

专论与综述

生物传感器在医学中的应用

刘士新 关晓光

(中国医学科学院生物医学工程研究所,天津)

提 要

自 1967 年世界上制出第一只酶电极以来,在近 20 年的时间里,生物传感器的研究开发工作进展迅速,并有数量众多的各种类型的生物传感器问世,广泛应用于医学中的临床生化检查、发酵工业及环境监护等领域。限于篇幅,本文重点对生物传感器在医学中的应用现状进行介绍。

一、导 言

近年来,许多领域都在应用传感器,这些传感器的测定对象主要是物理量。而在医学、生物学或有机化学工业、环境保护等领域中则是以化学物质为测定对象。尤其是为了测定与生物有关的物质、有机化合物等,需要能进行选择性的化学传感器^[1],在这种背景下,一种新型的传感器——生物传感器(Biosensor)应运而生^[2,3]。目前,这种传感器已被用于医学、环境监测、生物及有机化学分析等各个领域。

所谓生物传感器,是指酶、微生物等生物物质与电化学检测装置组合而成的传感器的总称^[4,5]。由于它能利用高度的选择性对特定物质进行定量检测,故适用于医学中的临床生化指标的检查,对判断疾病提供一定的依据。尤其是近年,生物传感器的研究和开发工作又有了长足的进展,世界上涌现出越来越多的发明和专利^[6,7]。

二、生物传感器的原理

生物传感器是定量分析化学成份的化学传

感器的一种,由分子识别部分和信号转换部分组成,其基本构成如图 1 所示。其中,分子识别

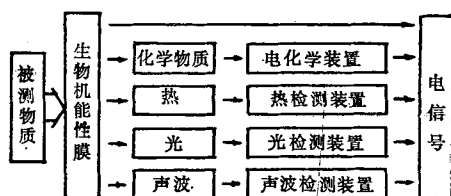


图 1 生物传感器的原理

部分由对物质具有选择性识别功能的酶、微生物、抗原或抗体等生物相关物质组成;信号转换部分由电化学装置、热检测装置、光检测装置等组成。信号转换部分的作用是将生物相关物质同被测物质发生化学反应时所产生的各种变化转换成电信号,一般较常用的方法是采用电化学装置直接转换成电信号。例如,在一种葡萄糖传感器中,其分子识别物质为葡萄糖氧化酶,信号检测采用克拉克(Clark)电极,它能检测伴随还原物质氧化反应所产生的电流。

三、生物传感器在临床检查中的应用

1. 酶电极

酶具有对特定的化学物质选择性催化的功能,故在 40 年代就被作为分析试剂,用于测定有机化合物及生物相关物质。将葡萄糖氧化酶用吸附的方法固定在聚氯乙烯等高分子多孔膜上,然后将该膜密封在克拉克氧电极的表面,就制成了测定葡萄糖的酶电极。酶电极又称酶传感器,其结构如图 2 所示。将该传感器置于含有葡萄糖的样品液中,葡萄糖就扩散到固定在膜上的葡萄糖氧化酶中,发生氧化反应,生成葡萄糖酸内酯:

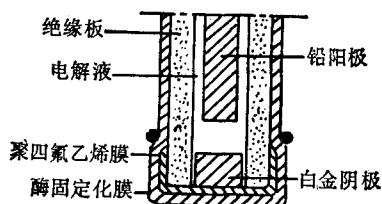
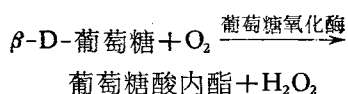


图 2 酶传感器的结构



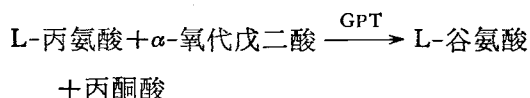
由于在这个反应中消耗了氧,电极的电流值就减小,最后得到一稳定的电流值。由于该值与样品液中的葡萄糖浓度有关,故从该电流值中便可求出葡萄糖的浓度^[1,8]。

在临床检查中,测定体液中的含糖量是诊断糖尿病患者必不可少的临床检查项目之一,采用传感器测量,一个样品只需 20—30 秒,包括清洗电极在内,每小时可处理样品 60 个,其测定范围为 $1-5 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$,一个膜可连续测 300—1000 次^[9]。利用相同的原理和装置亦可制成检测各种糖类、乙醇、有机酸、脂质、尿酸、L-氨基酸、过氧化氢、核酸相关化合物等传感器^[9]。

此外,在临床中检测体液中的尿素含量也是比较常见的。尿素在脲酶的作用下生成氨和碳酸,因此,将脲酶固定化膜与一价的阳离子 H^+ 选择性电极组合就制成了尿素传感器。用该传感器, $10-10^3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 的尿素可在 30 秒—1 分钟的时间内测定出来。但是,由于该传感器易受样品液中 Na^+ 等离子的影响,因此制作了采用脲

酶固定化膜与氨气敏电极组成的尿素传感器,它是采用电位法原理制成的。此外,采用与其相同的原理和装置,亦可制成检测各种 L-氨基酸、中性脂质等各种传感器^[18]。在上述这些传感器中,检测葡萄糖、乳糖、蔗糖、尿酸、L-氨基酸、乳酸、过氧化氢、尿素等传感器已达到实用水平。

目前,酶电极比较引人注目的新用途是检测人体血液中的酶活性。比如,在检查肝功能时, GOT、GPT 等在血液中的浓度是很重要的指标,当肝细胞有急性或慢性炎症时,由于肝细胞内的这些酶将释放到血液中,故通过测定其在血液中的含量就能鉴别肝细胞是否正常^[10]。直接测定血液中的酶含量比较困难,通过测定酶活性就能测出酶的含量。因此,采用酶传感器就能实现这一目的, GPT 在下式反应中起催化作用:



在测定系统中添加一定量的 L-丙氨酸和 α -氧代戊二酸,通过测定丙酮酸的生成速度就能求出 GPT 的活性,为此制成了测定丙酮酸的酶传感器,该种传感器由丙酮酸氧化酶固定化膜和氧电极组合而成。用相同的原理亦可制成测定 LDH、ALP 等酶活性的酶传感器,用该传感器可测定 $0.025-0.181 \text{ Uml}^{-1}$ 范围的 LDH 活性。此外,在微生物鉴定法中采用酶传感器亦可迅速测定血液中的微量氨基酸^[9]。

自 1967 年世界上第一个酶电极^[11]问世以来,至今已研制出上百种酶电极,并用于生物学、医学和环境监测等领域,酶传感器在医学中的用途如表所示^[12]。

2. 免疫传感器^[13,14]

免疫传感器是巧妙地利用抗体对抗原的识别功能和抗原的结合能力设计的,同酶相比,抗体具有识别大分子物质的功能且选择性好,免疫传感器能测定广泛的物质。用免疫分析法能分析蛋白质、肽类激素、药物等大分子物质,免疫传感器是以免疫测定法为基础发展起来的,

表 酶传感器在医学中的用途

传 感 器	酶传感器的结构		应 用
	酶	电 极	
β -D葡萄糖	葡萄糖氧化酶 (GOD)	Pt. 石墨、氧电极	检测血液、尿液中葡萄糖, 诊断糖尿病
乳糖	葡萄糖氧化酶、半乳糖苷酶	Pt	检测食品中乳糖, 临床生化
半乳糖	半乳糖氧化酶	Pt	“乳糖症”的诊断
蔗糖	葡萄糖转化酶、变旋酶、葡萄糖氧化酶	Pt	半乳糖血症的检测
麦芽糖	葡萄糖淀粉酶、葡萄糖氧化酶	Pt	食品分析及临床生化检验
乳酸	乳酸脱氢酶、细胞色素 b_2 、乳酸氧化酶	Pt. 化学修饰 Pt 电极或氧电极	血清检验, 估计循环效率和肌肉疲劳程度
丙酮酸	乳酸脱氢酶、乳酸氧化酶	克拉克氧电极、玻璃碳电极	临床生化检验
葡萄糖-6-磷酸醇	葡萄糖-6-磷酸酶	玻璃碳电极	临床生化检验
胆碱酯酶	醇氧化酶	玻璃碳电极、氧电极	诊断酒精中毒症
	胆碱氧化酶	化学修饰 Pt 电极	对肝、恶性肿瘤、哮喘等病有诊断意义
L-氨基酸(L-苯丙氨酸、亮氨酸、蛋氨酸)	L-氨基酸氧化酶	化学修饰石墨电极	血液、尿液检验, 诊断肝脏疾病
组氨酸	组氨酸裂解酶	氨气敏电极	尿液检验
谷酰胺	谷酰胺酶	氨气敏电极	尿液检验
天门冬酰胺	天门冬酰胺酶	氨气敏电极	临床生化检验
腺苷	腺苷脱氢酶	氨气敏电极	生化检验
草酸盐	草酸脱羟酶	二氧化碳电极	尿液检验
脲	脲酶	氨气敏、氧化钽及 Pd-PdO 电极	血清、尿液检验
尿酸	脲酶	烷基胺化电极、二氧化碳电极	血清检验(痛风病)
胆甾醇	胆甾醇氧化酶	Pt	血清检验(动脉硬化症)
肌酸酐	肌酸酐酶、肌酸酐脱亚胺基酶	氨气敏电极	诊断胃功能疾病
青霉素	青霉素酶	pH 敏感场效应管	医药检验

有非标记免疫传感器和标记免疫传感器两大类^[12], 免疫传感器的结构如图 3 所示。

① 非标记免疫传感器是在传感器的分子识别部位形成抗原抗体复合物, 将反应所引起的变化用电化学装置直接转换成电信号的一种器件。一种方法是将抗原或抗体制成固定化膜, 当膜上发生抗原抗体反应时, 膜电位就会发生变化, 根据这一原理可设计判别血型用的免疫传感器。血型传感器是将血型物质(凝集素)制成固定化膜, 然后将其与电极组合制成, 用其可简便地判别血型。输血用的血液在用于患者

之前, 除需鉴别血型之外, 还需进行梅毒和肝炎检查。梅毒传感器是将心磷脂抗原固定化膜与电极组合而成, 用其可快速检测梅毒抗体血清及正常血清中的梅毒抗体。另一种方法是将抗原或抗体共价结合在电极的表面, 制成表面修饰电极。例如, 将人绒毛促性腺激素(hCG)抗体共价结合在 TiO_2 电极的表面, 当电极表面发生抗原抗体反应时, 该修饰电极的电极电位就发生变化, 由这一电位的迁移则可测出 hCG 的含量^[14,15]。

② 标记免疫传感器通常是以酶标抗原或

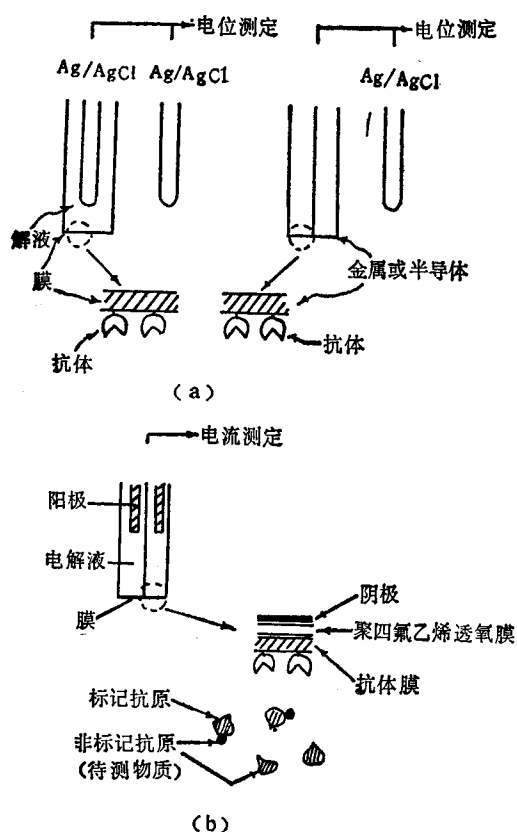


图 3 免疫传感器的基本结构

(a) 非标记免疫传感器 (b) 标记免疫传感器

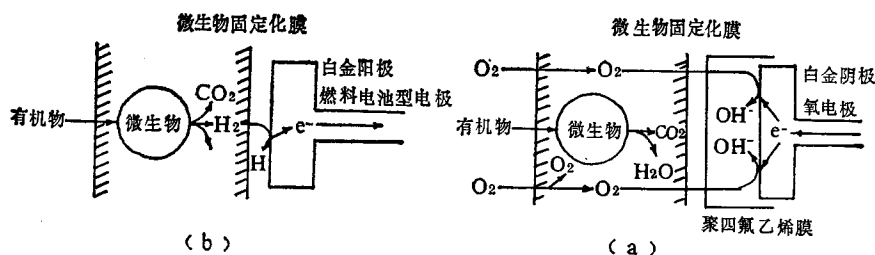


图 4 微生物传感器的原理

(a) 电极活性物质测定型 (b) 呼吸活性测定型

物所摄取,其结果使微生物的呼吸活性增加,该呼吸活性的变化可用装有微生物的氧电极检测出来。后者,当微生物摄取有机物时将生成各种代谢产物,其中含有二氧化碳、氢、甲酸、还原型辅酶等电极活性物质。如对其用燃料电池型电极进行检测就能测出样品液中原有的有机化合物的含量,这是因为有机化合物的浓度与代谢产物浓度之间具有相关性。运用这一原理可

酶标抗体作分子识别部分,克拉克电极作信号转换。酶标免疫传感器依其结构可分为响应膜型和反应器型两种,前者每次测定时需更换膜,而后者则可反复使用。由于酶标免疫传感器使用了具有化学放大作用的酶作标识剂,因而灵敏度比非标记免疫传感器有显著提高,故用其可进行超微量免疫测定。到目前为止,已设计出测定血清免疫球蛋白 G. A. M (IgG. IgA. IgM)、人绒毛促性腺激素 (hCG)、 α -胎儿蛋白 (AFP) 等酶标免疫传感器。尤其是检测 AFP (诊断癌的有效指标) 的免疫传感器,其测定范围可达 10^{-8} — 10^{-10} g·ml, 响应时间约 30 秒,目前,对其应用于检测癌寄予很大期望^[15]。

3. 微生物传感器

微生物同酶相比,既经济又耐用。将微生物在生存的状态下用多孔乙酰纤维素固定成膜,并将其密封在电极表面可制成微生物传感器^[16]。微生物传感器依其原理,可分为呼吸活性测定型和电极活性物质测定型两类,其原理如图 4 所示。前者由好氧型微生物固定化膜与氧电极组合而成。将其置于含有有机化合物的样品液中,有机物就扩散到微生物中并被微生

制成各种微生物传感器^[8]。

将硝化细菌固定多孔纤维素膜上,然后将其与电极密团结合,并用聚四氟乙烯等多孔膜覆盖在微生物膜的表面即制成了所需的传感器,用该传感器可迅速测出体液中的氨。将肌酸酐脱亚胺基酶固定化膜密封在用测定氨的微生物电极上,可制成测定肌酸酐的传感器,用其可测定浓度为 5—1000mg·l⁻¹ 的肌酸酐。将

脲酶固定化膜密封在相同的电极上亦能测定尿素,用该传感器可在 $2.5\text{--}250\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 范围内测定体液中的尿素。

近年,又有人设计了用于检测微生物变异原的微生物传感器,用其可对突变物质进行一次性筛选^[17]。该种传感器,是将 *B. subtilis* 的 DNA 修复缺损株 (Rec^-) 及 *B. subtilis* 的野生株 (Rec^+) 用吸附方法固定化的膜分别密封在电极的透氧膜上构成的。当 *B. subtilis* 的 DNA 修复缺损株 (Rec^-) 在突变物质的作用下 DNA 受损时即死亡,而 *B. subtilis* 的野生株 (Rec^+) 即使突变物质损伤了 DNA,但在 DNA 修复后仍能继续生存。因此,当传感器与突变物质接触时,装有 Rec^- 株的电极上的微生物死亡,致使电极中的电流增加,而装有 Rec^+ 株的电流则不发生变化,故从该电流的差值中就能在很短的时间内测出化学物质的突变性。

4. 酶热敏电阻生物传感器^[18]

酶热敏电阻生物传感器是以酶反应、免疫反应、微生物反应等化学反应中所生成的热量为指标,对特定物质进行检测的一种化学传感器。由于该种传感器由酶与热敏电阻组合而成,故亦称之为酶热敏电阻传感器。该种传感器可将酶直接固定在热敏电阻上,但通常是将酶柱与热敏电阻分开放置。酶反应时所产生的温度变化与底物的浓度、酶活性有关,一般酶反应时所产生的温度变化在 0.01°C 左右,如想对其进行准确测定,必须要有一种能精确检测 10^{-4}°C 温度变化的热敏电阻。此外,该种传感器的恒温性很重要,必须将其控制在 10^{-3}°C 左右。在一般情况下只用一支热敏电阻,但在欲消除恒温槽的温度变化时,需采用两支热敏电阻置于固定化酶柱的前后。但是,在固定化酶柱上有其它蛋白质的非特异性吸附时,亦可导致温度的变化,故不能对酶反应时的热量变化进行准确的测定,在这种情况下尚需并列设置对照酶柱,即在柱内充填失活固定化酶,使通过该酶柱的样品不发生酶反应。由于具有非特异性吸附,如在对照酶柱的出口处置一热敏电阻,就可消除因非特异性吸附而产生的温度变化。

应用该原理,目前已研制出多种酶热敏电阻传感器。其中,检测葡萄糖、尿素的装置已应用于临床生化检查,该种传感器具有能适用于所有各种生化反应的特点。

5. 半导体生物传感器

自 1967 年 Updike^[11] 实现酶电极以来,检测血液等体液成份的传感器发展迅速,现又出现与微电子技术相结合的第三代产品,即近年来,国外开发了多种利用场效应半导体晶体管的生物传感器,引起了临床检验、环境监测和生物化学工业生产等多方面的重视。这种传感器体积小、坚固、易于置入体内进行连续实时测量、易于实现多功能化,它与 IC 技术结合将可能出现智能化的传感器。目前已研制出的半导体生物传感器有酶场效应管和免疫场效应管等^[19]。例如,酶场效应管可用来测定体液中的葡萄糖^[20]等。将免疫抗人体血清蛋白抗体用戊二醛固定到有覆盖膜的场效应管的栅极上,可制成免疫场效应管,用其可检测人体血清蛋白等^[21]。该种传感器的稳定性和重复性尚待今后更进一步提高。此外,亦有同时检测尿素和葡萄糖的多功能场效应管出现^[22,23]。

四、结 束 语

以上对用于医学领域的生物传感器进行了概述。在这些传感器中,酶传感器和微生物传感器已有一部分达到实用水平;免疫传感器尚处于实验阶段,由于其用途广泛,今后将成为重点研究课题。除上述传感器之外,亦有细胞传感器和组织传感器等,由于这类传感器目前仍处于研究阶段,故在本文中没有涉及。

生物传感器的研究和开发工作,国外始于 60 年代,进展速度很快,而我国则近几年才刚刚起步,但已为人们重视。生物传感器具有可直接对生化样品进行分析而不需预处理、且灵敏度高、选择性好、操作简便、测定迅速准确、节省时间等特点,特别是适用于临床实时监护系统和病人自携自检式生化检验装置。预料,在不久的将来,随着科学技术的不断发展,一定会有数量更多、种类更全的生物传感器应用于临床。

参 考 文 献

- [1] 輕部 征夫:《センサ技術》, 3(12), 43, 1983.
- [2] Turner, A. P. F. et al.: *Biosensor*, 1, 85, 1985.
- [3] Vadgama, P. et al.: *Med. Lab. Sciences.*, 42, 333, 1985.
- [4] Gronow, M.: *TIBS*, 9, 883, 1984.
- [5] 森泉豊栄等:《センサ技術》, 5(5), 28, 1985.
- [6] Graham, D.: *Biosensor*, 2, 101, 1986.
- [7] 伊達 晴行:《センサ技術》, 5(11), 29, 1985.
- [8] 严冷石译:《日本的科学与技术》, 3, 8, 1986.
- [9] 輕部 征夫:《医器械学》, 54(6), 288, 1984.
- [10] 高分子学会高分子实验学编辑委员会编:《生体高分子》, 共立出版株式会社, 日本东京, 436—442, 1986.
- [11] Updike, S. J. et al.: *Nature*, 241, 986, 1967.
- [12] 徐远航等:《国外医学临床生物化学与检验学分册》, 6(5), 1, 1986.

- [13] 相澤 益男:《化学の領域》, 增刊 134 号, 69, 1982.
- [14] 相澤 益男: *Z<センサ技術>*, 6(3), 55, 1986.
- [15] Masuo, A.I.: *DENKI KAGAKU*, 50(1), 72, 1982
- [16] 輕部 征夫:《センサ技術》, 3(3), 73, 1983.
- [17] Shuichi, S. K.: *DENKI KAGAKU*, 50(1), 17, 1982.
- [18] 輕部 征夫:《化学工業》, 33(6), 35, 1982.
- [19] 霍纪文:《国外医学生物医学工程分册》, 9(1), 9, 1986
- [20] Mitsubishi, L.: *Japanese Patent Application*, JP 6029657, 1985.
- [21] Kuraray, C.: *Japanese Patent Application*, JP 59203951, 1984.
- [22] 木村 纯等:《センサ技術》, 5(11), 18, 1985.
- [23] Mitsubishi, L.: *Japanese Patent Application*, JP 6039547, 1985.

[本文于 1987 年 1 月 15 日收到]

科技消息

中国科学院神经科学发展战略讨论会纪要

中国科学院神经科学发展战略讨论会在生物科学与技术局主持下,于1987年9月25日至28日在植物研究所北京香山植物园召开。京沪两地有关研究单位和部门的神经科学专家与管理干部 51 人出席了会议。会议期间,北京地区有关研究所的 35 位研究人员到会听了大会报告。

本次讨论会是继 1984 年在上海召开的全院神经生物学工作会议之后,第二次就神经科学的发展动态及我院现状商讨我院神经科学的发展战略。讨论会的目的,是在调研国内外神经科学现状与发展趋势的基础上,贯彻落实我院体制改革精神,就制定我院神经科学的发展战略与具体实施方案提出建议,供院领导和有关部门决策时参考。在院领导及有关各局的重视和关怀下,经过与会代表的共同努力,达到了预期目的。

在开幕式上,李振声副院长发表了重要讲话,学部委员冯德培先生、邹冈先生及政策局张云岗局长作了发言。生物科学与技术局王贵海副局长致开幕词,并在闭幕式上作了总结发言。

大会用两天时间听取了七个报告:

《神经科学的现状和发展》(沈 铿)

《分子神经生物学》(朱培因)

《神经细胞生物学》(徐科、黄世楷)

《发育神经生物学研究的若干动向》

(黄森、周长福)

《系统神经生物学》(郭爱克 刁云程 汪云九)

《行为神经生物学研究的某些进展》

(匡培梓 郭念峰 李德明)

《我国神经生物学现状》(谭德培)

大会还邀请中国科技大学陈霖教授作了题为《认知科学与神经科学》的报告。

在听取了大会报告后,代表们分三组开展了讨论。讨论的内容集中于:

1. 我院神经科学研究的发展战略及部署;

2. 抓哪些有重大科学或社会意义的前沿学科领域,组织跨学科研究;

3. 为实现战略目标,应该采取的措施。

代表们一致认为,本次讨论会的召开十分必要,而且适时。代表们以满腔热情和为推动我院神经科学尽快跨入世界先进行列的强烈责任感,从全局出发发表了很多很好的意见。大家认为:我院神经科学的发展必须点面结合,在突出重点的同时兼顾其他已有较好基础的研究工作;神经科学各领域要相互理解、加强联系,共同促进;神经科学的研究工作必须既要重视基础工作,也要重视可能的应用;为促进神经科学的发展必须重视宣传工作。代表们还一致表达了对神经科学研究人才培养迫切性的关注,并提出了培养人才具体做法的建议。

代表们还就国家科委组织的基础学科调研和我院生物科学“八五”规划中的神经科学部分开展了热烈讨论,提出了许多宝贵意见。还认真、深入地讨论了建立“神经科学专业委员会”的有关事宜。

[生物物理研究所 王谷岩]