

# 电化学生物传感器及其在临床检验中的应用

严桂凤 张庭卿 (江苏省肿瘤防治研究所检验科, 南京 210009)

鞠焜先 陈洪渊 (南京大学化学系, 南京 210008)

生物传感器是近年来分析化学, 生物化学及临床医学研究的重要课题, 它提供了现场在体分析的可能性, 对于活体快速测量具有重要的意义。此领域已成为化学和生物工作者研究的热点之一, 在生物和医学领域中的应用越来越活跃, 并具有很大潜力。本文讨论电化学生物传感器, 并对其在近年来的发展及其在临床检验中的应用作一简要综述。

## 一、电化学生物传感器的发展和类型

自从 1962 年第一支酶电极问世以来, 数以百计的各种电化学生物传感器相继出现, 使得微生物传感器、细胞器传感器、组织传感器和免疫传感器等在七十年代中得到蓬勃发展。八十年代微电极的研究以及生命科学的需要, 使电化学生物传感器向微型化发展, 它更适合于在体分析。计算机及流动注射分析联用技术的成熟, 使它在临床分析中发挥越来越大的作用, 目前不少自动检测的仪器都离不开电化学生物传感器。

尽管电化学传感器发展迅速, 每年都有数百篇论文发表, 但总不外乎以下几种:

1. 酶电极传感器 它包括酶电极、细菌电极亦称微生物电极、组织电极及细胞器电极, 是目前研究最广泛并部分实用的电化学生物传感器。最早提出的酶电极是 Clark 氧电极, 它利用葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化反应来检测氧量的变化。酶电极的制作关键是要制出固相化的酶膜。酶膜的制备方法主要有共价法, 交联法, 包埋法和吸附法四种。细菌电极是直接利用酶源——细菌作为生物催化层的电极, 其原理与酶电极相同。将动植物的某些器官切片与内敏感电极组合即可做成组织电极, 它具有制备简单, 灵敏度高, 寿命长等优点。

2. 免疫传感器 它包括免疫电极和单克隆分子电极。它是利用抗体(或抗原)对抗原(或抗体)的识别功能而研制成的生物传感器。

3. 离子选择性电极及药物电极 它是一种对各种离子及药物有选择性识别功能的生物传感器。

4. 微伏安电极 微电极具有很高传质速率, 低的 IR 降和 RC 常数, 它的响应速度很快, 体积特别微小, 是进行动态监测活体组织物质变化的优异的传感器。

5. 化学修饰电极 它是电极改性的一个方面, 在电极表面接上有特征性的一系列功能团, 进一步提

高了测定的灵敏度和选择性, 对抗坏血酸、多巴胺和生物酶等生物物质的测定早有报道。

## 二、电化学生物传感器的设计和测定原理

电化学生物传感器的构造可分成两部分: 其一是分子识别或感受器, 由具有分子识别本领的生物物质(如酶、微生物、组织、抗体或抗原等)组成, 分子识别与几个生物物理化学过程有关, 如酶促反应、免疫反应及离子在膜中的选择性传输。它们引起了电信号的变化, 从而可以选择性地测定。其二是测定信号的转换。

电化学生物传感器的测定主要包括电位法、电流法和电容法。电容法是基于生物活性物质引起电极双电层电容的变化来检测的, 它在免疫电化学分析中具有重要的前景。电位法和电流法不同是前者在它的表面存在电位平衡, 通过测量电极电位来检测, 而后者是在电极上加上一一定的电压, 在电极表面发生氧化还原反应, 产生的电流与反应物质的浓度成正比, 通过测定电流来检测物质的量。测定方法的选择是传感器结构设计的基本依据, 而测量方法的选择在很大程度上取决于生化过程的本质。

免疫传感器包括非标记免疫传感器和标记免疫传感器。非标记免疫传感器是通过测定溶液中的抗原与电极上的抗体结合时引起电极表面膜电位的变化来检测的。标记免疫传感器具有放大作用, 它是在测量前在待测溶液中添加一定量的酶标记抗原, 抗原与过氧化物酶结合形成复合体, 与非标记抗原竞争与电极上的抗体结合, 取出电极洗去游离抗原再浸入含标记酶的底物  $H_2O_2$  溶液中, 测定  $O_2$  的生成速率即可求得非标志抗原的含量。

## 三、电化学生物传感器的应用特点

归纳起来电化学生物传感器具有下列特点:

1. 适合于生物医学家对生物体液中的物质活度的需要, 它响应直观, 通过计算机联用, 可直接读出生物物质的浓度或活度。

2. 由于它具有分子识别的功能, 具有很强的选择性, 操作简便。在许多测定中, 样品无需复杂处理, 可连续监测患者的血液浓度, 易于自动化监测。

3. 测定速度快, 电讯号的输出和测定具有快速响应, 通过与计算机的接口还可进行多元素同时测定。

4. 试样用量少, 可以将敏感探头微型化, 只需

微升级样品即可完成生化分析, 如 Beckman 公司的 E4A 型  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Cl^-$ 、 $Na^+$  及  $CO_2$  分析仪仅需 50  $\mu$ l 样品, 每小时可测 100 个样品, 这为临床分析提供了优越的条件。

5. 体内物质的直接测量, 将微小探头埋在体内, 可以指示体内物质的变化特别是药物反应和代谢产物, 神经递质的测量。这与人类健康长寿密切相关。

6. 灵敏度高, 例如 AFP 免疫电极可测定低达  $10^{-8} \sim 10^{-10}$  g/ml 的浓度。

#### 四、电化学生物传感器在生物及临床检验中的应用

虽然电化学生物传感器的发展还处在初级阶段, 但由于它的微型化及其它技术的配合应用, 使它在生物及临床检验中发挥愈来愈大的作用, 目前已试行于临床诊断, 具体表现在下列几个方面。

1. 血气分析 血液中的 pH,  $pO_2$ ,  $pCO_2$  等, 可以体现呼吸器的功能。  $O_2$  电极,  $CO_2$  电极及玻璃电极都是比较成熟的电极, 在许多分析仪器上早已用于临床检验。例如, Beckman 公司的 EAA 分析仪, Orion Research 公司的 Space Stat 血液分析仪用  $CO_2$  及玻璃电极测定血液中的  $CO_2$  及 pH。

2. 血液生物化学 目前有许多仪器用电化学传感器来检测  $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Cl^-$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $NH_3$ 、葡萄糖、乳酸、尿素、肌酸、尿酸及氨基酸等, 如 Orion 1020 血液电解质分析仪, IL504/508 高速电解质生化系统及 Beckman E2A/E4A 电解质分析仪等。

3. 在体测定 伏安微电极可以直接植入体内进行测量, 这项工作正在研究中, 主要是体内植入的外科手术困难。微型的选择性电极可直接测定血浆、脑脊液及细胞间的液体中的  $Li^+$ 、 $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $H^+$  等。最近又出现了一种可以监测临床危重病人的化学传感器, 将它放在皮肤上即可直接进行测定。此外, 一种新的体内微量渗析取样生物传感器也有报道, 它通过模拟毛细管作用, 在待测定部位(如脑、肝、肾等部位)植入一支直径通常在 0.2~0.5 mm 的渗透膜制的人造血管式探头连续收集和抽取探头内的细胞间液,

已被用来测定神经递质、代谢产物、氨基酸、嘌呤、肽、葡萄糖及乳酸等。

4. 免疫检测 免疫生物传感器可用于血清、蛋白质代谢的异常诊断。非标记免疫电极的实例之一是梅毒检测用的电极, 另一种利用血型物质(抗原)制成血型检验的免疫电极, 此外, 将人绒毛膜促性激素(HCG)的抗体修饰在  $TiO_2$  电极表面上, 可用于 HCG 的定量测定。标记免疫电极已用于测定免疫球蛋白 G、A、M、hCG 及 AFP, 并且在 30 s 内可测 AFP 的浓度低达  $10^{-8} \sim 10^{-11}$  g/ml。此外, 用固化人体球蛋白膜和场效应管构成的酶免疫微型传感器已有报道。用附在固化抗原薄膜表面的单克隆抗体对  $\mu$ mol 级 2,4-二硝基苯可产生电位响应。电容免疫电极可对免疫组分直接检测, 测定一些蛋白质大分子或其它物质分子, 灵敏度也达  $1 \times 10^{-9}$  g/ml。

5. 葡萄糖检测 用葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化反应来测定葡萄糖的研究已很成熟, 目前又出现了一些新型的葡萄糖传感器, 已用于临床分析。用于临床分析的微型葡萄糖传感器已见报道, Jamiya 在改性的微电极上固定了葡萄糖酶, 可测 0.056~5.6 mmol/L 的葡萄糖。

6. 氨基酸系统 利用动植物组织或氨基酸氧化酶固定在  $NH_3$  电极或电位式电极上, 可以对各种氨基酸进行测定, 例如用螃蟹触角制成的电极可测定  $1 \times 10^{-3}$  mM 的氨基酸, 用木兰花根固定在  $NH_3$  电极上测定天冬氨酸及 L-谷氨酸的检测限可达  $1 \times 10^{-5}$  和  $8 \times 10^{-6}$  mol/L。

#### 五、结束语

电化学生物传感器在近二十年中取得了可喜成就, 预示着广阔的发展前景; 但它的研究尚处在发展阶段。许多传感器在近期内离商品化尚有距离, 它在临床等领域的应用, 大大有利于其发展。它的选择性, 多功能化, 微型化是一个开发途径。此外缩短分析时间, 延长使用寿命, 提高工作效率, 实现自动化分析也是它的一个发展方向, 不久的将来它将成为分析化学及临床检验中最有生命力的一个新分支。

(1991-12-09 修回)

### 新 书 征 订

由本刊主编杨运昌教授编著的“现代临床医学检查及应用”一书已由东南大学出版社出版。本书内容包括临床检验、生化、微生物、免疫、药物监测、核医学等检查及应用, 书中图文并茂, 较全面地反映了现代临床医学检查的新技术和新方法。本书读者对象为临床医生、护士、检验等工作人员, 也可作为医学院校学生、教师的参考书。本书为 32 开本, 约 26 万字, 定价每册为 4.95 元(需邮寄者邮费另收 0.50 元)今年 3 月出书。

需订购者请将书款由邮局汇至南京市中央路 42 号, 临床检验杂志编辑部转蒋仁礼同志收, 邮编 210008。请详细写明购书单位、姓名和邮编, 以便寄书, 发票随书寄出, 请在汇款附言中写明购书数量。