠性。

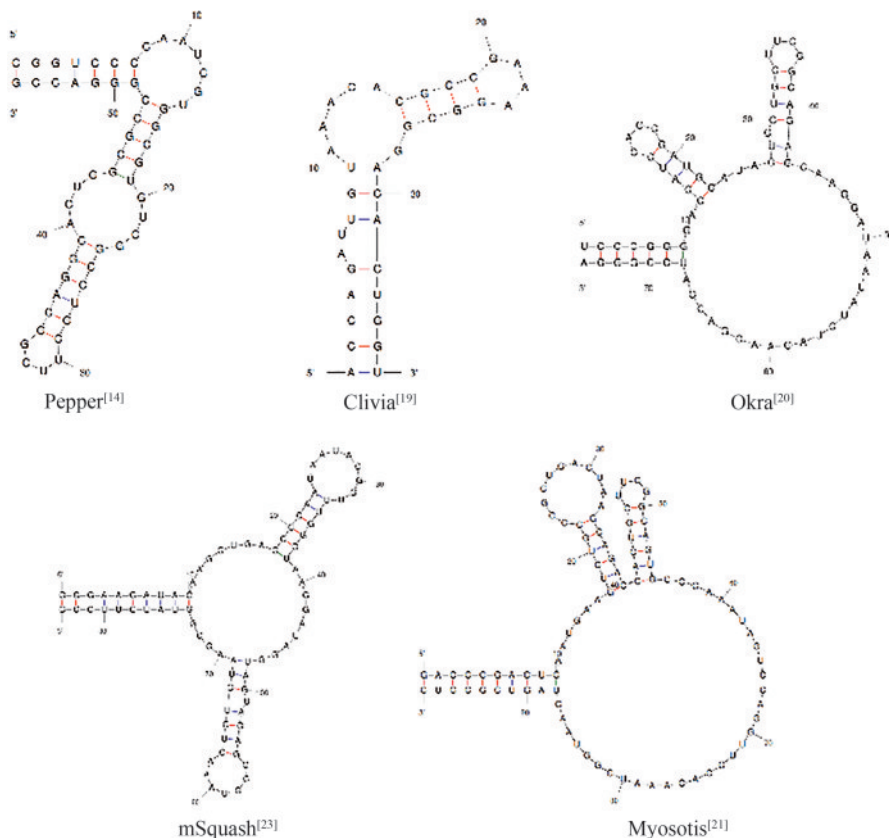


图2 Pepper、Clivia、Okra、mSquash和Myosotis适配体结构示意图^[14,19-21,23]

Fig.2 Schematic diagram of the Pepper, Clivia, Okra, mSquash and Myosotis aptamer structures^[14,19-21,23]

2 遗传编码荧光探针在疾病诊断中的应用

2.1 信号分子的监测

近年来,多种用于监测疾病相关信号分子的荧光探针陆续被报道。例如,在神经生物学领域,北京大学李毓龙研究团队开发了一系列高性能的神经递质荧光探针,包括 GRAB-Ado 腺苷探针^[26-27]、5-羟色胺探针^[28-30]、催产素探针 GRAB_{OTI.0}^[31]、去甲肾上腺素探针 GRAB_{NE}^[32]、神经肽荧光探针工具^[33-34]以及双色多巴胺探针工具包^[27]等。此外,针对钙离子(如 jRCaMP1.0^[4])以外的关键离子,如 Zn²⁺(FRISZ)的远红外探针^[35]和 K⁺(RGEPOs)探针^[36]等新型传感器也陆续问世。这些探针的开发为神经系统信号分子的实时可视化提供了强大的研究工具。除了分子层面的检测,遗传编码荧光探针在表征细胞微环境方面同样取得了重要进展。Lai 等^[37]报道了一种名为 Thyone 的绿色荧光蛋白,通过结构导向突变实现对硫酸根离子的敏感性, K_d 约 11 mmol/L,响应时间为毫秒级,是近五年内一个新颖的阴离子探针实例。此外,Rahman^[38]对近几年测量细胞器内离子浓度和流速的工具进行了详细回顾,为理解钙、钾等离子的动态提供了方法支持。

2.2 代谢小分子的监测

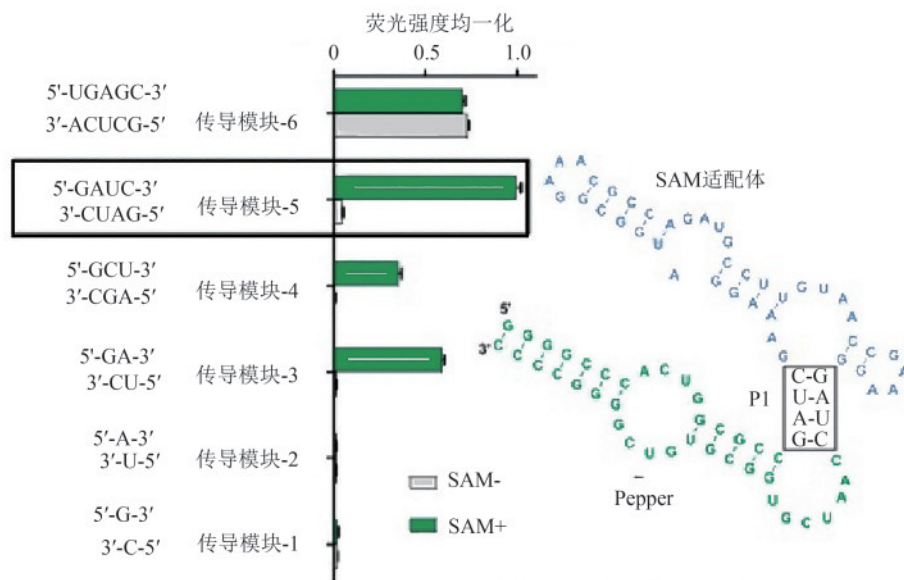
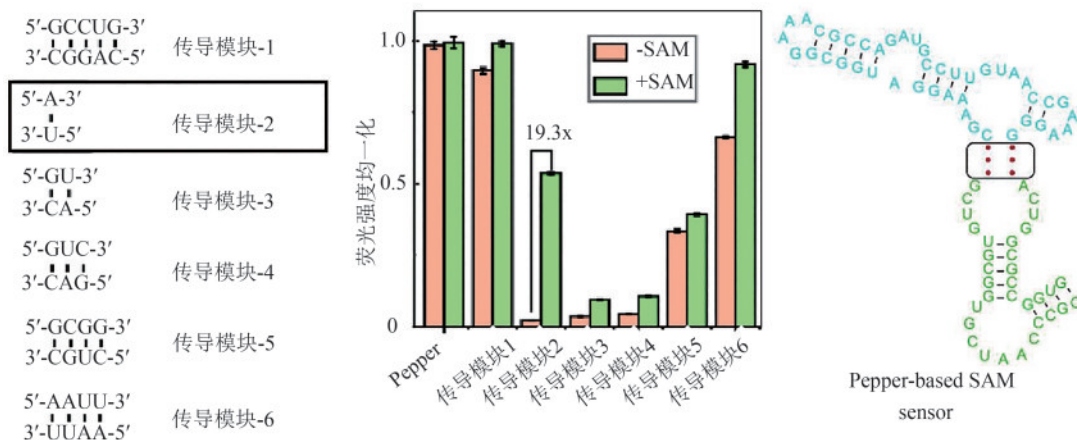
许多疾病的发生伴随有显著的代谢异常,因此实时监测关键代谢物对理解疾病机制和提供诊断依据具有重要意义。在代谢小分子领域,新型遗传编码 ATP 探针 iATPSnFR2 成功实现了细胞内 ATP 动态变化的灵敏检测^[39];穆宇与杜久林研究团队^[40]合作开发的色氨酸探针 GRIT 则可定量监测细胞及活体中色氨酸的变化;北京大学王晶团队^[41]构建的谷氨酰胺探针 GlutaR 可用于癌症和代谢综合征中谷氨酰胺代谢异常的研究,已成功应用于糖尿病模型小鼠研究中。2023年,本研究团队^[42]开发的新型乳酸探针 FiLa 能够实时追踪肿瘤微环境中乳酸浓度的动态变化,为揭示癌细胞 Warburg 效应的机制提供了新的研究工具,能够实

现对 II 型糖尿病罕见患者进行快速筛查。随后,2024年团队进一步开发了精氨酸荧光探针 STAR,实现了单细胞和活体水平上精氨酸代谢的特异、灵敏实时监测,并成功应用于氨基酸交换转运、巨噬细胞极化、基质细胞衰老及免疫疾病如白癜风精准诊断等研究领域^[43]。此外,由于氧化应激在神经退行性疾病和心血管疾病等多种病理过程中发挥重要作用,团队针对活性氧开发的遗传编码探针 Hyperion 显著提高了对细胞内低浓度过氧化氢的实时检测能力^[44]。

在代谢小分子的动态监测中,除了依赖蛋白质荧光探针的策略,RNA 基因编码探针也逐渐展现出独特优势。RNA 分子具备天然的结构多样性和可编程性,能够通过适配体模块与特定代谢物结合,从而实现对小分子浓度变化的灵敏检测。2023年,本研究团队^[17]还开发了一系列以 Pepper 荧光 RNA 为基础的遗传编码探针,用于特异性识别多种代谢小分子和蛋白质目标。例如,研究人员设计了 Pepper-SAM 探针,将 Pepper 适配体与 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)适配体通过模块化的核酸序列连接,实现了活细胞内 SAM 浓度变化的动态实时监测[图 3(a)]。此外,团队还构建了 Pepper-MCP 探针,用以实时追踪光遗传学诱导的蛋白质亚细胞定位变化。得益于 Pepper 荧光 RNA 探针的优异折叠稳定性和较高的细胞内荧光亮度,这些不同荧光颜色的探针能够进行灵活组合,并易于与其他成像技术协同使用,成为基础生物学研究中高效可靠的分子成像工具。同年,北京生命科学研究所以李幸课题组^[18]基于 Pepper 荧光 RNA 开发了一系列新型生物传感器[图 3(b)],深入研究了 SAM 代谢途径及药物靶标活性检测方法,进一步凸显了荧光 RNA 探针在揭示疾病相关分子事件方面的独特应用价值。总之,遗传编码代谢物传感器已成为识别疾病代谢异常指标的重要工具,有望进一步发展为临床实时诊断和病程监测的技术平台。

2.3 酶活性的监测

遗传编码荧光探针在研究酶活性方面展现出巨大潜力。与小分子化学探针相比,基因编码探针能够在活细胞乃至动物模型中实现酶动力学的

(a)Pepper-SAM-C14U探针设计原理及其对SAM的响应^[17](a) Design principle of Pepper-SAM-C14U sensor and its response to SAM^[17](b)基于Pepper和RhoBAST的比率型SAM传感器设计原理及响应^[18](b) Design principle of ratiometric SAM sensor based on Pepper and RhoBAST and its response to SAM^[18]图3 检测SAM的RNA传感器^[17-18]Fig.3 RNA sensors for detecting SAM^[17-18]

实时追踪，避免了外源染料的毒性和非特异性问题。在凋亡研究中，基于FRET的Caspase传感器（如SCAT系列）通过在两种荧光蛋白之间插入特定的半胱天冬酶切割序列，能够在Caspase活化时发生荧光比率变化。这类探针已广泛用于肿瘤细胞凋亡过程的动态成像及药物作用机制研究^[45]。同样，研究者也构建了针对蛋白激酶（如PKA、ERK、JNK）的FRET探针，通过在荧光蛋白之间嵌入激酶底物序列及磷酸化识别结构域，实现对信号通路的时空调控的可视化。例如，Xu等^[46]开发的AKAR系列探针能定量检测

PKA活性，揭示了该激酶在心肌收缩调控中的重要作用。

此外，针对蛋白酶体与去泛素化酶的遗传编码探针也逐渐兴起。这类探针通过构建可被特定酶切割或修饰的荧光报告模块，实现了对蛋白降解系统活性的动态成像。例如，Blumenstock等开发的荧光素酶-荧光蛋白融合探针可在活体水平监测神经元蛋白质稳态变化，为神经退行性疾病中蛋白质稳态的研究提供了工具^[47]。这些应用表明，遗传编码探针已成为认识疾病相关酶活性的重要手段。

2.4 物理化学环境的监测

近年来,随着力学生物学的兴起,遗传编码荧光探针也被应用于细胞力学张力的研究,为探索细胞如何感知并响应外界机械信号提供了新工具。这类探针的典型代表是分子张力探针(molecular tension sensor, MTS)。它们通常由两个荧光蛋白通过弹性肽链连接而成,当分子受到机械拉力时,肽链延伸导致FRET效率变化,从而实现张力的定量成像。基于此原理,研究者开发了针对整合素、钙黏蛋白和肌动蛋白细胞骨架的张力探针,用于揭示细胞-细胞、细胞-基质相互作用中的力学信号转导。在最新研究中,研究人员提出使用设计共轭螺旋结构域作为张力传感模块,该模块连接两个荧光蛋白,通过FRET实时报告机械力变化。这种模块化且可调的结构为测量生物力学提供了新的工具^[48]。此外,Manneville等^[49]回顾了包括膜张力探针在内的六种研究细胞内部力学的前沿技术,从方法学视角进一步强调了以荧光张力探针为代表的可视化、定量化生物学工具正在快速发展。

2.5 活体分子成像与病理过程监测

活体分子成像是一种在模式动物或整体生物体内非侵入性实时监测疾病相关细胞与分子事件的强大技术手段。研究者可借助该技术动态地观察肿瘤发生与转移、神经环路活动及代谢异常等病理过程。例如,葡萄糖或乳酸探针已用于糖尿病与缺血损伤等代谢紊乱疾病的活体组织代谢动态监测^[50]。在神经科学研究中,多巴胺传感器成功用于帕金森病小鼠模型的监测^[51],谷氨酸传感器则可实时监测癫痫发作过程^[52]。此外,CRF探针用于大脑皮层神经元应激反应的可视化,深入揭示慢性应激在抑郁和焦虑症中的机制^[33];SST探针则用于研究胰岛内分泌调控与糖代谢疾病的关系^[33]。

近期,以Pepper适配体为基础的多重成像技术,使单细胞内致癌基因mRNA的动态表达和相应蛋白翻译过程得以直接观察,这种技术揭示了肿瘤细胞的分子表达异质性^[17]。基于Okra适配体的绿色荧光RNA体系进一步实现了对RNA的长时程动态追踪,有助于深入研究疾病状态下基因表

达的异质性与动态变化^[20]。在病毒感染模型研究中,研究者还开发了高效筛选荧光RNA的药物平台,用于阿尔茨海默病相关蛋白及丙型肝炎病毒靶标药物的快速筛选与评估^[53]。然而,荧光RNA在临床应用中的递送仍是一项重大挑战,中国科学院陈玲玲团队近期提出腺相关病毒介导荧光RNA递送,用于治疗阿尔茨海默病相关的神经炎症,初步证明了其治疗潜力^[54]。此外,谭蔚泓院士团队系统研究核酸适体人体代谢分布,以全景动态PET扫描的方式首次动态研究了核酸适体在人体内的分布及代谢,并建立了相关药代动力学模型^[55]。此研究不仅为核酸适体,也为核酸相关的医学临床转化奠定了坚实的基础,同时论证了在全景PET指导下新药开发方式的可行性。

近年来,遗传编码荧光探针领域取得了显著进展。从荧光蛋白本身性能的改良,到探针设计机制的持续创新,再到针对特定疾病标志物传感器的开发,这些成果极大地拓宽了其在生命科学与医学研究中的应用潜力。新型探针在多种疾病模型中展现出前所未有的检测灵敏度与可靠性,为疾病的早期诊断与机制研究提供了坚实的技术支撑。未来,遗传编码探针有望进一步与体外诊断技术结合,例如利用患者来源细胞构建活细胞传感器,用于药物筛选与个性化医疗的精准疾病监测。临床前研究也已表明,这类探针能够在活体环境中灵敏检测代谢异常、实现组织病变可视化,并为疾病早期预警奠定技术基础。

3 总结与展望

对于传统临床生化诊断技术,其在通量与灵敏度上均存在明显限制,仅提供有限数量的检测指标。相比之下,遗传编码荧光传感器技术具备检测速度快、灵敏度高、样本需求量少等显著优势。一旦发现新的生物标志物具有明确诊断价值,探针平台便可快速开发针对该标志物的即时检测方案,实现疾病的早期精准诊断。然而,从实验室研究走向临床实践,仍需解决探针递送的安全性、探针对于复杂临床样本的适应性、荧光信号标准化定量及与现有诊断技术协同的问题。随着基因递送技术和合成生物学方法的进步,

这些挑战有望逐步克服。

尽管遗传编码荧光探针在疾病相关分子的可视化检测与诊断研究中展现了巨大的潜力,但其临床转化应用仍面临若干关键挑战。第一,光毒性与光漂白问题不可忽视。荧光探针在长时间或高强度激发光照射下,可能对细胞功能产生干扰,甚至诱发细胞凋亡或代谢异常,影响实验结果的准确性。第二,信号穿透深度受限仍是组织成像的重要瓶颈。可见光波段的荧光蛋白在深部组织中易受到散射与吸收影响,导致信噪比下降,从而限制了其在体内成像,尤其是脑组织和实体肿瘤等深层部位的应用。第三,探针表达与递送效率也是临床转化的障碍。遗传编码探针通常依赖病毒载体或转基因手段实现体内表达,但这些策略可能引发免疫反应或脱靶效应,难以满足临床安全性与可控性的要求。第四,动态范围与特异性不足在一定程度上限制了探针的应用。例如,不同疾病状态下目标分子浓度变化幅度有限,而部分探针的灵敏度与选择性尚不足以实现精确分辨。

未来,为推动其临床应用,需要从以下几个方面进行改进:其一,发展具有低光毒性、抗光漂白特性的近红外荧光蛋白与探针,以提升成像深度与稳定性;其二,探索非病毒递送系统,如纳米颗粒或外泌体介导的递送策略,以提高体内应用的安全性;其三,结合多模态成像(如荧光-光声成像或荧光-MRI联合)以克服单一成像模式的局限;其四,基于AI辅助探针设计和大规模高通量筛选,进一步优化探针的灵敏度与特异性,可通过定点突变与定向进化,荧光蛋白在亮度、光稳定性、动力学响应速度等方面不断提升。

总之,遗传编码荧光探针作为当前生物医学研究的重要工具,在过去数年取得了突出进展,为疾病机制研究和临床诊断开辟了新的途径。无论是基于荧光蛋白的传感器还是基于荧光RNA的传感器,均表现出对多种疾病模型中关键分子的精准实时监测能力,极大丰富了人们对疾病病理过程的理解。未来,随着蛋白工程、分子生物学及合成生物学的持续创新,这一领域将进一步拓展,涌现出更多高性能的荧光探针技术,并逐步推动临床转化。相信通过基础科研人员与临床专家的深入协作与持续努力,遗传编码荧光探针技

术必将在未来发挥更大作用,为人类健康事业的发展贡献力量。

参 考 文 献

- [1] WANG X, DING Q, GROLEAU R R, et al. Fluorescent probes for disease diagnosis[J]. *Chemical Reviews*, 2024, 124(11): 7106-7164.
- [2] GHOUNEIMY A, MAHAS A, MARSIC T, et al. CRISPR-based diagnostics: challenges and potential solutions toward point-of-care applications[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2023, 12(1): 1-16.
- [3] WU Z F, LIN D Y, LI Y L. Pushing the frontiers: tools for monitoring neurotransmitters and neuromodulators[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2022, 23(5): 257-274.
- [4] SEKHON H, HA J H, PRESTI M F, et al. Adaptable, turn-on maturation (ATOM) fluorescent biosensors for multiplexed detection in cells[J]. *Nature Methods*, 2023, 20(12): 1920-1929.
- [5] HAN Y, YANG J Q, LI Y, et al. Bright and sensitive red voltage indicators for imaging action potentials in brain slices and pancreatic islets[J]. *Science Advances*, 2023, 9(47): eadi4208.
- [6] ZHANG Y, RÓZSA M, LIANG Y J, et al. Fast and sensitive GCaMP calcium indicators for imaging neural populations[J]. *Nature*, 2023, 615(7954): 884-891.
- [7] CHANG H M, CLEMENS S, GAO P T, et al. Fluorogenic rhodamine-based chemigenetic biosensor for monitoring cellular NADPH dynamics[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2024, 146(30): 20569-20576.
- [8] HU L M, CAO W B, JIANG Y, et al. Designing artificial fluorescent proteins and biosensors by genetically encoding molecular rotor-based amino acids[J]. *Nature Chemistry*, 2024, 16(12): 1960-1971.
- [9] LU S, HOU Y, ZHANG X N, et al. Live cell imaging of DNA and RNA with fluorescent signal amplification and background reduction techniques[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2023, 11: 1216232.
- [10] SONG Q Q, TAI X Q, REN Q Y, et al. Structure-based insights into fluorogenic RNA aptamers[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2024, 57(1): 108-118.
- [11] 高万镮, 陈振寅, 荣霄霄, 等. 活细胞RNA动态成像技术进展[J]. *中国科学: 生命科学*, 2024, 54(4): 651-667.
GAO W K, CHEN Z Y, RONG X X, et al. Progress in RNA dynamic imaging technology in live cells[J]. *Scientia Sinica (Vita)*, 2024, 54(4): 651-667.
- [12] 左方婷, 张雅强, 杨慧敏, 等. 荧光RNA及其生物传感技术研究

- 进展[J]. 遗传, 2024, 46(2): 92-108.
- ZUO F T, ZHANG Y Q, YANG H M, et al. Progress on fluorescent RNA and fluorescent RNA-based biosensing technology[J]. Hereditas(Beijing), 2024, 46(2): 92-108.
- [13] LU X C, KONG K Y S, UNRAU P J. Harmonizing the growing fluorogenic RNA aptamer toolbox for RNA detection and imaging[J]. Chemical Society Reviews, 2023, 52(12): 4071-4098.
- [14] HUANG K Y, CHEN X J, LI C Y, et al. Structure-based investigation of fluorogenic Pepper aptamer[J]. Nature Chemical Biology, 2021, 17(12): 1289-1295.
- [15] WANG Q, XIAO F, SU H, et al. Inert Pepper aptamer-mediated endogenous mRNA recognition and imaging in living cells[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(14): e84.
- [16] ZHENG H F, LIU X Y, LIU L H, et al. Imaging of endogenous RNA in live cells using sequence-activated fluorescent RNA probes[J]. Nucleic Acids Research, 2025, 53(2): gkae1209.
- [17] FANG M Y, LI H W, XIE X, et al. Imaging intracellular metabolite and protein changes in live mammalian cells with bright fluorescent RNA-based genetically encoded sensors[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2023, 235: 115411.
- [18] CHEN Z Y, CHEN W, REHEMAN Z, et al. Genetically encoded RNA-based sensors with Pepper fluorogenic aptamer[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(16): 8322-8336.
- [19] JIANG L, XIE X, SU N, et al. Large Stokes shift fluorescent RNAs for dual-emission fluorescence and bioluminescence imaging in live cells[J]. Nature Methods, 2023, 20(10): 1563-1572.
- [20] ZUO F T, JIANG L, SU N, et al. Imaging the dynamics of messenger RNA with a bright and stable green fluorescent RNA[J]. Nature Chemical Biology, 2024, 20(10): 1272-1281.
- [21] JIANG L, ZUO F T, PAN Y Y, et al. Bright and stable cyan fluorescent RNA enables multicolor RNA imaging in live *Escherichia coli*[J]. Small, 2025, 21(9): 2405165.
- [22] CHEN Z Y, CHEN W, XU C, et al. Near-infrared fluorogenic RNA for *in vivo* imaging and sensing[J]. Nature Communications, 2025, 16: 518.
- [23] YIN P, HUANG C Z, ZHANG L, et al. Developing orthogonal fluorescent RNAs for photoactive dual-color imaging of RNAs in live cells[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2025, 64(14): e202424060.
- [24] HOU J N, GUO P, WANG J Y, et al. Artificial dynamic structure ensemble-guided rational design of a universal RNA aptamer-based sensing tag[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2024, 121(52): e2414793121.
- [25] WONG F, HE D C, KRISHNAN A, et al. Deep generative design of RNA aptamers using structural predictions[J]. Nature Computational Science, 2024, 4(11): 829-839.
- [26] WU Z F, CUI Y T, WANG H, et al. Neuronal activity-induced, equilibrative nucleoside transporter-dependent, somatodendritic adenosine release revealed by a GRAB sensor[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2023, 120(14): e2212387120.
- [27] ZHUO Y Z, LUO B, YI X Y, et al. Improved green and red GRAB sensors for monitoring dopaminergic activity *in vivo*[J]. Nature Methods, 2024, 21(4): 680-691.
- [28] ZENG J Z, LI X L, ZHANG R, et al. Local 5-HT signaling bi-directionally regulates the coincidence time window for associative learning[J]. Neuron, 2023, 111(7): 1118-1135.e5.
- [29] DENG F, WAN J X, LI G C, et al. Improved green and red GRAB sensors for monitoring spatiotemporal serotonin release *in vivo*[J]. Nature Methods, 2024, 21(4): 692-702.
- [30] TOUHARA K K, ROSSEN N D, DENG F, et al. Topological segregation of stress sensors along the gut crypt - villus axis [J]. Nature, 2025, 640(8059): 732-742.
- [31] QIAN T R, WANG H, WANG P, et al. A genetically encoded sensor measures temporal oxytocin release from different neuronal compartments[J]. Nature Biotechnology, 2023, 41(7): 944-957.
- [32] FENG J S, DONG H, LISCHINSKY J E, et al. Monitoring norepinephrine release *in vivo* using next-generation GRAB_{NE} sensors[J]. Neuron, 2024, 112(12): 1930-1942.e6.
- [33] WANG H, QIAN T R, ZHAO Y L, et al. A tool kit of highly selective and sensitive genetically encoded neuropeptide sensors[J]. Science, 2023, 382(6672): eabq8173.
- [34] XIA X J, LI Y L. A high-performance GRAB sensor reveals differences in the dynamics and molecular regulation between neuropeptide and neurotransmitter release[J]. Nature Communications, 2025, 16: 819.
- [35] WU T C, KUMAR M, ZHANG J, et al. A genetically encoded far-red fluorescent indicator for imaging synaptically released Zn²⁺[J]. Science Advances, 2023, 9(9): eadd2058.
- [36] YANG L, PATHIRANAGE V, ZHOU S H, et al. Genetically encoded red fluorescent indicators for imaging intracellular and extracellular potassium ions[PP/OL]. bioRxiv (2024-12-20) [2025-03-01]. <https://doi.org/10.1101/2024.12.20.629597>.
- [37] LAI C X, YANG L N, PATHIRANAGE V, et al. Genetically encoded green fluorescent sensor for probing sulfate transport activity of solute carrier family 26 member a2 (Slc26a2) protein[J]. Communications Biology, 2024, 7: 1375.
- [38] RAHMAN T, PATEL S. Recent developments in probing the levels and flux of selected organellar cations as well as

- organellar mechanosensitivity[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2025, 87: 102600.
- [39] MARVIN J S, KOKOTOS A C, KUMAR M, et al. iATPSnFR2: a high-dynamic-range fluorescent sensor for monitoring intracellular ATP[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2024, 121(21): e2314604121.
- [40] WANG K, CHEN T L, ZHANG X X, et al. Unveiling tryptophan dynamics and functions across model organisms *via* quantitative imaging[J]. *BMC Biology*, 2024, 22(1): 258.
- [41] LIU B J, ZHAO Z J, WANG P C, et al. GlutaR: a high-performance fluorescent protein-based sensor for spatiotemporal monitoring of glutamine dynamics *in vivo*[J]. *Angewandte Chemie*, 2025, 137(4): e202416608.
- [42] LI X, ZHANG Y N, XU L Y, et al. Ultrasensitive sensors reveal the spatiotemporal landscape of lactate metabolism in physiology and disease[J]. *Cell Metabolism*, 2023, 35(1): 200-211.e9.
- [43] LI R, LI Y, JIANG K, et al. Lighting up arginine metabolism reveals its functional diversity in physiology and pathology[J]. *Cell Metabolism*, 2025, 37(1): 291-304.e9.
- [44] HUANG D, ZHANG C C, XIAO M, et al. Redox metabolism maintains the leukemogenic capacity and drug resistance of AML cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2023, 120(13): e2210796120.
- [45] CHANDRASEKHARAN A, TIWARI S K, MUNIRPASHA H A, et al. Genetically encoded caspase sensor and RFP-LC3 for temporal analysis of apoptosis-autophagy[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 257: 128807.
- [46] XU B, WANG Y, BHRIZ S M F M, et al. Probing spatiotemporal PKA activity at the ryanodine receptor and SERCA2a nanodomains in cardiomyocytes[J]. *Cell Communication and Signaling*, 2022, 20(1): 143.
- [47] BLUMENSTOCK S, SCHULZ-TRIEGLAFF E K, VOELKL K, et al. Fluc-EGFP reporter mice reveal differential alterations of neuronal proteostasis in aging and disease[J]. *The EMBO Journal*, 2021, 40(9): e107260.
- [48] LIU S H, LIU J C, FOOTE A, et al. Digital and tunable genetically encoded tension sensors based on engineered coiled-coils[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2025, 64(8): e202407359.
- [49] MOLNAR K, MANNEVILLE J B. Emerging mechanobiology techniques to probe intracellular mechanics[J]. *NPJ Biological Physics and Mechanics*, 2025, 2: 12.
- [50] FREI M S, MEHTA S, ZHANG J. Next-generation genetically encoded fluorescent biosensors illuminate cell signaling and metabolism[J]. *Annual Review of Biophysics*, 2024, 53(1): 275-297.
- [51] ZHOU L, YANG R J, LI X R, et al. COF-coated microelectrode for space-confined electrochemical sensing of dopamine in Parkinson's disease model mouse brain[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2023, 145(43): 23727-23738.
- [52] AGGARWAL A, LIU R, CHEN Y, et al. Glutamate indicators with improved activation kinetics and localization for imaging synaptic transmission[J]. *Nature Methods*, 2023, 20(6): 925-934.
- [53] JI D Y, WANG B, LO K W, et al. Pre-defined stem-loop structure library for the discovery of L-RNA aptamers that target RNA G-quadruplexes[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2025, 64(5): e202417247.
- [54] GUO S K, LIU C X, XU Y F, et al. Therapeutic application of circular RNA aptamers in a mouse model of psoriasis[J]. *Nature Biotechnology*, 2025, 43(2): 236-246.
- [55] DING D, ZHAO H T, WEI D L, et al. The first-in-human whole-body dynamic pharmacokinetics study of aptamer[J]. *Research*, 2023, 6: 0126.



通讯作者：杨弋(1973—),男,教授,博士生导师。主要研究方向为利用合成生物技术与光遗传学技术控制与监测细胞内分子过程的前沿技术;癌症及代谢类疾病药理及药物筛选技术;蛋白质特异性标记、翻译后修饰的鉴定、与细胞内原位成像;蛋白质药物生产技术等。
E-mail: yiyang@ecust.edu.cn



第一作者：李睿(1996—),女,博士研究生。研究方向为合成生物技术与生物传感技术结合在监测细胞内实时动态代谢过程。
E-mail: y20180020@mail.ecust.edu.cn