
深圳先进院团队开发出新型荧光探针

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/20131.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

深圳先进院团队开发出新型荧光探针。

论文截图

9月12日，中国科学院深圳先进技术研究院医工所生物学光学与分子影像研究中心储军课题组的最新成果发表于《自然—通讯》。研究人员研发了在活细胞内具有12倍荧光变化的高性能基因编码的cAMP绿色荧光探针(命名为G-Flamp1)。该研究结合显微成像和光纤记录等技术，实时高灵敏监测了果蝇和小鼠等模式生物在特定行为过程中特定神经元的cAMP信号时空动力学变化，探索了cAMP动力学与动物行为之间的内在关联。

Nature Methods的审稿人在审稿过程中对该成果给予了高度评价，认为G-Flamp1探针具有非常棒的性质，在荧光探针的性能上具有很大的提升，该探针打开了很多有趣的cAMP信号研究的大门，是非常及时和高质量的研究成果。

深圳先进院储军研究员为该论文的通讯作者，深圳先进院助理研究员王亮博士及北京大学邬春灵博士为该论文的共同第一作者。

细胞是包括人类在内的绝大部分生命体结构和功能的基本单位。细胞不断地接受周围环境的信号，并将其转变为细胞内相应分子（如蛋白质、有机小分子、离子、DNA和RNA等）的数量、分布和活性状态的变化，从而改变细胞的形态和生物学功能等。该过程的异常则与疾病的发生发展相关。因此，科学家们往往通过检测上述关键分子的时空变化来理解细胞的功能，并阐明相关疾病的发生机制。

在该研究中，研究人员选取细胞内重要的第二信使分子环磷酸腺苷(cAMP)作为研究目标。cAMP可传递细胞表面多种G蛋白偶联受体（GPCR）的信息，在学习与记忆、药物成瘾、运动控制、免疫、肿瘤、代谢等过程中发挥重要作用。

活细胞和活体水平的cAMP分子浓度变化的高时空分辨率荧光成像是解析cAMP信号通路及其生物学功能的重要基础。因此，开发高灵敏的cAMP荧光探针成为研究复杂生物过程的关键。论文通讯作者储军研究员表示。

与非基因编码探针（染料和材料类）相比，基因编码探针像正常蛋白质一样，可以定位到生物体特定细胞或特定细胞亚结构，具有低毒性、低背景、可遗传等优点，在生命科学基础研究中具有无可比拟的优势。然而，现有的50多个基因编码的cAMP荧光探针要么灵敏度低（荧光变化最大只有1.5倍），要么荧光亮度较暗，很难监测活体中微弱的内源性cAMP变化，极大地限制了生理和病理状态下cAMP分子调控机理和功能的研究。

为了开发适用于活体检测的高灵敏度探针，研究人员将环化重排绿色荧光蛋白(cpGFP)插入细菌MlotiK1通道蛋白的cAMP结合结构域(mICNBD)中。经过插入位点筛选、连接肽优化、荧光蛋白及感应模块优化，得到了具有高亮度、高灵敏度、合适亲和力和快响应速度等特征的高性能基因编码cAMP绿色荧光探针G-Flamp1。特别的，该探针在活细胞中的荧光变化可达12倍，是目前少数几个在10倍以上的荧光探针之一。

随后，研究人员将G-Flamp1探针应用在果蝇这一模式生物中。果蝇脑部蘑菇体(mushroom body)的Kenyon细胞中cAMP信号通路在气味相关的记忆中发挥关键作用。研究人员首先获取了Kenyon细胞中表达G-Flamp1探针的转基因果蝇，然后利用双光子成像发现，果蝇受到气味或电击刺激时，蘑菇体不同子区域呈现不一样的cAMP信号时空变化，暗示不同子区域可能在联想性学习中起着相对独立的作用。

为验证G-Flamp1探针在活体动物中检测cAMP动态变化的实用性，研究人员利用腺相关病毒在小鼠运动皮层中共表达绿色G-Flamp1探针和红色jRGECO1a钙探针。活体双光子成像揭示了跑步运动中细胞特异性的cAMP信号，并与钙信号无明显相关性。这反映了小鼠运动时大脑皮层M1神经元反应的异质性。

最后，研究人员在小鼠大脑深部的伏隔核(NAc)脑区中表达G-Flamp1探针，并利用光纤记录听觉巴甫洛夫条件反射任务中该脑区cAMP信号的变化。结果表明，随着训练的熟练，小鼠得到奖赏时cAMP信号幅度在降低，而听到相应声频信号时cAMP信号幅度在升高；该特性与多巴胺信号类似，暗示多巴胺释放引起了cAMP信号。因此，G-Flamp1探针的高信噪比和高时间分辨率能够高灵敏检测到活体小鼠中内源性cAMP信号的动态变化。

综上所述，该研究开发了一种适用于活体检测的cAMP荧光探针，并初步揭示了果蝇和小鼠等模式生物在特定行为过程中特定神经元的cAMP信号变化的规律，为进一步理解cAMP信号的调控和功能奠定了基础。

与广泛使用的钙离子探针GCaMP相比，G-Flamp1才仅仅只是开始，目前已有几十家国内外实验室在使用G-Flamp1，未来将会有更多实验室利用G-Flamp1来研究复杂的生物学问题。论文通讯作者储军研究员表示。

在未来研究中，研究团队将进一步提高探针性能，开发适用于不同应用场景的下一代高灵敏cAMP探针，并利用其揭示活细胞和活体中cAMP信号的规律、调控机制及生物学功能。与此同时，结合高内涵药物筛选平台，研究团队开发的新型探针也将尝试应用于针对GPCR受体的药物筛选，以期发现更多的具有临床价值的GPCR药物。（来源：中国科学报刁雯蕙）

相关论文信息：<https://doi.org/10.1038/s41467-022-32994-7>

作者：储军等 来源：《自然—通讯》

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发