

酸调节蛋白可与 GTP 结合,又可与 NaF 结合。结合后均可激活 Ac。

结 语

随着对 Ac 研究的深化,Ac 激活途径和机理相继提出,虽然某些途径是初次提出,由于缺乏有力实验证据而处于假设阶段,然而从中可得到有益的启示:

1. Ac 激活的因子(信息分子),并非一种,而是多种。这种多样性,是由于细胞处于不同生理状态,执行不同生理功能的结果。如在传导神经信息时,就需要释放神经介质,以此激活对神经介质敏感的 Ac;在传递激素信息时,就需分泌激素,来激活对激素敏感的 Ac;在传递抑制细胞分裂的信息时,就需产生抑素来激活 Ac 等等。

2. Ac 与信息分子之间有高度的专一性,这种专一性,有赖于细胞膜上存在的各种特异受体,受体有识别信息、反应信息和传递信息的功能。如某种激素受体只能与相应的激素结合,形成激素受体复合物,进而激活 Ac。同理,抑素受体,只能与抑素结合,形成抑素受体复合物,进而激活 Ac 等等。为何受体有这种高度识别能力,一是与受体和信息分子的特殊结构有

关;二是与受体和信息分子结合后变构有关。由于变构可以传播,从而引起潜在 Ac 激活。

3. 从现在研究的情况来看,各种信息分子激活 Ac 的过程,有一部分具有共同之处,需要 GTP 或/和核苷酸调节蛋白参与。

参 考 文 献

[1] 易健华:《生物化学与生物物理进展》,1981年,第3期,第40页。
[2] Baxter, J. D. et al.: *New Engl. J. Med.*, **301** (21), 1149, 1979.
[3] Kimura, N. et al.: *J. Biol. Chem.*, **252**(11), 3829, 1977.
[4] Nathanson, J. A. et al.: *Scientific American*, **237**, 108, 1977.
[5] Bullough, W. S.: *Biol. Rev.*, **37**, 307, 1962.
[6] Bullough, W. S.: *Biol. Rev.*, **50**, 99, 1975.
[7] 童坦君:《生物化学与生物物理进展》,1980年,第3期,第35页。
[8] Bürk, R. R.: *Nature (London)*, **210**, 1272, 1968.
[9] Kurosky, A. et al.: *Science*, **195**, 299, 1977.
[10] Lai, C. Y. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **74**, 215, 1977.
[11] Cuatrecasas, P. et al.: *Biochemistry*, **12**, 3547, 1973.
[12] Fishman, P. H. et al.: *Science*, **194**, 906, 1976.
[13] 陈云峰:《国外医学》(分子生物学分册),1980年,第6期,第283页。
[14] 上海第一医学院主编:《医用生物化学》,第863页。

[本文于1981年9月14日收到]

生物电化学传感器

喻 致 样

(江西大学生物系)

一、结构与分类

生物电化学传感器是一种将生物体优异的反应特性引入电化学计量中的装置^[1]。它主要是由两部分组成:一是可以选择性识别被探测物质的部分,二是发出电信号的电化学装置部分。因为前者是一种固定生物活性物质的膜,故也认为生物电化学传感器是一种膜传感器^[2,3]。

根据膜固定生物活性物质的不同,生物电化学传感器可分为四类(表1)。

表1 生物电化学传感器的分类

种 类	固定化生物活性物质	电化学装置
酶传感器	固定化酶	电流测定法、电位测定法
免疫传感器	固定化抗原(抗体)	电位测定法
酶免疫传感器	固定化抗体(抗原)酶标记	电流测定法、电位测定法
微生物传感器	固定化微生物	电流测定法

二、酶传感器^[3-6]

酶传感器是由固定化酶膜和电化学装置构成的。酶膜仅能与特定的基质发生反应，而完全不与其它物质发生反应，因而它具有电化学传感器所没有的特异性。

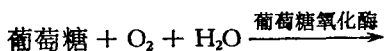
根据电化学性探测方式的不同，又可将酶传感器分为二种：一是电流测定法酶传感器；二是电位测定法酶传感器。前者有检测氧和检测过氧化氢两种方式；后者中用得最广的是离子检测方式。有关酶传感器的分类情况如表 2 所示。

表 2 酶传感器的分类

电化学探测方式		被测定物质	酶	被电化装置探测的物质
电流测定法	检测氧方式	葡萄糖 过氧化氢 尿酸 胆甾醇	葡萄糖氧化酶 过氧化氢酶 尿酸氧化酶 胆甾醇氧化酶	O ₂ O ₂ O ₂ O ₂
	检测过氧化氢方式	葡萄糖 L-氨基酸	葡萄糖氧化酶 L-氨基酸氧化酶	H ₂ O ₂ H ₂ O ₂
电位测定法	检测离子方式	尿素 尿素 L-氨基酸 D-氨基酸 天冬酰胺 L-酪氨酸 疫苗 青霉素	尿素酶 尿素酶 L-氨基酸氧化酶 D-氨基酸氧化酶 天冬酰胺酶 酪氨酸羧基酶 β-糖苷酶 青霉素酶	NH ₄ ⁺ CO ₂ NH ₄ ⁺ NH ₄ ⁺ NH ₄ CO ₂ CN ⁻ H ⁺

1. 检测氧方式的酶传感器 在进行酶反应时，能够产生或消耗氧的基质可用检测氧方式的酶传感器测定，这种酶传感器最典型的结构类型是检测葡萄糖的酶传感器，它是铃木周一等在隔膜式氧电极的基础上改制成的。

隔膜式氧电极是一种电化学装置，由强碱电解质中的阳极 (Pb) 和阴极 (Pt) 构成。在阴极表面覆盖着可透过氧的聚四氟乙烯纤维膜，测定液中的溶解氧通过此膜，并扩散到阴极表面，氧在这里进行电化还原反应，产生还原电流。由电流值可推知溶解氧浓度。铃木周一等在聚四氟乙烯纤维膜的外侧再安装一层固定了葡萄糖氧化酶的胶原膜，由此制成了新型的检测葡萄糖的酶传感器^[5]。因为聚四氟乙烯纤维膜不透水，所以碱性电解液和测定液不能相互通过此膜而混合。当测定液中的葡萄糖接触或扩散到酶膜上时，则会发生如下消耗氧的酶反应：



随着上述反应的进行，减少了聚四氟乙烯纤维膜近旁的含氧量，因而引起氧还原电流值的下降。由所得电流值可以求得葡萄糖的浓度。探测尿酸、胆甾醇、蔗糖等的多种酶传感器也可用上述方式制造。

另外，过氧化氢酶可以将过氧化氢分解成氧和水，故可用固定此酶的膜制作探测过氧化氢的酶传感器^[6]。这种酶传感器可以探测酶反应中增加的氧量。检测氧方式的酶传感器都是电流测定法类型，又因为有聚四氟乙烯纤维等可透过氧的膜介在中间，故具有测定液不直接接触电极的优点。

2. 检测过氧化氢方式的酶传感器 在进行酶反应时，能够产生或消耗过氧化氢的基质，可用检测过氧化氢方式的酶传感器测定。这种酶传感器和检测氧方式的酶传感器一样，同属电流测定法类型，它是根据过氧化氢产生的氧化电流值求得过氧化氢的浓度。根据这种方式，

已制成了探测葡萄糖的酶传感器。在日本、美国市场上出售的“葡萄糖分析器”，是这种酶传感器的商品名。

3. 检测离子方式的酶传感器 若能由酶反应生成或消费铵离子、氢离子、氰离子等时，则可制成利用离子电极进行的电化学检测方式的酶传感器。这种检测方式是属于电位测定法。但因其容易受到共存的相似离子的影响等，故还有各种有待解决的问题。

另外，还进行了用微型酶传感器直接插入细胞中的试验。总之，关于酶传感器，除在基础研究方面取得了很大的成就外，在实用酶传感器的研制及应用等方面也有很大的进展。

三、免疫传感器

酶传感器，虽然适用于检测酶反应基质那样的低分子物质，但对蛋白质等高分子物质就难于检测了，特别是对抗体蛋白质，已有的酶传感器根本就不能进行检测。最近，铃木等研制了免疫传感器(图1)，能够测定特定的抗体

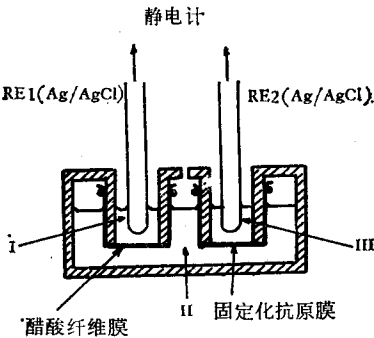


图1 免疫传感器的构造

蛋白质^[7,8]。

免疫反应和酶反应一样，也是生物体内很重要的一类反应。因为抗原抗体反应具有特异性，故免疫分析被广泛地应用于临床检查中。免疫传感器的选择性是由固定化抗原(或抗体)膜产生的。固定化抗原(或抗体)膜能够和对应的抗体(抗原)进行特异的反应，由此引起膜电位的变化，因此

也将这种膜叫做免疫应答性膜^[9]。

譬如，将由心磷脂、胆甾醇和卵磷脂组成的脂质抗原固定到醋酸纤维中制成的膜，能选择性地和含有梅毒患者血清的梅毒抗体反应，由此引起膜电位的变化。这种膜电位称作免疫应答性(感应)电位。

免疫传感器的原理：在免疫应答性膜表面进行的和溶液中抗体(抗原)的反应，会引起膜电位的变化，由膜电位的变化可检测抗原抗体复合体的生成。将固定化抗原膜安装到图1所示的槽中，能制成探测抗体的免疫传感器。槽被分成相互隔开的I、II、III室，II、III室间装上固定化抗原膜，I、II室间装上不含抗原的膜。在I、III室中注入生理盐水(0.9%NaCl)。若在II室中注入生理盐水，则在插入I、III室中的电极间不会产生电位差；若在II中注入含有抗体的生理盐水时，则抗体会在固定化抗原膜的表面进行抗原抗体反应。反应的结果，膜表面会特异性地吸附抗体。因为抗体是带有电荷的蛋白质，故会引起固定化抗原膜上电荷状态的变化，并会产生感应膜电位差。

梅毒的病原体是属于螺旋体属的梅毒密螺旋体(*Treponema pallidum*)。当其侵入人体后，就在体内产生梅毒抗体。它一般是用梅毒血清诊断法来检测，即通过免疫反应分析血清中的梅毒抗体。在检测梅毒抗体的方法中，有用梅毒密螺旋体作抗原的密螺旋体法和用心磷脂作抗原的非密螺旋体法。目前，免疫传感器已用于梅毒血清诊断中，这种传感器的免疫应答膜是固定心磷脂、胆甾醇和卵磷脂之类的脂质抗

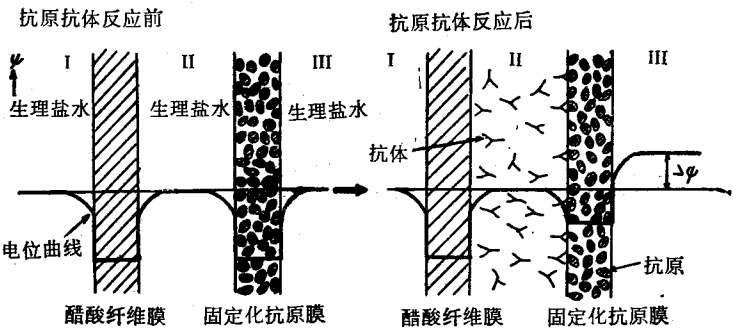


图2 免疫应答性膜电位的产生原理

原而制成的。使用这种膜的传感器也可直接对患者进行检测, 所得结果和血清诊断法的结果相同^[10]。

四、酶免疫传感器

1959年, Berson等首创了放射免疫法。但使用放射性同位素需要特殊仪器, 且有由放射线造成的环境污染。因此, 宫井又用酶标记法代替放射线同位素标记法, 再通过抗原抗体的固定化等创造了酶免疫测定法。这种方法可适用的范围很广。下面举例说明 Mattiasson等^[11]用溴化氰法将人血清清蛋白抗体固定在 Sepharos CL-4B 中, 并装到立柱容器里, 通过用过氧化氢酶标记的已知量的抗原和要测定的未知量的游离抗原的竞争反应法, 可检测血清清蛋白量在 $10^{-13}M$ 以下的试样, 每天能检测 15—30 份样品。其作用原理如图 3 所示。

铃木等^[12]研制了酶免疫传感器(图 4)。在醋酸纤维膜中固定免疫球蛋白(IgG)抗体, 将其覆盖到氧电极上, 通过夹层法(sandwich)使标记了过氧化氢酶的 IgG 抗体作用时, 可在 2

小时内(包括抗原抗体反应时间)检测出样品中的 IgG; 最低检测的含量是 $10^{-4}—5 \times 10^{-7}$ 克/毫升。用同样的方法 Aizawa 等^[13]又研制了检测促性腺激素(标记妊娠的物质)的传感器, 检测一份样品只需 70 分钟。Boitieux 等^[14]用明胶膜固定 B 型肝炎抗原, 将其覆盖到碘电极上, 由此制成了检测 B 型肝炎抗原的传感器。通过夹层法使标记了过氧化氢酶(POD)的抗体作用时, 只用 10 分钟就可检测出体液中的 B 型肝炎抗原。因此, 酶免疫传感器的研制成功, 使激素和蛋白质等的微量成分的分析变得简单方便。

五、微生物传感器

它是由固定化微生物膜和电化学装置构成的^[15]。根据其作用原理分为两种类型: 呼吸测定型微生物传感器, 它是由电化学装置测定固定化微生物呼吸性变化的形式; 和电极活性物质测定型微生物传感器, 它是由电化学装置测定微生物产生的电极活性物质(如氢、甲酸、氢离子、辅酶等)的形式^[16]。下面举例说明这两类微生物传感器的原理。

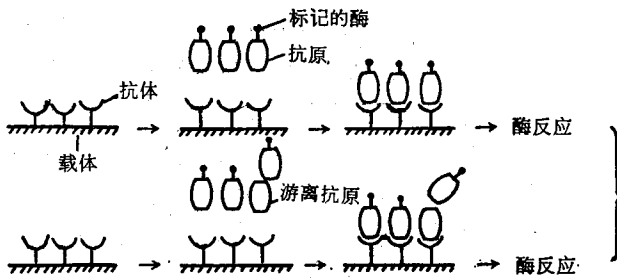


图 3 固定化酶免疫测定法(竞争反应法)的模式图

试样分离出可溶性部分, 以便比较酶活性, 利用吸附状态和游离状态下的酶活性的变化, 测定混合系统原先的酶活性

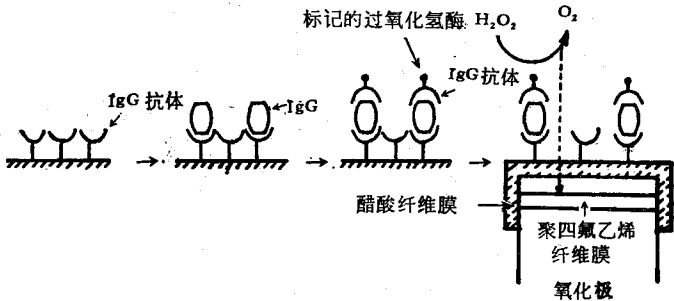


图 4 酶免疫传感器(夹层法)的模式图

图 5 是呼吸测定型微生物传感器的一种, 叫 BOD 传感器, 可用于废水中生化需氧量(BOD)的测定。这种传感器所用的微生物是从活性污泥中分离的混合微生物和丝孢酵母(*Trichosporon cutaneum*)。固定的方法是先将它们固定在醋酸纤维素或骨胶原膜中, 然后安装到氧电极的聚四氟乙烯纤维膜上。把固定了这种微生物的传感器插入饱和溶解氧的缓冲液中时, 则得到图 6 所示的稳定电流值。这种稳定电流值表示微生物本身的吸收水平。在试料液中加入葡萄糖和谷氨酸等营养物质时, 电流值迅速下降, 并得到新的稳定电流值。这说明, 微生物在转化葡萄糖

等营养物质时，因呼吸活性升高而导致氧的消耗，这样一来，也就减少了向电极扩散的氧量，所以电流值减少。但当从液中扩散到固定化微生物的氧量和微生物呼吸所消耗的氧量达到平衡时，则得到新的稳定电流值。不添加与添加营养物质时的两种稳定电流值之间的差，与试料中的有机物浓度（即 BOD）成正比例。根据上述原理，BOD 传感器可适用废水中 BOD 的测定^[17-20]。

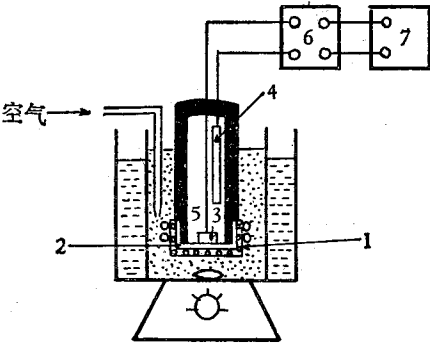


图 5 BOD 传感器

1. 固定化微生物 2. 聚四氟乙烯纤维膜 3. 铂阴极
4. 铂阳极 5. 氢氧化钠电解质 6. 安培计 7. 记录器

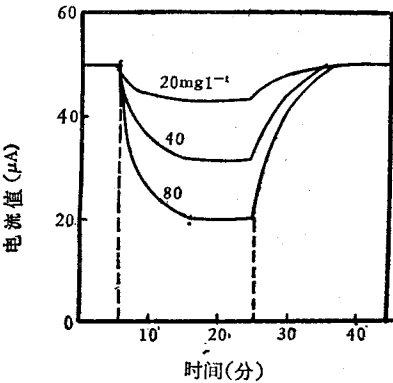


图 6 BOD 传感器的应答曲线

以含有相同数量葡萄糖和谷氨酸的磷酸缓冲液（0.1M, pH7.0）作标准的废水

图 7 是甲酸传感器，属于电极活性物质测定型微生物传感器之类。它是由固定化丁酸梭菌美洲变种（*Clostridium butyricum*）和氢电极组成的^[21]。氢电极是由铂阳极、过氧化银阴极和磷酸缓冲液（0.1M pH7.0）以及聚四氟乙烯纤维膜组成，属燃料电池型电极。将丁酸梭菌美洲变种用琼脂固定在醋酸纤维滤光器上，再

将它装到氢电极的聚四氟乙烯纤维上。这种微生物膜又用聚四氟乙烯纤维膜覆盖，从而构成甲酸传感器。将其插入含有甲酸的试料液中时，甲酸透过聚四氟乙烯纤维膜扩散到菌体内，由这种微生物的氢化酶系统转换成氢。所生成的氢透过聚四氟乙烯纤维膜而被铂阳极氧化，从而得到电流。这种稳定电流值和甲酸浓度（1克/升以下）成正比例。用甲酸传感器能够迅速地测定发酵液中的甲酸^[21]。

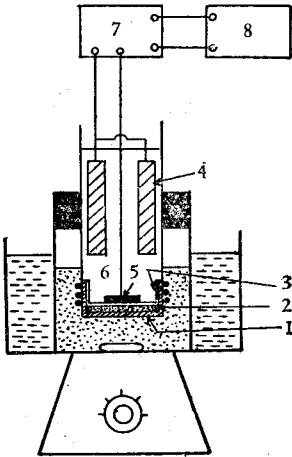


图 7 甲酸传感器

1. 多孔的聚四氟乙烯纤维膜 2. 固定化丁酸梭菌美洲变种 3. 聚四氟乙烯纤维膜 4. 过氧化银阴极 5. 铂阳极 6. 磷酸缓冲液（0.1M, pH 7.0）
7. 安培计 8. 记录器

根据上述原理，已研制了用途不同的多种微生物传感器（表 3）。

表 3 主要列出了应用于发酵工业中的微生物传感器。此外，环境保护、医疗卫生、生物科学等多种领域，如测定毒物、农药、致癌物质、血液成分等的微生物传感器也在进行研究。

* * *

生物电化学传感器是一种新型的自动探测器，它具有选择性强、操作简便、测定迅速、结果准确、易于控制、适用范围广等优点，具有广阔的发展前景。但也有不足之处，如传感器中使用了酶、抗原（抗体）、微生物等蛋白性生命物质，故不能在高温、高压、酸、碱等条件下使用，也不能进行加热杀菌等。这在一定程度上限制了它的使用范围。

表 3 微生物传感器的种类和特性

传感器种类	固定化微生物	电极型式	变化范围(毫克/升)	应答(分)	稳定性(天)
电流法					
葡萄糖	荧光假单胞菌 (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	氧	3—20	10	14
可吸收糖	<i>Brevibacterium lactofermentum</i>	氧	20—200	10	20
醋酸	<i>Trichosporon brassicae</i>	氧	10—200	15	30
氨	硝化细菌	氧	3—45	5	20
甲醇	未鉴定菌	氧	3—22	15	30
乙醇	<i>Trichosporon brassicae</i>	氧	3—30	15	30
制霉菌素	酿酒酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	氧	1.2—800	60	—
致癌物	枯草杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>)	氧	1—10	60	—
BOD	丝孢酵母 (<i>Trichosporon cutaneum</i>)	氧	3—30	10	30
细胞群体		燃料电池	10^6 — 10^{11} *	15	60
维生素 B ₁	发酵乳杆菌 (<i>Lactobacillus fermenti</i>)	燃料电池	10^{-3} — 10^{-2}	360	60
甲酸	丁基梭菌 (<i>Clostridium butyricum</i>)	燃料电池	1—1000	10	30
电位法					
头孢菌素	弗氏柠檬酸细菌 (<i>Citrobacter freundii</i>)	pH	60—500	10	7
烟酸	阿拉伯糖乳杆菌 (<i>Lactobacillus arabinosus</i>)	pH	10^{-2} —5	60	30
谷氨酸	大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	CO ₂	8—800	5	20
赖氨酸	大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	CO ₂	10—100	5	20

* 菌体个数/毫升

参 考 文 献

- [1] 铃木周一, 相沢益男: 《電気化学》, **40**, 273, 1972.
 [2] 铃木周一, 相沢益男: 《化学》, **27**, 1026, 1972.
 [3] 铃木周一, 相沢益男: 《化学の領域》, **29**, 78, 1975.
 [4] 铃木周一, 相沢益男: 《表面》, **13**, 636, 1975.
 [5] 相沢益男、铃木周一: 《電気化学》, **44**, 279, 1976.
 [6] Aizawa, M. et al.: *Anal. Chim. Acta*, **69**, 431, 1974.
 [7] Aizawa, M. et al.: *J. Solid-phase Biochem.*, **1**, 18, 1977.
 [8] 相沢益男等: 《高分子論文集》, 1977.
 [9] Aizawa, M. et al.: *J. Membrane. Sci.*, **2**, 49, 1977.
 [10] 铃木周一, 相沢益男: 《化学工业》, **28**, (9) 77, 1977.
 [11] Mattiasson, B. et al.: *Clin. Chim. Acta*, **86**, 267, 1978.
 [12] Aizawa, M. et al.: *Polym. Preprints Japan*, **28**, 1246, 1979.
 [13] Aizawa, M. et al.: *Anal. Biochem.*, **94**, 22, 1979.
 [14] Boitieux, J. L. et al.: *Clin. Chem.*, **25**, 318, 1979.
 [15] 铃木周一, 轻部征夫: 《化学と工业》, **31**, 661, 1978.
 [16] 轻部征夫, 铃木周一: 《化学の領域》, **32**, 379, 1978.
 [17] 铃木周一, 轻部征夫: 《自动化技術》, **11** (6) 57, 1979.
 [18] Karube, I. et al.: *J. Ferment. Technol.*, **55**, 243, 1977.
 [19] Karube, I. et al.: *J. Solid-phase Biochem.*, **2**, 97, 1977.
 [20] Hikuma, M. et al.: *Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **8**, 289, 1979.
 [21] 铃木周一, 轻部征夫: 《醱酵工学会誌》, **58** (4), 210, 1980.

[本文于1981年7月2日收到]