



细菌群体感应信号分子的光电检测技术*

刘芷旭^{1,2)} 谭浩兰^{1,2)} 何红^{1,3)} 徐溢^{1,3)**} 葛闯^{4)**} 张阳⁴⁾

⁽¹⁾ 重庆大学新型微纳器件与系统技术重点学科实验室, 光电技术与系统教育部重点实验室, 重庆 400044;

⁽²⁾ 重庆大学化学化工学院, 重庆 400044; ⁽³⁾ 重庆大学光电工程学院, 重庆 400044;

⁽⁴⁾ 重庆大学肿瘤医院, 肿瘤转移转化与个体化治疗重点实验室, 重庆 400030)

摘要 群体感应 (quorum sensing, QS) 是一种依赖菌群密度的细菌交流系统。在探究细菌群体感应系统的调控机制中, 对 QS 信号分子的鉴别和检测是不可或缺的环节, 其对生命科学、药学等领域涉及细菌等微生物的相互作用、高效检测和作用机制解析等具有重要的参考意义。本文在总结不同类型细菌 QS 信号分子来源和结构的基础上, 对 QS 信号分子的光电检测方法和技术进行了综述, 重点对光电传感检测的敏感介质、传感界面、传感机制及测试效果进行探讨, 同时关注了将微流控芯片分析技术应用于细菌 QS 信号分子原位监测的相关研究进展。

关键词 细菌, 群体感应, 信号分子, 生物传感器, 传感检测

中图分类号 TP212, Q5-3, O65

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0479

细菌菌群密度达到一定值时, 细菌间通过传递化学信号分子以协调控制整个菌群基因表达的现象被称为细菌群体感应 (quorum sensing, QS)。在 QS 系统中, 承担信号传递和调控职责的化学小分子被称为群体感应信号分子 (quorum sensing signaling molecule, Qssm)^[1]。细菌通过分泌、识别、摄取环境中不同类型的信号分子构建了多条信息传递通路, 形成 QS 系统来监控菌群密度, 感知外周环境, 调控细菌生物膜的形成、产生毒力因子和耐药性等群体行为。QS 系统与细菌致病性和耐药性密切相关, 大量研究对 QS 的调控机制进行了探索, 以深入了解和解析其与毒素分泌、感染发展进程等的关联性^[2]。本课题组前期基于群感猝灭机制进行了抑菌药物的研究^[3-4], 发现对 QS、QS 信号分子作用机制的研究多依赖于细菌生长速率和特定基因的上调或下调, 仅反映了有关 QS 信号分子对微生物影响的定性信息, 而对 QS 信号分子进行定量检测一直是相关研究领域的难点和热点。将 QS 信号分子作为医疗、环境、食品等行业检测的生物标志物, 有利于实现细菌性感染疾病的早期诊断和治疗, 保证食品和环境的生物安全性, 并对新型抑菌药物的研发和重症感染性疾病的治疗具有重

要的研究价值和应用潜力^[5]。

QS 系统所需的信号分子浓度通常极低, 种类和结构具有多样性, 常用的气相色谱^[6]、高效液相色谱^[7]、质谱^[8]、高效液相串联质谱^[9]以及气相色谱-质谱联用^[10]等化学检测技术准确性高、能满足检测需求, 但操作繁琐、耗时且需要专业的操作人员和大型仪器设备, 难以实现信号分子的实时快检。本文简要综述了细菌的 QS 系统和 QS 信号分子的分类及来源, 重点对 QS 信号分子的光电检测技术和基于微流控芯片的 QS 信号分子分析技术进行了总结和讨论, 以期对发展高效、灵敏、实时的 QS 信号分子检测方法提供理论指导和技术支持。

* 国家自然科学基金 (62071072), 重庆市卫生健康委员会-科学技术局联合攻关项目 (2023GGXM002), 新型微纳器件与系统技术重点学科实验室开放基金 (2020) 和智能传感与微纳生化系统 (2019 研究生导师团队) 资助项目。

** 通讯联系人。

徐溢 Tel: 023-65111022, E-mail: xuyibbd@cqu.edu.cn

葛闯 Tel: 15223340297, E-mail: gecchuang1115@163.com

收稿日期: 2022-10-14, 接受日期: 2022-12-21

1 QS系统模型及QS信号分子

多数细菌可分泌和感知不同种类的QS信号分子, 利用多条QS通路间的协调作用形成QS系统来调节其基因的表达, 从而适应多变的环境。目前常见的细菌QS系统有哈氏弧菌QS通路、沙门氏菌/大肠杆菌的AI-2型QS通路、革兰氏阳性菌QS系统以及铜绿假单胞菌QS系统(图1)^[11], 更多潜在的QS信号通路作用机制仍在进一步探索。QS信号分子通常可正向调节其自身的合成, 又被称为自诱导物(autoinducer, AI), 其与受体结合以激活目标基因的表达, 是QS系统主要的组成部分^[12]。

QS信号分子主要分为5类: a. 自诱导物1(autoinducer-1, AI-1)——多数革兰氏阴性菌合成和识别的酰基高丝氨酸内酯(acyl-homoserine lactones, AHLs)类信号分子; b. 自诱导物2(autoinducer-2, AI-2)——革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌用于种间交流的信号分子; c. 自诱导物3(autoinducer-3, AI-3)——细菌与真核细胞间交流的信号分子; d. 自诱导多肽(auto-inducing peptides, AIP)——革兰氏阳性菌合成和识别的多肽类信号分子; e. 其他类, 如铜绿假单胞菌喹诺酮信号(*Pseudomonas* quinolone signal, PQS)^[13], 呋喃^[14]等。

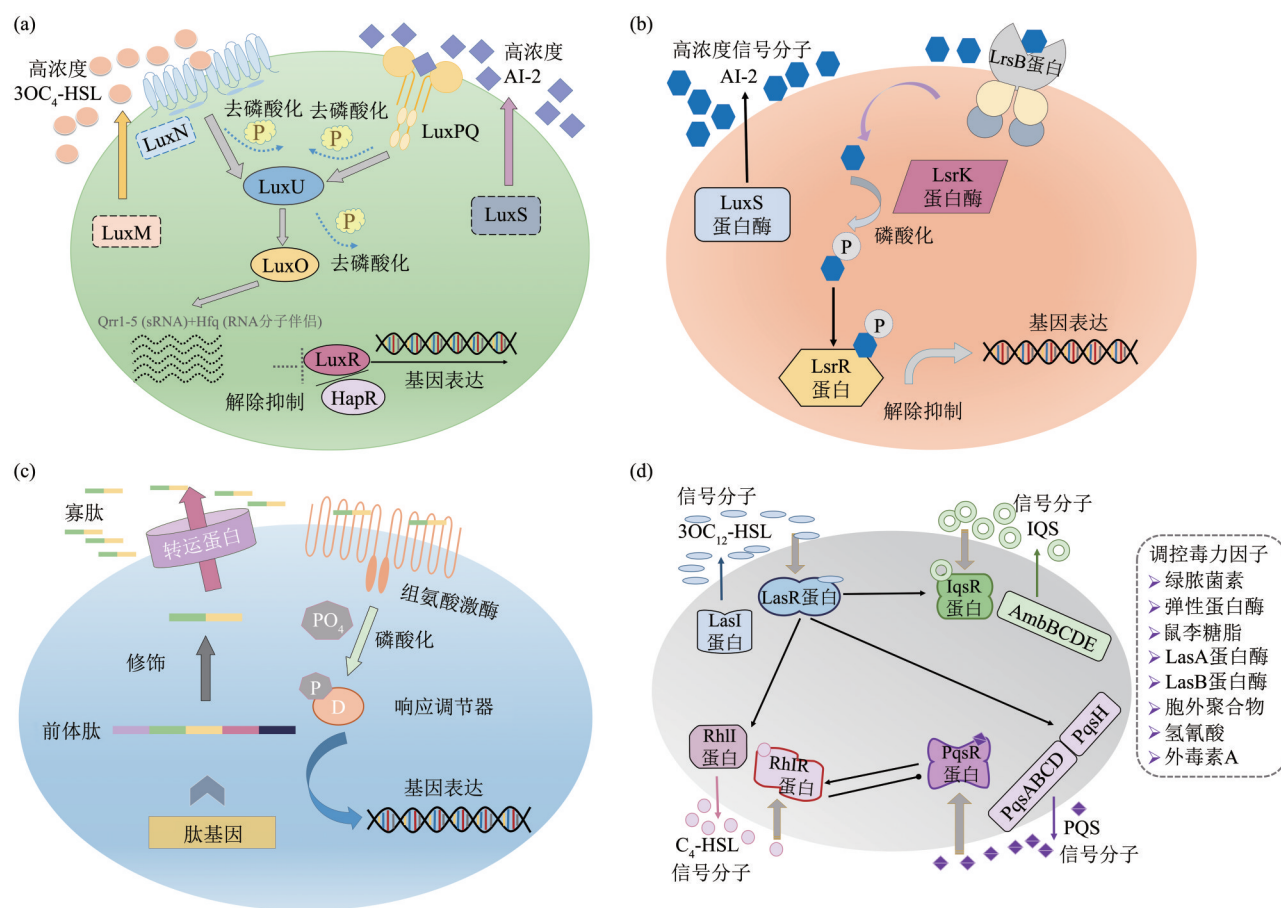


Fig. 1 Common quorum sensing systems in bacteria

图1 常见的细菌QS系统

(a) 哈氏弧菌QS通路; (b) 沙门氏菌/大肠杆菌的AI-2型QS通路; (c) 革兰氏阳性菌QS系统; (d) 铜绿假单胞菌QS系统^[11]。

AI-1的主要结构为高丝氨酸内酯环, 酰胺链的长度可为4~18个碳原子, 侧链C3位可被修饰或者

含有不饱和双键结构。不同细菌中, AI-1的合成蛋白和受体蛋白各有不同, 转运方式和调控机制也有

差异。以海洋弧菌为例, 费氏弧菌产生的 LuxR 为胞浆受体, 高浓度信号分子 3OC₆-HSL 自由扩散进入细胞, 与之结合, 从而启动荧光素酶 *luxICDABE* 操纵子的转录。而哈氏弧菌 (图 1a) 产生的 LuxN 为双组分蛋白, 具有激酶和磷酸酶的双重活性。信号分子 3OC₄-HSL 与 LuxN 结合使其从激酶转变为磷酸酶, 信号转导通路中的磷酸盐流动发生逆转, 导致反应调节器 LuxO 蛋白去磷酸化、失活, 5 个调控小 RNA (Qrr1-5) 不转录, 使 *luxR* 的 mRNA 稳定转录产生 LuxR 蛋白 (非上述 LuxR 胞质受体), 启动目的基因的表达^[15]。

AI-2 是 LuxS (S-腺苷同型半胱氨酸核苷酶) 催化 S-腺苷甲硫胺酸后形成的产物。其生物前体 5-二羟基-2, 3-戊二酮 (DPD) 的结构极不稳定, 能自发环化形成多种结构的呋喃化合物。据此, AI-2 的结构存在差异^[16]。哈氏弧菌产生的 AI-2 为含硼形式的呋喃酰硼酸二酯^[17], 受体蛋白为 LuxP^[16]; 而在沙门氏菌中, AI-2 结构为 (2R, 4S) 四羟基四氢呋喃^[18], 受体蛋白为 LsrB^[16]。二者调控机制完全不同 (图 1a, b), LuxPQ 通过参与磷酸化信号转导级联发挥作用, 而 LsrB 作为 ATP 结合盒 (ATP binding cassette, ABC) 转运蛋白发挥作用。值得注意的是, 革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌均能合成和感应 AI-2^[19], 通过 AI-2 的信号传递可实现细菌间的跨物种交流。

AI-3 首次发现于肠出血性大肠杆菌耗尽的培养基中, 可激活负责细菌黏附真核细胞的基因的表达, 其结构和合成途径尚未明确, 但近年有研究发现 AI-3 类似物由苏氨酸脱氢酶 (Tdh) 和必需的 tRNA 合成酶产生^[20]。AI-3 的受体 QseBC 和 QseEF 为双组分调节系统, QseBC 启动后, QseEF 通常会被激活^[21]。研究显示, 真核细胞的肾上腺素能受体可与 AI-3 相互作用, QseBC 和 QseEF 亦可响应宿主产生的肾上腺素/去甲肾上腺素^[22]。AI-3/肾上腺素/去甲肾上腺素信号系统在细菌与真核细胞间的信息交流有重要作用, 其复杂的磷酸化信号级联还有待探索。

AIP 是革兰氏阳性菌基因调控合成的多肽类 QS 信号分子, 由细菌胞内核糖体合成前体肽, 修饰加工后, 经 ABC 系统或者其他跨膜蛋白分泌到细菌胞外。因 AIP 不能透过细胞膜, 革兰氏阳性菌

采用双组分蛋白 (膜结合的组氨酸激酶受体和同源胞质反应调节器) 识别和响应 AIP, 进而调控相关基因的表达 (图 1c)^[15]。革兰阳性菌中广泛分布的 RRNPP 家族 (Rap、Rgg、NprR、PlcR 和 PrgX), 金黄色葡萄球菌的 AgrA 都是 AIP 的胞质受体, ComQXP 系统中的 ComP 和 AgrA/C 系统中的 AgrC 为膜结合传感器激酶^[23]。

PQS 及其生物前体 HHQ (2-庚基-4-喹啉酮) 是铜绿假单胞菌特有的 2-烷基-4-喹诺酮 (AQs) 类信号分子, 受体蛋白均为 PqsR, 由邻氨基苯甲酸盐经 *pqsABCDE*、*phnAB*、*pqsH* 及 *pqsL* 编码的酶催化而来^[11]。铜绿假单胞菌的 QS 系统比较复杂 (图 1d), 由两种 AI-1 型 QS 系统及其独有的 PQS 系统组成。铜绿假单胞菌中的群体感应信号通路互相影响, 属多联级调控系统, 形成的群体感应网络系统对其毒素分泌, 生物膜形成有重要的调控作用。

2 细菌 QS 信号分子的光电传感检测技术

光电检测技术具有精度高、选择性好、响应速度快、数字化等特点, 通过构建能选择性识别、响应信号分子的传感界面和光电信号转换单元, 实现对微弱生化信号的转化、放大和高效检测。面向细菌 QS 信号分子在生理环境中低于毫摩尔级的检测需求, 光电传感监测显示出巨大潜力。

2.1 细菌 QS 信号分子的荧光传感检测

荧光检测技术具有灵敏度高、检测结果可视化等特点, 结合分子识别技术, 在 QS 信号分子检测中有较为广泛应用。其中, 生物敏感识别元件包括人工构建的全细胞微生物、受体蛋白及其合成系统, 仿生类识别元件主要为分子印迹聚合物、荧光探针等合成材料。

2.1.1 全细胞微生物敏感界面

生物感应菌是经基因工程改造的全细胞微生物^[24], 是目前用于 QS 信号分子检测的常规检测技术。感应菌只响应特定种类的信号分子, 以荧光为输出信号可实现信号分子的定量检测。Wu 等^[25]将 *qscR* 分别与荧光蛋白基因、番茄红素基因融合, 设计了两种生物感应菌。通过荧光和显色分析技术, 实现了 AHLs 的定量检测和肉眼观测, 该方法对 3OC₁₂-HSL 有更高的敏感度, 可测浓度低至 5.92 nmol/L。Keizers 等^[26]设计了 LsrB 为识别元

件, *lssA* 启动子与 *yfp* 融合作为报告基因盒的生物感应菌, 可测 AI-2 的浓度范围为 400 nmol/L~100 μ mol/L。将此感应菌与其他细菌共培养, 可实时检测出不同细菌分泌 AI-2 的能力。基于生物感应菌的传感检测技术, 对样本无需过多预处理、选择性高, 但响应速度慢, 受生物感应菌状态、数量和环境介质的影响较大, 易出现假阳性/假阴性结果, 不适用于检测成分复杂、有毒性的实际样本。

2.1.2 受体蛋白及其合成系统敏感界面

基于受体蛋白构建的传感界面包括蛋白质合成系统和对蛋白质的修饰改造。无细胞系统是利用具有蛋白质生物合成能力的细胞粗提取物, 以 DNA 或 mRNA 为模板, 通过添加反应底物、能量物质、无机盐和辅助因子来表达蛋白质的反应体系^[27]。基于无细胞系统设计的微量生化组分检测工具, 无细胞膜/细胞壁阻隔, 响应速度快, 在 QS 信号分子的检测有广阔的应用前景^[28]。无细胞系统中启动子和核糖体结合位点的强度、细胞提取物和无机离子浓度等都对系统的检测性能有显著影响, Zhang 等^[29] 基于受体蛋白对绿色荧光蛋白表达的调控, 优化了系统的设计参数, 对 3OC₁₂-HSL 和 pC-HSL 的检测限分别为 54.9 nmol/L、8.9 nmol/L。Wen 等^[30] 设计了基于 LasR 蛋白和绿色荧光蛋白的无细胞传感检测系统 (图 2a), 可在纳米水平上检测出囊性纤维化肺病人痰样本中的 3OC₁₂-HSL (经萃取浓缩等前处理)。基于无细胞系统的传感检测技术, 灵敏度高、反应体系可控, 也避免了生物工程菌释放到环境存在安全隐患的问题。无细胞系统经冷冻干燥后, 可存于纸片内, 有利于与便携式检测平台结合, 实现即时检测^[31]。

另有研究基于荧光共振能量转移 (forster resonance energy transfer, FRET), 设计了用于信号分子检测的蛋白质生物传感器。Zhang 等^[32] 在两种荧光蛋白之间插入 LuxR 受体, 利用 3OC₆-HSL 与之结合产生形变, 使得荧光蛋白之间的距离增加, FRET 效率降低, 以荧光蛋白发散率之比的变化计算出信号分子的浓度, 检测限为 100 μ mol/L。

基于相同的检测原理, Raut 等^[33] 将 LuxP 受体与绿色增强荧光蛋白 (EGFP) 融合, 设计了检测 AI-2 的蛋白质生物传感器 (图 2b), 可测出纳摩尔每升水平的 AI-2, 检测限为 0.1 nmol/L。此类检测方法灵敏度高且有较好的选择性, 但存在蛋白质分离、提取的步骤繁琐, 操作要求高, 各批次质量不一, 不易存放等问题。

2.1.3 合成材料敏感界面

针对信号分子的结构特性, 设计能识别或感应目标分子的复合材料与磁分离富集等技术结合, 兼顾了选择性和灵敏度, 提高了检测方法的灵活性。分子印迹技术是利用模板分子与功能单体的结合和解离, 形成有独特空间结构和特异性识别位点的聚合物, 通过此聚合物实现对目标组分的识别和捕获^[34]。Sun 课题组^[35-36] 在量子点表面合成了识别 AHLs 的分子印迹聚合物 (MIP), AHLs 与之结合则导致量子点荧光强度降低。此类荧光生物传感器对 DMHF、C₄-HSL、C₆-HSL、C₈-HSL、3OC₆-HSL 检出限分别为 0.66、0.54、0.88、0.72、0.68 nmol/L, 在 2~18 nmol/L 范围内具有良好的线性分布。实验还探索了 3D 打印的 CQD@MIPs 用于模板分子的视觉观测, 有望实现 AHLs 的可视化快检。Cui 等^[37] 采用自制的碳量子点和 Fe₃O₄@SiO₂ 制备了磁性荧光分子印迹聚合物探针 (MFMP), 设计的磁性荧光传感器 (图 2c) 对 AHLs 有良好的选择性和响应速度, 在 (0.365~9.60)×10⁻² μ mol/L 范围内呈线性下降, 并成功用于牛奶和鱼汁中 AHLs 的检测, 展示了在农产品检测中的应用前景。

Das 等^[38] 合成了一种香豆素-罗丹明衍生物 (RNC) 化学荧光材料, 直接用于 AHLs 的检测 (图 2d)。RNC 与 Cu²⁺ 的可逆配位导致螺内酯环的开环, 使 RNC-Cu²⁺ 复合物在中性介质中表现出微弱的荧光。AHLs 的内酯环可与 RNC-Cu²⁺ 复合物紧密配合, 使其酰胺质子的酸性增强, 进一步稳定开放的罗丹明结构而产生更强的荧光。此荧光传感器可用于细菌生物膜中信号分子的含量检测及成像。

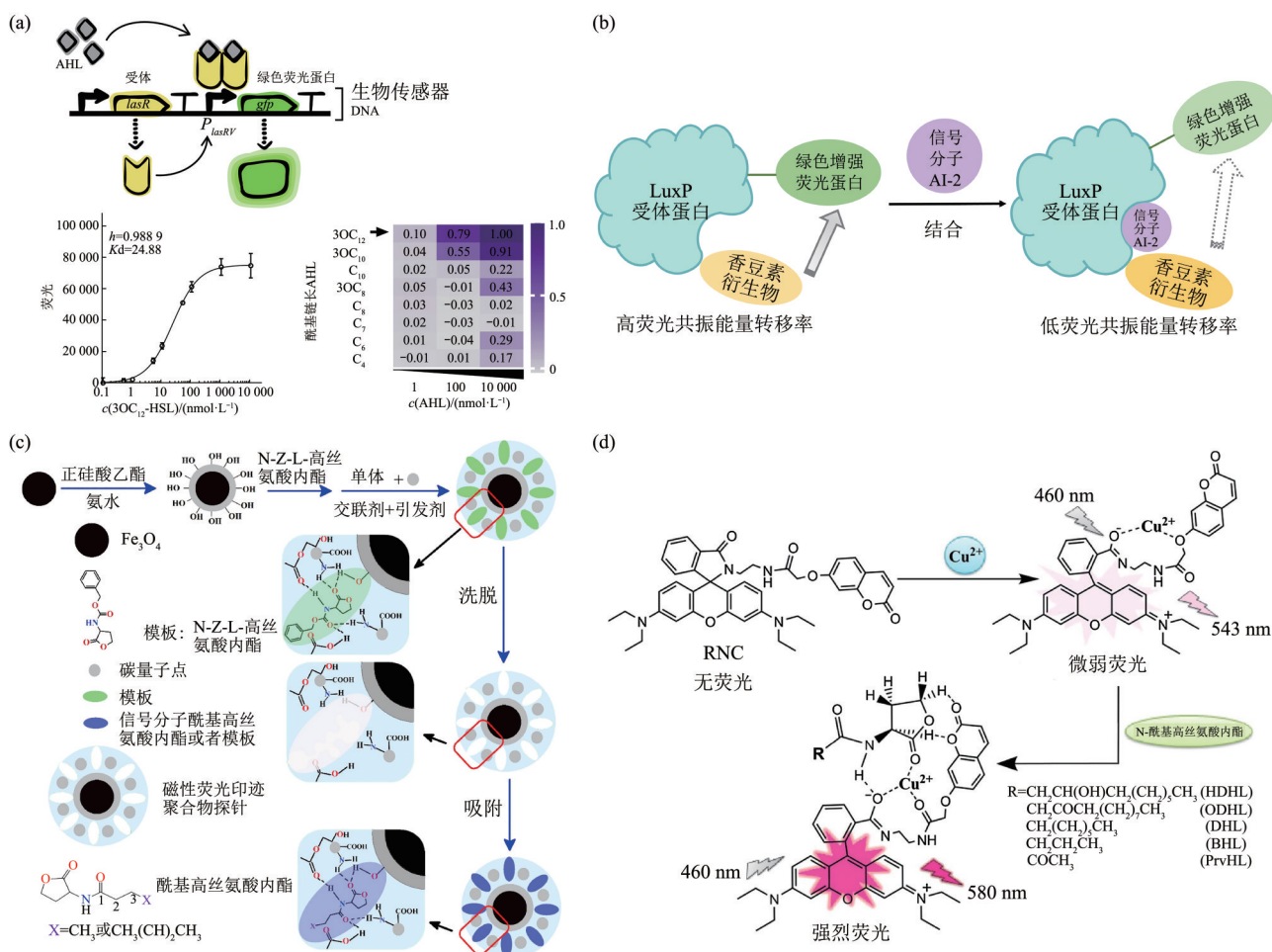


Fig. 2 Schematic diagram of fluorescence detection technology for signal molecules

图2 信号分子的荧光传感检测技术示意图

(a) 无细胞系统检测原理及响应结果^[30]; (b) 荧光蛋白传感器检测原理图; (c) 磁性荧光传感器制备流程^[37]; (d) 荧光探针检测原理及示意图^[38]。

2.2 细菌QS信号分子的表面增强拉曼光谱检测

表面增强拉曼光谱 (SERS) 是一种免标记分析技术, 可识别出探针分子的特殊指纹光谱, 与等离子纳米结构连用, 灵敏度可达单分子级。有大量研究采用 SERS 技术监测细菌生物膜形成过程^[39] 和代谢物动态^[40], 对细菌群体状态和细菌间相互作用的通信情况进行监测。Bodelon 课题组^[41-42] 基于混合纳米材料 (Au@agar) 基底实现了铜绿假单胞菌 PA14 和紫色假单胞菌 CV026 的共培养 (图 3)。通过 SERS 检测绿脓菌素和紫色杆菌素的含量变化, 反映菌落间相互作用中的防御机制。同样, 在此基底进行了大肠杆菌和铜绿假单胞菌的混合培养, 实现了对绿脓菌素和吡啶的原位 SERS 可视化表征。基于 SERS 的原位检测技术, 极大地提高了对细菌间 QS 交流的理解。

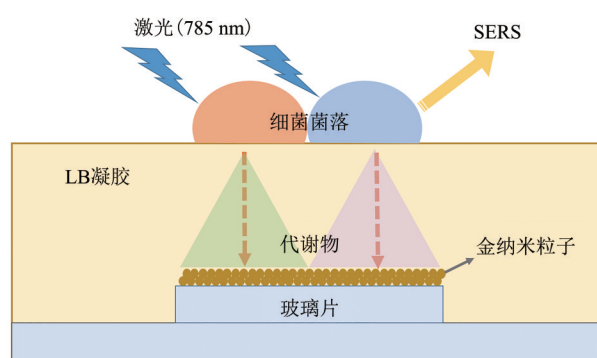


Fig. 3 Schematic diagram of bacterial culture on SERS substrate and SERS detection of its metabolites

图3 SERS基底上的细菌培养及其代谢物的SERS检测示意图

Pearman等^[43]以银溶胶为基底,首次得到了7种AHLs的SERS光谱,在C₄-HSL和3OC₆-HSL的指纹谱发现存在显著差异。王向东等^[44]以聚甲基丙烯酸寡聚乙二醇酯(POEGMA)高分子刷为基质,采用多次浸泡法固定多层银纳米粒子(AgNP),制备了POEGMA/AgNP复合SERS基底,对绿脓杆菌和绿脓菌素、3OC₁₂-HSL进行了检测,并对其特征峰进行了归属,对绿脓菌素、3OC₁₂-HSL的检出限分别为10⁻¹⁰和10⁻⁸ mol/L。据混合液SERS图谱的差异,对绿脓杆菌和绿脓菌素进行了区分和鉴别,为QS信号分子在生物体系的原位检测提供了思路。基于此,SERS显示了在细菌生物膜内原位监测群体感应信号分子浓度的前景。

2.3 细菌QS信号分子的光致发光传感检测

基于金属氧化物材料光致发光的特质,

Vasudevan等^[45]设计了用于人工尿液中AHLs检测的生物传感器(图4)。采用半胱胺(Cys)对有显著光致发光性质的ZnO纳米粒子进行修饰,促进了ZnO与AHLs间的相互作用,得到的ZnO-Cys纳米粒子作为响应元件,468 nm处的峰强度随AHLs浓度的增加而增加。这可能是由于AHLs的羰基与半胱胺的胺基之间存在相互作用,暴露出ZnO-Cys缺陷中心,使其光致发光(photoluminescence, PL)发射强度增强。C₄-HSL存在时,峰强度明显提高。此生物传感器对AHLs的检测灵敏度最高达97%,人工尿液中AHLs的检测范围为10~120 nmol/L。鉴于TiO₂的等电点远低于ZnO,可能在与半胱胺的相互作用中起决定性作用,该课题组^[46]采用TiO₂作为敏感材料,设计了相同类型的生物传感器用于铜绿假单胞菌中AHLs的检测。

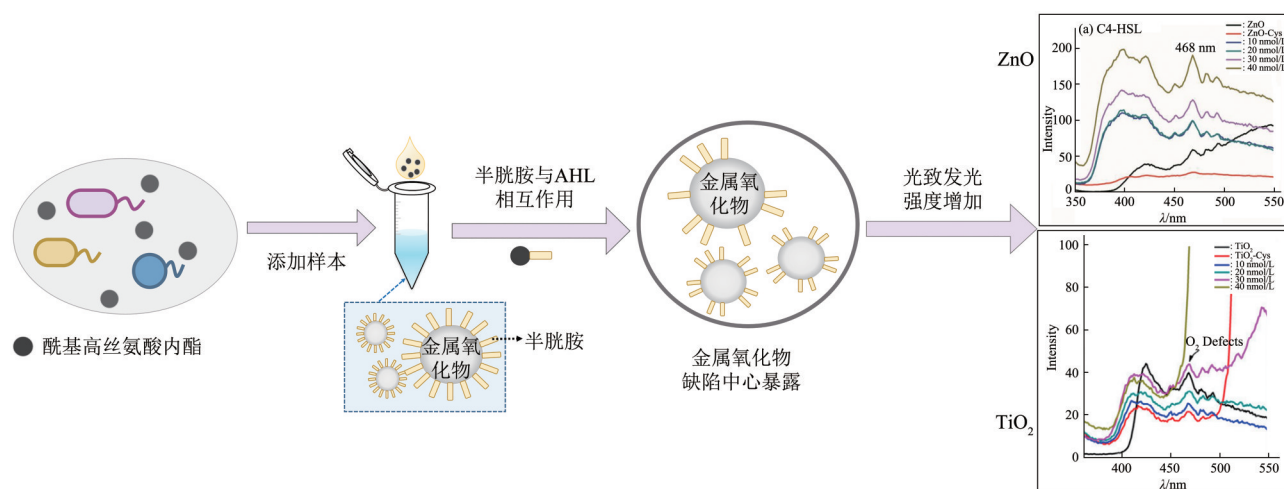


Fig. 4 AHLs detection based on metal oxide photoluminescence^[45-46]

图4 基于金属氧化物光致发光的AHLs检测^[45-46]

2.4 细菌QS信号分子的电化学传感检测

电化学是一种简单、灵敏的分析方法,通过对电极表面性质、溶液介质变化的分析,可以实现准确、快速的PQS和AHLs类信号分子的检测。

部分喹诺酮类信号分子具有氧化还原性质,大量研究探索了电化学方法对其进行直接检测的可行性。Zhou等^[47-48]利用具有较宽电势窗口的硼掺杂金刚石电极,通过循环伏安法和安培法对PQS及其前体HHQ进行了电化学性质分析和含量检测。另制备了涂有高电荷聚电解质单层膜的毛细管与此电极联用,实现了溶液中PQS和HHQ的分离与检测,检测范围均为1~100 μmol/L, PQS的检测限为

65 nmol/L, HHQ的检测限为94 nmol/L。该课题组^[49]还利用阳离子表面活性剂十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)破坏铜绿假单胞菌细胞膜,无需预处理,采用微分脉冲伏安法对溶液中PQS、HHQ和绿脓菌素进行了检测,展示了电化学分析技术在水原位监测病人分泌物中信号分子含量的可行性。Oziat等^[50]采用循环方波伏安法对铜绿假单胞菌的主要代谢产物PQS、HHQ、绿脓菌素和2-氨基乙酰苯进行了研究,为更准确地检测出铜绿假单胞杆菌提供了信息。Burgoyne等^[51-52]提出了另一种HHQ和PQS的电化学检测法。基于HHQ、PQS的疏水性,在有机溶剂中的可溶性以及螯合阳离子的

能力,通过碱金属离子和质子在两种不混溶的电解液界面与有机溶解的HHQ和PQS界面络合实现电化学监测。研究了水与1,2-二氯乙烷界面上碱金属离子和质子的界面络合反应,具有良好的重现性,为信号分子的电化学检测提供了新的思路。

适配体、细胞等生物识别元件与电极结合,可提高电化学检测技术的敏感性和特异性。Capatina等^[53]将 $3OC_{12}$ -HSL的适配体固定于金纳米粒修饰的碳基丝网印刷电极表面(图5a),设计的电化学传感器对 $3OC_{12}$ -HSL有更广的检测范围(0.5~30 $\mu\text{mol/L}$),检测限为0.5 $\mu\text{mol/L}$,并成功检测出加标尿液中 $3OC_{12}$ -HSL含量以及培养基中 $3OC_{12}$ -HSL浓度随细菌数量的变化情况,为快速、便捷地鉴定铜绿假单胞菌感染提供了前期技术支持。Tateda等^[54]发现, $3OC_{12}$ -HSL可诱导中性粒细胞、巨噬细胞以及其他哺乳动物细胞凋亡,抑制炎症反应的发生。据此,Fang课题组^[55-56]探究了利用鼠嗜碱性白血病(RBL-2H3)肥大细胞作为感应元件的信号分子电化学阻抗检测法(图5b)。采用藻酸盐与氧化石墨烯复合凝胶对细胞进行包裹,以保证细胞活性,将其固定于电极表面构建了电化学细胞传感器。通过对 $3OC_{12}$ -HSL引起RBL-2H3细胞凋亡的观测,建立了信号分子浓度与阻抗信号的关系,

检测范围为0.1~1 $\mu\text{mol/L}$,检测限约为0.094 $\mu\text{mol/L}$,成功用于检测淡水鱼汁等样本中腐败菌所产生的 $3OC_{12}$ -HSL。介于该细胞对 C_4 -HSL、 C_6 -HSL和 C_8 -HSL不敏感,此方法有一定的选择性。

与生物受体(如酶、DNA、细胞)相比,仿生类受体的结构稳定、耐光热、成本低,在复杂的实际样本检测中更为稳定。Jiang等^[57]基于分子印迹技术研制的磁性电化学传感器(MMIPs)(图5c),实现了对溶液中AHLs的识别和富集。以磁性碳糊电极(MGCE)对MMIPs进行吸附,富集溶液中的AHLs,再采用微分脉冲伏安法记录氧化电流信号的变化。该方法对AHLs的检测限为0.88 nmol/L,检测范围为2.5~100 nmol/L。Özcan等^[58]采用铸膜技术在玻碳电极表面修饰TEMPO-ZnPc复合材料(图5d),设计了用于AHLs检测的仿生电化学传感器。采用方波伏安法对多种AHLs进行了检测,结果显示该电极仅对 $3OC_{12}$ -HSL有响应,可测范围为2.32~39.9 $\mu\text{mol/L}$,检测限为1.8 $\mu\text{mol/L}$,检测时间5 min。 $3OC_{12}$ -HSL的氨基附近有3个羰基,其他分子只有两个羰基,结构上的差异很可能改变AHLs与TEMPO自由基的相互作用强度,影响峰值电流强度的变化量。

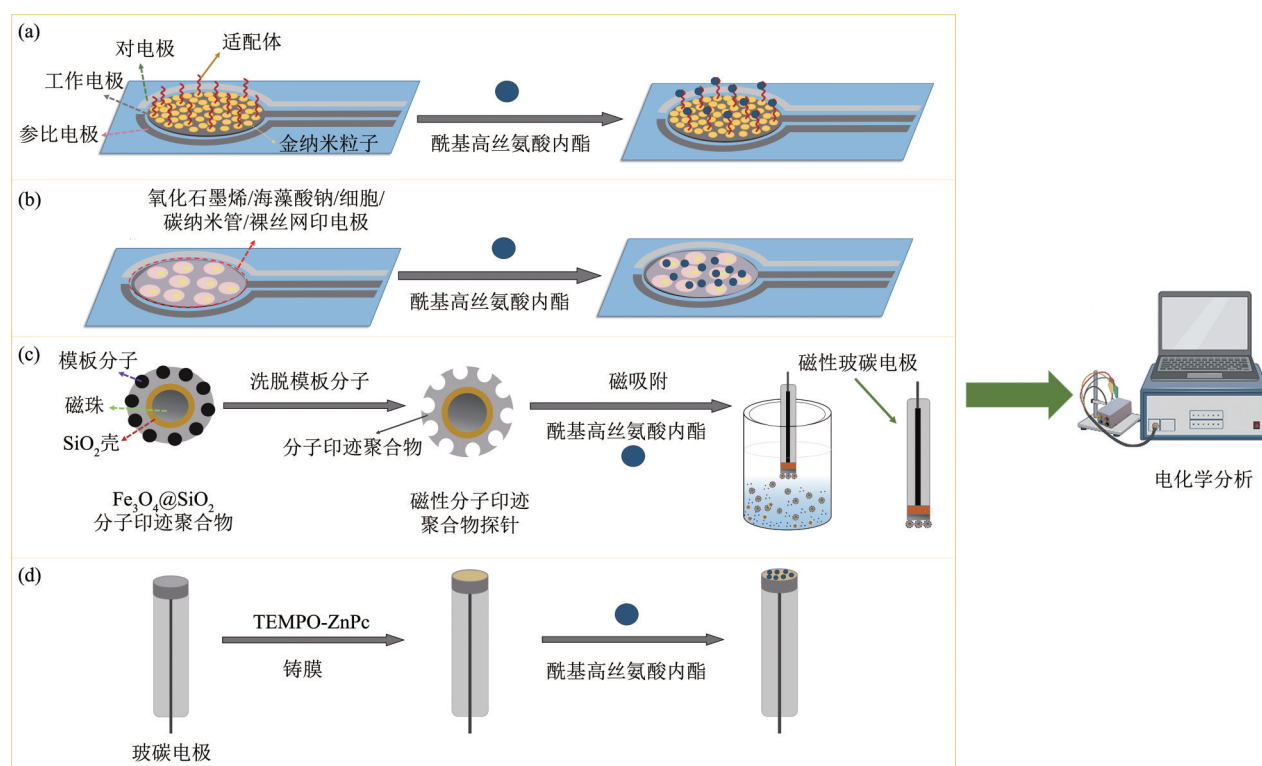


Fig. 5 Schematic diagram of electrochemical sensing detection technology for QS signal molecules

图5 群体感应信号分子的电化学传感检测技术示意图

值得一提的是, 电化学发光 (electrochemiluminescence, ECL) 检测技术具有极高的灵敏度、极宽的动态范围和出色的可控性, 与生物识别元件结合而发展形成的电化学发光生物传感器已成为一种强大的生物分子超灵敏检测分析设备。Wang 等^[59] 利用细菌胞内 NADH 含量与细菌总量呈正相关, 以 NADH 作为反映细菌总数的重要参数, 建立了一种超灵敏的 ECL 生物传感器对细菌中 NADH 进行了检测, 具有极高的灵敏度和选择性, 检测限低至 1 pmol/L。由此可见, ECL 在生物小分子检测的高效性, 对发展 QS 信号分子的快速高灵敏检测技术有重要参考价值。

2.5 细菌 QS 信号分子的压电传感检测

基于石英晶体谐振器 (quartz crystal resonator, QCR) 的压电传感检测技术具有灵敏度高, 选择性好, 装置相对简单等特点, 在便携式生物传感器有良好应用潜力。Guha 等^[60] 在 QCR 上固定纳米印迹聚合物, 设计了用于 C₆-HSL 检测的 QCR 传感器。采用固相分子印迹技术合成的纳米印迹聚合物 (nanoMIP) 对 C₆-HSL 有更高的亲和性, 提高了方法的灵敏度和特异性, 可测的最低浓度为 1 μmol/L。以 14.3 MHz 固定频率对 QCR 进行驱动和读取, 无需频率合成器或快速模数转换器 (analog-to-digital converters, ADCs), 简化了仪器要求, 有望实现首个“芯片上的 QCR”。

3 基于微流控芯片分析技术的 QS 信号分子原位传感检测

细菌分泌的信号分子含量极低, 普通检测装置难以对其实现即时在线监测。微流控芯片分析技术能在微小尺度上控制液体流动条件, 实现生物培养、物质包裹以及分离富集等流程与多种传感检测技术的结合, 适合用于细菌群体感应的研究^[61]。细菌所处介质对群体感应有很大影响, 利用微流控芯片上通道/阵列的合理布局, 可实现对实验环境 (如菌落大小、温度、营养供应以及给予刺激等) 的控制, 模拟细菌在体内的生长环境, 实现单个细菌或生物膜内细菌的群体感应研究^[62]。微流控芯片分析技术自身具备将预处理、混合、输运、衍生、反应和检测多种功能单元集成于芯片上的独特优势, 通过微流体的控制、模拟生化环境和集成传感检测等途径, 使其为细菌/细胞的研究提供了高效的分析技术平台。目前, 有研究在微流控芯片上集成具有荧光标记/生物识别功能的混合衍生单元、

集成磁分离/介电泳/微纳米富集结构的分离捕获单元, 以及集成微电极检测/荧光观测的传感检测单元, 这极大地提高了分析方法和测试参数的多样性和灵活性^[63], 并发展出基于微流控芯片的于生化物质检测的更为高效方法^[64-65]。本课题组为实现铜绿假单胞菌产生的绿脓菌素的检测, 研制了微通道上集成 6 组微电极的微流控芯片, 通过电化学原位检测和荧光成像, 可对微腔室内绿脓杆菌生物膜及其所产生的信号分子进行有效监测^[66]。基于微流控芯片的光电传感检测技术在保证检测灵敏度的同时, 兼具易于模拟生理环境、方便多通道高内涵的样本检测、试剂耗量少、易于自动化操作等优点, 可为生化样本体系的快速、准确检测提供支撑。

Austin 等^[67] 设计了含有多孔填料的芯片, 利用填料将信号分子产生菌和生物感应菌 (表达绿色荧光蛋白) 隔离, 实现了细菌群体间信息交流的长时间观测。结果表明, 因受体蛋白有限, 超过 30 μmol/L 的信号分子则不能诱导生物感应菌产生额外的荧光信号。Luo 等^[68] 采用可产生 AI-2 和绿色荧光蛋白的信号传播菌、产生 AI-2 的信号增强菌、高浓度 AI-2 则抑制 AI-2 产生的信号削弱菌以及仅能感应 AI-2 的报告菌, 在微流控芯片上构建了多个细菌间 AI-2 的传输模型 (图 6a), 通过级联微流体通道展示了信号分子在菌落间的流动传输, 以及传输过程中信号分子活性的增强或削弱, 以此模拟肠道中细菌间信号交流机制。

全细胞生物传感器受限于微生物细胞的活力和功能的维持, 在实际应用中发展缓慢, 将微生物感应菌封装于三维聚合物中, 有助于维护其生物活性, 提高检测效率。Li 等^[69-70] 设计了包裹生物传感菌的凝胶微珠, 将其与环境分离, 提高了传感菌生存能力和活性。又采用 1,4-二 (苯基丙氨酸-二甘醇) -苯 (PDB) 与 Ca²⁺ 介导的藻酸盐自组交联, 形成加强型混合凝胶, 制备出形状和大小可控的凝胶阵列 (图 6b), 以生物传感菌凝胶阵列可检测胞外浓度为 0.1~1 μmol/L 的 3OC₁₂-HSL。Seto^[71] 利用微流体的水油液封技术将基于 LasR-GFP 的无细胞传感系统封装于琼脂糖珠中, 展示了在单一平台上检测和反映铜绿假单胞菌感染的方法。

细菌封装于微珠的研究, 因细菌的高活性、小尺寸以及生长迅速, 常可观察到微生物不受控制的暴露和释放。Zhao 等^[72] 在微流控芯片中 (图 6c), 利用水油相分离将生物传感菌包裹于有渗透

性的壳状凝胶珠 (gel-shell beads, GSBs) 中, 制备的生物传感器能对生理相关浓度的 $3OC_{12}$ -HSL 做出响应, 并可原位感知铜绿假单胞菌自然分泌的 $3OC_{12}$ -HSL。以此方法制备的 SiO_2 壳凝胶珠有一定

的渗透性, 既有利于信号分子的扩散进入, 又保证了凝胶珠的稳定性, 防止生物传感菌泄露, 展示了 GSBs 在独立材料和器件中应用的可能性。

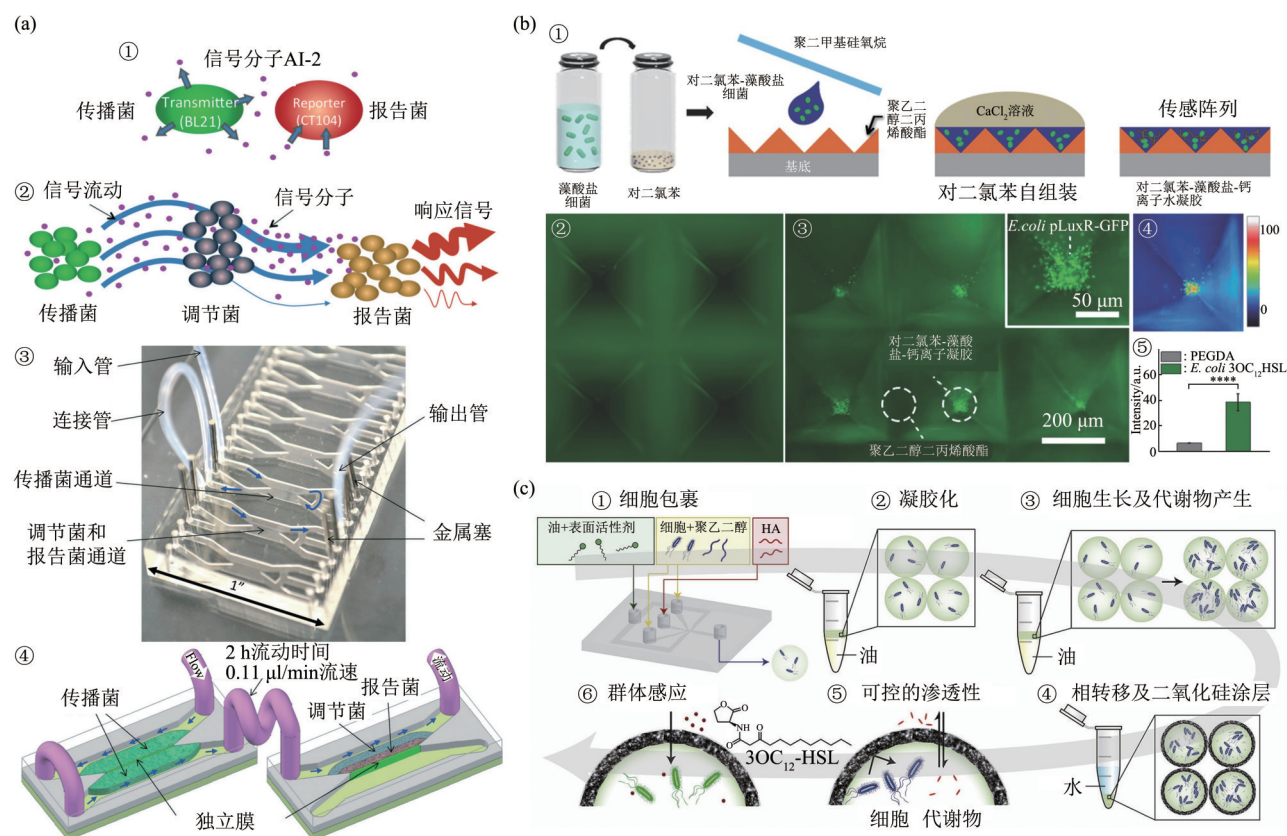


Fig. 6 Signal molecule sensing and detection system based on chip

图6 基于微流控芯片的信号分子传感检测系统

(a) 芯片中模拟多种细菌间AI-2的变化和传递流程^[68]; (b) 生物传感菌凝胶阵列的制备^[70]; (c) 芯片上无细胞系统的包裹流程图及 SiO_2 壳凝胶珠的制备^[72]。HA: 透明质酸。

4 总结和展望

细菌QS对相关行为的调控机制研究和基于群体感应的抑菌剂研发是目前研究领域的热点。QS信号分子是预示QS调控进程的重要生理指标, 其含量变化与细菌群体性行为息息相关, 在疾病的预防和早期诊断、食品安全和生态环境等领域有重要的意义。高效的QS信号分子定量检测技术在群体感应抑制药物的筛选、监测细菌群体间或生物膜中信号分子的浓度及变化以及感染性疾病中信号分子的情况等方面有广泛的应用前景。本文详细介绍了细菌QS信号分子的检测方法, 分析和评价了检测方法的响应模式和适用范围, 重点综述了可实现快

速、原位检测信号分子的传感检测技术, 为以后实际样本中信号分子的原位检测和深入研究群体感应作用机制提供参考。

近年来, 生物体内小分子物质的研究是人们关注的热点, 利用传感技术的检测方式具有显著的优势。微流控芯片具有将活体培养、分离富集、传感检测方法结合于一体的优势, 对细菌QS研究有重要的使用价值。但是, QS信号分子的传感检测技术仍然存在不少挑战: a. 信号分子的种类繁多, 目前仅对常见的AI-1等检测研究较多, 进一步开发用于AI-2、AI-3、PQS和吡咯等其他类信号分子的传感检测方法是今后研发的方向; b. 生化体系中信号分子的含量极低, 对传感检测的灵敏度提出更高

要求, 如何充分利用重力、电荷性、磁性以及亲和化学等多种策略, 以期对信号分子进行分离富集、信号放大、减低干扰等是值得深入拓展的领域; c. 信号分子的现有检测方法多依赖于生物识别受体, 可考虑研发更有效、稳定、成本低的仿生类受体, 用于构建传感检测界面; d. 在微流控芯片中实现细菌长期培养与信号分子的分离检测也是目前亟待解决的问题。总之, 寻找更加高效、稳定、快捷的信号分子检测方法仍是研究细菌群体感应机制的重要方向。

参 考 文 献

- [1] Fuqua W C, Winans S C, Greenberg E P. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *J Bacteriol*, 1994, **176**(2): 269-275
- [2] Rutherford S T, Bassler B L. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor Perspect Med*, 2012, **2**(11): a012427
- [3] Wang R J, Vega P, Xu Y, *et al.* Exploring the anti-quorum sensing activity of a d-limonene nanoemulsion for *Escherichia coli* O157: H7. *J Biomed Mater Res Part A*, 2018, **106**(7): 1979-1986
- [4] Liu L L, Ge C, Zhang Y, *et al.* Tannic acid-modified silver nanoparticles for enhancing anti-biofilm activities and modulating biofilm formation. *Biomater Sci*, 2020, **8**: 4852-4860
- [5] Reuter K, Steinbach A, Helms V. Interfering with bacterial quorum sensing. *Perspect Med Chem*, 2016, **8**: 1-15
- [6] Laj N, Elayadeth-Meethal M, Huxley V A J, *et al.* Quorum-sensing molecules: sampling, identification and characterization of N-acetyl-homoserine lactone in *Vibrio* sp. *Saudi J Bio Sci*, 2022, **29**(4): 2733-2737
- [7] Kumari A, Pasini P, Daunert S. Detection of bacterial quorum sensing N-acyl homoserine lactones in clinical samples. *Anal Bioanal Chem*, 2008, **391**(5): 1619-1627
- [8] Kim Y W, Sung C, Lee S, *et al.* MALDI-MS-based quantitative analysis for ketone containing homoserine lactones in *Pseudomonas aeruginosa*. *Anal Chem*, 2015, **87**(2): 858-863
- [9] Tan C H, Koh K S, Xie C, *et al.* The role of quorum sensing signalling in EPS production and the assembly of a sludge community into aerobic granules. *ISME J*, 2014, **8**(6): 1186-1197
- [10] Thiel V, Vilchez R, Sztajer H, *et al.* Identification, quantification, and determination of the absolute configuration of the bacterial quorum-sensing signal autoinducer-2 by gas chromatography-mass spectrometry. *ChemBioChem*, 2009, **10**(3): 479-485
- [11] Lee J, Zhang L. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein Cell*, 2015, **6**(1): 26-41
- [12] Turan N B, Chormey D S, Büyükpınar C, *et al.* Quorum sensing: little talks for an effective bacterial coordination. *TrAC Trends Anal Chem*, 2017, **91**: 1-11
- [13] García-Reyes S, Soberón-Chávez G, Cocotl-Yanez M. The third quorum-sensing system of *Pseudomonas aeruginosa*: *Pseudomonas* quinolone signal and the enigmatic PqsE protein. *J Med Microbiol*, 2019, **69**(1): 25-34
- [14] Lee J H, Wood T K, Lee J. Roles of indole as an interspecies and interkingdom signaling molecule. *Trends Microbiol*, 2015, **23**(11): 707-718
- [15] Ng W L, Bassler B L. Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annu Rev Genet*, 2009, **43**: 197-222
- [16] Pereira C S, Thompson J A, Xavier K B. AI-2-mediated signaling in bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 2013, **37**(2): 156-181
- [17] Chen X, Schauder S, Potier N, *et al.* Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature*, 2002, **415**(6871): 545-549
- [18] Miller S T, Xavier K B, Campagna S R, *et al.* *Salmonella typhimurium* recognizes a chemically distinct form of the bacterial quorum-sensing signal AI-2. *Mol Cell*, 2004, **15**(5): 677-687
- [19] McNab R, Lamont R J. Microbial dinner-party conversations: the role of LuxS in interspecies communication. *J Med Microbiol*, 2003, **52**(7): 541-545
- [20] Kim C B, Gatsios A, Cuesta S, *et al.* Characterization of autoinducer-3 structure and biosynthesis in *E. coli*. *ACS Cent Sci*, 2020, **6**: 197-206
- [21] Rasko D A, Moreira C G, Li De R, *et al.* Targeting QseC signaling and virulence for antibiotic development. *Science*, 2008, **321**(5892): 1078-1080
- [22] Zaitseva Y V, Popova A A, Khmel I A. Quorum sensing regulation in bacteria of the family Enterobacteriaceae. *Russ J Genet*, 2014, **50**(4): 323-340
- [23] Li Y, Xiao D, Grenier D, *et al.* Research progress of bacterial quorum sensing receptors: classification, structure, function and characteristics. *Sci Total Environ*, 2021, **763**: 143031
- [24] Steindler L, Venturi V. Detection of quorum-sensing N-acyl homoserine lactone signal molecules by bacterial biosensors. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, **266**(1): 1-9
- [25] Wu Y, Wang C W, Wang D, *et al.* A whole-cell biosensor for point-of-care detection of waterborne bacterial pathogens. *ACS Synth Biol*, 2021, **10**: 333-344
- [26] Keizers M, Dobrindt U, Berger M. A simple biosensor-based assay for quantitative autoinducer-2 analysis. *ACS Synth Biol*, 2022, **11**: 747-759
- [27] Zhang L, Guo W, Lu Y. Advances in cell-free biosensors: principle, mechanism and applications. *Biotechnol J*, 2020, **15**: 2000187
- [28] Kawaguchi T, Chen Y P, Norman R S, *et al.* Rapid screening of quorum-sensing signal N-acyl homoserine lactones by an *in vitro* cell-free assay. *Appl Environ Microbiol*, 2008, **74**(12): 3667-3671
- [29] Zhang P, Feng H, Yang J, *et al.* Detection of inorganic ions and organic molecules with cell-free biosensing systems. *J Biotechnol*, 2019, **300**: 78-86
- [30] Wen K Y, Cameron L, Chappell J, *et al.* A cell-free biosensor for detecting quorum sensing molecules in *P. aeruginosa*-infected respiratory samples. *ACS Synth Biol*, 2017, **6**(12): 2293-2301
- [31] Lin X, Li Y T, Li Z X, *et al.* Portable environment-signal detection biosensors with cell-free synthetic biosystems. *RSC Adv*, 2020,

- 10(64):39261-39265
- [32] Zhang C, Ye B C. Real-time measurement of quorum-sensing signal autoinducer 3OC6HSL by a FRET-based nanosensor. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2014, **37**(5): 849-855
- [33] Raut N, Joel S, Pasini P, *et al.* Bacterial autoinducer-2 detection via an engineered quorum sensing protein. *Anal Chem*, 2015, **87**(5): 2608-2614
- [34] Piletsky S, Canfarotta F, Poma A, *et al.* Molecularly imprinted polymers for cell recognition. *Trends Biotechnol*, 2020, **38**(4): 368-387
- [35] Yang X X, Sun J D, Cui F C, *et al.* An eco-friendly sensor based on CQD@MIPs for detection of N-acylated homoserine lactones and its 3D printing applications. *Talanta*, 2020, **219**: 121343
- [36] Habimana J D, Ji J, Pi F W, *et al.* A class-specific artificial receptor-based on molecularly imprinted polymer-coated quantum dot centers for the detection of signaling molecules, N-acyl-homoserine lactones present in gram-negative bacteria. *Anal Chim Acta*, 2018, **1031**: 134-144
- [37] Cui Z M, Li Z Y, Jin Y T, *et al.* Novel magnetic fluorescence probe based on carbon quantum dots-doped molecularly imprinted polymer for AHLs signaling molecules sensing in fish juice and milk. *Food Chem*, 2020, **328**: 127063
- [38] Das S, Sarkar H S, Uddin M R, *et al.* A chemosensor to recognize N-acyl homoserine lactone in bacterial biofilm. *Sens Actuators B*, 2018, **259**: 332-338
- [39] Chao Y Q, Zhang T. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) revealing chemical variation during biofilm formation: from initial attachment to mature biofilm. *Anal Bioanal Chem*, 2012, **404**(5): 1465-1475
- [40] Nguyen C Q, Thrift W J, Bhattacharjee A, *et al.* Longitudinal monitoring of biofilm formation via robust surface enhanced Raman scattering quantification of *Pseudomonas aeruginosa*-produced metabolites. *ACS Appl Mater interfaces*, 2018, **10**(15): 12364-12373
- [41] Bodelón G, Montes-García V, Costas C, *et al.* Imaging bacterial interspecies chemical interactions by surface-enhanced Raman scattering. *ACS Nano*, 2017, **11**(5): 4631-4640
- [42] De Marchi S, Bodelón G, Vázquez-Iglesias L, *et al.* Surface-enhanced Raman scattering (SERS) imaging of bioactive metabolites in mixed bacterial populations. *Appl Mater Today*, 2019, **14**: 207-215
- [43] Pearman W F, Lawrence-Snyder M, Angel S M, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopy for *in situ* measurements of signaling molecules (autoinducers) relevant to bacteria quorum sensing. *Appl Spectrosc*, 2007, **61**(12): 1295-1300
- [44] 王向东, 张倩, 褚立强. 高分子刷/银纳米粒子复合表面增强拉曼散射基底检测群体感应信号分子. *分析化学*, 2018, **46**(11): 1763-1769
Wang X D, Zhang Q, Zhu L Q. *Anal Chem*, 2018, **46**(11): 1763-1769
- [45] Vasudevan S, Srinivasan P, Rayappan J B B, *et al.* A photoluminescence biosensor for the detection of N-acyl homoserine lactone using cysteamine functionalized ZnO nanoparticles for the early diagnosis of urinary tract infections. *J Mater Chem B*, 2020, **8**(19): 4228-4236
- [46] Vasudevan S, Srinivasan P, Neelakantan P, *et al.* Photoluminescence-based bioassay with cysteamine-capped TiO₂ nanoparticles for the selective recognition of N-acyl homoserine lactones. *Front Bioeng Biotech*, 2021, **9**: 750933
- [47] Zhou L, Glennon J D, Luong J H T, *et al.* Detection of the *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) by cyclic voltammetry and amperometry using a boron doped diamond electrode. *Chem Commun*, 2011, **47**(37): 10347-10349
- [48] Zhou L, Reen F J, O'Gara F, *et al.* Analysis of *Pseudomonas* quinolone signal and other bacterial signalling molecules using capillaries coated with highly charged polyelectrolyte monolayers and boron doped diamond electrode. *J Chromatogr A*, 2012, **1251**: 169-175
- [49] Buzid A, Reen F J, Langsi V K, *et al.* Direct and rapid electrochemical detection of *Pseudomonas aeruginosa* quorum signaling molecules in bacterial cultures and cystic fibrosis sputum samples through cationic surfactant-assisted membrane disruption. *ChemElectroChem*, 2017, **4**(3): 533-541
- [50] Oziat J, Gougis M, Malliaras G G, *et al.* Electrochemical characterizations of four main redox-metabolites of *Pseudomonas aeruginosa*. *Electroanalysis*, 2017, **29**(5): 1332-1340
- [51] Burgoyne E D, Stockmann T J, Molina-Osorio A F, *et al.* Electrochemical detection of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing molecules at a liquid/liquid interface. *J Phys Chem C*, 2019, **123**(40): 24643-24650
- [52] Burgoyne E D, Molina-Osorio A F, Moshrefi R, *et al.* Detection of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing molecules at an electrified liquid/liquid micro-interface through facilitated proton transfer. *Analyst*, 2020, **145**(21): 7000-7008
- [53] Capatina D, Lupoi T, Feier B, *et al.* Label-free electrochemical aptasensor for the detection of the 3-O-C12-HSL quorum-sensing molecule in *Pseudomonas aeruginosa*. *Biosensors (Basel)*, 2022, **12**(7): 440
- [54] Tateda K, Ishii Y, Horikawa M, *et al.* The *Pseudomonas aeruginosa* autoinducer N-3-oxododecanoyl homoserine lactone accelerates apoptosis in macrophages and neutrophils. *Infect Immun*, 2003, **71**(10): 5785-5793
- [55] Jiang D L, Feng D D, Hui J, *et al.* Preliminary study on an innovative, simple mast cell-based electrochemical method for detecting foodborne pathogenic bacterial quorum signaling molecules (N-acyl-homoserine-lactones). *Biosens Bioelectron*, 2017, **90**: 436-442
- [56] Jiang D L, Liu Y, Jiang H, *et al.* A novel screen-printed mast cell-based electrochemical sensor for detecting spoilage bacterial quorum signaling molecules (N-acyl-homoserine-lactones) in freshwater fish. *Biosens Bioelectron*, 2018, **102**: 396-402
- [57] Jiang H, Jiang D L, Shao J D, *et al.* Magnetic molecularly imprinted polymer nanoparticles based electrochemical sensor for the measurement of Gram-negative bacterial quorum signaling

- molecules (N-acyl-homoserine-lactones). Biosens Bioelectron, 2016, **75**:411-419
- [58] Özcan Ş M, Sesal N C, Şener M K, *et al.* An alternative strategy to detect bacterial contamination in milk and water: a newly designed electrochemical biosensor. Eur Food Res Technol, 2020, **246**(6): 1317-1324
- [59] Wang X B, Zhao Y Q, Hua Q, *et al.* An ultrasensitive electrochemiluminescence biosensor for the detection of total bacterial count in environmental and biological samples based on a novel sulfur quantum dot luminophore. Analyst, 2022, **147**(8): 1716-1721
- [60] Guha A, Ahmad O S, Guerreiro A, *et al.* Direct detection of small molecules using a nano-molecular imprinted polymer receptor and a quartz crystal resonator driven at a fixed frequency and amplitude. Biosens Bioelectron, 2020, **158**: 112176
- [61] Schwarz-Schilling M, Aufinger L, Mückl A, *et al.* Chemical communication between bacteria and cell-free gene expression systems within linear chains of emulsion droplets. Integr Biol, 2016, **8**(4): 564-570
- [62] Hol F J H, Dekker C. Zooming in to see the bigger picture: microfluidic and nanofabrication tools to study bacteria. Science, 2014, **346**(6208): 1251821
- [63] Ulloa-Gomez A M, Lucas A, Koneru A, *et al.* Simultaneous colorimetric and electrochemical detection of trace mercury (Hg^{2+}) using a portable and miniaturized aptasensor. Biosens Bioelectron, 2023, **221**: 114419
- [64] Mi F, Hu C M, Wang Y, *et al.* Recent advancements in microfluidic chip biosensor detection of foodborne pathogenic bacteria: a review. Anal Bioanal Chem, 2022, **414**(9): 2883-2902
- [65] Wang J, Xu Z, Zou H Q, *et al.* Electrochemical determination of glutamic pyruvic transaminase using a microfluidic chip. Microfluid Nanofluid, 2017, **21**(2): 27
- [66] Liu L L, Cao X J, Ma W R, *et al.* *In-situ* and continuous monitoring of pyocyanin in the formation process of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by an electrochemical biosensor chip. Sens Actuators B Chem, 2021, **327**: 128945
- [67] Austin C M, Caro D M, Sankar S, *et al.* Porous monolith microfluidics for bacterial cell-to-cell communication assays. Biomicrofluidics, 2017, **11**(4): 044110
- [68] Luo X L, Tsao C Y, Wu H C, *et al.* Distal modulation of bacterial cell-cell signalling in a synthetic ecosystem using partitioned microfluidics. Lab Chip, 2015, **15**(8): 1842-1851
- [69] Li P, Müller M, Chang M W, *et al.* Encapsulation of autoinducer sensing reporter bacteria in reinforced alginate-based microbeads. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, **9**(27): 22321-22331
- [70] Li P, Dou X Q, Müller M, *et al.* Autoinducer sensing microarrays by reporter bacteria encapsulated in hybrid supramolecular-polysaccharide hydrogels. Macromol Biosci, 2017, **17**(11): 1700176
- [71] Seto J. On a robust, sensitive cell-free method for *Pseudomonas* sensing and quantification in microfluidic templated hydrogels. Micromachines, 2019, **10**(8): 506
- [72] Zhao S B, Wen H L, Ou Y T, *et al.* A new design for living cell-based biosensors: microgels with a selectively permeable shell that can harbor bacterial species. Sens Actuators B Chem, 2021, **334**: 129648

Photoelectric Detection of Bacterial Quorum Sensing Signal Molecules*

LIU Zhi-Xu^{1,2)}, TAN Hao-Lan^{1,2)}, HE Hong^{1,3)}, XU Yi^{1,3)**}, GE Chuang^{4)**}, ZHANG Yang⁴⁾

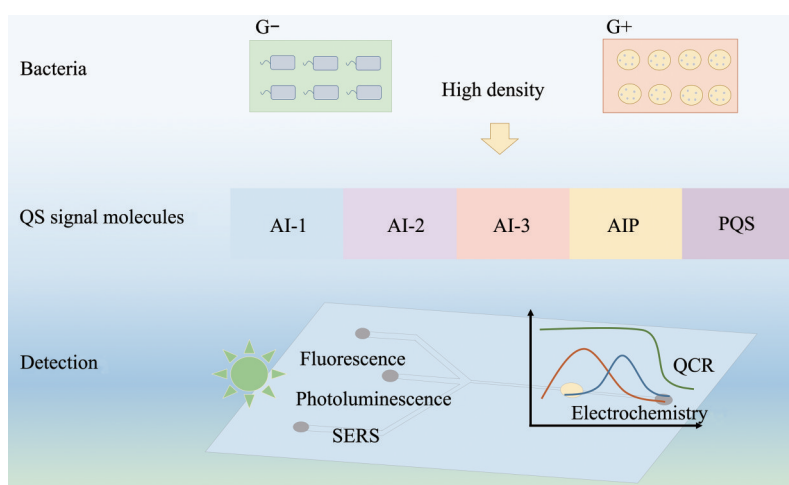
⁽¹⁾Key Disciplines Lab of Novel Micro-Nano Devices and System Technology, Key Laboratory of Optoelectronic Technology and Systems, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400044, China;

⁽²⁾School of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China;

⁽³⁾School of Optoelectronic Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China;

⁽⁴⁾Key Laboratory of Translational Research for Cancer Metastasis and Individualized Treatment, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing 400030, China)

Graphical abstract



Abstract Quorum sensing (QS) is a bacterial communication system that depends on bacterial density and is closely related to bacterial pathogenicity and drug resistance. QS signal molecules are an important substance basis for QS system to regulate various cellular processes of microorganisms. The identification and detection of QS signal molecules is an indispensable link in the exploration of the regulatory mechanism of bacterial QS system. It is of important reference significance for the interaction, efficient detection and mechanism analysis of microorganisms such as bacteria in the fields of life science and pharmacy. It is illustrated that the photoelectric sensing detection is of great potential for the real-time detection of QS signal molecules with its high sensitivity and diversity of methods. Combining with molecular imprinting, biological receptor recognition, magnetic separation and so on, photoelectric sensor could provide more efficient means of detection. In this paper, the types

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (62071072), Chongqing Medical Scientific Research Project (Joint Project of Chongqing Health Commission and Science and Technology Bureau) (2023GGXM002), the Open Foundation of Key Disciplines Lab of Novel Micro-Nano Devices and System Technology (2020), and Project of Intelligent Sensing and Micro-nano Biochemical System (2019 Graduate Tutor Team).

** Corresponding author.

XU Yi. Tel: 86-23-65111022, E-mail: xuyibbd@cqu.edu.cn

GE Chuang. Tel: 86-15223340297, E-mail: gechuang1115@163.com

Received: October 14, 2022 Accepted: December 21, 2022

of QS signal molecules and common QS systems were briefly introduced, and then the photoelectric detection methods and technologies of QS signal molecules were summarized. The sensitive media, sensing interface, sensing mechanism and testing effect of photoelectric sensing detection were discussed in details. The optical analysis techniques were of a wide range of applications in the detection of QS signal molecule in biological samples. Fluorescence detection method has high sensitivity in quantification of signal molecules, and fluorescence imaging method can provide real-time in situ observation of bacterial QS process. Surface enhanced Raman scattering (SERS) spectral analysis technique could provide molecular fingerprint information of targets in the QS process of some biological samples. Electrochemical detection techniques could dynamically monitor QS signal molecules through the changes of electrochemical signals. Meanwhile, much more attention had been paid to microfluidic analysis technology, because it was taken as a favorable platform for the *in-situ* monitoring of bacterial QS signal molecules and QS process by the way of combining the photoelectric sensors and microfluidic control.

Key words bacteria, quorum sensing, signal molecules, biosensor, sensing detection

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0479