

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2022052902

余杰, 张宴, 任洪强. 基于共振能量转移的生物传感器用于环境检测的研究进展[J]. 环境化学, 2023, 42(12): 4171-4184.

YU Jie, ZHANG Yan, REN Hongqiang. Research progress of biosensors based on resonance energy transfer in the field of environmental pollutant detection[J]. Environmental Chemistry, 2023, 42 (12): 4171-4184.

基于共振能量转移的生物传感器用于环境检测的研究进展*

余杰 张宴** 任洪强

(污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京大学环境学院, 南京, 210046)

摘要 共振能量转移 (RET) 是从受激或自发光供体到邻近基态受体 (生色团猝灭剂或荧光团) 的非辐射能量转移. 利用该原理构建的生物传感器具有高灵敏度、高选择性、自动校正的特点, 在环境检测领域具有巨大的应用潜力. 本文综述了目前 RET 生物传感器在环境检测领域 (包括重金属、阴离子、有机污染物、生物毒素和病原微生物的检测) 的研究进展, 并针对不同环境污染物分析了 RET 传感体系的构建特点, 最后探讨了基于 RET 的生物传感器在环境领域应用所面临的挑战, 并对其未来发展前景进行了展望.

关键词 生物传感器, 共振能量转移, 环境检测, 环境污染物.

Research progress of biosensors based on resonance energy transfer in the field of environmental pollutant detection

YU Jie ZHANG Yan** REN Hongqiang

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing, 210046, China)

Abstract Resonant energy transfer (RET) is a non-radiative energy transfer from stimulated or self-luminous donors to adjacent ground state receptors (chromophore quenchers or fluorophores). Biosensors based on this principle have the characteristics of high sensitivity, high selectivity, and automatic correction, and have great application potential in the field of environmental monitoring. In this paper, the research progress of RET biosensors in environmental monitoring (including the detection of heavy metals, anions, organic pollutants, biotoxins, and pathogenic microorganisms) is reviewed, and the construction characteristics of RET sensing systems for different environmental pollutants are analyzed. Finally, the challenges of RET-based biosensors in the environmental field are discussed, and its future development prospects are prospected.

Keywords biosensor, resonance energy transfer, environmental monitoring, environmental pollutants.

随着工业化和城市化的不断发展, 在生活水平不断提高的同时, 也加速了环境污染, 包括化学污染和生物污染^[1]. 化学污染物包括重金属^[2]、过量的营养元素^[3]、农药^[4]、杀虫剂、芳香族化合物^[5]以及其他新污染物等. 生物污染物则包括不同类型的生物毒素^[6]和病原微生物^[7]. 各类污染物大量累积, 对生

2022年5月29日收稿(Received: May 29, 2022).

* 江苏省农业科技自主创新资金单项技术研发项目 (SCX(22)31374) 资助.

Supported by the Jiangsu Agriculture Science and Technology Innovation Fund (SCX(22)31374).

** 通信联系人 Corresponding author, E-mail: yanzhang@nju.edu.cn

态系统和人体健康构成巨大威胁。

为保障生态安全和环境健康,开展有效的污染防治和环境管理,应提高对各类环境污染物精准识别和环境检测水平.目前环境污染物常规检测方法包括分光光度法、原子吸收光谱法、电感耦合等离子体光谱法和各类色谱法^[8].这些方法普遍依赖昂贵的检测仪器,成本较高、操作繁琐、不适合原位检测.生物传感器具有灵敏度高、选择性好、操作简单、响应迅速、便于原位检测等固有优势,是一类很有前景的检测方法^[9].比率荧光生物传感器可以克服对环境和检测器变化的干扰问题,具有明显的优势.共振能量转移(resonance energy transfer, RET)是从供体发色团到邻近基态受体分子的非辐射能量转移,是目前主流的比率荧光策略.RET生物传感器依据供体发色团的不同可以分为荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)传感器、生物发光共振能量转移(bioluminescence resonance energy transfer, BRET)传感器和化学发光共振能量转移(chemiluminescence resonance energy transfer, CRET)传感器(图1).

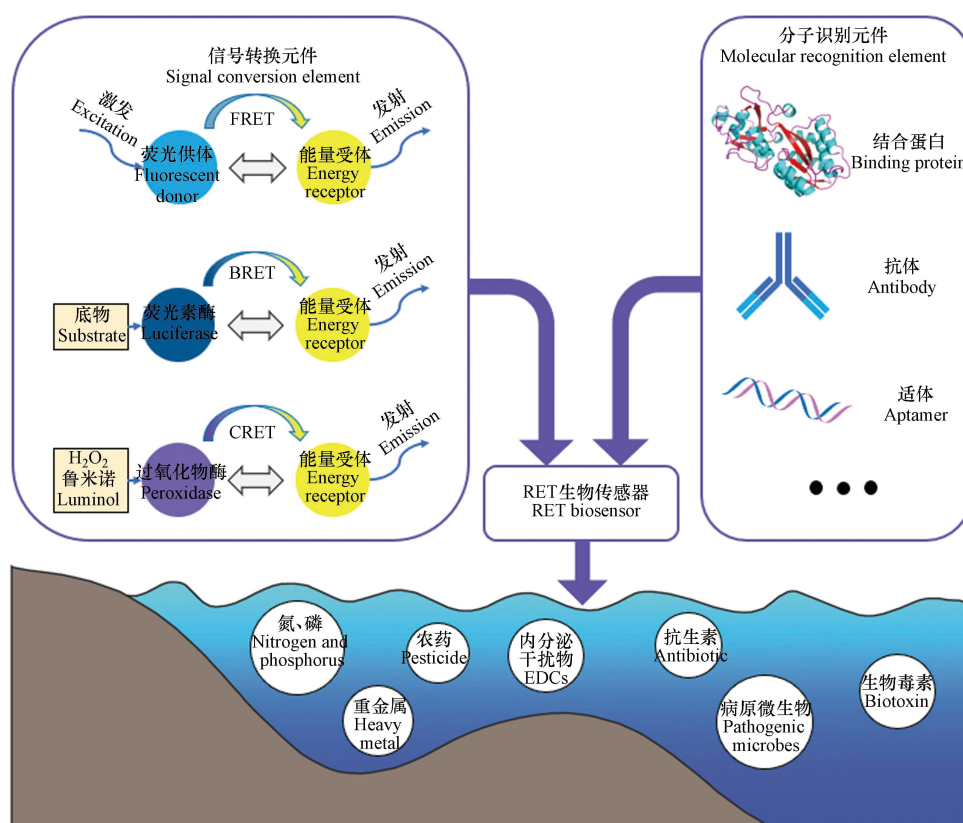


图1 用于环境检测的RET生物传感器及其构建原理

Fig.1 RET biosensor for environmental detection and its construction principle

本文总结了目前RET生物传感器在环境检测领域的研究进展,包括用于重金属、阴离子、有机污染物、生物毒素和病原微生物等污染物的检测,并针对不同环境污染物分析了RET传感体系的构建特点,最后探讨了基于RET的生物传感器在环境领域应用所面临的挑战,并对其未来发展前景进行了展望,以期为相关研究提供参考.

1 RET原理(Principle of RET)

1.1 荧光共振能量转移

FRET是从受激的供体荧光团到邻近基态受体分子(生色团猝灭剂或荧光团)的非辐射能量转移.偶极-偶极共振使FRET仅发生在相互距离约为1—10 nm的区域,在该区域可以应用理想的偶极近似^[10].偶极-偶极共振导致的RET需要供体发射光谱与受体激发光谱之间的光谱重叠.在此过程中,供体的光致发光(photoluminescence, PL)强度减小,其PL寿命降低,而发光型受体PL强度和衰减时间

增加, 从而实现能量转移。

在 Förster 理论中, FRET 转移率(κ_{FRET})是供体/受体距离的函数. 如式(1)所示, κ_{FRET} 可以用 r 和 R_0 表示如下^[11]:

$$\kappa_{\text{FRET}} = \tau_{\text{D}}^{-1} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6 \quad (1)$$

其中, τ_{D} 是没有受体的供体激发态寿命, R_0 是 Förster 距离, r 是供体和受体之间的距离(nm).

Förster 理论另一个重要的结果参数是 FRET 效率, 用 E_{FRET} 表示, 定义为每个供体激发发生的能量转移的分数(公式 2)^[11]. 通过将公式 1 替换公式 2 中的 κ_{FRET} 项, 可以发现 E_{FRET} 与 r^6 成反比.

$$E_{\text{FRET}} = \frac{\kappa_{\text{FRET}}}{\tau_{\text{D}}^{-1} + \kappa_{\text{FRET}}} = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (2)$$

1.2 生物发光共振能量转移

在自然界中, BRET 是一个生物体的自发过程, 可以在水母 *Aequorea victoria* 和海肾 *Renilla reniformis* 等海洋生物中观察到^[12]. 该过程通过氧化底物将能量从供体酶非辐射转移到合适的受体. BRET 在许多方面类似于 FRET, 只是它不需要外部光源来激发供体. 因此, 基于 BRET 的能量转移遵循 FRET 理论, 可以类似地用于产生信号变化以响应纳米级的距离变化. 使用不需要外部激发供体分子的传感和成像模式产生了多种优势: 供体没有光漂白、生物自发荧光小、信噪比高、并且没有来自直接受体激发和荧光的背景干扰^[13].

1.3 化学发光共振能量转移

CRET 类似地遵循 FRET 理论, 其中化学发光(chemiluminescence, CL)供体通过化学反应激发^[14]. 通常, 直接 CL 和催化 CL 系统中的 CL 底物用作能量供体, 荧光染料、聚合物和纳米粒子被用作能量受体来构建 CRET 系统. 在直接 CRET 系统中, 由于 CL 体系的简单性和对能量受体吸收波长的限制较小, 过氧草酸盐作为 CL 底物通常被用作能量供体. 在催化 CRET 体系中, 作为 CL 底物的鲁米诺及其衍生物因其良好的化学稳定性和强的 CL 强度而被广泛用作能量供体.

2 用于化学污染物检测的 RET 生物传感器(RET biosensors for chemical contaminant detection)

2.1 无机污染物检测

(1) 重金属检测

RET 生物传感器已用于 Hg、As、Pb 等有毒重金属的检测(见表 1), 这类传感器具有良好的实用性和通用性, 其构建的主要原理是 FRET, 采用的分子识别元件主要包括结合蛋白、DNA 酶和适体. 结合蛋白是从生物体内获取的能与重金属(如铅、汞、砷等)特异性结合的天然蛋白, 其两端分别与供受体荧光蛋白偶联, 构建融合蛋白传感器, 可实现有毒重金属离子的高灵敏度和高选择性检测, 但是这类结合蛋白种类有限, 只能检测有限的金属离子^[15-17]. 对重金属有特异性的 DNA 结合酶是通过 DNA 文库筛选得到的^[18], 具有灵敏度高、选择性好的优点. 例如, Jin 等以一种 Pb^{2+} 依赖性 DNA 结合酶为识别元件, 以 Cy3 和 Cy5 为荧光供受体对, 开发了一种低噪声 FRET 传感器^[19], 对 Pb^{2+} 的检测限达到 $77 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$. 以重金属适体为识别元件可构建发夹结构的 RET 生物传感器, 在亲和力、特异性等方面性能优越. 例如, Ono 等利用 Hg^{2+} 与两个胸腺嘧啶(T)碱基的高配位能力, 构建了 T- Hg^{2+} -T 结构的 RET 生物传感器^[20], 对 Hg^{2+} 的检测限可达 $40 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$. 此外, 采用双荧光标记^[21] 或纳米材料^[2] 作为 FRET 对可以显著提高传感器的灵敏度. 此外, Xiong 等首次证实了与 Cu^{2+} 结合的短肽能够显著提高 Cu^{2+} 在鲁米诺- H_2O_2 CL 体系中的催化性能, 并基于这种特异性增强作用构建了 CRET 生物传感器^[22], 对 Cu^{2+} 的检测限可达 $50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

(2) 无机阴离子检测

用于无机阴离子检测的 RET 生物传感器多采用结合蛋白作为识别元件, 以青色荧光蛋白和黄色荧光蛋白作为荧光供受体对, 构建 FRET 传感器(见表 2). 这种基因编码的融合蛋白传感器便于从质粒 DNA 克隆转移到可用于测定的形式, 且不会显著丧失结合亲和力. Gu 等利用蓝藻聚球藻 *Synechococcus* 的磷酸盐结合蛋白作为传感域, 分别在其 N 端和 C 端与 ECFP 和 Venus 融合, 构建了磷酸盐 FRET 传

感器^[36]. Fatima 等开发了用于检测硝酸盐和硫酸盐的非侵入性基因编码 FRET 传感器^[37-38], 对硝酸盐和硫酸盐具有高特异性和亲和力, 适用于体内和体外检测.

表 1 RET 生物传感器在重金属离子检测中的应用

Table 1 Applications of RET biosensor in the detection of heavy metal ions

目标物 Target	RET类型 Type of RET	供体 Donor	受体 Acceptor	分子识别元件 Molecular recognition element	识别元件类型 Type of recognition element	检测限 Limit of detection	检测范围 Range of detection	参考文献 Reference
Hg ²⁺	FRET	ECFP	Venus	汞结合蛋白 MerP	结合蛋白	—	0.210— 1.196 μmol·L ⁻¹	[15]
Hg ²⁺	FRET	FAM、HEX	GO	汞适配体探针: 5'-TTC TTT CTT CGC GTT GTT TGT T-FAM-3'	适配体	3.5 nmol·L ⁻¹	10— 249 nmol·L ⁻¹	[23]
Hg ²⁺	FRET	fluorescein, F	DABCYL	富含T-T对的寡脱氧核糖核苷酸序列(5'-dabcyl-d TTC TTT CTT CCC CTT GTT TGT T-6-fluorescein-3')	适配体	40 nmol·L ⁻¹	40— 100 nmol·L ⁻¹	[20]
Hg ²⁺	FRET	荧光素	四甲基罗丹明	汞敏感 DNA 适配体(MSD)	适配体	7 nmol·L ⁻¹	10— 200 nmol·L ⁻¹	[21]
Hg ²⁺	FRET	CD	GO	寡核苷酸ODN: 5'-NH ₂ -(CH ₂) ₆ -TTC TTT CTT CGC GTT GTT TGT T-3'	适配体	2.6 nmol·L ⁻¹	5— 200 nmol·L ⁻¹	[2]
Pb ²⁺	FRET	Cy3	Cy5	Pb ²⁺ 依赖性DNA酶(5'-GGG GGG GGG GTG AGT GCT TCC ACT ATA GGA AGA GAT GAA AAA A-(CH ₂) ₆ -bio-3')	DNA酶	0.077 nmol·L ⁻¹	0.1— 1000 nmol·L ⁻¹	[19]
Pb ²⁺	FRET	FAM	Cy3	DNA片段1(含铅、汞特异性结合序列)、DNA片段1(含银、汞特异性结合序列)	适配体	20 nmol·L ⁻¹	—	[24]
Pb ²⁺	FRET	FAM、HEX	GO	铅适配体探针: 5'-GGA AGG TGT GGA AGG-HEX-3'	适配体	2.56 nmol·L ⁻¹	10— 100 nmol·L ⁻¹	[23]
Pb ²⁺	CRET	血红素/G-四链体催化 H ₂ O ₂ 对鲁米诺的氧化发光	FAM	Pb ²⁺ 依赖性DNA酶8-17(5'-CAC GTC CAT CTC TTC TCC GAG CCG GTC GAA ATA GTG AGT-FAM-3')	DNA酶	5 nmol·L ⁻¹	7.5— 125 nmol·L ⁻¹	[18]
Cu ²⁺	FRET	色氨酸Trp	丹磺酰氯	铜电阻操纵子编码蛋白 C(CopC)	结合蛋白	7 nmol·L ⁻¹	0.04— 11 μmol·L ⁻¹	[16]
Cu ²⁺	FRET	Alexa Fluor 488	红色荧光蛋白 DsRed	红色荧光蛋白DsRed	—	—	200— 5000 nmol·L ⁻¹	[25]
Cu ²⁺	CRET	Cu ²⁺ 催化的 H ₂ O ₂ /鲁米诺发光体系	QD(620 nm)	Ser-Pro-Gly-His肽	多肽	50 nmol·L ⁻¹	0.2— 10 μmol·L ⁻¹	[22]
Zn ²⁺	FRET	ECFP	DsRED	植物锌转运蛋白	结合蛋白	—	—	[17]
Zn ²⁺	FRET	CFP	YFP	Synechococcus sp.的 Zn结合金属硫蛋白	结合蛋白	—	100—2000、 60—1400、 5.0—250、30— 900 μmol·L ⁻¹	[26]
Zn ²⁺	BRET/FRET	NanoLuc、Cerulean	Cerulean、Citrine	双组氨酸和半胱氨酸残基四面体 Zn ²⁺ 复合物	多肽	—	K _d ((15.6 ± 1.0) pmol·L ⁻¹)	[27]
Ca ²⁺	BRET	Rluc8	Venus	Ca ²⁺ 结合蛋白钙调蛋白(CaM)及其靶肽 M13	结合蛋白	—	K _d (1.9 μmol·L ⁻¹)	[28]
Ca ²⁺	BRET	NanoLuc	cp229Venus ΔC10	人类中心体 Centrin 蛋白3的Mg ²⁺ /Ca ²⁺ 检测域	结合蛋白	—	0.1— 20 mmol·L ⁻¹	[29]
Mg ²⁺	BRET	NanoLuc	cp229Venus ΔC10	人类中心体 Centrin 蛋白3的Mg ²⁺ /Ca ²⁺ 检测域	结合蛋白	—	1— 10 mmol·L ⁻¹	[29]
As ³⁺	FRET	ECFP	Venus	砷结合蛋白ArsR	结合蛋白	—	5.00—53.78、 2.00—45.50、 6.00—58.96、 0.20— 55.67 μmol·L ⁻¹	[30]

续表 1

目标物 Target	RET类型 Type of RET	供体 Donor	受体 Acceptor	分子识别元件 Molecular recognition element	识别元件类型 Type of recognition element	检测限 Limit of detection	检测范围 Range of detection	参考文献 Reference
Tl ⁺	FRET	FAM	TMR	PS2.M血色素适体(GTG GGT AGG GCG GGT TGG)	适体	59 μmol·L ⁻¹	59—300 μmol·L ⁻¹	[31]
Co ²⁺	FRET	ECFP	Venus	硫酸盐还原菌Desulfovibrio vulgaris Hildenborough钴螯合酶钴结合域	结合蛋白	—	0.05—80、0.1—120、0.09—200 μmol·L ⁻¹	[32]
Ni ²⁺	FRET	ECFP	Venus	大肠杆菌镍结合蛋白NikA	结合蛋白	—	5—5000、0.5—3000、0.1—5000、10—5000 μmol·L ⁻¹	[33]
Ag ⁺	FRET	ECFP	Venus	银结合蛋白CusF	结合蛋白	—	1.679—7.198、2.039—6.879、2.232—7.249 μmol·L ⁻¹	[34]
Pt ²⁺	CRET	3,4,5-三甲氧基苯基-乙二醛(TMPG)与鸟嘌呤(G)核苷酸的衍生反应	6-carboxy-2',4,7,7'-四氯荧光素(TET)	铂控制的链霉亲和素结合适体	适体	0.26 μmol·L ⁻¹	0.5—513 μmol·L ⁻¹	[35]
— 未提及								

表 2 RET 生物传感器在无机阴离子检测中的应用

Table 2 Applications of RET biosensor in the detection of inorganic anions

目标物 Target	RET类型 Type of RET	供体 Donor	受体 Acceptor	分子识别元件 Molecular recognition element	识别原件类型 Type of recognition element	检测范围 Range of detection	参考文献 Reference
PO ₄ ³⁻	FRET	ECFP	Venus	Synechococcus strain OS-A 磷酸盐结合蛋白	结合蛋白	25—1200 nmol·L ⁻¹ 、80—5600 nmol·L ⁻¹ 、0.4—25 μmol·L ⁻¹ 、0.5—34 μmol·L ⁻¹ 、25—1600 μmol·L ⁻¹ 、3—170 mmol·L ⁻¹	[36]
NO ₃ ⁻	FRET	CFP	YFP	Synechocystis sp. 6803 硝酸盐结合蛋白NrtA	结合蛋白	0.5—50 μmol·L ⁻¹ 、0.6—50 μmol·L ⁻¹ 、0.2—80 μmol·L ⁻¹ 、0.7—20 μmol·L ⁻¹	[37]
NO ₃ ⁻	FRET	CFP	cp195Venus	根瘤菌NasS与其转录反终止子NasT双组分	结合蛋白	K _d (39.5 μmol·L ⁻¹)	[3]
NO ₂ ⁻	FRET	CFP	cp195Venus	根瘤菌NasS与其转录反终止子NasT双组分	结合蛋白	K _d (256 μmol·L ⁻¹)	[3]
MoO ₄ ²⁻	FRET	CFP	YFP	大肠杆菌转录因子ModE的C末端钼酸盐结合域(MoBD)	结合蛋白	K _d (47 nmol·L ⁻¹)	[39]
SO ₄ ²⁻	FRET	ECFP	mVenus	鼠伤寒沙门氏菌的硫酸盐结合蛋白(sbp)	结合蛋白	0.3—90 μmol·L ⁻¹ 、0.2—50 μmol·L ⁻¹ 、40—800 μmol·L ⁻¹ 、0.5—80 μmol·L ⁻¹	[38]
— 未提及							

2.2 有机污染物检测

(1) 抗生素检测

用于抗生素检测的 RET 生物传感器主要以抗体和适体作为识别元件, 具有优异的传感性能, 构建的 FRET 传感器对抗生素的检测限低于 1 ng·mL⁻¹(见表 3). 此外, 与传统的酶联免疫检测法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)相比, 基于 RET 的均相免疫分析无需分离步骤, 既缩短了测定时间又简化了检测程序, 且在检测小分子化合物方面具有显著优势. 例如, Zhang 等使用单克隆抗体修饰的上转换纳米颗粒(Upconverting nanoparticles, UCNPs)作为能量供体, 与抗原连接的 AuNPs 作为受体, 构建了 FRET 传感器, 用于检测恩诺沙星、环丙沙星和诺氟沙星等氟喹诺酮类抗生素, 检出限为 0.19—0.32 μg·L⁻¹[40].

表 3 RET 生物传感器在有机污染物检测中的应用

Table 3 Applications of RET biosensor in the detection of organic pollutants

目标物分类 Target classification	目标物 Target	RET 类型 Type of RET	供体 Donor	受体 Acceptor	分子识别元件 Molecular recognition element	识别元件 类型 Type of recognition element	检测限 Limit of detection	检测范围 Range of detection	参考文献 Reference
抗生素	四环素 (TC)	FRET	Eu ³⁺ 穴状化 合物	Cy5	抗TC多克隆抗体	抗体	0.0106 ng·mL ⁻¹	0.0273— 9.2645 ng·mL ⁻¹	[46]
抗生素	氟喹诺酮衍 生物(FQs)	FRET	β-NaLuF ₄ : Yb, Er, Gd UCNPs	AuNPs	抗FQs抗体	抗体	0.2 ng·mL ⁻¹	1—80 ng·mL ⁻¹	[40]
抗生素	氟喹诺酮衍 生物(FQs)	BRET	Rluc	QD	抗ENR单链可变 抗体	抗体	0.003 ng·mL ⁻¹	0.023— 25.6 ng·mL ⁻¹	[41]
抗生素	磺胺二甲嘧 啶(SMZ)	FRET	RhoB	AuNPs	SMZ适体 SMZ1S(5'-CGT TAG ACG-3')	适体	0.82 ng·mL ⁻¹	1.25— 40 ng·mL ⁻¹	[47]
抗生素	氯霉素 (CAP)	FRET	FAM	PCN-222	CAP适体(5'- FAM-ACT TCA GTG AGT TGT CCC ACG GTC GGC GAG TCG GTG GTA G-3')	适体	0.08 pg·mL ⁻¹	0.1 pg·mL ⁻¹ — 10 ng·mL ⁻¹	[42]
农药	甲基对硫 磷、久效 磷、乐果	FRET	UCNPs	AuNPs	乙酰胆碱酯酶 (AChE)	酶	0.67、23、67 ng·L ⁻¹	parathion-methyl 2—20000 ng·L ⁻¹	[4]
农药	二嗪农	FRET	β-NaYF ₄ : Yb, Er UCNPs	GO	二嗪农适体5'- NH ₂ -C ₆ -ATC CGT CAC ACC TGC TCT AAT ATA GAG GTA TTG CTC TTG GA AAG GTA CAG GGA TGG TGT TGG CTC CCG TAT-3'	适体	0.023 ng·mL ⁻¹	0.05— 500 ng·mL ⁻¹	[48]
农药	克瘟散 (EDI)	FRET	L-半胱氨酸 封端的ZnS QD	GO	EDI适体(5'-NH ₂ - C ₆ -CGT ACG GAA TTC GCT AGC TAA GGG ATT CCT GTA GAA GGA GGT CTG GAT CCG AGC TCC G-3')	适体	0.13 ng·mL ⁻¹	0.5—60 ng·mL ⁻¹	[44]
内分泌干扰物	内分泌干扰 物(EDCs)	BRET	Rluc	mAmetrine	甲基法尼脂受体 MfR (protein methoprene tolerant (Met) with its partner, steroid receptor coactivator (SRC))	受体	LOEC 3.0 μmol·L ⁻¹	—	[49]
内分泌干扰物	内分泌干扰 物(EDCs)	BRET	NanoLuc	HaloTag NanoBRET™ 618	人雌激素受体-α	受体	—	—	[50]
内分泌干扰物	双酚 A(BPA)	FRET	水溶性共轭 聚(9,9-双 (6'-N,N,N- 三甲胺基) 己基)氟苯 (PFP)	FAM	BPA适体(5'- FAM-CCG GTG GGT GGT CAG GTG GGA TAG CGT TCC GCG TAT GGC CCA GCG CAT CAC GGG TTC GCA CCA-3')	适体	0.005 ng·mL ⁻¹	0—1.0 ng·mL ⁻¹	[51]

续表 3

目标物分类 Target classification	目标物 Target	RET 类型 Type of RET	供体 Donor	受体 Acceptor	分子识别元件 Molecular recognition element	识别元件 类型 Type of recognition element	检测限 Limit of detection	检测范围 Range of detection	参考文献 Reference
内分泌干扰物	双酚 A(BPA)	FRET	FAM	MGO	BPA适体(5'- CCG GTG GGT GGT CAG GTG GGA TAG CGT TCC GCG TAT GGC CCA GCG CAT CAC GGG TTC GCA CCA-FAM- 3')	适体	0.071 ng·mL ⁻¹	0.2—10 ng·mL ⁻¹	[52]
内分泌干扰物	双酚 A(BPA)	FRET	FAM	GO	BPA适体(5'- FAM-CCG GTG GGT GGT CAG GTG GGA TAG CGT TCC GCG TAT GGC CCA GCG CAT CAC GGG TTC GCA CCA-3')	适体	0.05 ng·mL ⁻¹	0.1—10 ng·mL ⁻¹	[53]
其他	2,3,7,8-四氯 代二苯-并- 对二噁英 (2,3,7,8- TCDD)	BRET	Rluc	YFP	芳香烃受体 AHR、HSP90	受体	10 amol·L ⁻¹	1 amol·L ⁻¹ — 100 pmol·L ⁻¹	[54]
其他	苯	FRET	色氨酸Trp	1-氨基萘(1- AMA)	猪气味结合蛋白 (OBPs)	结合蛋白	3.9 ng·mL ⁻¹	3.9—781 ng·mL ⁻¹	[55]
其他	2,4,6-三硝 基甲苯 (TNT)	FRET	CdSe-ZnS QD	BHQ-10	抗TNT单链抗体	抗体	—	K _d (15.7 μmol·L ⁻¹)	[5]
其他	4,4'-二溴联 苯(PBB15)	FRET	CD	AuNPs	抗PBB15抗体	抗体	0.039 μg·mL ⁻¹	0.05—4 μg·mL ⁻¹	[56]
其他	苯并[a]芘 (BaP)	FRET	抗BaP抗体	BaP	抗BaP抗体	抗体	0.06 ng·mL ⁻¹	0.1—5 ng·mL ⁻¹	[57]

— 未提及

Yu 等以单链抗体(Single chain antibody fragment, scFv)作为识别单元,以量子点(Quantum dot, QD)和 Rluc 作为能量供受对,构建了用于检测氟喹诺酮类抗生物素的 BRET 同源免疫传感器^[41],检测限为 2.54 ng·L⁻¹,线性范围为 0.023—25.60 ng·mL⁻¹. Liu 等基于荧光标记的适体和钴卟啉金属有机框架,构建了 FRET 传感器,实现了氯霉素快速检测(< 26 min),检测限为 0.08 pg·mL⁻¹,检测范围为 0.1—10 ng·mL⁻¹^[42].

(2) 有机农药检测

目前,基于 RET 生物传感器的有机农药检测方法主要分为酶传感器和非酶传感器(见表 3),非酶传感器比酶传感器具有更好的选择性和敏感性^[43]. Long 等研发了一种基于 UCNPs 和 Au-NPs 的 FRET 纳米传感器用于检测有机磷农药(organophosphorous pesticides, OPPs)^[4],其识别机制是基于 OPPs 对乙酰胆碱酯酶(acetyl cholinesterase, AChE)活性的抑制作用,从而减少 AChE 催化的乙酰硫胆碱水解产物硫代胆碱的生成,硫代胆碱和 AuNPs 之间的静电相互作用和金-硫醇相互作用导致 AuNP/UCNPs 复合物的解离,因此 OPPs 浓度的变化引起传感器比率荧光信号的变化.该生物传感器具有良好的稳定性,且对甲基对硫磷、久效磷和乐果等农药的检出限分别达到 0.67、23、67 ng·L⁻¹. Arvand 等利用单链 DNA 功能化 QD 优异的光学性能和生物相容性,开发了一种适体传感器,通过将适体固定在水溶性 L-半胱氨酸修饰的 ZnS QD 上,用于测定实际样品中的克瘟散(edifenphos, EDI)^[44].当 EDI 不存在时,从 QD 到氧化石墨烯(graphene oxide, GO)的 FRET 会导致 QD 的荧光猝灭,当 EDI 存在时会与适体结合,取代 GO,使得 QD 的荧光恢复,其荧光强度与 EDI 浓度成正比,从而实现定

量检测. 该传感器的线性范围为 $1.61\text{--}19.33\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 检出限为 $0.42\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$. 此外, 已有研究筛选出了针对有机农药的特异性抗体^[45], 可为基于 RET 的农药检测技术带来更丰富的应用潜力.

(3) 内分泌干扰物

内分泌干扰物 (Endocrine disrupting chemicals, EDCs) 因极高的环境检出率和巨大的生态健康风险, 备受关注. 目前用于 EDCs 检测的 RET 生物传感器, 普遍采用适体作为分子识别元件 (见表 3). 例如, 一种基于 GO 的新型适体传感器被用于检测水体中的双酚 A (bisphenol A, BPA)^[53]. 该传感器由 FAM 标记的 BPA 适体与 GO 构成, 当适体与 BPA 结合时, 构象发生改变, 避免了被 GO 吸附, 从而阻止了 GO 对 FAM 的荧光猝灭, 以此实现对 BPA 的定量检测. 该方法的检出限为 $0.05\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 加标回收率为 $96.0\%\text{--}104.5\%$. 与 GO 一样, 磁性氧化石墨烯 (magnetic graphene oxide, MGO) 也可以抑制荧光团标签的荧光并选择性地吸附单链 DNA. 基于此, Hu 等通过加入 MGO, 构建了用于检测 BPA 的 FRET 传感器^[52]. MGO 既保留了 GO 和磁性材料的特性, 又表现出作为荧光猝灭剂和单链 DNA 吸附剂的优异性能, 同时也有利于介质分离. 可见, 纳米材料的使用有助于提高 RET 生物传感器的定量检测性能.

此外, 对于未知 EDCs 的筛选, 通常采用受体作为传感域构建 RET 传感器. Medlock 利用甲基法尼酯受体二聚体分别偶联荧光蛋白 mAmetrine 和 Rluc2, 构建了用于 EDCs 筛选的 BRET 传感器, 比报告基因分析的灵敏度高, 实现了对 29 种未知化学物质的筛选^[49]. Kim 等开发了一种基于人雌激素受体- α (estrogen receptor alpha, ER- α) 二聚化的新型 BRET, 用于鉴定 17β -雌二醇、 17α -雌二醇、皮质酮、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯、双酚 A 和对壬基酚与 ER- α 的结合亲和力^[50].

(4) 新污染物

目前针对药物和个人护理产品 (pharmaceutical and personal care products, PPCPs)、全氟化合物 (perfluorinated compounds, PFCs)、溴代阻燃剂 (brominated flame retardants, BRPs)、消毒副产物 (disinfection by-products, DBPs) 等新污染物, 缺乏快速检测手段^[58]. RET 生物传感器优异的检测性能与多样的构建原理能为新污染物的快速检测提供帮助 (见表 3). 用于新污染物检测的 RET 传感器主要以受体、结合蛋白和抗体作为识别元件. Goldman 等通过将抗 2,4,6-三硝基甲苯 (trinitrotoluene, TNT) 的 scFv 固定在 CdSe-ZnS QD, 开发了 FRET 生物传感器, 用于竞争性检测土壤中的 TNT^[5]. Bu 等将碳点 (carbon dots, CD) 偶联的 4,4'-二溴联苯 (4,4'-Dibromobiphenyl, PBB15) 抗原和 AuNPs 修饰的抗 PBB15 抗体组合, 构建了一种用于检测 PBB15 的竞争性均相免疫 FRET 传感器^[56], 其检测范围为 $0.05\text{--}4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 检测限为 $0.039\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 且该方法省略了分离和重复洗涤步骤, 简化了检测流程. Li 等利用苯并芘 (benzoapyrene, BaP) 与抗体之间的配体荧光增强作用, 构建了用检测 BaP 的均相免疫 FRET 传感器, 其检测限为 $0.06\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[57].

3 用于生物污染物检测的 RET 生物传感器 (RET biosensors for biological contaminant detection)

3.1 生物毒素

抗体和适体是用于生物毒素检测的 RET 生物传感器的主要敏感元件 (见表 4). 小分子生物毒素的快速免疫分析需要高灵敏度和特异性的抗体, 源于羊驼的纳米抗体用于构建 RET 生物传感器, 可以拥有更低的检测限. 此外, 适体作为稳定且廉价的生物毒素识别受体, 可以替代传统多克隆抗体和单克隆抗体, 提供与抗体相当的结果.

由蓝藻产生的微囊藻毒素 (microcystins, MCs) 对全球供水构成严重威胁. Shi 等基于 Au-NP 诱导的 QD 荧光猝灭, 建立了一种可靠的 FRET 生物传感器^[59], 对 MC-LR 和 MC-RR 的检测限分别为 0.5 和 $0.3\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$. Akter 开发了基于时间分辨荧光共振能量转移 (time-resolved fluorescence resonance energy transfer, TR-FRET) 的藻毒素均相非竞争性免疫测定方法, 可实现 9 种毒素变体的快速检测^[60]. 此外, Lee 等开发了基于 MCs 适体的 FRET 生物传感器, 对 MC-LR 的检测限达到 $10^{-4}\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 且在不同的同系物之间具有选择性^[61-62].

黄曲霉毒素、赭曲霉毒素等霉菌毒素具有强致癌性. Su 等在超级折叠绿色荧光蛋白 (superfolder GFP, SGFP) 的羧基末端融合相应的纳米抗体作为供体, 以 OTA-QD 的化学共轭物作为受体, 构建了检

测赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA) 的荧光纳米抗体生物传感器, 检测限为 $5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 线性检测范围为 $5\text{—}5000 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ [63].

表 4 RET 生物传感器在生物毒素检测中的应用

Table 4 Applications of RET biosensor in the detection of biotoxin

目标物 Target	RET类型 Type of RET	供体 Donor	受体 Acceptor	分子识别元件 Molecular recognition element	识别元件 类型 Type of recognition element	检测限 Limit of detection	检测范围 Range of detection	参考文献 Reference
赭曲霉毒素 A(OTA)	FRET	SGFP	QD	OTA纳米抗体	抗体	$5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$5\text{—}5000 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$	[63]
微囊藻毒素- LR、微囊藻毒 素-RR	FRET	GO	AuNPs	抗MC抗体	抗体	$0.5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.3 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	—	[59]
微囊藻毒素/节 球藻毒素	FRET	7d-Eu(III) 螯合物	Alexa Fluor®680	抗adda单克隆抗体和抗 IC单链抗体	抗体	(MC-LR) $0.3 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	—	[60]
肉毒杆菌毒素 BoNT/A轻链	FRET	SNAP-25- GFP	GO	SNAP-25肽	多肽	$1 \text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$1 \text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}\text{—}$ $1 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$	[65]
石房蛤毒素 (STX)	FRET	QDs	MRGO	STX适体STX-41(CTT TTT ACA AAA TTC TTT TTA CCT ATA TTA TGA A)	适体	$0.035 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	$0.1\text{—}100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	[64]
微囊藻毒素- LR	FRET	QD	PoPo3染料	MC-LR适体(5'-NH ₂ - GGC GCC AAA CAG GAC CAC CAT GAC AAT TAC TAC CAC ATT ATG CCC CAT CTC CGC-3')	适体	$10^{-4} \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	$10^{-4}\text{—}100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	[61]
微囊藻毒素- LR、冈田酸 (OA)	FRET	NaYF ₄ :Yb, Ho UCNPs、 Mn ²⁺ 掺杂的 NaYF ₄ :Yb, Er UCNPs	BHQ ₃ 、 BHQ ₁	MC-LR适体(bio-GGC GCC AAA CAG GAC CAC CAT GAC AAT TAC CCA TAC CAC CTC ATT ATG CCC CAT CTC CCC)、OA适 体(bio-GGT CAC CAA CAA CAG GGA GCG CTA CGC GAA GGG TCA ATG TGA CGT CAT GCG GGT GTG G)	适体	$0.025 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.05 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	$0.1\text{—}50 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	[62]
黄曲霉毒素B1	FRET	CdTe QDs	AuNPs	AFB1 适体(5'-GTT GGG CAC GTG TTG TCT CTC TGT GTC TCG TGC CCT TCG CTA GGC CCA CA-3')	适体	$1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	$3.1\text{—}125 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	[66]
T-2毒素	FRET	Cy3	NH ₂ -UiO-6 6(MOFs)	T-2毒素适体 (5'-Cy3-CAG CTC AGA AGC TTG ATC CTG TAT ATC AAG CAT CGC GTG TTT ACA CAT GCG AGA GGT GAA GA CTC GAA GTC GTG CAT CTG-3')	适体	$0.239 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	$0.5\text{—}100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	[6]
葡萄球菌肠毒 素B(SEB)	FRET	CD	吡啶黄素 (Acf)	SEB适体(5'-PO ₄ -AGC TCA CTG GTC GTT GTT GTC TGT TGT CTG TTA TGT TGT TTC GT-3')	适体	$0.5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	$0.5\text{—}10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	[67]

— 未提及

T-2 毒素是由镰刀菌产生的 A 类霉菌毒素之一, 对动物和人类具有遗传毒性、细胞毒性和免疫毒性. Zhao 等设计了一种检测 T-2 毒素的荧光适体 FRET 传感器 [6], 检测限为 $0.239 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 检测范围为 $0.5\text{—}100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$.

石房蛤毒素是一种来自贝类的主要海洋毒素,广泛分布于食物链. Gu 等利用 DNase I 辅助的靶循环信号放大技术,以 GQD 为供体,以 MRGO 为受体和磁选体,建立了一种高灵敏、快速的 FRET 适体检测方法,比不含 DNase I 的荧光适体分析具有更宽的检测范围(0.1—100 ng·mL⁻¹)和更低的检测限(0.035 ng·mL⁻¹)^[64].

3.2 病原微生物

基于适体的靶向技术为构建简便、灵敏、特异、稳定的 RET 生物检测平台提供了一种新的途径,在水体病原微生物检测方面有巨大潜力. Jin 等以适体为识别元件,以 UCNPs 和 AuNPs 作为供受体对,构建了 FRET 传感器进行整合,实现了对大肠杆菌的灵敏、快速(< 20 min)测定,检测范围为 5—10⁶ cfu·mL⁻¹,检出限为 3 cfu·mL⁻¹^[68]. Hao 等以 Co²⁺/ABEI-AuNFS 为化学发光供体,WS₂ 纳米片为受体,建立了检测金黄色葡萄球菌的 CRET 方法^[69],该方法的检出限 15 cfu·mL⁻¹,线性范围为 50—1.5×10⁵ cfu·mL⁻¹. 这种引入化学发光增强剂的信号放大技术,提高了传感器的灵敏度. 除病原菌外,也有 RET 生物传感器用于甜菜坏死黄脉病毒^[70]、诺如病毒^[71]等病毒的检测(见表 5).

表 5 RET 生物传感器在病原微生物检测中的应用

Table 5 Applications of RET biosensor in the detection of pathogenic microorganisms

目标物 Target	RET	供体 Donor	受体 Acceptor	分子识别元件 Molecular recognition element	识别元件类型 Type of recognition element	检测限 Limit of detection	检测范围 Range of detection	参考文献 Reference
甜菜坏死黄脉 病毒	FRET	QDs	罗丹明	抗谷胱甘肽-S-转移酶抗体	抗体	0.5 μg·mL ⁻¹	—	[70]
副溶血性弧菌 (VP)	FRET	POSS-PQDs (低聚硅倍半 硅氧烷-钙钛 矿量子点)	Ti ₃ C ₂ Mxenes(碳化 钛—二维碳化 物和氮化物)	VP适体(5'-NH ₂ -TTT TTC CAA CGA AAC AGT GAC TCG TTG-3')	适体	30 cfu·mL ⁻¹	10 ² — 10 ⁶ cfu·mL ⁻¹	[7]
大肠杆菌 ATCC 8739	FRET	Yb,Er UCNPs	AuNPs	大肠杆菌 ATCC 8739 适体 (GCA ATG GTA CTA CTT CCC CAT GAG TGT TGT GAA ATG TTG GGA CAC TAG GTG GCA TAG AGC CGC AAA AGT GCA CTA CTT TGC TAA-NH ₂)	适体	3 cfu·mL ⁻¹	5— 10 ⁶ cfu·mL ⁻¹	[68]
诺如病毒GII	CRET	3,4,5-三甲氧 基苯基-乙二 醛(TMPG)与 鸟嘌呤(G) 核苷酸的衍生 反应	6-FAM	诺如病毒适体(5'-6-FAM- GGG GGT TTT CAT GTG AAG ACT ATA TGG CGC TCA CAT ATT TTT C-3')	适体	80 ng·mL ⁻¹	0.16— 10 μg·mL ⁻¹	[71]
金黄色葡萄球 菌	CRET	Co ²⁺ /ABEI- AuNFS	WS ₂ 纳米片	金葡萄菌适体(5'-GCA ATG GTA CGG TAC TTC CTC GGC ACG TTC TCA GTA GCG CTC GCT GGT CAT CCC ACA GCT ACG TCA AAA GTG CAC GCT ACT TTG CTA A - 3')	适体	15 cfu·mL ⁻¹	50—1.5 × 10 ⁵ cfu·mL ⁻¹	[69]

— 未提及

4 RET生物传感器用于环境检测的总结与展望(Summary and prospect of RET biosensors for environmental detection)

4.1 RET生物传感器的环境应用

目前, FRET 传感器在化学污染物和生物污染物检测中应用最广泛. FRET 最早由 Förster 等开创并完整地构建了 Förster 理论体系,为 FRET 传感器的环境应用提供了理论支持. 此外, FRET 的构建方式相对简单,采用化学荧光团作为 FRET 对,以生物核酸适体作为分子识别元件,整个传感器相对于大分子蛋白具有更好的化学稳定性,有利于在复杂的环境条件下发挥更好的优势. RET 传感器相比于 FRET 传感器的优势在于没有激发光的背景干扰,由此带来的灵敏度的提高使得其在痕量有机污染物的检测中得到了部分前沿的应用. 目前新开发的小体积、高亮度纳米荧光素酶^[72]和人工荧光素酶^[73]可

能会“点亮”BRET 传感器在环境检测领域的应用前景. CRET 传感器仅在重金属和病原微生物检测中有部分研究. 化学发光在稳定性方面具有优势, 但 CRET 传感器的构建受到化学发光体系的限制^[22], 需要更多的研究来证明其在环境检测领域应用的前景. 此外, 环境检测领域的三种 RET 传感器均以异质 RET 为主, 是两种不同荧光团或荧光团-猝灭剂对之间的能量转移, 可以发生在两种不同类型的光学活性物质之间^[74].

4.2 筛选对环境污染物高特异性的敏感元件

环境污染物种类庞杂, 新污染物层出不穷, 但目前发现的生物体内对环境污染物有特异性的敏感元件数量有限, 难以满足众多环境污染物的检测需求, 需要筛选更多特异性的敏感元件. 目前较为可行的解决途径是通过指数富集的配体系统进化技术^[75]和噬菌体展示技术^[76], 筛选对特定环境污染物有特异性的适体和抗体, 将其作为敏感元件. 此外, 通过生物组学方法识别污染物暴露的敏感生物分子也可作为潜在的识别元件^[77].

4.3 提高生物传感器对复杂环境介质的抗干扰能力

抗干扰能力是生物传感器用于环境检测需要面临的巨大挑战. 与医疗、食品安全等领域的检测相比, 环境污染物检测要面对更恶劣的环境条件和更复杂环境介质, 生物传感器的灵敏度易受到实际环境条件的影响和环境介质的干扰, 需要考虑提高传感器的可靠性. 基于纳米颗粒和有机/无机支架相结合的探针开发, 将极大地提高 RET 的光稳定性和可检测性^[11]. 近年来, 各种纳米材料已成功用于生物传感器的研发. 纳米技术可以通过增强信噪比, 增加信号转导来提升生物传感器的性能. 定制纳米复合材料(具有颗粒、棒、线和管等多种纳米结构), 可以改进生物传感器对复杂的环境样品敏感度和灵活性. 不过, 纳米材料潜在生物毒性^[78], 大规模应用前应评估其环境健康风险, 避免引入二次污染.

4.4 提升生物传感器的检测通量

提高通量是环境检测技术发展的重要需求^[8]. 多步 RET 传感器能以单一传感器载体检测多个目标分子, 实现检测通量的成倍增加. 通过在纳米颗粒界面负载多种荧光染料或其他发光团, 构建多步 RET, 可以增加 1 : N 或 N : 1 供体-受体组件的能量转移速率. 还可以设计具有竞争或级联路径的能量转移系统, 在提高检测通量的同时提高检测灵敏度. 针对多路 RET 构建时多种发光团的选择问题, 快速发展的材料科学和合成生物学将为 RET 传感器的信号响应系统提供帮助. 研发性能更好的纳米材料和荧光蛋白用于构建 RET 对, 将获得更好的光谱分离、更高的 RET 效率、红移的激发和发射, 这也为 RET 传感器的构建带来更多供受体对的选择^[11].

5 结论(Conclusion)

基于 RET 的生物传感器作为一种均相光学检测技术, 具有操作简便、灵敏度高、自动校正等优点, 其中 FRET 在针对重金属、阴离子、有机污染物和生物污染物等环境污染物的检测中得到了广泛的应用. 与 FRET 相比, BRET 及 CRET 无需外部光源激发, 可避免激发光源所引起的诸多副作用, 极大地减少背景干扰以及“假阳性”问题, 在检测领域显示出了巨大的优势. 此外, RET 生物传感器可根据不同的目标物选择不同的传感域, 包括结合蛋白、抗体、DNA 酶、适体等, 采用构象变化、竞争结合等不同的构建方式. 此外, RET 生物传感器在敏感元件的筛选、抗干扰能力、检测通量方面能够满足环境检测的技术需求, 具有广阔的应用前景.

参考文献 (References)

- [1] MADHAV S, AHAMAD A, SINGH A K, et al. Water pollutants: sources and impact on the environment and human health [M]. Berlin, Germany: Springer, 2020: 43-62.
- [2] CUI X, ZHU L, WU J, et al. A fluorescent biosensor based on carbon dots-labeled oligodeoxyribonucleotide and graphene oxide for mercury (II) detection [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2015, 63: 506-512.
- [3] HIDAKA M, GOTOH A, SHIMIZU T, et al. Visualization of NO₃⁻/NO₂⁻ dynamics in living cells by fluorescence resonance energy transfer (FRET) imaging employing a rhizobial two-component regulatory system [J]. Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(5): 2260-2269.
- [4] LONG Q, LI H, ZHANG Y, et al. Upconversion nanoparticle-based fluorescence resonance energy transfer assay for organophosphorus

- pesticides [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2015, 68: 168-174.
- [5] GOLDMAN E R, MEDINTZ I L, WHITLEY J L, et al. A hybrid quantum dot-antibody fragment fluorescence resonance energy transfer-based TNT sensor [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2005, 127(18): 6744-6751.
- [6] ZHAO X, WANG Y, LI J, et al. A fluorescence aptasensor based on controlled zirconium-based MOFs for the highly sensitive detection of T-2 toxin [J]. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, 259: 119893.
- [7] HONG J, WANG W, WANG J, et al. A turn-on-type fluorescence resonance energy transfer aptasensor for vibrio detection using aptamer-modified polyhedral oligomeric silsesquioxane-perovskite quantum dots/Ti3C2 MXenes composite probes [J]. *Microchimica Acta*, 2021, 188(2): 45.
- [8] ZHANG Y, ZHU Y, ZENG Z, et al. Sensors for the environmental pollutant detection: Are we already there? [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2021, 431: 213681.
- [9] PERUMAL V, HASHIM U. Advances in biosensors: principle, architecture and applications [J]. *Journal of Applied Biomedicine*, 2014, 12(1): 1-15.
- [10] MUÑOZ-LOSA A, CURUTCHET C, KRUEGER B P, et al. Fretting about FRET: failure of the ideal dipole approximation [J]. *Biophysical Journal*, 2009, 96(12): 4779-4788.
- [11] HILDEBRANDT N. How to apply FRET: from experimental design to data analysis [M]. New Jersey, USA: Wiley Online Library, 2013: 105-163.
- [12] WARD W W, CORMIER M J. Energy-transfer via protein-protein interaction in renilla bioluminescence [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1978, 27(4): 389-396.
- [13] DALE N C, JOHNSTONE E K M, WHITE C W, et al. NanoBRET: the bright future of proximity-based assays [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2019, 7: 56.
- [14] HUANG X, LI L, QIAN H, et al. A resonance energy transfer between chemiluminescent donors and luminescent quantum-dots as acceptors (CRET) [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2006, 45(31): 5140-5143.
- [15] SOLEJA N, JAIRAJPURI M A, QUEEN A, et al. Genetically encoded FRET-based optical sensor for Hg²⁺ detection and intracellular imaging in living cells [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2019, 46(12): 1669-1683.
- [16] ZHAO Y, CHEN D, YANG J, et al. Visual and fast detection of trace copper ions using biosensor based on FRET [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2019, 217: 101-106.
- [17] ADAMS J P, ADELI A, HSU C-Y, et al. Plant-based FRET biosensor discriminates environmental zinc levels [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, 10(2): 207-216.
- [18] ZHENG J, WAI J L, LAKE R J, et al. DNzyme sensor uses chemiluminescence resonance energy transfer for rapid, portable, and ratiometric detection of metal ions [J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(31): 10834-10840.
- [19] JIN H, LIU R, BAI T, et al. A low-noise ratiometric fluorescence biosensor for detection of Pb²⁺ based on DNzyme and exonuclease III-assisted cascade signal amplification [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2022, 414: 1899-1907.
- [20] ONO A, TOGASHI H. Highly selective oligonucleotide-based sensor for mercury(II) in aqueous solutions [J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2004, 43(33): 4300-4302.
- [21] CHU-MONG K, THAMMAKHET C, THAVARUNGKUL P, et al. A FRET based aptasensor coupled with non-enzymatic signal amplification for mercury (II) ion detection [J]. *Talanta*, 2016, 155: 305-313.
- [22] XIONG Y M, ZHOU L H, PENG X X, et al. A specific short peptide-assisted enhanced chemiluminescence resonance energy transfer (CRET) for label-free and ratiometric detection of copper ions in complex samples [J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2020, 320: 128411.
- [23] HUANG W H, MAI V P, WU R Y, et al. A microfluidic aptamer-based sensor for detection of mercury(II) and lead(II) ions in water [J]. *Micromachines*, 2021, 12(11): 1283.
- [24] XIA J, LIN M, ZUO X, et al. Metal ion-mediated assembly of DNA nanostructures for cascade fluorescence resonance energy transfer-based fingerprint analysis [J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(14): 7084-7087.
- [25] SUMNER J P, WESTERBERG N M, STODDARD A K, et al. Cu⁺- and Cu²⁺-sensitive PEBBLE fluorescent nanosensors using DsRed as the recognition element [J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2006, 113(2): 760-767.
- [26] MONSIN M, DIWAN H, KHAN I, et al. Genetically encoded FRET-based nanosensor for in vivo monitoring of zinc concentration in physiological environment of living cell [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2015, 102: 62-68.
- [27] APER S J, DIERICKX P, MERKX M. Dual readout BRET/FRET sensors for measuring intracellular zinc [J]. *ACS Chemical Biology*, 2016, 11(10): 2854-2864.
- [28] SAITO K, HATSUGAI N, HORIKAWA K, et al. Auto-luminescent genetically-encoded ratiometric indicator for real-time Ca²⁺ imaging at the single cell level [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(4): e9935.
- [29] YANG D-M, MANURUNG R V, LIN Y-S, et al. Monitoring the heavy metal lead inside living drosophila with a FRET-based biosensor [J]. *Sensors*, 2020, 20(6): 1712.

- [30] SOLEJA N, MANZOOR O, KHAN P, et al. Engineering genetically encoded FRET-based nanosensors for real time display of arsenic (As^{3+}) dynamics in living cells [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 14.
- [31] HOANG M, HUANG P J J, LIU J W. G-Quadruplex DNA for Fluorescent and Colorimetric Detection of Thallium(I) [J]. *Acs Sensors*, 2016, 1(2): 137-143.
- [32] SOLEJA N, IRFAN, MOHSIN M. Ratiometric imaging of flux dynamics of cobalt with an optical sensor [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry*, 2020, 400: 112699.
- [33] SOLEJA N, MOHSIN M. Real time quantification of intracellular nickel using genetically encoded FRET-based nanosensor [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 138: 648-657.
- [34] AGRAWAL N, SOLEJA N, BANO R, et al. FRET-Based genetically encoded sensor to monitor silver ions [J]. *Acs Omega*, 2021, 6(22): 14164-14173.
- [35] CAI S, ZHOU Y, YE J W, et al. A chemiluminescence resonance energy transfer strategy and its application for detection of platinum ions and cisplatin [J]. *Microchimica Acta*, 2019, 186(7): 463.
- [36] GU H, LALONDE S, OKUMOTO S, et al. A novel analytical method for in vivo phosphate tracking [J]. *FEBS Letters*, 2006, 580(25): 5885-5893.
- [37] FATIMA U, AMEEN F, SOLEJA N, et al. A fluorescence resonance energy transfer-based analytical tool for nitrate quantification in living cells [J]. *Acs Omega*, 2020, 5(46): 30306-30314.
- [38] FATIMA U, OKLA M K, MOHSIN M, et al. A non-Invasive tool for real-time measurement of sulfate in living cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(7): 2572.
- [39] NAKANISHI Y, IIDA S, UEOKA-NAKANISHI H, et al. Exploring dynamics of molybdate in living animal cells by a genetically encoded FRET nanosensor [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(3): e58175.
- [40] ZHANG Z, ZHANG M, WU X Y, et al. Upconversion fluorescence resonance energy transfer-a novel approach for sensitive detection of fluoroquinolones in water samples [J]. *Microchemical Journal*, 2016, 124: 181-187.
- [41] YU X, WEN K, WANG Z, et al. General bioluminescence resonance energy transfer homogeneous immunoassay for small molecules based on quantum dots [J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(7): 3512-3520.
- [42] LIU S, BAI J, HUO Y, et al. A zirconium-porphyrin MOF-based ratiometric fluorescent biosensor for rapid and ultrasensitive detection of chloramphenicol [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2020, 149: 111801.
- [43] MAJIDNASAB M, DANESHI M, LOUIS MARTY J. Recent developments in non-enzymatic (bio)sensors for detection of pesticide residues: Focusing on antibody, aptamer and molecularly imprinted polymer [J]. *Talanta*, 2021, 232: 122397.
- [44] ARVAND M, MIRROSHANDEL A A. Highly-sensitive aptasensor based on fluorescence resonance energy transfer between L-cysteine capped ZnS quantum dots and graphene oxide sheets for the determination of edifenphos fungicide [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 96: 324-331.
- [45] ZHANG Y Q, XU Z L, WANG F, et al. Isolation of bactrian camel single domain antibody for parathion and development of one-step dc-FEIA method using VHH-alkaline phosphatase fusion protein [J]. *Analytical Chemistry*, 2018, 90(21): 12886-12892.
- [46] LI Y J, WANG J Y, TIAN Y H, et al. The development of a wash-free homogeneous immunoassay method for the detection of tetracycline in environmental samples [J]. *Analyst*, 2021, 146(15): 4918-4926.
- [47] WANG Y, YAN X, KOU Q, et al. An ultrasensitive label-free fluorescent aptasensor platform for detection of sulfamethazine [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2021, 16: 2751-2759.
- [48] RONG Y, LI H, OUYANG Q, et al. Rapid and sensitive detection of diazinon in food based on the FRET between rare-earth doped upconversion nanoparticles and graphene oxide [J]. *Spectrochimica Acta Part A:Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 239: 118500.
- [49] MEDLOCK KAKALEY E K, EYTCHESON S A, LEBLANC G A. Ligand-mediated receptor assembly as an end point for high-throughput chemical toxicity screening [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(16): 9327-9333.
- [50] KIM H M, SEO H, PARK Y, et al. Development of a human estrogen receptor dimerization assay for the estrogenic endocrine-disrupting chemicals using bioluminescence resonance energy transfer [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(16): 8875.
- [51] GUO L M, HU Y, ZHANG Z Q, et al. Universal fluorometric aptasensor platform based on water-soluble conjugated polymers/graphene oxide [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410(1): 287-295.
- [52] HU L-Y, NIU C-G, WANG X-Y, et al. Magnetic separate "turn-on" fluorescent biosensor for Bisphenol A based on magnetic oxidation graphene [J]. *Talanta*, 2017, 168: 196-202.
- [53] ZHU Y, CAI Y, XU L, et al. Building an aptamer/graphene oxide FRET biosensor for one-step detection of bisphenol a [J]. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2015, 7(14): 7492-7496.
- [54] WANG B J, LIAO Y F, TUNG Y T, et al. Establishment of a bioluminescence-based bioassay for the detection of dioxin-like compounds [J]. *Toxicol Mech Methods*, 2013, 23(4): 247-254.

- [55] CAPO A, PENNACCHIO A, VARRIALE A, et al. The porcine odorant-binding protein as molecular probe for benzene detection [J]. *PLoS ONE*, 2018, 13(9): e0202630.
- [56] BU D, ZHUANG H S, YANG G X, et al. An immunosensor designed for polybrominated biphenyl detection based on fluorescence resonance energy transfer (FRET) between carbon dots and gold nanoparticles [J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2014, 195: 540-548.
- [57] LI T, CHOI Y H, SHIN Y-B, et al. A fluorescence enhancement-based label-free homogeneous immunoassay of benzo(a)pyrene (BaP) in aqueous solutions [J]. *Chemosphere*, 2016, 150: 407-413.
- [58] THAVARAJAH W, VEROSLOFF M S, JUNG J K, et al. A primer on emerging field-deployable synthetic biology tools for global water quality monitoring [J]. *npj Clean Water*, 2020, 3(1): 18.
- [59] SHI Y, WU J, SUN Y, et al. A graphene oxide based biosensor for microcystins detection by fluorescence resonance energy transfer [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2012, 38(1): 31-36.
- [60] AKTER S, LAMMINMAKI U. A 15-min non-competitive homogeneous assay for microcystin and nodularin based on time-resolved Forster resonance energy transfer (TR-FRET) [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2021, 413(24): 6159-6170.
- [61] LEE E-H, SON A. Fluorescence resonance energy transfer based quantum dot-Aptasensor for the selective detection of microcystin-LR in eutrophic water [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 359: 1493-1501.
- [62] WU S, DUAN N, ZHANG H, et al. Simultaneous detection of microcystin-LR and okadaic acid using a dual fluorescence resonance energy transfer aptasensor [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(5): 1303-1312.
- [63] SU B, ZHANG Z, SUN Z, et al. Fluonanobody-based nanosensor via fluorescence resonance energy transfer for ultrasensitive detection of ochratoxin A [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 422: 126838.
- [64] GU H, HAO L, YE H, et al. Nuclease-assisted target recycling signal amplification strategy for graphene quantum dot-based fluorescent detection of marine biotoxins [J]. *Microchimica Acta*, 2021, 188(4): 118.
- [65] SHI J, GUO J, BAI G, et al. A graphene oxide based fluorescence resonance energy transfer (FRET) biosensor for ultrasensitive detection of botulinum neurotoxin A (BoNT/A) enzymatic activity [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2015, 65: 238-244.
- [66] SABET F S, HOSSEINI M, KHABBAZ H, et al. FRET-based aptamer biosensor for selective and sensitive detection of aflatoxin B1 in peanut and rice [J]. *Food Chemistry*, 2017, 220: 527-532.
- [67] KUMARI S, TIWARI M, DAS P. Multi format compatible visual and fluorometric detection of SEB toxin in nanogram range by carbon dot-DNA and acriflavine nano-assembly [J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2019, 279: 393-399.
- [68] JIN B, WANG S, LIN M, et al. Upconversion nanoparticles based FRET aptasensor for rapid and ultrasensitive bacteria detection [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 90: 525-533.
- [69] HAO L, GU H, DUAN N, et al. An enhanced chemiluminescence resonance energy transfer aptasensor based on rolling circle amplification and WS₂ nanosheet for Staphylococcus aureus detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 959: 83-90.
- [70] SAFARPOUR H, SAFARNEJAD M R, TABATABAEI M, et al. Development of a quantum dots FRET-based biosensor for efficient detection of *Polymyxa betae* [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie*, 2012, 34(4): 507-515.
- [71] KIM B, CHUNG K W, LEE J H. Non-stop aptasensor capable of rapidly monitoring norovirus in a sample [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, 152: 315-321.
- [72] HALL M P, UNCH J, BINKOWSKI B F, et al. Engineered luciferase reporter from a deep sea shrimp utilizing a novel imidazopyrazinone substrate [J]. *ACS Chemical Biology*, 2012, 7(11): 1848-1857.
- [73] OHMURO-MATSUYAMA Y, FURUTA T, MATSUI H, et al. Miniaturization of Bright Light-Emitting Luciferase ALuc: picALuc [J]. *ACS Chemical Biology*, 2022, 17(4): 864-872.
- [74] LAKOWICZ J R. Instrumentation for fluorescence spectroscopy [M]. Boston, USA: Springer, 2006: 27-61.
- [75] SWAINSON N M, AIEMDERM P, SAIKAEW C, et al. Biosensors for the detection of organophosphate exposure by a new diethyl thiophosphate-specific aptamer [J]. *Biotechnology Letters*, 2021, 43(9): 1869-1881.
- [76] JIN H E, ZUEGER C, CHUNG W J, et al. Selective and sensitive sensing of flame retardant chemicals through phage display discovered recognition peptide [J]. *Nano Letters*, 2015, 15(11): 7697-7703.
- [77] CHEN X, YAO H, SONG D, et al. Extracellular chemoreceptor of deca-brominated diphenyl ether and its engineering in the hydrophobic chassis cell for organics biosensing [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 433: 133266.
- [78] SHARIFI S, BEHZADI S, LAURENT S, et al. Toxicity of nanomaterials [J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(6): 2323-2343.