

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240926006

人工核糖开关在食品快速检测技术中的应用研究进展

夏诗琦, 陈诗静, 苏宏菲, 郭明璋*

(北京工商大学老年营养与健康教育部重点实验室, 北京 100048)

摘 要: 食品安全一直是社会关注的热点问题, 现代食品安全快速检测技术种类繁多, 全细胞生物传感技术检测是现场检测食品中污染物的一种新途径, 已受到广泛关注。全细胞传感技术是利用细胞内的转录因子或核糖开关作为感应元件捕获目标物, 并将目标物浓度信号转换为特定基因的表达强度, 进而通过荧光强度或颜色变化实现对目标物检测的技术。核糖开关生物传感器理论上检测速度更快、特异性更强, 因此构建人工核糖开关全细胞生物传感器, 有利于开发出更理想的食品污染物快速检测技术。核糖开关由适配体和表达平台两部分构成, 适配体结构域与其配体结合造成核糖开关二级结构的变化, 从而控制基因的表达, 实现对目标物的检测。本文对核糖开关的结构、调节机制、筛选以及在食品中的应用进行了介绍, 并从适配体亲和力、开发新核糖开关和丰富报告元件 3 个方面对人工核糖开关生物传感器提出了展望。以期为核糖开关生物传感器在食品污染物中的应用提供理论依据。

关键词: 全细胞生物传感器; 核糖开关; 适配体; 食品安全快速检测

Research progress on the application of artificial riboswitch in food rapid detection technology

XIA Shi-Qi, CHEN Shi-Jing, SU Hong-Fei, GUO Ming-Zhang*

(Key Laboratory of Geriatric Nutrition and Healthy, Beijing Technology and Business University,
Ministry of Education, Beijing 100048, China)

ABSTRACT: Food safety has always been a hot issue of social concern, modern food safety rapid detection technology is a wide variety of whole-cell biosensing technology detection is a new way to detect contaminants in food on-site, has been widely concerned. Whole-cell biosensing technology is a technology that uses intracellular transcription factors or riboswitches as sensing elements to capture the target and convert the target concentration signal into the expression intensity of specific genes, thus realizing the detection of the target through fluorescence intensity or color change. Riboswitch biosensors are theoretically faster and more specific, so the construction of artificial riboswitch whole-cell biosensors is conducive to the development of more desirable technologies for the rapid detection of food contaminants. The riboswitch consists of two parts, the aptamer and the expression platform,

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD1601200)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2023YFD1601200)

*通信作者: 郭明璋, 副教授, 主要研究方向为食品安全快速检测。E-mail: guomingzhang@btbu.edu.cn

*Corresponding author: GUO Ming-Zhang, Associate Professor, Beijing Technology and Business University, No.11, Fucheng Road, Beijing 100048, China. E-mail: guomingzhang@btbu.edu.cn

and the binding of the structural domain of the aptamer to its ligand causes changes in the secondary structure of the riboswitch, thus controlling the expression of genes and realizing the detection of targets. This paper, introduced the structure, regulatory mechanism, screening and application of riboswitch, and proposed the prospect of artificial riboswitch biosensors from 3 aspects, namely, aptamer affinity, development of new riboswitch and enrichment of reporter elements. In order to provide a theoretical basis for the application of riboswitch biosensors in food contaminants.

KEY WORDS: whole-cell biosensor; riboswitch; aptamer; food safety rapid detection

0 引言

食品能够为机体各器官提供必要营养物质, 是人们日常生活中不可或缺的一部分^[1]。近年来, 食品安全问题频发, 造成严重的身体损伤和经济损失^[2-3]。我国高度重视食品安全风险监测, 为保障食品安全, 出台了《中华人民共和国食品安全法》等一系列法律法规和政策文件^[4-5]。然而, 当前我国食品安全形势依然严峻, 农药残留、环境污染、非法添加剂等问题仍然存在, 急需加强食品安全风险监测, 为风险防控提供必要的科学依据^[6-7]。

基于实验室精密检测和现场快速检测技术的食品污染物监测体系, 对于解决食品中污染物具有重要意义。仪器分析技术灵敏度高、准确性好, 但检测量较低, 费用较高, 且通常只能在专业实验室开展, 样品从采样地运往实验室需要时间较长, 集中样品处理及按照批次检测均间接增加了检测时长。现场快速检测技术是指检测流程能够在采样现场进行, 且在 30 min 内出具检测结果的技术。目前, 以原子荧光光谱法和原子吸收光谱法为代表的实验室精密检测技术已经相对成熟^[8-9], 而现场快速检测技术受困于样品基质和样品前处理, 导致结果不准确^[10]。基于此, 全细胞传感系统提供了一种新的检测方案, 它能在不增加成本和操作复杂度的前提下, 将样品前处理和浓度分析集合至同一个生物传感器^[11-14]。转录因子和核糖开关均为全细胞传感器的感应元件, 以转录因子为感应元件的细胞传感器已经进行了综述^[15], 核糖开关是 RNA 类分子, 调控基因的翻译过程, 因此理论上, 以核糖开关作为感应元件的细胞传感器, 信号响应更快^[16-17]。然而, 自然界中天然的核糖开关较少, 故选用适配体构建人工核糖开关生物传感器响应不同食品中的污染物。适配体与核糖开关的分子本质是相同的, 均是能与食品中污染物特异性结合的 RNA 分子, 将体外筛选得到的适配体改造成人工核糖开关, 可开发出更理想的食物中污染物的快速检测技术^[18-20]。

核糖开关具有可设计性、高亲和性、高特异性等特点^[21-23]。因此, 基于核糖开关的生物传感器在检测食品中污染物、监控污染物代谢物及其他小分子检测等具有潜力。本文对核糖开关的构成、筛选和不同靶标分子的核糖开关生物传感器进行了介绍, 为核糖开关生物传感器的研究提

供新思路。

1 核糖开关传感机制

1.1 核糖开关的结构

核糖开关通常由适配体结构域和表达平台两部分组成, 适配体结构域指含有特异配体结合位点, 可以结合多种配体, 有高亲和力和高特异性; 表达平台存在于适配体结构域的下游, 调节下游的编码序列, 控制基因表达^[24-27]。核糖开关是一种位于 mRNA 非编码区的非编码核酸, 它能够特异性与配体结合, 通过改变构象调节基因的表达, 并将信号传递给表达平台^[28]。适配体结构域与表达平台之间由非编码序列连接, 该序列用于传递调节信号^[29]。自然界中, 适配体结构域通常为高度保守的序列, 通常位于 mRNA 的 5' 端, 每一种适配体对应一种配体, 展现其特异性并根据不同的结合方式形成适配体-配体复合物^[30]。适配体结构域与表达平台是两个独立的单位, 因此同一适配体域能根据不同体系选择不同的表达平台, 以得到性能更好的核糖开关。核糖开关结构图见图 1。

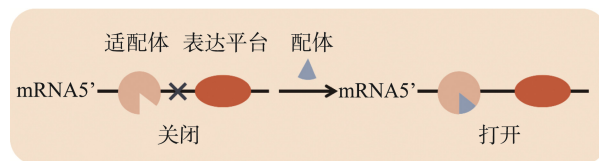


图1 核糖开关结构图

Fig.1 Structure of riboswitch

1.2 核糖开关的调节机制

根据不同的调节机制, 研究人员开发出了 5 种核糖开关。当有目标物质存在时, 目标物与适配体结合导致茎环结构发生变化, 核糖体与露出的核糖体结合位点(ribosome binding site, RBS)序列结合, 启动翻译。JANG 等^[31]将柚皮素适配体与表达平台相结合, 构建了一种能激活基因表达响应柚皮素的功能性翻译激活(translational-ON, TL-ON)核糖开关。如果目标物与适配体结合后, 影响核糖体与 RBS 序列的结合, 就会起到抑制的效果。KRAUS 等^[32]构建了翻译抑制(translational-OFF, TL-OFF)妥布霉素核糖开关。一些具有催化活性和自切割功能的核酶, 在有目标物存在

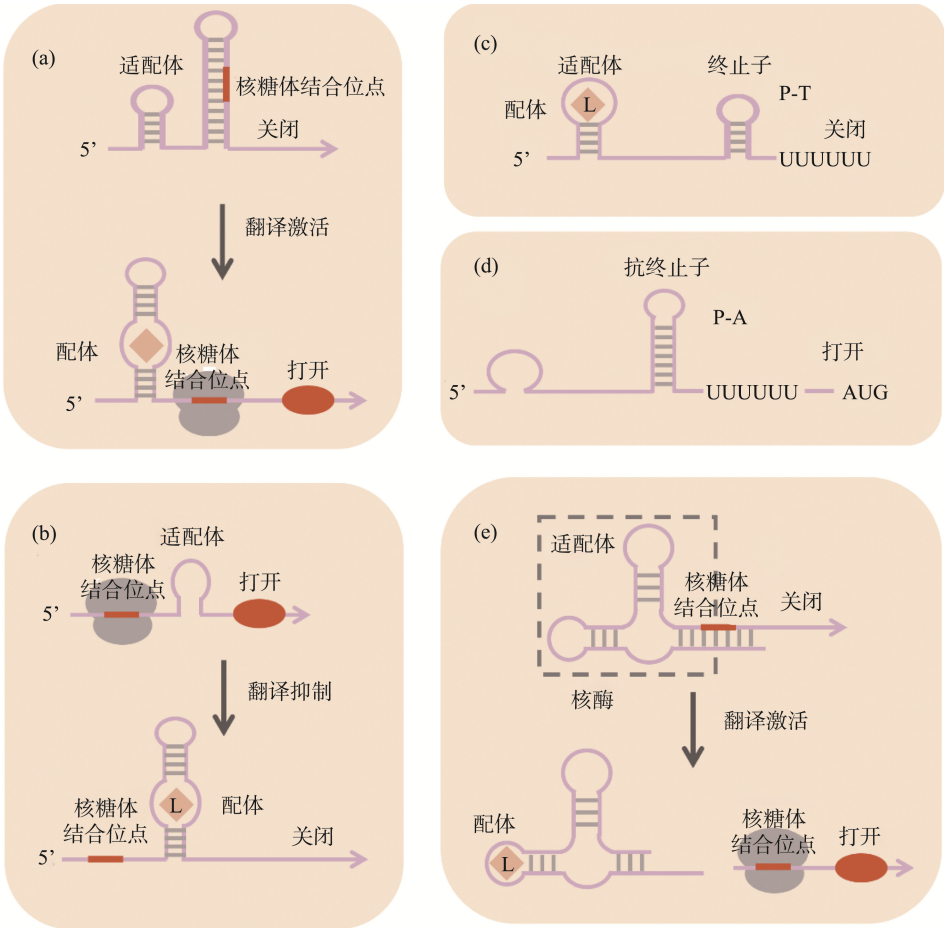
时, 目标物与核酶结合导致结构发生变化, 调控基因表达。OGAWA 等^[33]利用适配体酶与茶碱适配体, 构建了一种在大肠杆菌中起作用, 基于人工核酶的核糖开关, 该核糖开关在靶标存在的情况下激活基因表达(ribozyme-ON, RZ-ON)。当目标物不存在时, 形成反终止子, 即可继续转录。FOWLER 等^[34]基于荧光激活细胞分选(fluorescence activated cell sorting, FACS)针对转录终止机制, 合成了转录激活(transcription-ON, TC-ON)核糖开关。目标物与适配体结合后, 形成终止子, 导致转录终止。CERES 等^[35]设计了 3 种核糖开关, 以调节枯草芽孢杆菌 *metE*、*yitJ* 和 *lysC* 转录, 构建了 3 个转录抑制(transcription-OFF, TC-OFF)核糖开关。核糖开关的调控机制见图 2。

2 从适配体到核糖开关: 基于适配体序列的人工核糖开关的筛选

适配体(aptamer)是通过配体指数富集系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)筛选得到的可识别特定靶标分子的单链寡核苷酸, 具有可设计性、高亲和性、高特异性等特点^[36-39]。SELEX

主要有设计随机寡核苷酸文库、混合靶标与核酸、洗脱分离、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增等步骤^[40]。运用 SELEX 方法已筛选得到了多个适配体, 这一方法同样适用于人工核糖开关的筛选与设计, 通过筛选得到的适配体理论上和天然核糖开关中的适配体具有相同的特性, 由于胞内外适配体折叠机制的差异, 仅有少数的适配体用于人工核糖开关的开发。

LYNCH 等^[41]将茶碱适配体和随机核苷酸序列置于 β -半乳糖苷酶报告基因的上游, 开发了一种高通量筛选茶碱核糖开关的方法, 在茶碱存在下, 该核糖开关可以将 β -半乳糖苷酶的表达激活 36 倍, 而在没有茶碱的情况下表达水平非常低。利用该筛选方法可能会降低合成新核糖开关的困难。MURANAKA 等^[42]以 TetA 绿色荧光蛋白(TetA-green fluorescent protein, TetA-GFPuv)为筛选标记对基因进行筛选, 在液体培养物中含有功能性核糖开关的模型库的模拟选择中, 观察到其单循环的富集效率(>7000)非常显著, 该研究开发了一种焦磷酸硫酸核糖开关, 结果显示该核糖开关在荧光报告基因测量上展现出 58 倍的激活。利用该方法进行筛选无需筛选大量的单个克隆, 且不需要



注: (a)翻译激活; (b)翻译抑制; (c)转录抑制; (d)转录激活; (e)核酶。

图2 核糖开关的调控机制

Fig.2 Regulation mechanism of riboswitch

特殊的宿主表型, 就可获得所需的核糖开关。SVETLANA 等^[43]开发了一种双色报告基因, 该系统由核糖开关和可逆 DNA 片段(*fimS*)控制的重组酶 *FimE* 组成, 其中包含位于两个荧光蛋白基因之间的组成型启动子, 这两个荧光蛋白是绿色荧光蛋白(GFPa1)和红色荧光蛋白(mKate2)。当不表达 *FimE* 时, 表达绿色荧光蛋白; 当 *FimE* 存在时, 将引起 *fimS* 向 *IRL* 的单向倒位, 并且表达红色荧光蛋白(mKate2)。因此, 该核糖开关生物传感器始终有荧光表达, 但其颜色是通过特定的靶标物质而确定。利用该系统成功检测了在茶碱存在下, 核糖开关监测大肠杆菌细菌培养物的激活和荧光颜色随时间的变化, 证明了基于该系统的核糖开关生物传感器的性能。流式细胞仪作为一个高通量、低成本的筛选工具, 可以轻易的在以亿为单位的文库内筛选。LYNCH 等^[44]建立了一个由 12 个碱基组成的新文库, 当配体与核糖开关的适配体域结合后, 核糖体与 RBS 序列结合, 启动翻译过程, 核糖体与 RBS 序列的结合能力影响翻译的效率, 利用流式细胞仪对该文库进行筛选最终获得了激活指数高达 96 倍的核糖开关。利用该方法能从大量文库中筛选出研究人员所需要的核糖开关。

3 食品中核糖开关生物传感器的应用

生物传感器由感应元件、传感器和报告原件组成^[15]。当目标物被感应元件识别并与感应元件特异性结合后, 通过传感器将信号传递至报告元件, 转换为可识别的信号, 从而达到分析目标物的目的^[45-46]。生物传感器的感应元件主要有转录因子、核糖开关等, 报告元件主要为荧光信号、电信号等^[47-48]。

3.1 杂环化合物

JANG 等^[49]利用体外-体内选择, 开发了一种高特异性的己内酰胺核糖开关生物传感器, 实现对己内酰胺和丁内酰胺的识别与分离, 用于高效合成尼龙-6。在该传感体系中存在 50 mmol/L 己内酰胺时, 可激活基因表达高达 3.36 倍。并且该核糖开关可以根据己内酰胺的浓度控制细胞的生长, 为核糖开关在人工选择上的应用提供了新思路; 也是微生物细胞工厂合成途径优化的工具, 利用该工具, 将能以更绿色经济的方法生产新食品原料或食品添加剂; 该体外-体内选择适配体的策略理论上能用于其他适配体的筛选和简化其他物质核糖开关生物传感器的开发。SCULL 等^[30]构建了柚皮素人工核糖开关用于识别和生产柚皮素, 柚皮素人工核糖开关将基因表达的强度提高至 2.91 倍。该核糖开关的成功构建为代谢调控提供了新方案, 也为适配体结构域与不同表达平台连接实现多种研究需求提供了范例。柚皮素核糖开关作用机制见图 3(a)。DAVIDSON 等^[50]在大肠杆菌中构建了一种翻译调控的核糖开关, 当存在 2,4-二硝基甲苯(2,4-dinitrotoluene, DNT)时,

核糖开关“ON”, 产生烟草蚀纹病毒(tobacco etch virus, TEV)蛋白酶, 进而导致荧光增强, 该核糖开关在 0.5 mmol/L DNT 存在下, 相较于无 DNT 存在时表现出 10 倍的荧光增强。该核糖开关生物传感器在水环境中检测有毒爆炸物如 DNT 上具有参考价值。在构建人工核糖开关过程中, 为使其获得更好的性能, 通常需要对其进行结构和功能优化。JANG 等^[51]提出了 3 种方法对人工 *L*-色氨酸核糖开关的功能参数进行优化。*L*-色氨酸是 20 种蛋白质氨基酸中的一种, 也是哺乳动物所必需的氨基酸, 可以作为食品添加剂起到补充营养、调味和防腐的作用。利用 *L*-色氨酸核糖开关监测大肠杆菌中 *L*-色氨酸的代谢水平, 可以用于构建 *L*-色氨酸生产菌株和生产 *L*-色氨酸。首先, 通过调节组成型启动子的表达水平调控 *L*-色氨酸核糖开关的检测范围; 然后, 利用核糖开关编码的蛋白质将核糖开关的调节响应放大; 最后, 采用不同亲和力的 *L*-色氨酸适配体来改变核糖开关的检测范围, 最终得到了激活倍数达 1.58 的核糖开关 pAC108_TR585。这些策略均可用于其他核糖开关的优化, 以获得核糖开关最佳的表达水平。茶碱自身或与表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin, EGCG)联用, 可清除因美拉德反应、油脂氧化等化学反应产生的对人体有害的活性羰基化合物, 如丙烯醛(acrolein, ACR)^[52]。HUANG 等^[53]构建了 4 个茶碱核糖开关, 发现其中 3 个核糖开关存在泄露表达, 研究表明, 核糖开关产生的泄露表达主要与启动子强度、核糖体结合位点(shine-dalgarno, SD)序列及启动子和 SD 序列与密码子之间的间距有关。在构建核糖开关发生同样泄露时, 从这 3 个方面优化能减少泄露的发生。降低核糖开关的泄露表达, 与核糖开关生物传感器的性能的提高密切相关, 同时让针对不同物质的核糖开关生物传感器在检测中发挥最大的作用。

3.2 抗生素

抗生素广泛存在于一些养殖食品中, 用于治疗、预防疾病和促进动物生长的需要, 因此市面上存在可能含有抗生素的食品, 如鸡肉、猪肉、牛肉、鸡蛋等。KRAUS 等^[32]构建了一种妥布霉素依赖性核糖开关, 该核糖开关序列仅长 33 nt, 并且激活倍数高达 17.7。研究人员使用 RNA Capture-SELEX 选择核糖开关, 这种方法能大大减少人工核糖开关体外鉴定的工作, 通过遗传分析、生化分析和核磁共振氢谱分析对具有两个不同妥布霉素结合位点的核糖开关进行分析, 最终发现高亲和力的结合位点能够调控活性, 从而获得该核糖开关。该研究为构建序列短和性能好的核糖开关提供了新方法。陈梅依等^[54]通过设计适配体酶构建了卡那霉素人工核糖开关, 研究人员通过适配体酶重组质粒、体内验证、大肠杆菌诱导表达及荧光检测, 找到了 3 个候选的适配体酶结构(L4-6、R4-6、L5-5), 其中 R4-6 在卡那霉素质量浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 时, 激活倍数达到了 2.99

倍。该课题组首次在大肠杆菌中对抗生素类适配体酶进行筛选,为从大肠杆菌中筛选其他抗生素适配体酶提供了新方案。卡那霉素核糖开关作用机制见图 3(b)。

3.3 金属离子

金属离子在细胞内累计一定量时,其毒性逐渐增加,对肾脏、肝脏、神经系统、消化系统都可造成不可逆的损害作用。日常生活中的主要食物粮食、蔬菜、水产品等均存在被金属离子污染的风险,因此,检测细胞内金属离子的浓度变化至关重要^[55]。WANG 等^[56]构建了一种 $\text{Co}^{2+}/\text{Ni}^{2+}$ 核糖开关传感器,该传感器能检测大肠杆菌中 $\text{Co}^{2+}/\text{Ni}^{2+}$ 的水平,对 Co^{2+} 的结合亲和力为 $5.6 \mu\text{mol/L}$,对 Ni^{2+} 的结合亲和力为 $12 \mu\text{mol/L}$;并鉴定与 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 吸收和排出相关基因缺失的影响。该核糖开关传感器的开发,为重金属人工核糖开关的设计作出了新尝试。 NiCo 核糖开关作用机制见图 3(c)。DANN 等^[57]开发了 Mg^{2+} 核糖开关,命名为“M-box”,当 Mg^{2+} 存在时,该核糖开关关闭。该核糖开关的发现,表明其他金属离子可能存在共同的调节模式。这两种针对金属离子的核糖开关生物传感器的开发,不仅为金属离子核糖开关生物传感器提供了参考,也为食品中金属离子的检测提供了新方案。

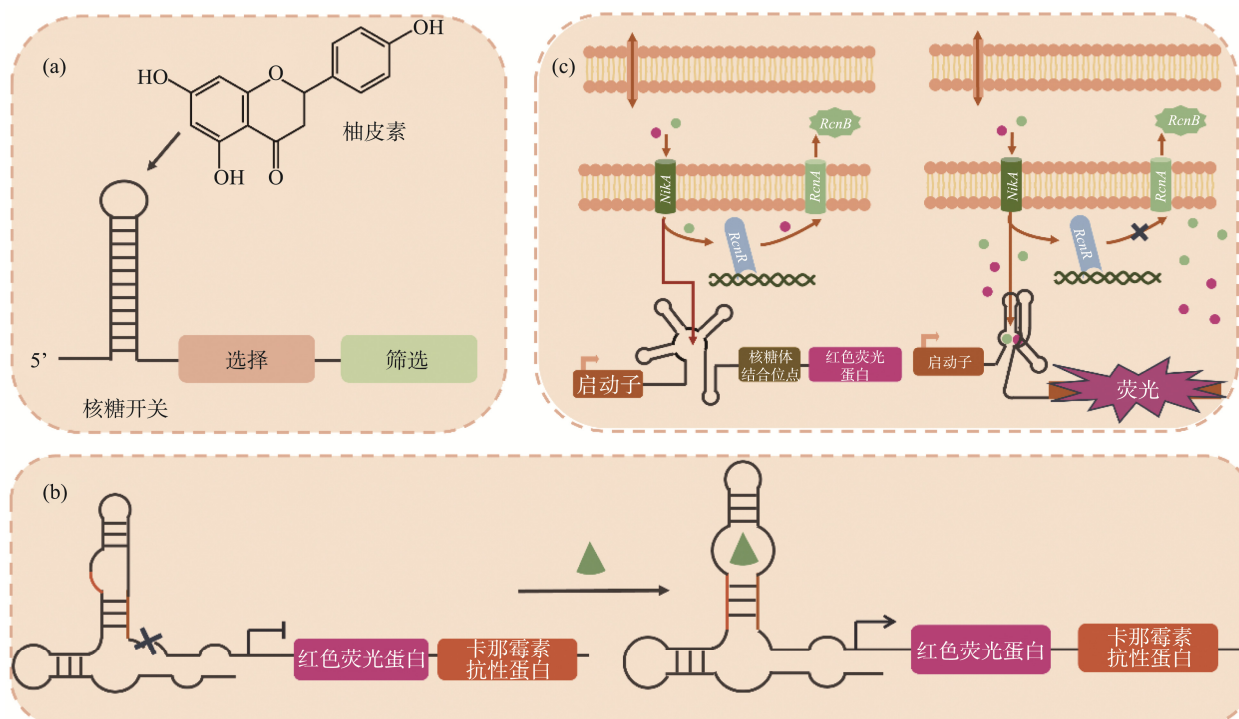
3.4 其 他

除上述几类核糖开关,研究人员还开发了其他的核糖开关生物传感器。ZHU 等^[58]开发了一种核糖开关生物传

感器用于检测发酵食品中维生素 B_{12} 的含量,利用异丙基- β -D-硫代半乳糖苷诱导表达,该核糖开关特异性强,对核酸、假维生素 B_{12} 、与内因子结合的维生素 B_{12} 和结合咕啉几乎没有相应。SHAHIDI 等^[59]研究了一种能识别调节大肠杆菌中焦磷酸硫胺素生物合成基因的核糖开关 thi-box,发现萘啶酸能与该核糖开关的活性位点结合,并能抑制大肠杆菌的生长。证明核糖开关生物传感器可用于检测代谢调节。LEE 等^[60]将 *glmS* 核酶整合到酿酒酵母中构建了一个核糖开关,并且利用人工变构酶将该核糖开关应用于不同的代谢产物,并且该研究使用的自切割核酶介导的 mRNA 衰变机制在微生物中具有普遍性,因此该方案可用于在其他宿主筛选代谢物。

4 核糖开关生物传感器的前景展望

核糖开关的发现为分析和调节细胞内的物质提供了一个更有前景和更广阔的选择,核糖开关生物传感器在理论上有快的响应速度,能够实现对食品中污染物的快速检测,将其开发为试纸条,将满足食品现场检测的需求。这些由基因编码的 RNA 能直接转录并在活细胞中持续产生。核糖开关的优势在于其稳定性和样品检测的准确性,并且适配体结构域和表达平台在功能上相对独立,因此可以模块化方式构建和优化核糖开关,优化后的核糖开关可用于不同的系统。在基础研究领域,核糖开关的发现和研究表明人们对基因表达调控有了更好的了解。作为研究基因功能的



注: (a)柚皮素核糖开关筛选机制; (b)卡那霉素核糖开关作用机制; (c)基于NiCo核糖开关的全细胞生物传感器的机制。

图3 核糖开关的作用机制

Fig.3 Mechanism of riboswitch

工具, 核糖开关对于开发抗生素、设计新型分子传感器以及将核糖开关整合到合成生物学电路中都非常重要。在医学领域, 设计和筛选合适的核糖开关有助于基因治疗和新药开发。此外, 随着核糖开关研究的深入, 预计它们还将在其他领域得到应用。

4.1 探索新的适配体以构建核糖开关

研究表明, 大量类别核糖开关仍未发现, 针对食品中污染物的更多核糖开关需要继续探索。一类新核糖开关的发现意味着一种新的结构或功能的发现, 这将有助于进一步探索核糖开关, 丰富其多样性, 也有助于增添食品快速检测新途径和拓展检测生化过程的途径。因此, 有必要探索揭露核糖开关结构和功能的新方法。通过高通量筛选, 可以进一步开发更多的核糖开关, 具体方法为设计算法, 对指数富集配体高通量系统进化 (high-throughput sequencing-SELEX, HT-SELEX) 产生的大量序列进行评分, 评估其富集程度和结合能力, 整理出高分序列最可能的二级结构, 并预测其三级结构, 以便后续验证。进一步优化, 如缩短或修改适配体序列, 可获得新 RNA 适配体, 以用做新核糖开关的合成。

4.2 提高适配体亲和力

选择高亲和力适配体, 对核糖开关生物传感器的构建至关重要, 适配体的亲和力对核糖开关的灵敏度、特异性以及检测范围具有重要的影响。目前大多采用 SELEX 技术筛选得到适配体, 但由于细胞内外适配体折叠机制的差异, 细胞外获得的高亲和力的适配体在细胞内可能无法正确折叠, 猜测这可能是细胞内外环境差异所导致。未来可以通过修改缓冲溶液、使用能与食品中污染物特异性结合载体等方法获得高亲和力的适配体, 提高食品中污染物的检测速度以及灵敏度。

4.3 丰富信号输出元件

为了高效获取样品检测信息, 合理选择和设计相应的核糖开关生物传感器至关重要, 根据不同场景的需要选择合适的信号输出元件, 可以大大提高检测效率和降低检测成本。目前大多数核糖开关生物传感器均由荧光信号作为信号输出, 但在应用荧光信号作为信号输出方面仍存在一些挑战, 例如在厌氧条件下, 以荧光蛋白为报告元件的核糖开关生物传感器不能产生荧光信号, 或者检测所需时间过长, 无法在现场进行实时监测。因此, 有必要根据不同的报告元件设计核糖开关生物传感器, 以便在未来取得更好的效果。例如, 使用比色报告酶作为报告元件, 比色报告酶是一种能产生明显颜色输出的酶, 由于不需要电子设备来测量输出, 因此适合现场检测。荧光素酶也可用作报告元件, 在没有激发光源的情况下产生光, 它没有背景信号, 检测结果线性范围宽, 检出限低。

5 结束语

基于合成生物学细胞传感的检测技术有望为食品工业提供更可靠、更快速、更实时的检测方法。未来, 相信通过不断的研究和创新, 合成生物学细胞传感器将朝着目标多样化的方向发展, 不仅仅局限于开发出新的全细胞微生物传感器; 还将在同一个传感器细胞中构建检测多种目标物的基因回路, 对食品进行初筛, 节省检测时间, 提高检测效率。通过高通量筛选的方法, 开发更多稳定且高质量的核糖开关生物传感器, 让这项技术更好地服务于食品行业。

参考文献

- [1] 闵宇航, 张文平, 李科, 等. 食品中内源性食品添加剂和化学污染物的本底研究[J]. 中国食品添加剂, 2024(10): 74–81.
MIN YH, ZHANG WP, LI K, *et al.* Background study of endogenous food additives and chemical contaminants in food [J]. China Food Addit, 2024(10): 74–81.
- [2] 王森, 朱思婧. 我国食品行业标准化工作的挑战与对策研究[J]. 标准科学, 2024(9): 82–85.
WANG M, ZHU SQ. Research on the challenges and countermeasures of standardization work in China's food industry [J]. Stand sci, 2024(9): 83–85.
- [3] 秦爱, 王娟, 邓方进, 等. 数字聚合酶链式反应技术在食品安全核酸检测领域中的研究进展及标准化现状[J]. 食品科学, 2024, 45(18): 350–360.
QIN AI, WANG J, DENG FJ, *et al.* Progress in the application of digital polymerase chain reaction in food safety detection and current status of its standardization [J]. Food sci, 2024, 45(18): 350–360.
- [4] 陈梦琪, 彭森曦, 刘婧文, 等. 靶向蛋白质组学技术在食品安全检测中的应用[J/OL]. 食品科学, 1–18. [2024-11-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20240821.1630.064.html>
CHEN MQ, PENG MX, LIU JW, *et al.* Application of targeted proteomics in food safety detection [J/OL]. Food Sci, 1–18. [2024-11-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20240821.1630.064.html>
- [5] 强雨薇, 杨森, 李雨枫. 高内涵分析技术在食品毒理学中的应用[J]. 中国食品卫生杂志, 2024, 36(6): 751–757.
QIANG YW, YANG M, LI YF. Application of high-content analysis in food toxicology [J]. Chin J Food Hyg, 2024, 36(6): 751–757.
- [6] 赵砚珑, 黄光灿, 陈强. MOF 基材料吸附去除食品污染物研究进展[J]. 北京工业大学学报, 2024, 50(6): 763–776.
ZHAO YL, HUANG GC, CHEN Q. Research progress on adsorption and removal of food contaminants by MOF-based materials [J]. J Beijing Univ Technol, 2024, 50(6): 763–776.
- [7] WEI Q, ZHU X, ZHANG D, *et al.* Innovative nanomaterials drive dual and multi-mode sensing strategies in food safety [J]. Trends Food Sci Technol, 2014, 151: 104636.
- [8] AHMED A, SINGH A, PADHA B, *et al.* UV-vis spectroscopic method for detection and removal of heavy metal ions in water using Ag doped ZnO nanoparticles [J]. Chemosphere, 2022, 1: 135208.
- [9] LIU YY, CHEN J, XU ZJ, *et al.* Detection of multiple metal ions in water with a fluorescence sensor based on carbon quantum dots assisted by

- stepwise prediction and machine learning [J]. *Environ Chem Lett*, 2022: 3415–3420. DOI: 10.1007/s10311-022-01475-0
- [10] MA B, GUO Y, LIN YR, *et al.* High-throughput screening of human mercury exposure based on a low-cost naked eye-recognized biosensing platform [J]. *Biosens Bioelectron*, 2024: 1159761. DOI: 10.1016/j.bios.2023.115961
- [11] MA JN, GUAN Y, XING FG, *et al.* Accurate and non-destructive monitoring of mold contamination in foodstuffs based on whole-cell biosensor array coupling with machine-learning prediction models [J]. *J Hazard Mater*, 2023, 449: 131030.
- [12] MENDOZA, GAONA AS, ACOSTA, *et al.* Principles and challenges of whole cell microbial biosensors in the food industry [J]. *J Food Sci*, 2024. DOI: 10.1111/1750-3841.17294
- [13] GUO MZ, CHEN SJ, SU HF, *et al.* High-throughput visualization mutation screening technology to enhance the specificity of CadR based whole-cell cadmium biosensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2024, 256: 116266.
- [14] GUO MZ, CHEN XL, CHEN SJ, *et al.* Replacing manual operation with bio-automation: A high-throughput evolution strategy to construct an integrated whole-cell biosensor for the simultaneous detection of methylmercury and mercury ions without manual sample digestion [J]. *J Hazard Mater*, 2024, 456: 133492.
- [15] 陈晓琳, 刘洋儿, 许文涛, 等. 合成生物学细胞传感技术在食品安全快速检测中的应用[J]. *生物技术通报*, 2023, 39(1): 137–149.
- CHEN XL, LIU YER, XU WT, *et al.* Application of synthetic biology based whole-cell biosensor technology in the rapid detection of food safety [J]. *Biotechnol Bull*, 2023, 30(1): 137–149.
- [16] DONG XZ, QI S, MAHMOOD KI, *et al.* Advances in riboswitch-based biosensor as food samples detection tool [J]. *Compr Rev Food Sci F*, 2023, 22(1): 451–472.
- [17] WANG Y, LI SX, XUE N, *et al.* Modulating sensitivity of an erythromycin biosensor for precise high-throughput screening of strains with different characteristics [J]. *Acs Synth Biol*, 2023, 12(6): 1761–1771.
- [18] ATSUSHI O, HONAMI I, YU I, *et al.* Facile expansion of the variety of orthogonal ligand/apptamer pairs for artificial riboswitches [J]. *Acs Synth Biol*, 2023, 12(1): 35–42.
- [19] BU F, LIN XW, LIAO WJ, *et al.* Ribocentre-switch: A database of riboswitches [J]. *Nucl Acids Res*, 2024, 52(D1): D265–272.
- [20] KUMARI K, RONALD RB. Discovering riboswitches: The past and the future [J]. *Trends Biochem Sci*, 2023, 48(2): 119–141.
- [21] SUDESHNA M, MICHIO K, JOHNNY T, *et al.* Systematic mutation and unnatural base pair incorporation improves riboswitch-based biosensor response time [J]. *ACS Sens*, 2023, 8(12): 4468–4472.
- [22] SVETLANA VH, ADAM DS, YAROSLAV GC, *et al.* Engineering a synthetic dopamine-responsive riboswitch for *in vitro* biosensing [J]. 2022. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssynbio.1c00560>
- [23] GRIFFIN MS, OLAYINKA A, JEFFREY M, *et al.* A riboswitch separated from its ribosome-binding site still regulates translation [J]. *Nucl Acids Res*, 51(5): 2464–2484.
- [24] WU YF, ZHU LJ, LI ST, *et al.* High content design of riboswitch biosensors: All-around rational module-by-module design [J]. *Biosens Bioelectron*, 2023, 220: 114887.
- [25] JANIS H, BEATRIX S. Structural changes in aptamers are essential for synthetic riboswitch engineering [J]. *J Mol Biol*, 434(18): 167631.
- [26] YOKOBAYASHI Y. Aptamer-based and aptazyme-based riboswitches in mammalian cells [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2019, 52: 72–78.
- [27] BLOUIN S, MULHABACHER J, PENEDO JC, *et al.* Riboswitches: Ancient and promising genetic regulators [J]. *Chem Bio Chem*, 2009, 10(3): 400–416.
- [28] BAIRD NJ, KULSHINA N, FERRE-D'AMARE AR. Riboswitch function flipping the switch or tuning the dimmer [J]. *RNA Biol*, 2010, 7(3): 328–332.
- [29] BREAKER PR. Riboswitches and the RNA world [J]. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2012, 4(2): a3566.
- [30] SCULL CE, DANDPAT SS, ROMERO RA, *et al.* Transcriptional riboswitches integrate timescales for bacterial gene expression control [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 7(607158): 607158.
- [31] JANG S, JANG S, XIU Y, *et al.* Development of artificial riboswitches for monitoring of naringenin *in vivo* [J]. *ACS Synth Biol*, 2017, 6(11): 2077–2085.
- [32] KRAUS L, DUCHARDT F, BRAUCHLE E, *et al.* Development of a novel tobramycin dependent riboswitch [J]. *Nucl Acids Res*, 2023, 51(20): 11375–11385.
- [33] OGAWA A, MAEDA M. An artificial aptazyme-based riboswitch and its cascading system in *E. coli* [J]. *Chem Biochem*, 2008, 9(2): 206–209.
- [34] FOWLER CC, BROWN ED, LI Y. A FACS-based approach to engineering artificial riboswitches [J]. *Chem Biochem*, 2008, 9(12): 1906–1911.
- [35] CERES P, GARST AD, MARCANO-VELÁZQUEZ, *et al.* Modularity of select riboswitch expression platforms enables facile engineering of novel genetic regulatory devices [J]. *ACS Synth Biol*, 2013, 2(8): 463–472.
- [36] ZHU C, FENG Z, QIN H, *et al.* Recent progress of SELEX methods for screening nucleic acid aptamers [J]. *Talanta*, 2024, 266: 124998.
- [37] DONG H, LIU X, GAN L, *et al.* Nucleic acid aptamer-based biosensors and their application in thrombin analysis [J]. *Bioanalysis*, 2023, 15(9): 513–532.
- [38] YANG S, LI C, ZHAN H, *et al.* A label-free fluorescent biosensor based on specific aptamer-templated silver nanoclusters for the detection of tetracycline [J]. *J Nanobiotechnol*, 2023, 21(1): 22.
- [39] 甄建辉, 孙鹏远, 巩文雯, 等. 核酸适配体生物传感器应用于食品抗生素残留检测的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(14): 5577–5585.
- ZHEN JH, SUN PY, GONG WW, *et al.* Progress of aptamer-based biosensor for the detection of antibiotics residues in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 12(14): 5577–5585.
- [40] WEI X, MA P, IMRAN MAHMOOD K, *et al.* A review: Construction of aptamer screening methods based on improving the screening rate of key steps [J]. *Talanta*, 2023, 253: 124003.
- [41] LYNCH SA, DESAI SK, SAJJA HK, *et al.* A high-throughput screen for synthetic riboswitches reveals mechanistic insights into their function [J]. *Chem Biol*, 2007, 14(2): 173–184.
- [42] MURANAKA N, SHARMA V, NOMURA Y, *et al.* An efficient platform for genetic selection and screening of gene switches in *Escherichia coli* [J]. *Nucl Acids Res*, 2009, 37(5): e39.
- [43] SVETLANA VH, JENNIFER M, JENNA W, *et al.* Screening and selection artificial riboswitches [J]. *Methods*, 2018, 143: 77–89.

- [44] LYNCH SA, GALLIVAN JP. A flow cytometry-based screen for synthetic riboswitches [J]. Nucl Acids Res, 2009, 37(1): 184–192.
- [45] 罗宇柯, 朱怡铃, 许健萍, 等. 抗生素全细胞生物传感器的设计与应用研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 1-15. DOI: 10.13345/j.cjb.240400
- LUO YK, ZHU YL, XU JP, *et al.* Research progress in the design and application of whole-cell biosensors for antibiotics [J]. Chin J Biotechnol, 2024, 1-15. DOI: 10.13345/j.cjb.240400
- [46] 王森, 沈飞, 何学明, 等. 生物传感器技术在大肠杆菌内毒素检测中的应用进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(13): 48–55.
- WANG S, SHEN F, HE XM, *et al.* Application of biosensors in the detection of *Escherichia coli* endotoxin [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(13): 48–55.
- [47] LI M, LV S, YANG R, *et al.* Development of lycopene-based whole-cell biosensors for the visual detection of trace explosives and heavy metals [J]. Anal Chim Acta, 2023, 1283: 341934.
- [48] CHEN G, XU M, HE C. Preparation of an aptamer electrochemical sensor for the highly sensitive detection of glioma cells [J]. Int J Elect Sci, 2023, 18(5): 100129.
- [49] JANG S, JANG S, IM DK, *et al.* Artificial caprolactam-specific riboswitch as an intracellular metabolite sensor [J]. ACS Synthet Biol, 2019, 8(6): 1276–1283.
- [50] DAVIDSON ME, HARBAUGH SV, CHUSHAK YG, *et al.* Development of a 2,4-dinitrotoluene-responsive synthetic riboswitch in *E.coli* cells [J]. ACS Chem Biol, 2013, 8(1): 234–241.
- [51] JANG S, JUNG GY. Systematic optimization of *L*-tryptophan riboswitches for efficient monitoring of the metabolite in *Escherichia coli* [J]. Biotechnol Bioeng, 2018, 115(1): 266–271.
- [52] 冯小兰, 谷雅婷, 蒋晓芸, 等. 茶碱及其复配多酚协同清除丙烯醛作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(24): 107–115.
- FENG XL, GU YT, JIANG XY, *et al.* Study on the synergistic scavenging of acrolein by theophylline and theophylline combined with multiple polyphenols [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(24): 107–115.
- [53] HUANG Y, CHEN M, HU G, *et al.* Elimination of editing plasmid mediated by theophylline riboswitch in *Zymomonas mobilis* [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2023, 107(23): 7151–7163.
- [54] 陈梅依, 雍溶, 唐卓. 卡那霉素人工核糖开关构建和验证[J]. 应用与环境生物学报, 2023, 29(2): 340–345.
- CHEN MY, YONG R, TANG Z. Construction and validation of an artificial riboswitch for kanamycin [J]. Hin J Appl Environ Biol, 2023, 29(2): 340–345.
- [55] 窦博鑫, 张云亮, 王艳, 等. 生物传感器在食品检测领域的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(3): 845–851.
- DOU BX, ZHANG YL, WANG Y, *et al.* Advances in the application of biosensors in the field of food detection [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(3): 845–851.
- [56] WANG XY, WEI W, ZHAO J. Using a riboswitch sensor to detect $\text{Co}^{2+}/\text{Ni}^{2+}$ transport in *E.coli* [J]. Front Chem, 2021, 9. DOI: 10.3389/fchem.2021.631909
- [57] DANN CE, WAKEMAN CA, SIELING CL, *et al.* Structure and mechanism of a metal-sensing regulatory RNA [J]. Cell, 130(5): 878–892.
- [58] ZHU X, WANG X, ZHANG C, *et al.* A riboswitch sensor to determine vitamin B₁₂ in fermented foods [J]. Food Chem, 2015, 175: 523–528.
- [59] SHAHIDI S, SHAHRAEINI SS, FARMAHINI FY, *et al.* Thiamine pyrophosphate riboswitch regulation: A new possible mechanism involved in the action of nalidixic acid [J]. Turkish J Biochem, 2020, 45. DOI: 10.1515/tjb-2020-0168
- [60] LEE SW, OH MK. A synthetic suicide riboswitch for the high-throughput screening of metabolite production in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Metab Eng, 2015, 28: 143–150.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)

作者简介



夏诗琦, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全快速检测。
E-mail: xiashiqi@st.btbu.edu.cn



郭明璋, 副教授, 主要研究方向为食品安全快速检测。
E-mail: guomingzhang@btbu.edu.cn