

## 基于荧光检测的新型细胞传感器

辛文文 王景林\*

(军事医学科学院微生物流行病学研究所, 病原微生物生物安全国家重点实验室, 北京 100071)

**摘要** 主要介绍了一类基于荧光检测的新型细胞传感器, 这类传感器利用免疫细胞表面分子特异性识别、结合抗原的特性和生物(或化学)发光技术, 通过检测荧光信号在数分钟内达到检测病原体或其他抗原的目的。这类传感器的发光原理主要是利用钙离子敏感型化学荧光探针发光, 如 Fluo-4 等, 或钙离子敏感型发光蛋白发光, 如水母发光蛋白、绿色荧光蛋白等。现在已经应用的主要是 B 细胞传感器和肥大细胞传感器。这类传感器具有灵敏度高、检测准确、反应速度快的优点。同时又存在交叉反应、细胞不易保存等不足之处。这类传感器在疾病诊断、环境监测、生物战剂检测等领域具有较大的应用前景。

**关键词** 细胞传感器, 荧光检测, 免疫细胞, 病原体检测

**学科分类号** Q819

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2010.00329

环境污染、食品中毒、大规模疾病爆发<sup>[1]</sup>、生物恐怖袭击<sup>[2]</sup>等严重威胁人类健康和生命事件的发生, 引起了人们对环境监测、食品监控、疾病诊断和生物制剂检测等的重视, 而这些都迫切需要快速、准确检测病原体的方法<sup>[3]</sup>。传统的检测方法主要有形态学鉴定、生物化学方法、免疫测定和核酸检测方法。这些方法的应用都存在着一一定的局限性, 形态学和生物化学方法需要分离、培养微生物, 费时费力, 通常需要几天的时间才能完成。免疫测定方法, 如酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)虽然检测时间较短, 但却是一种操作繁琐的技术, 需要反复地冲洗操作<sup>[4]</sup>。一般来讲, 核酸检测方法具有较高的敏感性, 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术可以检测到 10 个甚至更少微生物的存在, 但其需要较纯净的样品并且不能检测蛋白质<sup>[5]</sup>。

用细胞传感器检测有毒有害物质是一项较新的快速检测技术。这项技术使用细胞作为识别元件, 通过检测细胞生理指标或物理化学指标的变化来检测有毒有害物质。细胞在生理条件下对有毒有害物质发生反应将信号传入细胞内部, 信号传导途径的放大作用增加了检测敏感性, 并且细胞制备方便、培养成本低廉、便于大量制备<sup>[6]</sup>。传统的细胞传感器主要通过检测细胞阻抗、新陈代谢物质、细胞兴

奋性等指标来检测各种生物或化学物质, 这种方法往往需要制作各种电极, 通过电极和细胞紧密耦合在一起来进行检测<sup>[7]</sup>。电极的制备相对复杂, 且与细胞的耦合程度容易受其他因素的影响, 这些都增加了检测的误差。

基于荧光检测的细胞传感器是近几年来发展起来的新型细胞传感器, 这种传感器利用生物或化学发光原理, 检测器不用和细胞直接接触就能检测细胞的活动。这种细胞传感器除具有传统细胞传感器的优点外还具有很多其他的优点。它一般利用特异性抗体或受体分子识别匹配的表位或配体, 所以特异性较高、检测准确。利用光感元件检测, 避免制备复杂的电极, 使检测方便, 细胞无需固定在特殊基质上, 只需在透明容器中就能完成检测。加之细胞信号传导迅速, 信号发生后瞬间就能发光, 使得整个检测过程能在数分钟内完成, 大大缩短了检测的时间。

本文描述了这类新型细胞传感器的基本原理及其特点, 综述了其核心技术进展及其应用进展, 并讨论了它未来的发展方向。

\* 通讯联系人. Tel: 010-66948531

E-mail: wangjl6481@hotmail.com, wangjlin@bmi.ac.cn

收稿日期: 2010-06-23, 接受日期: 2010-10-11

## 1 基于荧光检测的细胞传感器的发光技术进展

基于荧光检测的细胞传感器一般是利用免疫细胞表面特异的受体直接或间接地识别和结合抗原,然后通过膜表面分子相互作用激活细胞内部的信号传导通路,将信号传入细胞内部,引起细胞发生一系列生理生化反应,如胞浆内钙离子浓度的迅速升高、蛋白质磷酸化、特异基因的表达<sup>[8]</sup>。接着细胞内人工添加的或通过基因工程表达的指示剂将细胞内部的信号转化成容易检测的光信号,检测器通过检测光信号的强弱来定性或定量地检测特异性抗原。

信号转换环节在传感器的设计中起着极为重要的作用,现在应用的信号转换技术主要是利用各种钙离子探针将钙离子浓度的变化转变成荧光信号。下面介绍了现今信号转换技术的研究进展。

### 1.1 钙离子敏感型化学荧光探针

钙离子敏感型化学荧光探针是一类多苯环有机化合物,可以和二价金属离子结合,对钙离子具有较高的选择结合性。当其与钙离子结合后在一定波长的光激发下可以发出一定波长的光。钙离子敏感型化学荧光探针有两种形式,一是普通的可溶性盐形式,通常需要通过微注射的方式载入细胞;另一种是将其负电基团结合了乙酰羧甲酯(AM)的酯基形式,可通过被动扩散直接进入细胞,并在细胞内非特异性酯酶的作用下水解,恢复为不能通过细胞膜的游离酸形式<sup>[9-10]</sup>。由于这种钙离子探针使用方便,现被广泛应用于细胞内钙离子的检测。但这种探针存在自发荧光干扰、光损害和光漂白等问题,从而影响细胞的生理活性和代谢状态<sup>[10]</sup>。现在已经开发出许多新型的这种探针,对钙离子具有不同的亲和力,可以测定不同浓度钙离子的变化,有些具有更强的发光效果,低载量使用可以减轻细胞的光损害。

### 1.2 重组钙离子敏感型水母发光蛋白

水母发光蛋白(aequorin)是从维多利亚水母体内获得的一种钙离子敏感型发光蛋白。功能性水母发光蛋白复合物由脱辅基水母发光蛋白(apoaequorin, 189 氨基酸残基, 约 22 ku)和腔肠素(coelenterazine, 423 u)组成。该蛋白质有 3 个钙离子结合位点,当它们结合有钙离子时,该蛋白质就会具有加氧酶活性,从而使荧光素被氧化而释放 CO<sub>2</sub>,并释放出波长约 470 nm 的蓝色荧光<sup>[11]</sup>。重组

脱辅基水母发光蛋白已经可以在哺乳动物、植物、真菌中稳定表达,但该蛋白质必须和腔肠素结合起来才能组成功能性蛋白。腔肠素是可溶性小分子物质,可以自由穿过细胞膜,可以通过在培养液中添加该物质使其进入细胞内与脱辅基水母发光蛋白组成功能性发光蛋白<sup>[12]</sup>。近年来,有研究者对水母发光蛋白多肽链特定的氨基酸位点进行突变,开发出了具有更好发光性能的蛋白质<sup>[13]</sup>。水母发光蛋白不需要其他光源激发就能发出荧光,避免了自发荧光干扰、光漂白的问题,并且无细胞毒性,不会干扰细胞的正常功能。水母发光蛋白在细胞内钙离子检测方面已经得到广泛的应用<sup>[11-12]</sup>。

### 1.3 绿色荧光蛋白

近年来发展了一种基于绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的钙离子探针。GFP 是一种自发光蛋白,和 aequorin 一样都是从同一种维多利亚水母体内分离得到的。这种探针对钙离子的检测是利用一种嵌合蛋白,这种嵌合蛋白由三部分组成,前一部分由蓝色荧光蛋白(BFP)或青色荧光蛋白(CFP)担当荧光能量供体,后一部分由绿色荧光蛋白(GFP)或黄色荧光蛋白(YFP)担当荧光能量受体,中间是钙调节蛋白(calmodulin, CaM)和钙调蛋白结合肽(M13)将前后两部分连接起来<sup>[14]</sup>。其基本原理主要是基于荧光共振能量转移技术(fluorescence resonance energy transfer, FRET)。

这种钙离子探针已经可以表达在许多细胞及亚细胞结构中,与 aequorin 相比 GFP 发出的荧光强度更大,更易于检测,在钙离子检测中已经有许多应用<sup>[15-16]</sup>。但是,这种探针对 pH 较为敏感, pH 的变化影响其荧光效果及对钙离子的亲和力,从而影响检测效果,而且该探针在许多细胞内不能正常表达,因为该蛋白质多肽链在 37°C 下折叠效果不好<sup>[9]</sup>。

以上 3 种检测方法各有不同的优点和限制,这 3 种方法是现今检测钙离子最常用的方法<sup>[14]</sup>,也是检测细胞内信号的有效途径。除了上述通过检测钙离子来检测细胞内信号的方法,另外有文献报道其他检测细胞内信号的方法。有一种利用胞内信号蛋白调控表达荧光蛋白的方法可用于细胞内特定信号的检测,当外源物与细胞表面特异受体分子发生结合后,会造成细胞内特殊信号蛋白的表达上调。在该蛋白质启动子后连接一段荧光蛋白基因,当外源物与细胞表面特异受体分子发生结合后,通过信号通路可使荧光蛋白表达,从而使细胞发出荧光。基于这个原理可以设计出特异性细胞传感器,并通过

细胞发光与否来判断是否存在所要验证的外源物<sup>[17]</sup>.

## 2 基于荧光检测的细胞传感器

### 2.1 B 细胞传感器

Rider 等<sup>[18]</sup>开发了一种快速检测病原体的 B 细胞传感器技术, 并命名为 CANARY (cellular analysis and notification of antigen risks and yields), 该技术利用基因工程改造的 B 细胞, 其与特异性细菌或病毒结合后能在数分钟内发出可检测的荧光. 已经证实该技术具有较快的检测速度、较高的敏感性和特异性. 该技术在临床诊断、生物战剂检测、食品和水的质量监测等领域具有巨大的应用前景.

B 细胞传感器技术首先筛选出的可以对特定抗原产生特定抗体的 B 淋巴细胞株, 然后对其进行基因工程改造<sup>[19]</sup>, 基因工程改造后的 B 淋巴细胞可以在胞浆内高效表达水母发光蛋白 (aequorin), 且在细胞膜表面高效表达膜结合型 IgM (mIgM).

细菌或病毒表面具有多个相同的抗原表位, 可以同时与多个相同的受体结合. 当特定的细菌或病毒与 B 细胞表面多个特异的抗体分子 (mIgM) 结合时, 可使 B 细胞表面 mIgM 发生交联, 从而将信号传入胞内, 使细胞发生一系列生理生化变化, 包括胞浆内钙离子水平的升高、蛋白激酶 C (protein kinases C, PKC)、磷脂酶 C- $\gamma$  (phospholipase C- $\gamma$ , PLC- $\gamma$ ) 的活化, 以及第二信使甘油二酯 (diacylglycerol, DAG) 和三磷酸肌醇 (inositol trisphosphate, IP3) 的产生等<sup>[20]</sup>. 胞浆内钙离子浓度的升高, 导致钙离子敏感的水母发光蛋白发出可检测的荧光. 通过检测荧光的强度来定性或定量地检测样本中的细菌或病毒.

由于 B 细胞表面表达有丰富的表面抗体作为识别元件, 同时细胞内部信号的传导具有天然的放大作用, 使得该细胞传感技术对细菌或病毒的检测具有很高的敏感性. 同时, 抗原抗体的结合具有较高的特异性, 决定了该技术对病原体的检测具有较高的特异性. Rider 等对鼠疫耶氏菌 (*Y. pestis*) 的检测, 浓度在 50 个菌落形成单位 (colony-forming units, CFU) 时仍具有较好的检测效果, 可在 3 min 内检测到菌体的存在. 对鼠疫耶氏菌的检出率, 在 20 CFU 时为 62%, 在 200 CFU 时达 99%, 而其假阳性率只有 0.4% (图 1). 对样品中大肠埃希菌 O157:H7 (*E. coli* strain O157:H7) 的有效检测浓度低达每克样品 500 CFU, 样品准备时间连同检测时间不足 5 min (图 2). B 细胞表面抗体对抗原的识别

所需时间很短, 细胞内信号传导并导致  $\text{Ca}^{2+}$  释放, 引发水母荧光蛋白发光只需要数秒钟的时间, 所以该技术的检测时间大大缩短, 一般可在 5 min 内完成样品的准备和检测. 而现有的免疫检测方法通常需要至少 15 min 的时间<sup>[18]</sup>.

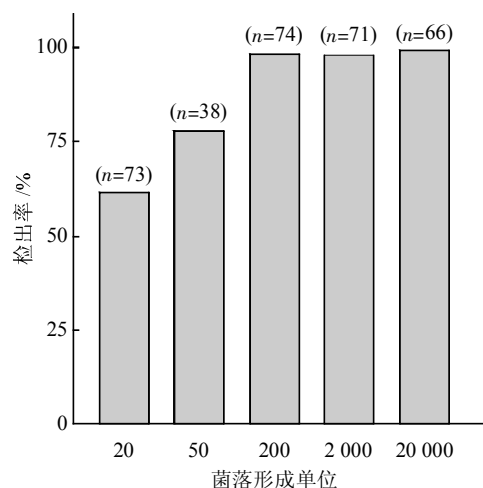


Fig. 1 Sensitivity of the B-cell line specific for *Y. pestis*<sup>[19]</sup>

图 1 特异 B 细胞检测鼠疫耶氏菌的敏感性试验<sup>[19]</sup>

*n* 表示每个浓度下的试验次数.

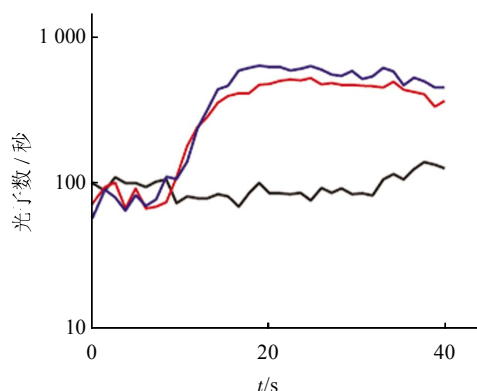


Fig. 2 Detection of pathogens in samples<sup>[18]</sup>

图 2 样品中病原体的检测<sup>[18]</sup>

特异 B 细胞对 O157:H7 可以检测浓度低达 500 CFU/g 的样品. —: 1 000 CFU/g lettuce; —: 500 CFU/g lettuce; —: 0 CFU/g lettuce.

一个 B 淋巴细胞表面只表达针对某一特定抗原的抗体分子, 要使抗体能够发生耦联要求抗原表面必须要有两个或更多个相同的抗原表位. 所以这项技术通常可以有效地检测病毒或具有细胞结构的微生物, 对毒素的检测能力有限, 因为毒素分子表面一般不具备两个或更多个相同的抗原表位. Petrovick 等<sup>[21]</sup>对这种 B 细胞传感器做了改进, 使其

可以检测毒素,而且可以检测核酸,并改进了样品处理技术,可以用于直接检测新鲜血液样品中的抗原.另外,一个B淋巴细胞只能表达针对一种抗原的表面抗体,对不同病原体的检测必须分别构建不同的细胞系.这样增加了检测的准备时间和操作的复杂程度.

## 2.2 肥大细胞传感器

Curtis 等研究表明,肥大细胞传感器在很多病原微生物检测和其他抗原检测方面具有可行性和广泛的潜在用途. Curtis 等<sup>[22]</sup>选用嗜碱性粒细胞白血病(rat basophilic leukemia, RBL)大鼠的肥大细胞作为细胞传感器的信号产生元件,用 Fluo-4 荧光指示剂作为钙离子指示剂标记 RBL 肥大细胞.然后将 CD14 分子和 IgE 抗体的 Fc 端结合,构建 CD14-Fc 嵌合蛋白. CD14 分子是许多细菌细胞壁成分脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的受体,所以 CD14-Fc 嵌合蛋白可以将大肠埃希菌等细胞壁成分含有脂多糖的细菌结合到肥大细胞表面的 Fc 受体上.

肥大细胞表面的 Fc 受体主要是 FcεR I, FcεR I 与单体的 IgE 抗体结合的亲和力非常高,大约是  $10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ . 单个抗原与这种 IgE 结合后并不能激活肥大细胞,只有当结合多价抗原使 IgE 发生交联时才能激活肥大细胞. 这种信号激活肥大细胞并使肥大细胞脱颗粒,释放细胞因子和炎症介质,释放钙离子以及在胞质中产生活性氧(氧自由基)<sup>[23]</sup>, 整个过程在几分钟内就能发生. 当大肠杆菌通过嵌合蛋白和 2~3 个 Fc 受体形成交联复合物时,使肥大细胞激活,胞内释放的钙离子和细胞内的钙离子指示剂(Fluo-4 荧光指示剂)结合,在一定波长的激发下发出荧光,从而达到检测的目的.

肥大细胞表面表达丰富的 Fc 受体,信号传导系统具有较强的放大作用,以及 Fluo-4 指示剂较强的荧光发射强度<sup>[24]</sup>决定了这种肥大细胞传感器具有较高的敏感性. 嵌合蛋白对相关成分的特异性识别决定了此传感器的特异性. 理论上也可直接使用特异性 IgE 代替嵌合蛋白识别特定抗原,同样具有较高的特异性. 和 B 细胞传感器相似,其对相关物质的检测也能在几分钟内完成. 但是,在检测的准备阶段用 Fluo-4 指示剂标记肥大细胞需要 20~30 min 的时间<sup>[25]</sup>,故检测总耗时长于 B 细胞传感器.

肥大细胞传感器克服了 B 细胞传感器一种细胞系只能检测一种抗原的缺点. 对多种抗原的检测

可以用同一细胞系和多种不同的嵌合蛋白或 IgE 抗体配合使用,无需构建不同的细胞系,从而节省了准备细胞系的时间又降低了细胞系制备的难度.

肥大细胞传感器也需要多价抗原使 Fc 受体发生交联才能传导信号,由于 Fc 受体对不同的 IgE 抗体具有同样的结合力,理论上可以使肥大细胞表面结合不同的 IgE 抗体,抗原分子上两个不同的抗原表位和对应的 IgE 抗体结合也能导致肥大细胞表面受体的交联,从而克服了 B 细胞传感器要求抗原表面必须要有两个或更多个相同的抗原表位的缺点,所以肥大细胞传感器理论上具有检测毒素分子的能力,因此具有更大的应用潜力.

## 3 展 望

基于荧光检测的细胞传感器是一种新型细胞传感器,利用生物或化学发光原理,通过检测荧光来检测细胞的活动. 现在主要用于已知微生物或其他已知抗原的检测,具有特异性较高、检测方便、灵敏度高、检测耗时短的优点,但也存在着一定的不足.

以抗体为基础的检测方法都存在抗体与抗原交叉反应的问题,针对每种抗原制备特异性强且交叉反应少的单克隆抗体是未来应着重研究的领域. 细胞的存储和活性保持也是值得深入研究的方面,怎样让细胞在常温条件下维持活性并能长时间保存是现今细胞传感器应用面临的巨大挑战. B 淋巴细胞和肥大细胞是这类传感器目前所采用的主要细胞,关于其他细胞的文献报道较少,未来可以扩大细胞的采用范围,筛选特性更优越的细胞用于传感器的构建.

由于这类细胞传感器利用已知的抗体识别检测抗原,故只能检测已知的抗原. 然而,近年来新发传染病的爆发威胁着人类的健康和生命,对未知生物威胁的检测越来越受到人们的重视,对未知生物威胁的及早发现有利于采取有效的应对措施<sup>[26]</sup>. 开发能检测未知生物威胁的传感技术是未来的发展方向之一. 免疫细胞的细胞表面有着丰富的模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRR)<sup>[27]</sup>,能非特异性识别结合抗原,理论上可用于检测未知的生物威胁. Banerjee 等<sup>[28]</sup>开发了一种新型的细胞传感器,可以确定未知物质是否有细胞毒性. 这项技术利用 B 淋巴细胞作为敏感元件,通过检测 B 淋巴细胞释放的碱性磷酸酶的含量来确定待检测物是否有细胞毒性. 这种细胞传感器虽然尚未得到广泛应

用, 但其设计思路值得借鉴。

光信号是一种比较容易检测的信号, 现在应用的信号转换技术主要是利用各种钙离子探针将钙离子浓度的变化转变成荧光信号。由于检测信号的单一不能完全表征细胞的生理生化变化, 细胞内信号传导途径多种多样, 其中有许多蛋白质和生物小分子的参与, 随着技术的发展可以开发新型的信号转换技术, 能同时检测细胞内的多种信号, 以扩大这类细胞传感器的应用范围。许多纳米材料, 如碳纳米管(carbon nanotubes)、金纳米壳球体(gold nanoshells)和量子点(quantum dots), 它们具有独特的电学和光学特性可以被用来检测细胞内的生物分子浓度<sup>[29]</sup>。

为适应未来高通量检测的需求, 开发高通量的细胞检测技术也是未来的发展方向之一<sup>[30]</sup>。将细胞传感器技术和生物芯片技术结合开发细胞芯片传感器, 阵列化的免疫细胞群将细胞传感器高灵敏度的优点和生物芯片高通量检测的优点结合起来, 具有广阔的发展前景。

### 参 考 文 献

- [1] Oyana T J, Dai D, Scott K E. Spatiotemporal distributions of reported cases of the avian influenza H5N1 (bird flu) in Southern China in early 2004. *Avian Dis*, 2006, **50**(4): 508–515
- [2] Radosavljevic V, Belojevic G. A new model of bioterrorism risk assessment. *Biosecur Bioterror*, 2009, **7**(4): 443–451
- [3] Notingher I. Raman spectroscopy cell-based biosensors. *Sensors*, 2007, **7**(8): 1343
- [4] Abubakar I, Irvine L, Aldus C F, *et al.* A systematic review of the clinical, public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faeces and food. *Health Technol Assess*, 2007, **11**(36): 11–15
- [5] Lim D V, Simpson J M, Kearns E A, *et al.* Current and developing technologies for monitoring agents of bioterrorism and biowarfare. *Clin Microbiol Rev*, 2005, **18**(4): 583–607
- [6] Ziegler C. Cell-based biosensors. *Fresenius' J Anal Chem*, 2000, **366**(6): 552–559
- [7] Liu Q, Huang H, Cai H, *et al.* Embryonic stem cells as a novel cell source of cell-based biosensors. *Biosens Bioelectron*, 2007, **22**(6): 810–815
- [8] MacFarlane A W T, Oesterling J F, Campbell K S. Measuring intracellular calcium signaling in murine NK cells by flow cytometry. *Methods Mol Biol*, 2010, **612**: 149–157
- [9] Rudolf R, Mongillo M, Rizzuto R, *et al.* Looking forward to seeing calcium. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, **4**(7): 579–586
- [10] 周 晖, 毛 萌. 不同光激发钙荧光探针的性质、选择标准及测定过程的标准化. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, **11**(009): 1750–1754
- [11] Zhou H, Mao M. *J Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2007, **11**(009): 1750–1754
- [12] Kendall J M, Badminton M N. *Aequorea victoria* bioluminescence moves into an exciting new era. *Trends Biotechnol*, 1998, **16**(5): 216–224
- [13] Chiesa A, Rapizzi E, Tosello V, *et al.* Recombinant aequorin and green fluorescent protein as valuable tools in the study of cell signalling. *Biochem J*, 2001, **355**(Pt 1): 1–12
- [14] Dikici E, Qu X, Rowe L, *et al.* Aequorin variants with improved bioluminescence properties. *Protein Eng Des Sel*, 2009, **22**(4): 243–248
- [15] Solovyova N, Verkhatsky A. Monitoring of free calcium in the neuronal endoplasmic reticulum: an overview of modern approaches. *J Neurosci Methods*, 2002, **122**(1): 1–12
- [16] Filippin L, Abad M C, Gastaldello S, *et al.* Improved strategies for the delivery of GFP-based Ca<sup>2+</sup> sensors into the mitochondrial matrix. *Cell Calcium*, 2005, **37**(2): 129–136
- [17] Pozzan T, Rudolf R. Measurements of mitochondrial calcium *in vivo*. *Biochim Biophys Acta*, 2009, **1787**(11): 1317–1323
- [18] 王 平, 等. 细胞传感器. 北京: 科学出版社, 2007: 279–281
- [19] Wang P, *et al.* *Cell-based Biosensor*. Beijing: Science Press, 2007: 279–281
- [20] Rider T H, Petrovick M S, Nargi F E, *et al.* A B cell-based sensor for rapid identification of pathogens. *Science*, 2003, **301**(5630): 213–215
- [21] Rider T H, Petrovick M S, Nargi F E, *et al.* A B cell-based sensor for rapid identification of pathogens: Supporting Online Material. *Science Online* 2003/07/12.5630,301, <http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/301/5630/213/DC1>
- [22] Engelke M, Engels N, Dittmann K, *et al.* Ca (2+) signaling in antigen receptor-activated B lymphocytes. *Immunol Rev*, 2007, **218**: 235–246
- [23] Petrovick M, Harper J, Nargi F, *et al.* Rapid sensors for biological-agent identification. *Lincoln Laboratory J*, 2007, **17**(1): 63–84
- [24] Curtis T, Naal R M, Batt C, *et al.* Development of a mast cell-based biosensor. *Biosens Bioelectron*, 2008, **23**(7): 1024–1031
- [25] Suzuki Y, Yoshimaru T, Matsui T, *et al.* Fc epsilon RI signaling of mast cells activates intracellular production of hydrogen peroxide: role in the regulation of calcium signals. *J Immunol*, 2003, **171**(11): 6119–6127
- [26] Gee K R, Brown K A, Chen W N, *et al.* Chemical and physiological characterization of fluo-4 Ca (2+)-indicator dyes. *Cell Calcium*, 2000, **27**(2): 97–106
- [27] Kuo J, Hariri O R, Bondar G, *et al.* Membrane estrogen receptor-alpha interacts with metabotropic glutamate receptor type 1a to mobilize intracellular calcium in hypothalamic astrocytes. *Endocrinology*, 2009, **150**(3): 1369–1376
- [28] Normile D. Avian influenza. Is China coming clean on bird flu?. *Science*, 2006, **314**(5801): 905
- [29] Lin H, Charles P, Andreadis J, *et al.* Cholera toxin-induced modulation of gene expression: elucidation *via* cDNA microarray for rational cell-based sensor design. *Analytica Chimica Acta*,

- 2002, **457**(1): 97–108
- [28] Banerjee P, Lenz D, Robinson J P, *et al.* A novel and simple cell-based detection system with a collagen-encapsulated B-lymphocyte cell line as a biosensor for rapid detection of pathogens and toxins. *Lab Invest*, 2007, **88**(2): 196–206
- [29] Livingston A D, Campbell C J, Wagner E K, *et al.* Biochip sensors for the rapid and sensitive detection of viral disease. *Genome Biol*, 2005, **6**(6): 112
- [30] Skottrup P D, Nicolaisen M, Justesen A F. Towards on-site pathogen detection using antibody-based sensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 2008, **24**(3): 339–348

## Novel Cell-based Biosensors Based on Measurement of Fluorescence

XIN Wen-Wen, WANG Jing-Lin\*

(State Key Laboratory of Pathogens and Biosecurity, Institute of Microbiology and Epidemiology,  
Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

**Abstract** The diagnosis of infectious diseases, the monitoring of environment and detection of potential bioterrorism agents greatly require a pathogen identification method with better combined speed, accuracy and sensitivity. Here, a kind of novel cell-based biosensors based on measurement of fluorescence is introduced, which could detect pathogens and other antigens by measuring fluorescent signals within minutes. It is based on the specifically bind character of antigens and antibodies and the theory of bioluminescence or chemiluminescence. The cell could emit light *via* calcium chemically fluorescent indicators such as Fluo-4, or calcium fluorescent proteins such as aequorin, green fluorescent protein. B cell-based biosensors and mast cell-based biosensors have been applied in some fields. This kind of biosensors has advantages in combined sensitivity, accuracy and speed, while it also has disadvantages such as cross reactivity and problems with cellular storage and maintenance. This is a promising kind of biosensors applied in the diagnosis of infectious diseases, the monitoring of environment and detection of potential bioterrorism agents.

**Key words** cell-based biosensors, measurement of fluorescence, immunocyte, detection of pathogens

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2010.00329

---

\*Corresponding author.

Tel: 86-10-66948531, E-mail: wangjl6481@hotmail.com, wangjlin@bmi.ac.cn

Received: June 23, 2010 Accepted: October 11, 2010