

参赛学生姓名：LUOERIC（加拿大籍）、杨梓瀚（港籍）

所属学校名称：深圳市高级中学

学校所在省份：广东省

学校所属国家（地区）：中国

指导老师 1 姓名：惠长野

指导老师 1 单位：深圳市职业病防治院

指导导师 2 姓名：曾弦

指导老师 2 单位：深圳市高级中学

论文题目：让工程菌“画出”水中铅：基于靛蓝合成的铅

离子可视化生物传感器构建及环境验证

让工程菌“画出”水中铅：基于靛蓝合成的铅离子可视化生物传感器构建及环境验证

作者：LUOERIC、杨梓瀚

摘 要

目的：本研究旨在由高中生独立构建一种基于大肠杆菌（*Escherichia coli*）TOP10的全细胞比色生物传感器，用于深圳市城市公园地表水及近岸海水中 Pb(II) 的快速可视化检测，并探索合成生物学在环境监测实践中的可行性。

方法：高中生研究者独立完成了重组质粒 pPb-indigo-TA 的提取、感受态细胞制备及转化等全分子生物学操作。该传感器基于铅离子响应启动子与靛蓝合成报告基因，在实验室条件下建立 Pb(II) 剂量-响应标准曲线（0.125-1 μM ）。研究者亲赴深圳市洪湖公园、香蜜公园、大亚湾等 5 个地点采集环境水样，采用仅经中速滤纸过滤的简化前处理方案，将水样与 10 $\times$ LB 培养基按比例混合后接种工程菌，诱导培养 10 h。使用酶标仪测定靛蓝特征吸光度（ A_{620} ），并自主设置加标回收实验（终浓度 0.125-1 μM ），同时采用石墨炉原子吸收光谱法（GFAAS）检测环境水样中的 Pb(II)。实验数据运用 SPSS Statistics 26 和 GraphPad Prism 10 完成统计分析及图形绘制。

结果：传感器在 0.125-1 μM Pb(II) 浓度范围内呈现良好剂量-响应关系，标准曲线 $R^2=0.9771$ 。五个环境水样的 A_{620} 读数均与空白对照无显著差异（ $P>0.05$ ），定性结果为未检出（ $<\text{LOD}$ ），与 GFAAS 检测结果（均 $<0.1\mu\text{g/L}$ ）一致。加标回收实验表明，该传感器在淡水和海水基质中均能保持稳定的 Pb(II) 剂量-响应关系。

结论：本研究由两名高中生独立完成核心实验，构建了全细胞比色生物传感器 TOP10/pPb-indigo-TA，实现了水体 Pb(II) 的可视化检测。该传感器操作简便、成本低廉，适用于地表水现场快速筛查；在 0.125-1 μM 范围内呈良好剂量-响应关系（ $R^2=0.9771$ ），检出限达到 GB 3838-2002 III 类水要求。深圳市 5 个采样点水体的 Pb(II) 含量均远低于国标 I 类水限值，表明所测水质安全（无铅污染）。

关键词：全细胞生物传感器；Pb(II) 检测；比色报告；靛蓝；环境水体

Engineering Bacteria to “Draw” Lead in Water: Construction and Environmental Validation of an Indigo Biosynthesis-Based Visual Biosensor for Pb(II)

Authors: Eric Luo, Zihan Yang

Abstract

Objective: This study aimed to enable high school students to independently construct a whole-cell colorimetric biosensor based on *Escherichia coli* TOP10 for rapid visual detection of Pb(II) in surface water from urban parks and coastal seawater in Shenzhen, and to explore the feasibility of synthetic biology in environmental monitoring practice.

Methods: The high school student researchers independently performed all molecular biology procedures, including extraction of the recombinant plasmid pPb-indigo-TA, preparation of competent cells, and transformation. The biosensor was based on a Pb(II)-responsive promoter and an indigo synthesis reporter gene. A Pb(II) dose-response standard curve (0.125-1 μM) was established under laboratory conditions. The researchers personally collected environmental water samples from five sites, including Honghu Park, Xiangmi Park, and Daya Bay in Shenzhen. A simplified pretreatment using only medium-speed filter paper filtration was adopted. The water samples were mixed with 10 $\times$ LB medium at a certain ratio, inoculated with the engineered bacteria, and induced for 10 h. Indigo-specific absorbance (A_{620}) was measured using a microplate reader. Spike recovery experiments (final concentration 0.125-1 μM) were independently designed, and graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) was simultaneously used to detect Pb(II) in the environmental water samples. Data were analyzed and plotted using SPSS Statistics 26 and GraphPad Prism 10.

Results: The biosensor exhibited a good dose-response relationship within the Pb(II) concentration range of 0.125-1 μM , with a standard curve $R^2=0.9771$. The A_{620} readings of the five environmental water samples showed no significant difference from the blank control ($P>0.05$), and the qualitative results were below the limit of detection ($<\text{LOD}$), consistent with GFAAS results (all $<0.1\mu\text{g/L}$). Spike recovery experiments showed that the biosensor maintained a stable Pb(II) dose-response relationship in both freshwater and seawater matrices.

Conclusion: In this study, two high school students independently completed the core experiments and constructed the whole-cell colorimetric biosensor TOP10/pPb-indigo-TA, achieving visual detection of Pb(II) in water. The biosensor is simple to operate and low-cost, suitable for on-site rapid screening of surface water. It exhibited a good dose-response

relationship within 0.125-1 μ M ($R^2=0.9771$), and its detection limit met the Class III water requirement of GB 3838-2002. The Pb(II) concentrations in water samples from five sampling sites in Shenzhen were all far below the Class I water limit of the national standard, indicating that the tested water quality is safe.

Keywords: whole-cell biosensor; Pb(II) detection; colorimetric reporter; indigo; environmental water

目 录

1.引言.....	6
2.材料与方法.....	7
2.1 菌株、质粒与试剂.....	7
2.2 环境水体样品采集与前处理.....	7
2.3 实验流程概述.....	8
2.3.1 重组质粒的提取与转化.....	8
2.3.2 Pb(II)剂量—响应曲线构建.....	9
2.3.3 环境水样检测流程.....	9
2.4 图形绘制与统计分析.....	11
3.结果与讨论.....	11
3.1 传感器工作机制.....	11
3.2 Pb(II)剂量—响应曲线.....	12
3.3 实际水样检测结果及环境水体基质中的传感器表现.....	12
3.4 结论与展望.....	15
3.4.1 结论.....	15
3.4.2 展望.....	16
4.参考文献.....	17
5.致谢.....	18

1.引言

对于深圳的高中生来说，分子生物学不只是课本上的知识，而城市中实际存在的河流与海湾同样值得关注。洪湖公园莲香湖、香蜜公园花香湖、莲花山公园漾日湖、人才公园内湖及周末常去的大亚湾海岸——这些我们日常接触的水体，其安全性却从未被认真追问过。直到看到一个科普视频，我们才了解到：铅（Pb）是高度耐环境、极有害的金属，即使微量暴露，也可能干扰儿童大脑的正常发育^[1-3]。

近年来，中国在铅污染控制方面取得了显著进展。据国家统计局数据，2011-2022年全国铅总排放量由 155,242kg 减少到 20,456kg^[4]。然而，作为工业化与城市化高度密集的区域，珠三角自 20 世纪 80 年代至 21 世纪初，因电子电镀行业集中，曾有过较严重的铅污染历史^[5]。尽管当前《水污染防治行动计划》的深入实施已基本解决了水体急性污染问题，城市水体中重金属的即时检测手段也日趋完善，但历史遗留污染物带来的长期生态风险仍不容忽视。

目前，水体痕量铅检测方法主要依赖石墨炉原子吸收光谱法（GFAAS）或电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）。这些方法虽然灵敏度和准确度俱佳，但仪器购买和维护成本高、样品需经酸化、消解等复杂前处理，且耗时较长，难以满足现场快速调查或突发污染应急检测的需求^[6]。因此，开发一种简便、经济、结果直观的现场检测技术和方法，具有较好的现实意义。

我们产生了一个大胆的科学设想：能否将肉眼不可见的铅离子，转化为肉眼可见的颜色变化？合成生物学为此提供了可能的解决思路——若能将大肠杆菌改造成“活体试纸”一样，使其在遇到铅时产生蓝色的“绘画”反应，或许能实现低成本的现场快速检测。带着这一问题，我们查阅文献发现，全细胞生物传感器用经过基因修饰的活细胞作识别元件，可以针对目标物产生光、色或电形式的信号，且成本低、操作简便，适合快速检测^[7]。其中基于色素（如靛蓝 indigo）输出、无需额外底物的生物传感器尤其值得关注^[8]。更为关键的是，*Cupriavidus metallidurans* CH34 所含的 pMOL30 质粒上存在铅离子抗性系统，其 PbrR 蛋白（属于 MerR 类）能特异性识别 Pb(II)并激活 Ppbr 启动子^[9]——这为我们设计遗传回路提供了理论依据。

于是，在老师指导下，我们构建了一种基于大肠杆菌 *E.coli* TOP10 的全细胞比色生物传感器 TOP10/pPb-indigo-TA：利用 Pb(II)响应启动子 Ppbr 调控 indigo 合成模块表达，将 Pb(II)信号转化为 620nm 处可测量的蓝色吸光度信号。我们不仅要在实验室验

证它“能否画出来、画得准不准”，更要亲自带着它走向深圳的城市公园和海湾，去回答一个高中生真正关心的问题：我们日常接触的水，究竟安不安全？

2.材料与方法

2.1 菌株、质粒与试剂

宿主菌：E.coli TOP10。

表达质粒：pPb-indigo-TA 是按 *Cupriavidus metallidurans* CH34 菌株所带质粒 pMOL30 上有关铅离子抗性的机制设计的人工遗传回路^[9]。文中提到的基本元件即以铅离子感应调控蛋白 PbrR 为媒介而控制的 Ppbr 启动子——这种启动子是 MerR 类调控因子的一种，能检测 Pb(II)并使之结合，进而启动下游基因转录。

效应模块：质粒含有 *trxA-bfmo* 类融合基因。利用硫氧还蛋白（TrxA）作为融合标签以提高黄素单加氧酶（bFMO）的可溶性，促进靛蓝（indigo）生成，即让铅离子信号转化为肉眼可辨的蓝色表型^[8-9]。

灵敏度增强模块：细胞膜上异源表达的 Pb(II)特异性摄取通道 PbrT 可协助胞外 Pb(II)进入细胞、增加胞内实际 Pb(II)的含量，因而有利于 Ppbr 启动子的转录激活。特异性保障模块：胞内组成型表达的汞离子还原酶 MerA 将可能伴随存在的 Hg(II)选择性还原为挥发性 Hg(0)，从源头消除 MerR 家族调控蛋白 PbrR 对 Hg(II)的交叉响应，避免假阳性信号。

筛选标记：氨苄青霉素抗性基因（AmpR），确保质粒在大肠杆菌宿主中的稳定遗传。

主要试剂：硝酸铅 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ （分析级，阿拉丁，上海）；L-色氨酸（生物级）；氨苄青霉素钠；LB 培养基组分（酵母提取物、胰蛋白胨、NaCl）。

主要设备：酶标仪（Feyond-A300，620nm 波长）；恒温摇床；高速冷冻离心机；超净工作台。

2.2 环境水体样品采集

我们选取了深圳市区内的四个公园以及大亚湾进行水样采集（见表 1 和图 1、2），并对水体来源进行溯源——对取样点的检测结果在一定程度上能够反映该点背后水源的真实情况。所列的水源种类能较好地体现本地水质特征差异：洪湖公园的水源即布吉河、人才公园所用的深圳湾海水受外部水系影响较大，水质波动较复杂；而香蜜公

园及莲花山公园的水体基本上要靠人工补水或雨水来维持，此时补给方式（如利用再生水）及园中有关的循环机制对水质影响就比较突出。

表 1 深圳市四个采样公园地表水的水源类型

公园（所在区域）	主要水源
洪湖公园地表水（罗湖区）	布吉河引水及人工湿地处理后补给，辅以天然降水。
香蜜公园地表水（福田区）	以天然降水的收集、过滤和蓄滞为核心，践行海绵城市理念。
莲花山公园地表水（福田区）	市政再生水取水口补给漾日湖等景观水体，辅以天然降水。历史上主要依靠自然补给。
人才公园地表水（南山区）	来自深圳湾（海水）或城市中心河道，兼具集雨、蓄洪功能。



图 1 洪湖公园采样实拍照片



图 2 香蜜公园采样实拍照片

2.3 实验流程概述

2.3.1 重组质粒的提取与转化

（一）质粒提取

采用商品化质粒提取试剂盒提取重组质粒 pPb-indigo-TA。吸取携带目标质粒的甘油菌，接种于含氨苄青霉素（100μg/mL）的 LB 液体培养基中，于 37℃、250rpm/min 振荡培养过夜。次日收集菌液，离心（12,000×g，1min）收集菌体沉淀。按照试剂盒说明书提取得到纯化质粒 DNA，于-20℃保存备用^[9]。

（二）感受态细胞的制备

采用 CaCl₂ 化学法制备大肠杆菌感受态细胞。取-80℃甘油保藏的宿主菌株（E. coli TOP10）划线接种于 LB 琼脂平板（不含抗生素），37℃过夜培养。次日挑取单菌落接种于 5mL LB 液体培养基，37℃、250rpm/min 振荡培养过夜。按 1:100 比例转接至 50mL 新鲜 LB 培养基中，继续培养至 OD₆₀₀ 达 0.4-0.6（对数生长中期）。将菌液冰浴 10-15min 后，于 4℃、4,000rpm/min 离心 10min 收集菌体。弃上清，用预冷的 0.1mol/L

CaCl₂ 溶液重悬菌体，冰浴 30min 后再次离心收集。最终用适量预冷 CaCl₂ 溶液轻轻重悬菌体，分装为 100μL/管，冰上静置备用或直接用于转化^[9]。

（三）质粒转化与阳性克隆筛选

取 50μL Top10 感受态细胞，加入约 1-2μL 纯化质粒 DNA（含 50-100ng），轻吹混匀，冰浴 30min。随后于 42℃ 水浴热激 90s，迅速转移至冰上冷却 2-5min。向管中加入 1mL 不含抗生素的 LB 液体培养基，于 37℃、200rpm/min 振荡复苏培养 60min。复苏结束后，将菌液于 3,000rpm/min 离心 2min，弃去大部分上清，留约 100μL 培养基重悬菌体沉淀，均匀涂布于含氨苄青霉素（100μg/mL）的 LB 琼脂平板上。待菌液完全吸收后倒置平板，于 37℃ 恒温培养 16h，即可获得长有目标菌落的平板^[9]。

2.3.2 Pb(II) 剂量—响应曲线构建

过夜菌按 1% 转接至含 1mM 色氨酸的新鲜 LB 培养基，二倍稀释法加入 Pb(II)（终浓度 0、0.125、0.25、0.5、1μM），37℃、150rpm 诱导 10h。结束后取 100μL 测 OD₆₀₀，剩余 900μL 离心、无水乙醇洗涤、DMSO 提取 indigo，测 A₆₂₀^[9]。每个浓度 3 个生物学重复。根据结果构建 Pb(II) 的标准剂量—响应曲线。

2.3.3 环境水样检测流程

（一）仪器法检测

采集的水样经过前处理后使用石墨炉原子吸收光谱法（GFAAS）对 Pb(II) 含量进行检测，最后得到的结果均小于 0.1μg/L，即低于仪器检出限。

（二）实验前准备

实验前一日，从 LB 平板上挑取携带 pPb-indigo-TA 质粒的 TOP10 单菌落，接种于含氨苄青霉素（50μg/mL）的 LB 液体培养基中，于 37℃、250rpm/min 摇床过夜培养约 12h，作为种子液。

配制 10×LB 母液（含 50g/L 酵母提取物、100g/L 胰蛋白胍、100g/L NaCl，另补充 10mmol/L L-色氨酸作为靛蓝合成前体），经高温蒸汽灭菌后备用。环境水样（采集自深圳市洪湖公园、香蜜公园、莲花山公园、人才公园地表水及大亚湾海水）于检测前一日完成采集，并用滤纸进行过滤，以去除悬浮颗粒物。

样品的前处理：不同于文献中报道的离心加 0.22μm 滤膜过滤的处理方式，我们的水样仅通过中速滤纸进行 2 次过滤后，就直接用于后续实验^{[8][9]}。这在去除水样中的大

颗粒悬浮物、避免其干扰细菌生长或信号读取的同时，保留了更多的水体基质，具有更好的参考价值（图3）。



图3 环境水样滤水实拍

（三）样品加标与诱导培养

将过滤后的环境水样与加入了氨苄青霉素的 $10\times\text{LB}$ 按 9:1 比例混合（海水样品调整为海水:无菌水: $10\times\text{LB}$ = 5:4:1），混匀后按总体积 1% 接入过夜活化的种子液。充分涡旋混匀后分装至 15mL 离心管中，每管 1mL（预留一管 2mL 用于最高浓度点）。

向含有 2mL 培养液的离心管中加入 $20\mu\text{L}$ 0.1mM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 标准溶液，随后采用二倍梯度稀释法制备不同终浓度分别覆盖 0、0.125、0.25、0.5、 $1\mu\text{M}$ （共 5 个浓度梯度，空白对照的结果表示本传感器对该水样的检测结果）。于 37°C 、150rpm 摇床诱导培养 10h^[9]。

（四）信号测定与数据处理

诱导结束后，每管取 $100\mu\text{L}$ 菌液转移至 96 孔板，使用酶标仪测定 OD_{600} 以监测菌体生长状态。剩余约 $900\mu\text{L}$ 菌液经 $12,000\times g$ 离心 2min，小心弃去上清，加入 $500\mu\text{L}$ 无水乙醇重悬洗涤菌体沉淀，再次离心后弃去乙醇（脱水）。最后加入 $200\mu\text{L}$ 二甲基亚砜（DMSO），超声破碎混匀以提取靛蓝，离心后取 $100\mu\text{L}$ 上清液至新的 96 孔板中，于 620nm 波长处读取吸光度 A_{620} ^[8-9]。以上全部操作均设置三个独立的生物学重复，部分操作过程如图 4。



图 4 环境水样检测流程中的部分实验操作实拍

2.4 图形绘制和统计分析

本研究数据分析使用 IBM SPSS Statistics 26 来完成，图形用 GraphPad Prism 10 绘制，结果按平均值 $\pm$ 标准差（标准差， $n \geq 3$ ）列出，对两组作比较时采用 t 检验方法。若要分析三组或更多组的差异，就用单向方差分析（ANOVA）， $P < 0.05$ 表示有统计学差异。

3. 结果与讨论

3.1 传感器工作机制

本传感器的工作机制为：在无 Pb(II) 时，PbrR 二聚体结合于 Ppbr 启动子区域，抑制 *trxA-bfmo* 转录，indigo 不合成。当 Pb(II) 进入细胞后，与 PbrR 结合，诱导构象变化，解除转录抑制，启动下游报告基因表达。表达的 TrxA-Bfmo 以 L-色氨酸为底物催化生成蓝色 indigo（该色素最大吸收波长为 620nm）^[10]。本传感器的工作机制见图 5。该图展示了基于 PbrR-Ppbr 调控模块并整合 PbrT 与胞内 MerA 的铅离子响应型遗传回路。

灵敏度增强模块：细胞膜上异源表达的 Pb(II) 特异性摄取通道 PbrT 促进胞外 Pb(II) 跨膜内流，提高胞内有效 Pb(II) 浓度，从而放大 Ppbr 启动子的转录激活信号。特异性保障模块：胞内组成型表达的汞离子还原酶 MerA 将可能伴随存在的 Hg(II) 选择性还原为挥发性 Hg(0)，从源头消除 MerR 家族调控蛋白 PbrR 对 Hg(II) 的交叉响应，避免假阳性信号。核心传感模块：在无 Pb(II) 时，PbrR 二聚体结合于 Ppbr 启动子区域抑制下游转录；Pb(II) 进入细胞后与 PbrR 特异性结合，诱导其构象变化并解除抑制，激活 *trxA-bfmo* 融合基因表达。硫氧还蛋白（TrxA）标签提高黄素单加氧酶（bFMO）的可溶性表达，bFMO 以 L-色氨酸为底物催化生成蓝色色素靛蓝（indigo），其产量与 Pb(II) 浓度正相关，可通过 620 nm 处吸光度（ A_{620} ）实现定量检测。

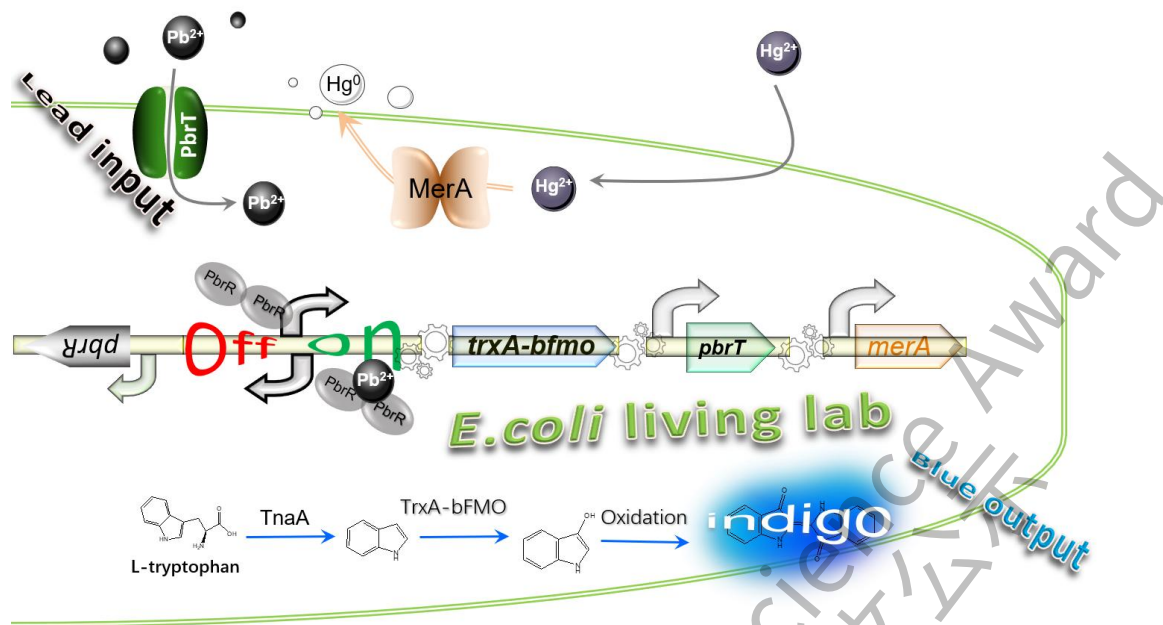


图 5 全细胞传感器—携带有 pPb-indigo-TA 质粒的 TOP10 细胞感应铅离子产生蓝色信号的机制

3.2 Pb(II)剂量—响应曲线

如图 6 所示，将在实验室标准流程下测得的 0.125、0.25、0.5、1 μ M 不同 Pb(II)对应的 A_{620} 数据通过非线性拟合得到标准曲线， $R^2=0.9771$ 。

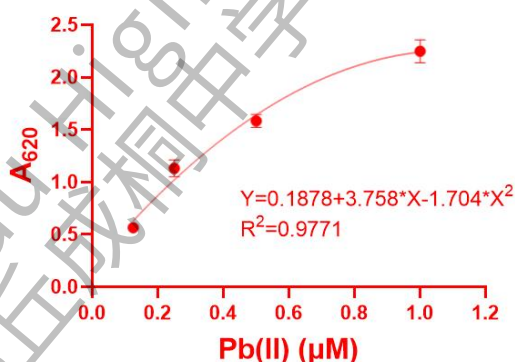


图 6 实验室正常培养基培养下制作的标准曲线及拟合方程

3.3 实际水样检测结果及环境水体基质中的传感器表现

利用 TOP10/pPb-indigo-TA 传感器对 5 份环境水样进行检测，包括深圳市 4 个城市公园地表水样和 1 个大亚湾近岸海水样，检测流程见图 7。

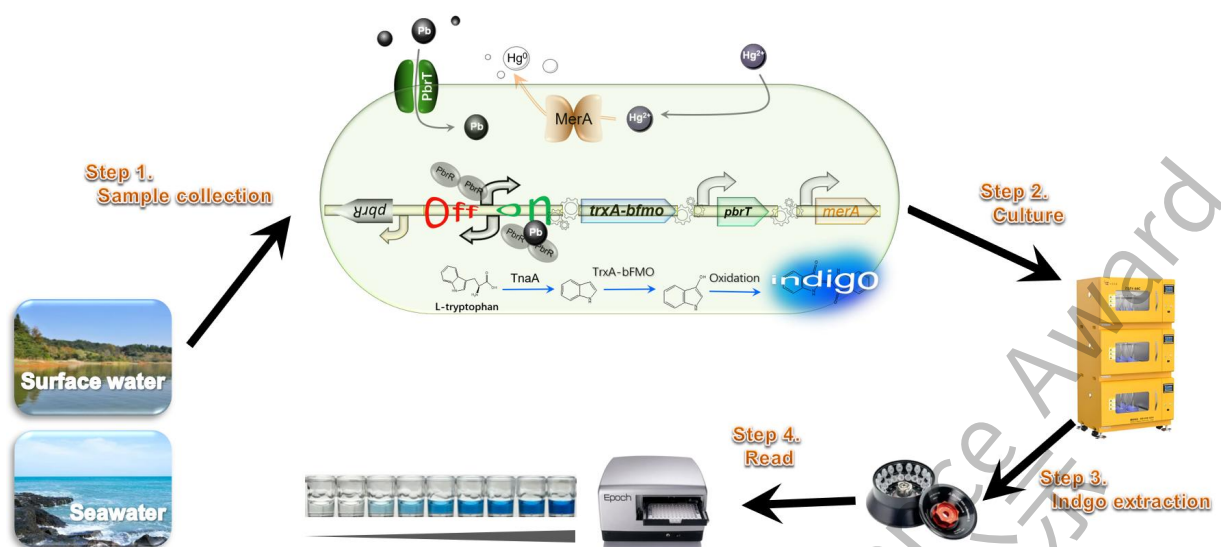


图 7 环境水样 Pb(II)比色检测全流程示意图

实验结果如表 2 所示。所有样品的 A_{620} 读数均与空白对照无显著差异 ($p > 0.05$)，表明在本研究的检测条件下，五份实际水样均未产生明显的 Pb(II) 响应，其 Pb(II) 浓度低于本传感器检测限（图 8）。该结果与石墨炉原子吸收光谱法（GFAAS）的检测结论一致，验证了该传感器在真实环境样品检测中的可靠性，证明地表水中 Pb(II) 的浓度符合国家标准^[11]，是安全无铅污染的。

表 2 深圳市五个采样点水样的生物传感器检测与 GFAAS 验证结果

样品编号	采样地点	样品类型	生物传感器定性结果	GFAAS 检测结果 ($\mu\text{g/L}$)
水样 A	洪湖公园	地表水	未检出 ($<\text{LOD}$)	<0.1
水样 B	香蜜公园	地表水	未检出 ($<\text{LOD}$)	<0.1
水样 C	莲花山公园	地表水	未检出 ($<\text{LOD}$)	<0.1
水样 D	人才公园	地表水	未检出 ($<\text{LOD}$)	<0.1
水样 E	大亚湾	海水	未检出 ($<\text{LOD}$)	<0.1

	≤					
10	铜	0.01	1.0	1.0	1.0	1.0
11	锌	0.05	1.0	1.0	2.0	2.0
12	氟化物(以F ⁻ 计)	1.0	1.0	1.0	1.5	1.5
13	硒	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02
14	砷	0.05	0.05	0.05	0.1	0.1
15	汞	0.0005	0.0005	0.001	0.001	0.001
16	镉	0.001	0.005	0.005	0.005	0.01
17	铬(六价)	0.01	0.05	0.05	0.05	0.1
18	铅	0.01	0.01	0.05	0.05	0.1
19	氰化物	0.005	0.05	0.2	0.2	0.2
20	挥发酚	0.002	0.002	0.005	0.01	0.1
21	石油类	0.05	0.05	0.05	0.5	1.0
22	阴离子表面活性剂	0.2	0.2	0.2	0.3	0.5
23	硫化物	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0

图 8 GB 3838—2002《地表水环境质量标准》中铅等重金属的浓度限值（节选）

为了探究传感器在实际应用中的表现，本文以所采集的五种水样作加标试验。根据实验结果判断，在五种自然水体中被测试的传感器都对人为加入的 Pb(II)有反应并生成了 indigo 色素（图 9），同时有着明显的量效关系（图 10）。有关环境水体所含的各种离子及有机物对工程菌的生长、对基因的表达是否会造成影响应予以重视，但不同水体在加标试验中都能在设计的最低浓度下（0.125μM）产生明显的信号，表明该传感系统的核心响应机制未受环境基质干扰，其稳定性及通用性都比较可靠。

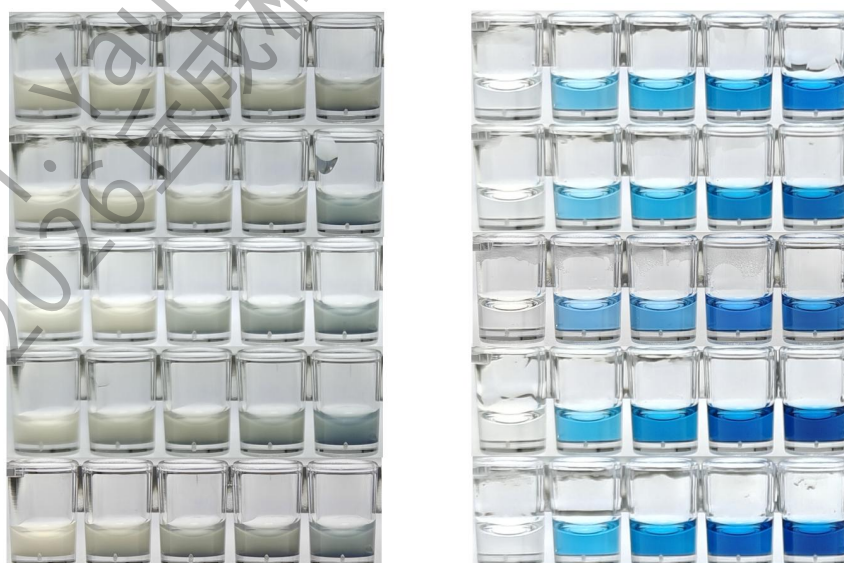
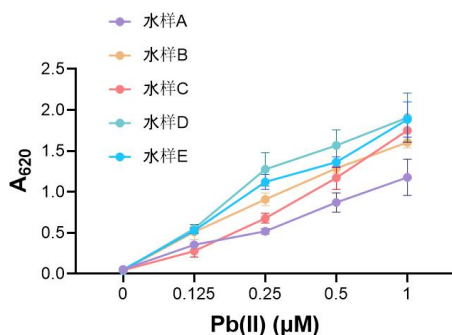


图 9 各水样加标培养后的菌液（左列）与靛蓝提取液（右列）显色效果（第一至第五排依次对应水样 A、B、C、D、E）



	水样A			水样B			水样C			水样D			水样E		
0	0.0513	0.0534	0.0563	0.0428	0.0430	0.0446	0.0431	0.0475	0.0442	0.0425	0.0446	0.0429	0.0509	0.0495	0.0569
0.125	0.3603	0.352	0.3556	0.4372	0.4853	0.6136	0.2763	0.3514	0.2071	0.5272	0.6134	0.5209	0.5226	0.5642	0.4948
0.25	0.4965	0.5548	0.5051	0.9798	0.8294	0.9213	0.6909	0.6142	0.732	1.5081	1.1207	1.2021	1.0326	1.2125	1.1204
0.5	0.8837	0.9816	0.7496	1.2523	1.3523	1.2584	1.0444	1.1497	1.3203	1.6667	1.3458	1.6876	1.4276	1.2988	1.3629
1	1.2704	1.3387	0.9253	1.5338	1.6654	1.619	1.6064	1.7541	1.8941	2.1541	1.5741	1.9911	1.9732	1.6377	2.0411

图 10 五个环境水样的原始数据和在不同 Pb(II)浓度下的 A₆₂₀ 响应

需要说明，本研究所使用的 Pb(II)感应核心元件 PbrR-Ppbr 系统来源于已发表的文献报道，靛蓝显色报告体系也已有相关研究基础^[12]。本项目的创新并非开发全新感应蛋白或报告色素，而是对多个功能模块进行重新组装整合：将灵敏度增强模块 PbrT、特异性纠错模块 MerA 与靛蓝显色回路整合到同一质粒 pPb-indigo-TA 中；同时针对现场快速检测的现实需求，建立简单滤纸过滤的水样前处理方案，不采用灭菌滤膜，最大程度保留天然水体基质；完成淡水、海水多环境点位实地采样、加标实验，并使用 GFAAS 仪器开展平行比对，根据结果对珠三角地区的水源污染情况进行评估，完成从实验室分子构建到真实环境水体的整套验证，为青少年可操作的铅离子现场可视化筛查提供可行方案。

3.4 结论与展望

3.4.1 结论

从最初在超净工作台中进行质粒转化，到最终将离心管带至洪湖公园、香蜜公园、莲花山公园、人才公园及大亚湾沿岸，本研究完成了一次“从实验室到真实世界”的完整科学探索。

本研究设计的全细胞比色生物传感器 TOP10/pPb-indigo-TA 成功实现水体中 Pb(II) 的可视化检测。在实验室标准化测试条件下，该传感器对于 0.125-1μM 的铅离子含量呈现清晰的剂量-效应关系 ($R^2=0.9771$)，随着 Pb(II)浓度升高，工程菌产生的靛蓝增多，溶液蓝色加深，实现了铅离子“被画为蓝色”的直观信号转化。其检出限已达到 GB3838—2002《地表水环境质量标准》所列三类水的要求，可用于现场定性筛查和半定量分析^[10]。

对五种环境水样（四类城市公园地表水及大亚湾海水）的检测结果均为未检出（ $< \text{LOD}$ ），与 GFAAS 所用平行方法的结果正好一致。各样品所含可溶性 Pb(II) 浓度在数值上都低于 I 类水体标准限值（即 $10 \mu\text{g/L}$ 或约 48.3nM ）。这一“阴性结果”并不意味着研究的价值缺失，反而恰好印证了深圳乃至珠三角过去二十年来产业转型与环境治理所取得的显著成效。

在操作层面，质粒提取、感受态制备、转化筛选以及标准曲线构建、水样处理、加标设计、SPSS 的数据统计都属于核心实验内容，由两名高中生自己操作完成。所采用的前处理手段是极为简单的滤纸过滤（不作其他复杂步骤）——这样既保留了原水样的真实组成状态，也更贴近高中生及基层操作人员的实际可操作的条件。

3.4.2 展望

本研究结果表明，合成生物学并非仅存在于教材中的前沿概念，而是高中生可以亲手实践的工具。未来拟从以下三个方向继续推进：

第一，提高“画笔”灵敏度。按现有情况看所用传感器对三类水是适用的，但饮用水要求还不能完全满足。下一步打算利用启动子改良、报告基因多拷贝或信号放大这类方法把灵敏度提起来，使工程菌既可“画出”铅，又可“分辨”更淡的蓝色。

第二，拓展传感器的“色域”。Ppbr 启动子对 Hg(II) 存在交叉响应^[9]，这既是局限也是启示。未来可尝试引入更特异的调控元件，或将传感器扩展为所称的“多色面板”——不同重金属触发不同色素（如红色、黄色），实现一次检测、多种污染同步可视化。

第三，推动“画展”走入基层。所采用的酶标仪及离心设备对基层和普通大众来说仍有一定门槛。目前正在构思一种更加简化的“试剂盒”版本：把冻干式工程菌装于便携管中，加入水样后仅需简易孵育和比色卡对照，即可在野外开展初步筛查。如果这种“高中生也能操作”的快速检测方法能走进社区或学校实验室，就有可能促进更多群体由“旁观者”变为“环境检测的参与者”。

本研究不仅教会我们如何构建一个生物传感器，以及一些列的规范实验操作，更重要的让我们学会如何用科学的方法回应身边的问题。当工程菌在离心管“画”出第一抹靛蓝色时，我们看到的不仅是一个阳性信号，更是合成生物学为未来带来的“看见污染、参与治理”的无限可能。

4. 参考文献

- [1] Reuben A, Elliott ML, Abraham WC, et al. Association of Childhood Lead Exposure With MRI Measurements of Structural Brain Integrity in Midlife. *JAMA*. 2020 Nov 17;324(19):1970-1979.
- [2] Reuben A, Elliott M, Caspi A. Implications of legacy lead for children's brain development. *Nat Med*. 2020 Jan;26(1):23-25.
- [3] Marshall AT, Betts S, Kan EC, et al. Association of lead-exposure risk and family income with childhood brain outcomes. *Nat Med*. 2020 Jan;26(1):91-97.
- [4] 国家统计局. 中国统计年鉴 (2012—2023). 北京:中国统计出版社.
- [5] 王增焕, 林钦, 李纯厚, 等. 珠江口重金属变化特征与生态评价[J]. *中国水产科学*, 2004, 11 (3) : 214-219.
- [6] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 (第四版). 北京:中国环境科学出版社.2002.
- [7] Jeon S, Haynie T, Chung S, et al. Bioinspired, Carbohydrate-Containing Polymers Efficiently and Reversibly Sequester Heavy Metals. *ACS Cent Sci*. 2024 Sep 11;10(9):1782-1788.
- [8] Guo Y, Deng LD, Gong WW, et al. Systematic evaluation of pigment-based whole-cell lead biosensors: challenges in genetic circuit engineering and critical considerations for background noise control. *Front Bioeng Biotechnol*. 2026 Jan 7;13:1744651.
- [9] Guo Y, Hu SY, Wu C, et al. Biosynthesis of Indigo Dyes and Their Application in Green Chemical and Visual Biosensing for Heavy Metals. *ACS Omega*. 2024 Jul 24;9(31):33868-33881.
- [10] Hui CY, Guo Y, Zhu DL et al. Metabolic engineering of the violacein biosynthetic pathway toward a low-cost, minimal-equipment lead biosensor. *Biosens Bioelectron*. 2022 Oct 15;214:114531.
- [11] GB 3838-2002. 地表水环境质量标准. 国家环境保护总局, 国家质量监督检验检疫总局.2002.
- [12] Hui CY, Guo Y, Li LM, et al. Indigoidine biosynthesis triggered by the heavy metal-responsive transcription regulator: a visual whole-cell biosensor. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2021 Aug;105(14-15):6087-6102.

5. 致谢

（研究背景） 本研究选题源于科普内容带来的启发：我们了解到铅对人体尤其是青少年神经系统存在不可逆损伤，传统铅检测依赖大型精密仪器，现场快速筛查存在明显短板，由此萌生能否开发一种可视化检测装置的想法。带着初步构想，我们与校内曾弦老师沟通，在其协助下对接深圳市职业病防治院惠长野老师，正式启动本项目研究。

（指导老师） 在此对两位无偿提供指导的老师致以诚挚感谢意：指导老师①惠长野（深圳市职业病防治院放射生物学检测所所长，与参赛队员无直接关系）；指导老师②曾弦（深圳市高级中学集团国际部生物学教师，与队员为师生关系）。两位老师在课题方向研判、质粒构建方案、数据分析思路提示、论文整体结构修改完善等方面给予专业指导，两位老师均为无偿义务指导，并未直接开展实验操作、处理原始数据或撰写论文正文等。

（成员贡献及分工） 两位成员对本研究及论文产出具有同等贡献，排名不分先后。他们共同完成本研究实验方案设计、实验以及报告全文。具体分工如下：

LUOERIC：负责环境水样的采集与检测实验；负责传感器的质粒转化，Pb(II)剂量—响应曲线全部实验及数据初处理；负责论文摘要、材料与方法部分的撰写及整体修改定稿。

杨梓瀚：对实验所用的环境水样进行预处理；运用 SPSS、GraphPad Prism 开展数据统计与图表制作；负责论文引言、结果与讨论、致谢部分的撰写及整体修改定稿。

（问题回顾） 在研究过程中，我们遇到的困难其实还真不少。

首先是选题阶段的困惑。面对如今种类繁多的传感器，我们一开始不知该从何入手，是选择电化学传感器、光学传感器、生物传感器还是其他种类的传感器？我们希望能找到一种结果可靠直观且检测成本低的传感器，经过咨询指导老师、查阅相关文献并进行反复对比，最终，基于色素报告系统的全细胞生物传感器进入了我们的视野。

其次是结果可信度的验证问题。在实验开始后我们一直有困惑：利用这种方法检测到的结果是否真的可靠？是否应该设置一个对照来证明结果的真实性？经过与老师的多次讨论，我们最终在实验环节中增加了“加标”实验，对检测结果加以验证，这也让结论更有说服力。

此外，我们还面临着一个比较大的挑战，那就是对实验规范化流程和操作的不熟练。此前我们的实验操作仅仅停留在学校实验室的初级层面，对移液枪的规范使用、培养体系的精确配置等细节掌握得都不够扎实。通过开展这次研究，我们经历了一次又一次的失败，也不断地复盘总结。记得第一次实验时，培养完成后培养基居然十分清亮，没有工程菌生长。在导师的引导下，我们逐一排查可能的原因：是不是配置培养体系时操作不够规范？移液枪的使用是否到位？是否存在其他干扰因素？经过一次次调整，我们最终获得了正确的实验结果。

在这里，我们要再一次感谢指导老师耐心细致的引导式指导。正是你们的帮助，让我们学会了如何在失败中寻找原因、在挫折中不断成长。

(AI 使用情况) AI 工具使用声明：所列研究报告有关文献的查找和整理、英文摘要语言的润色乃至某些图表配色都曾用到 AI 类辅助工具（包括 ChatGPT 和 DeepSeek 均为网页版），使用总时长约 2-3 小时。实际应用是：以 AI 帮助搜索、归纳重金属检测法或全细胞生物传感器的有关文献；对中文原稿的个别句子作流畅性改进；提出若干示意图配色的参考方案。文中各项实验、逻辑分析、结论乃至最后的修改都是作者自己完成的，并未使用 AI 进行有关科学的实质性判断或参与构思过程。