

生物医学工程导论

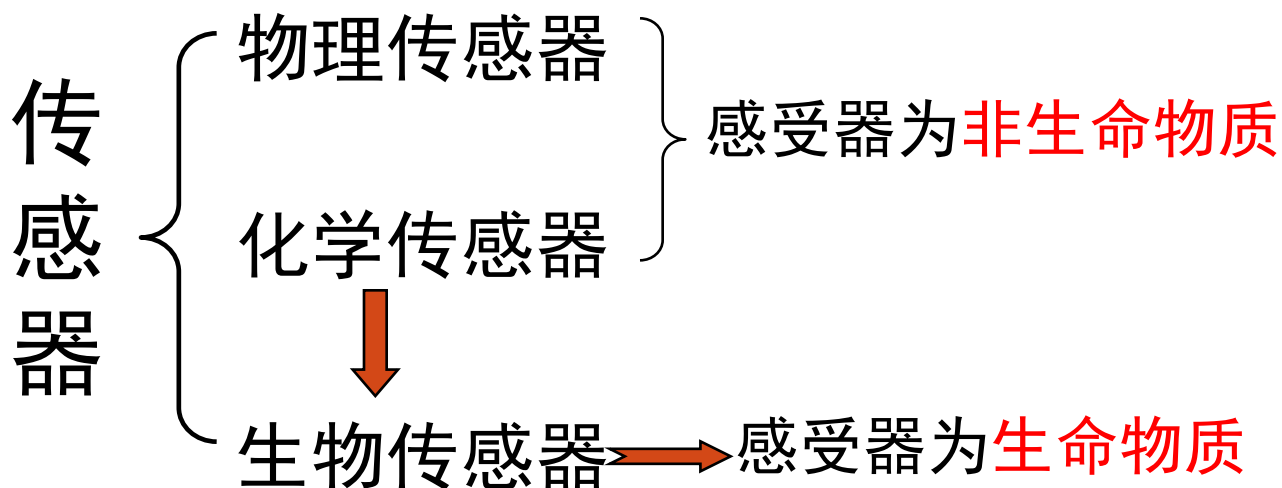
第六章 生物医学传感器技术

一、概述

传感器（sensor，transducer）

——能感受规定的被测量并按照一定的规律转换成可用输出信号的器件或装置，它通常由敏感元件和转换元件组成。

按检测对象划分

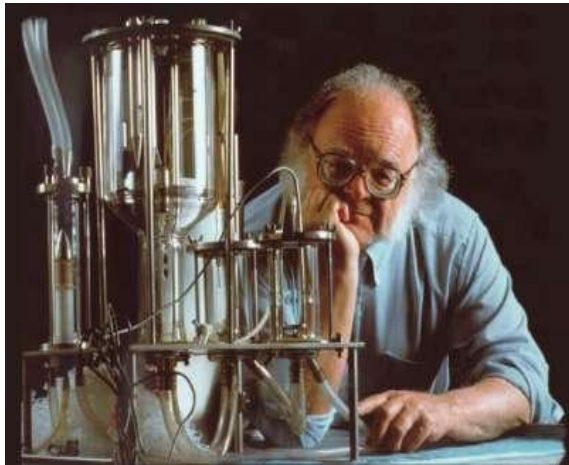


二、生物传感器定义

生物传感器是以固定化的生物材料作为**敏感元件**，与适当的**转换元件**结合所构成的一类传感器。

生物传感器一般是在基础传感器上再耦合一个生物敏感膜，或者说生物传感器是半导体技术与生物工程技术的结合，生物敏感物质附着于膜上，或包含于膜中，被测量的物质经扩散作用进入生物敏感膜层，经分子识别，发生生物学反应（物理、化学变化），其所产生的信息可通过相应的化学或物理换能器转变成可定量、可处理、可显示的电信号，就可知道被测物质的浓度。

生物传感器是用生物成分作为感受器的传感器。



使用溶解性
酶，难重复

酶具有识别特定分子的能力

↓ 1962年，
L.C.Clark

酶与电极结合起来测定酶的底物

↓ 1967年，Updike
和Hicks

固定化葡萄糖氧化酶（GOD）+ 氧电极

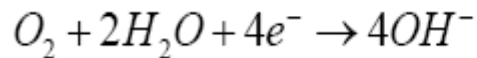
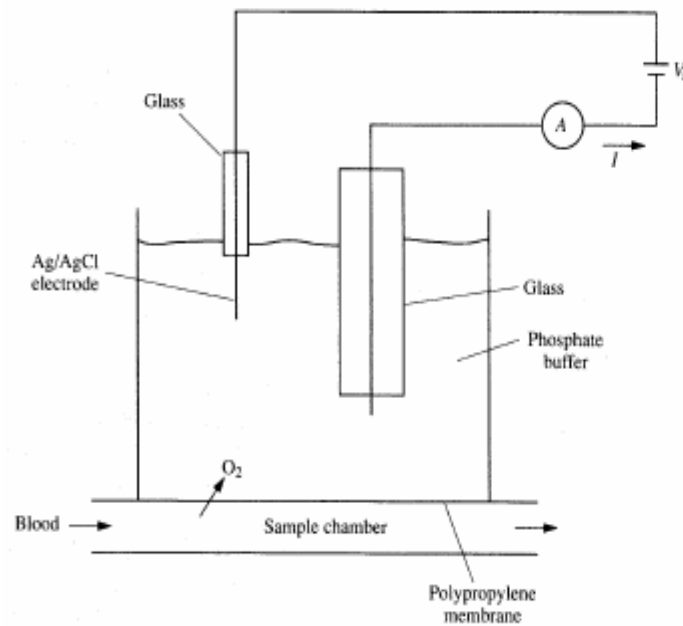
↓
葡萄糖电极

第一个酶电极

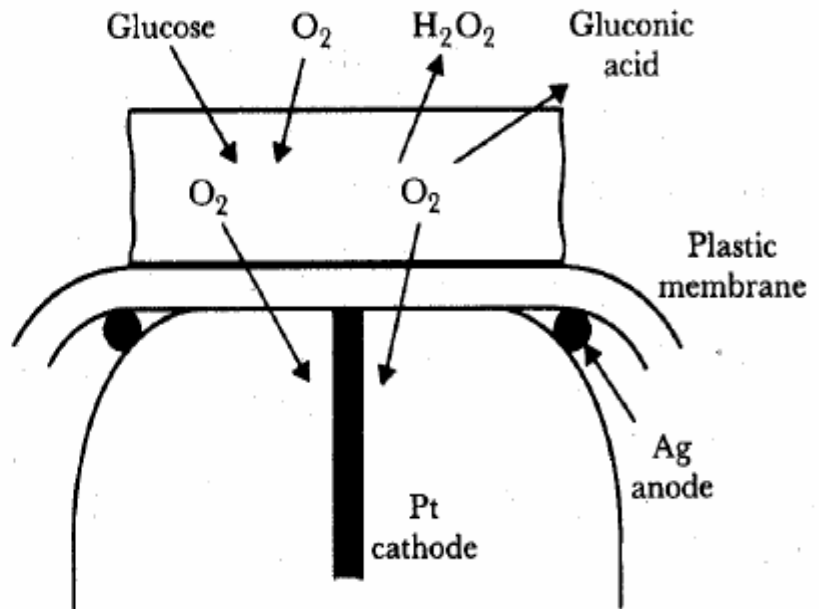
1956, L.C. Clark : *oxygen electrode*

1962, L.C. Clark : biosensor concept

(electrochemical sensor + enzyme transducers as membrane = *enzyme electrode*)

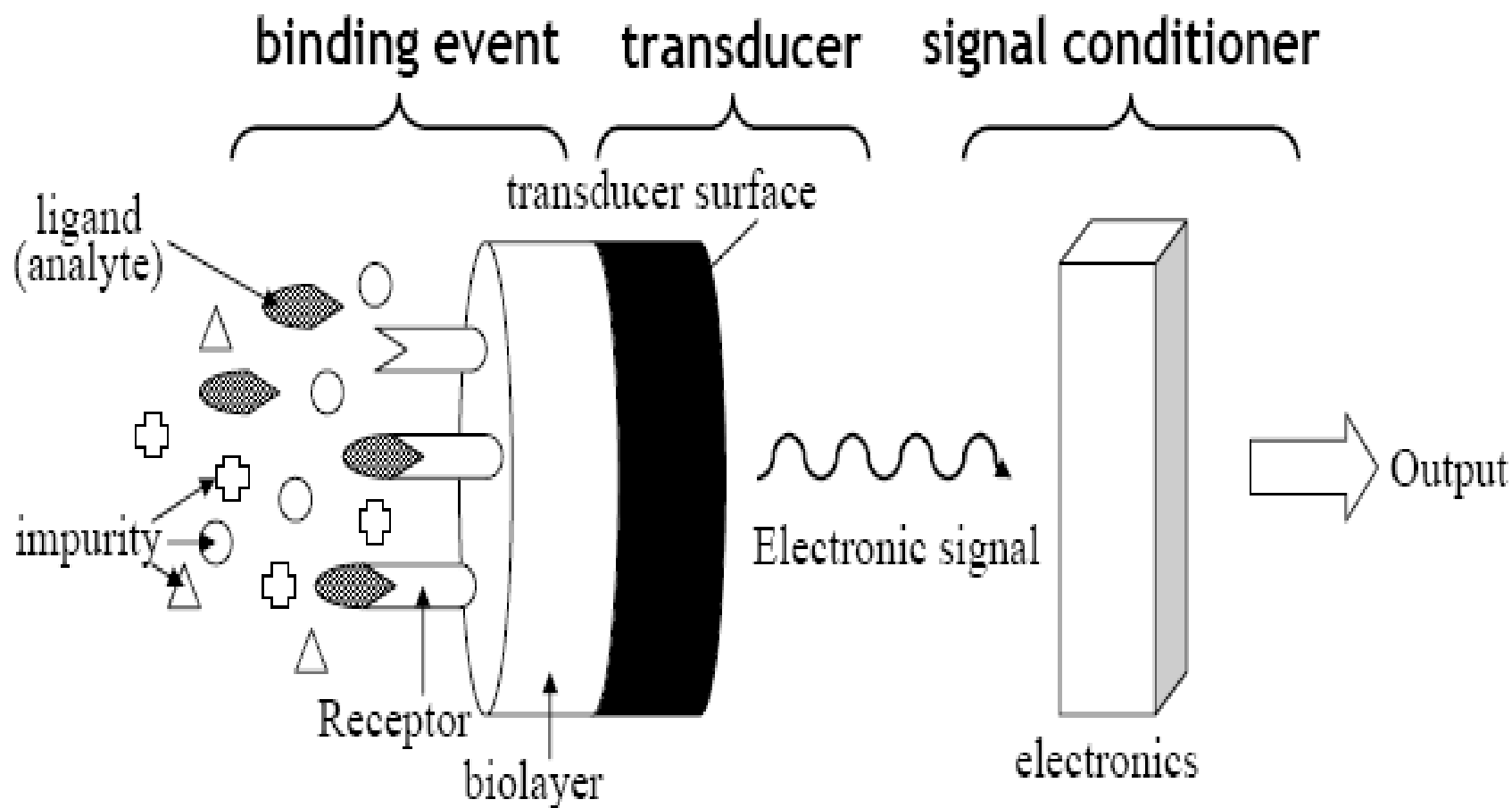


oxygen electrode



enzyme electrode

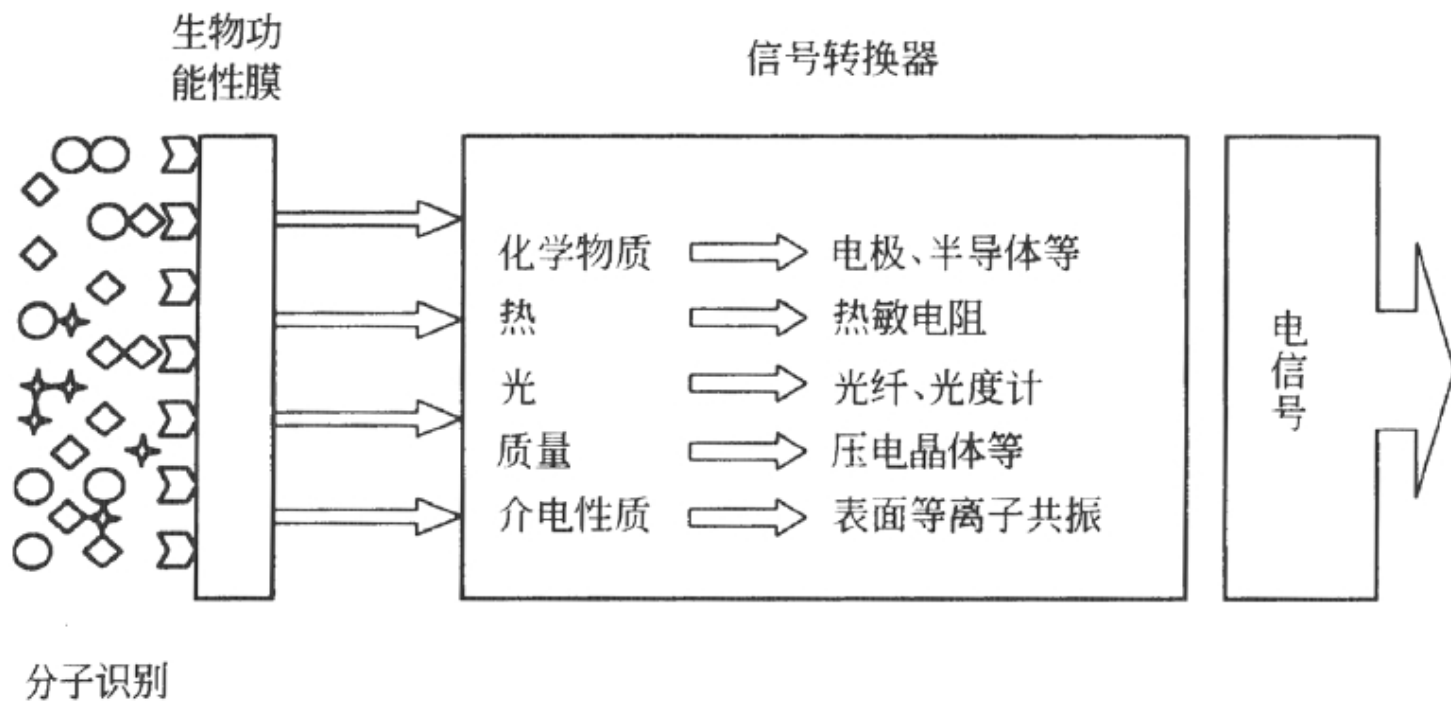
三、生物传感器原理



生物传感器工作原理：

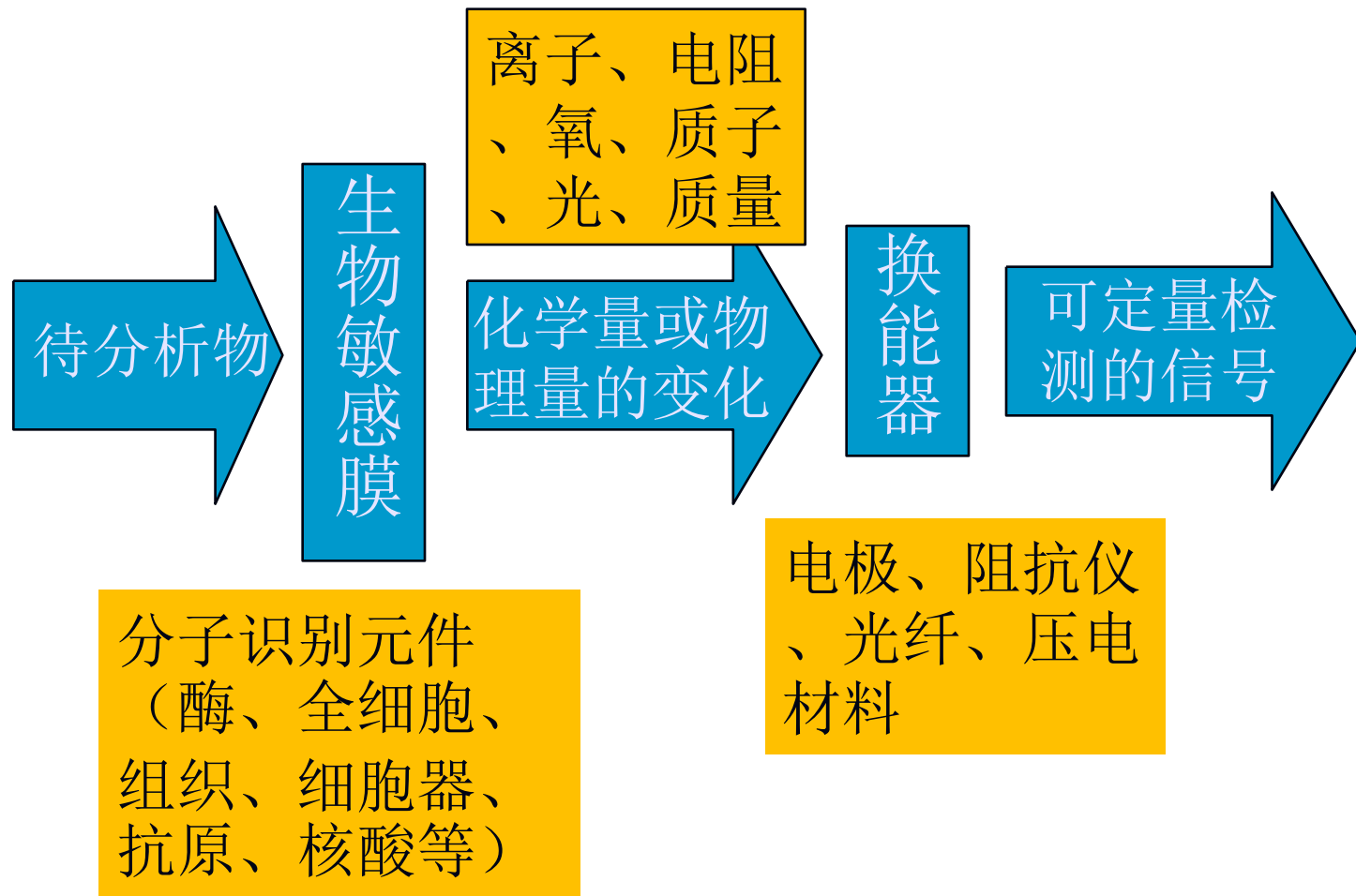
待测物质经分子识别而发生生物学作用，产生光、热、音等信息，被相应的信号转换器变为可定量和处理的电信号。

生物传感器是将各种生物分子探针表面的生化反应转变成可定量测定的物理信号的一种电子元件，可以用于检测生物分子的存在与浓度等。



生物传感器的传感原理

生物传感器原理



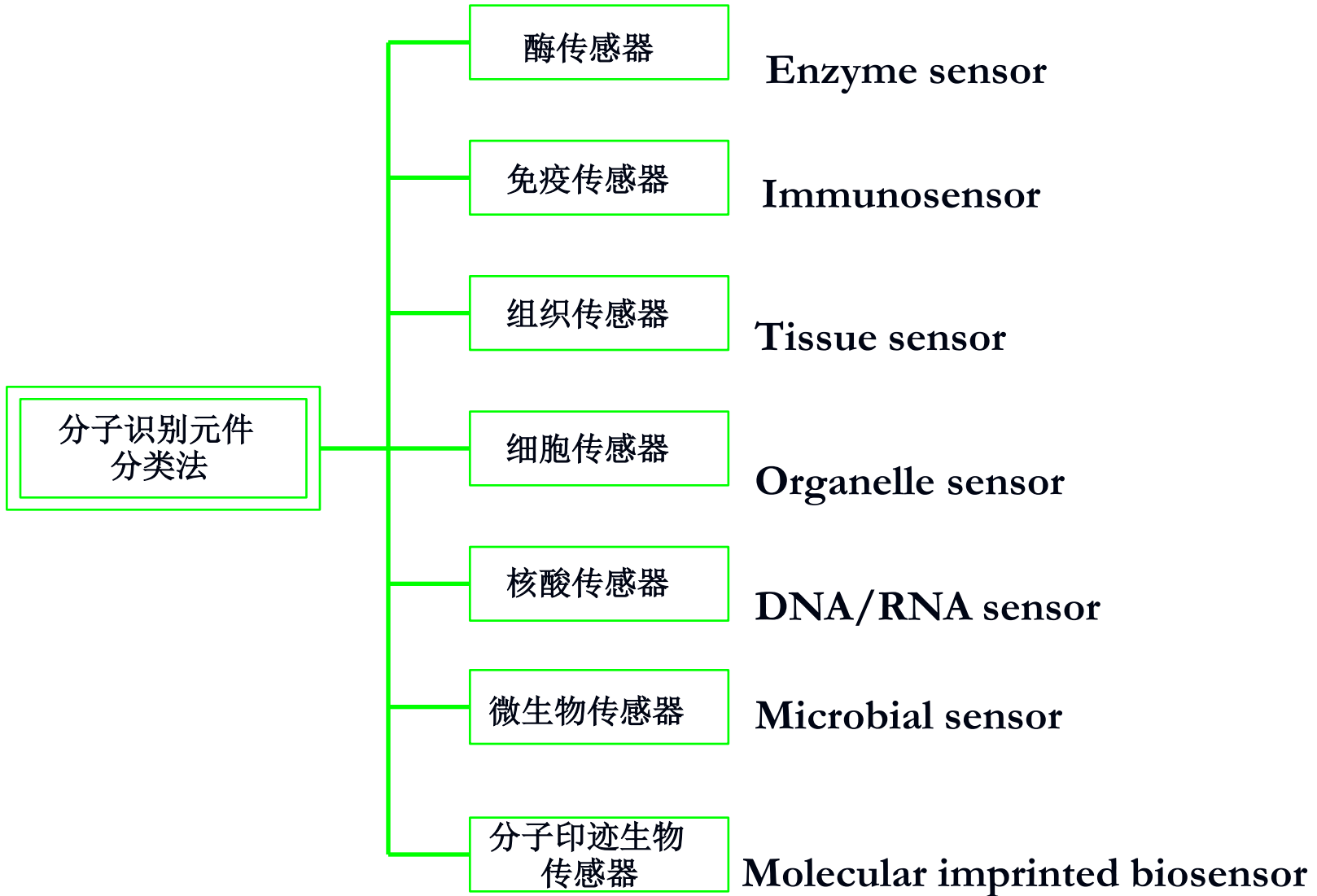
四、生物传感器的种类

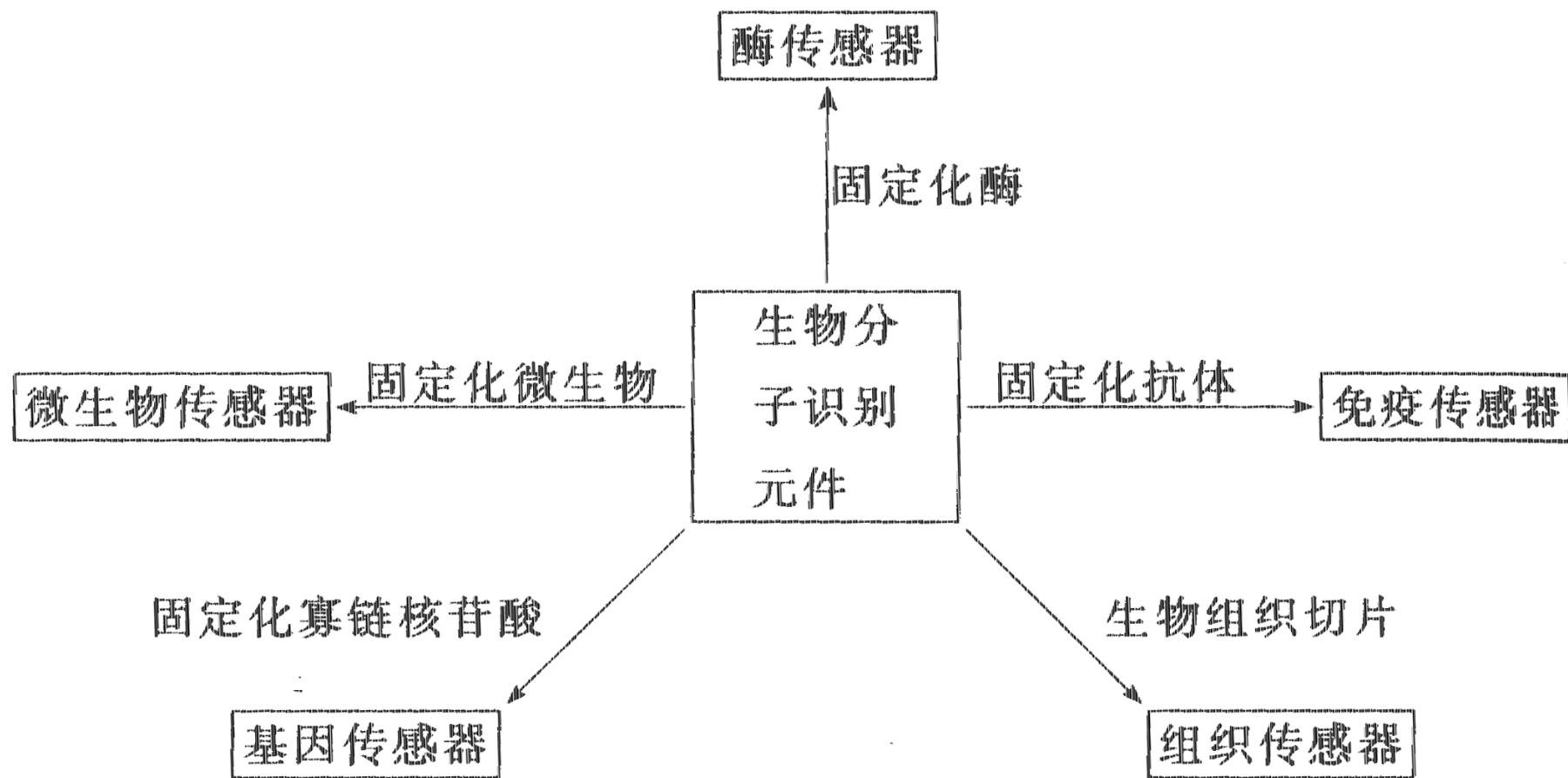
- (1) 按照生物敏感物质相互作用的类型分类
- (2) 按照其感受器中所采用的生命物质分类
- (3) 按照传感器器件检测的原理分类

生物传感器主要有两种分类方式：

- 根据敏感物质的不同，生物传感器可分为酶传感器、微生物传感器、组织传感器、细胞传感器和免疫传感器等。生物学工作者习惯于采用这种分类方法；
- 根据生物传感器的信号转换器分类，生物传感器可以利用电化学电极、场效应晶体管、热敏电阻、光电器件、声学装置等作为生物传感器的信号转换器。

类型





生物传感器按生物分子识别元件敏感物质分类

类型

光生物传感器

Optical biosensor

热生物传感器

Calorimetric biosensor

声波生物传感器

Acoustic wave biosensor

器件分类法

电导/阻抗生物传感器

Conductive/impedance biosensor

电化学生物传感器

Electrochemical biosensor

半导体生物传感器

Semiconduct biosensor

悬臂梁生物传感器

Cantilever biosensor

从是否和人体接触

- 体内(in vivo)监测:
- 侵入式(Invasive)
- 非侵入式(Noninvasive)
- 监测参数: 心电、呼吸、无创血压、双体温、血氧饱和度和、脉搏、双有创压、心输出量

In vitro:

准确(accuracy)

精密(precision)

范围(range)

响应时间(response time)

漂移(drift)

- 体外(In vitro)诊断
- 如电解质、生化、免疫

In vivo

可靠(Reliable)

安全(safe)

分类方式	分类依据	传感器名称
生物敏感物质相互作用的类型	1、被测物与分子识别元件上敏感物质具有生物亲和作用。 2、底物（被测物）与分子识别元件上的敏感物质相作用并产生产物，信号换能器将底物的消耗或产物的增加转变为输出信号。	1、生物亲和性传感器 2、代谢型或催化型传感器
分子识别元件上的敏感物质	1、酶与底物作用 2、微生物代谢 3、组织代谢 4、细胞代谢 5、抗原抗体反应 6、核酸杂交	1、酶传感器 2、微生物传感器 3、组织传感器 4、细胞器传感器 5、免疫传感器 6、DNA生物传感器
信号换能器	1、电化学电极 2、离子敏场效应晶体管 3、热敏电阻 4、压电晶体 5、光电器件 6、声学装置	1、电化学传感器 2、离子敏场效应传感器 3、热敏电阻传感器 4、压电晶体传感器 5、光电传感器 6、声学传感器

(一) 生物分子特异性识别（生物感受器）

生物分子经固定化后形成的一种膜结构，对被测定的物质有选择性的分子识别能力。

生物传感器的分子识别元件

分子识别元件	生物活性单元
酶膜	各种酶类
全细胞膜	细菌、真菌、动植物细胞
组织膜	动植物组织切片
细胞器膜	线粒体、叶绿体
免疫功能膜	抗体、抗原、酶标抗原等

（二）信号转换与处理

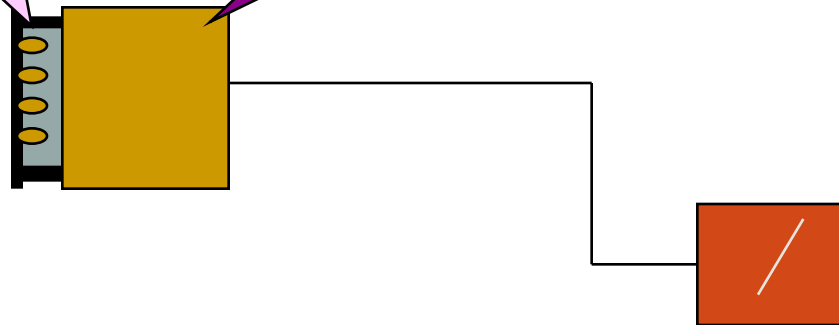
将识别元件上进行的生化反应中消耗或生成的化学物质，或产生的光或热等转换为可用信号，并呈现一定的比例关系。

生物传感器的信号处理方法

由生物活性元件引起的变化 (生物学反应信息)	信号处理方法 (换能器的选择)
电极活性物质的生成或消耗	电流检测电极法
离子性物质的生成或消耗	电位检测电极法
膜或电极电荷状态的变化	膜电位法、电极电位法
质量变化	压电元件法
阻抗变化	电导率法
热变化（热效应）	热敏电阻法
光谱特性变化（光效应）	光纤和光电倍增管

感受器是生物传感器的
心脏。制备分两方面工
作，一是选择最佳载体
材料（需活化）；二是
在载体表面固定化亲和
配基（非共价和共价）

换能器感知固定化
配基与待测物结合产
生的微小变化，其质
量好坏决定了传感器
的灵敏度。



(三) 生物传感器分子识别机理

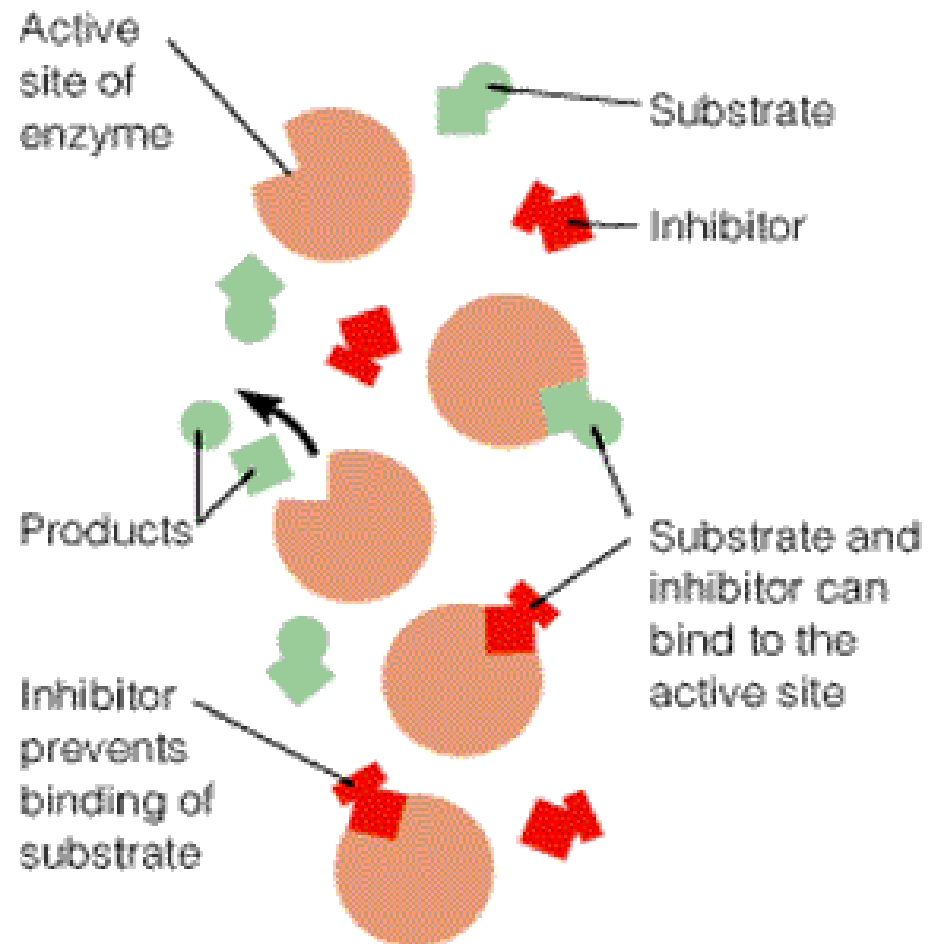
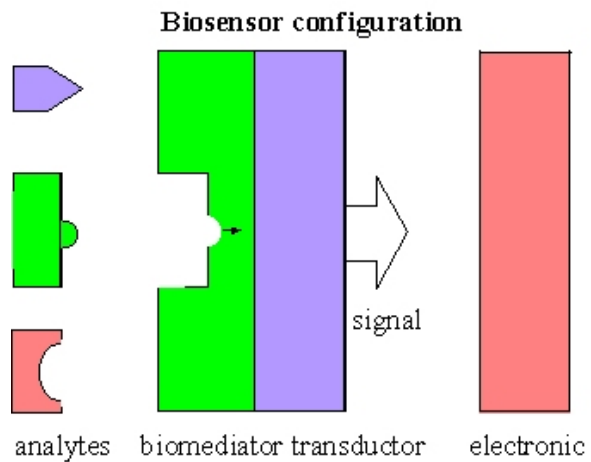
1、酶促反应

2、免疫化学反应

3、生物反应中的物理量变化

4、微生物反应

1、酶促反应

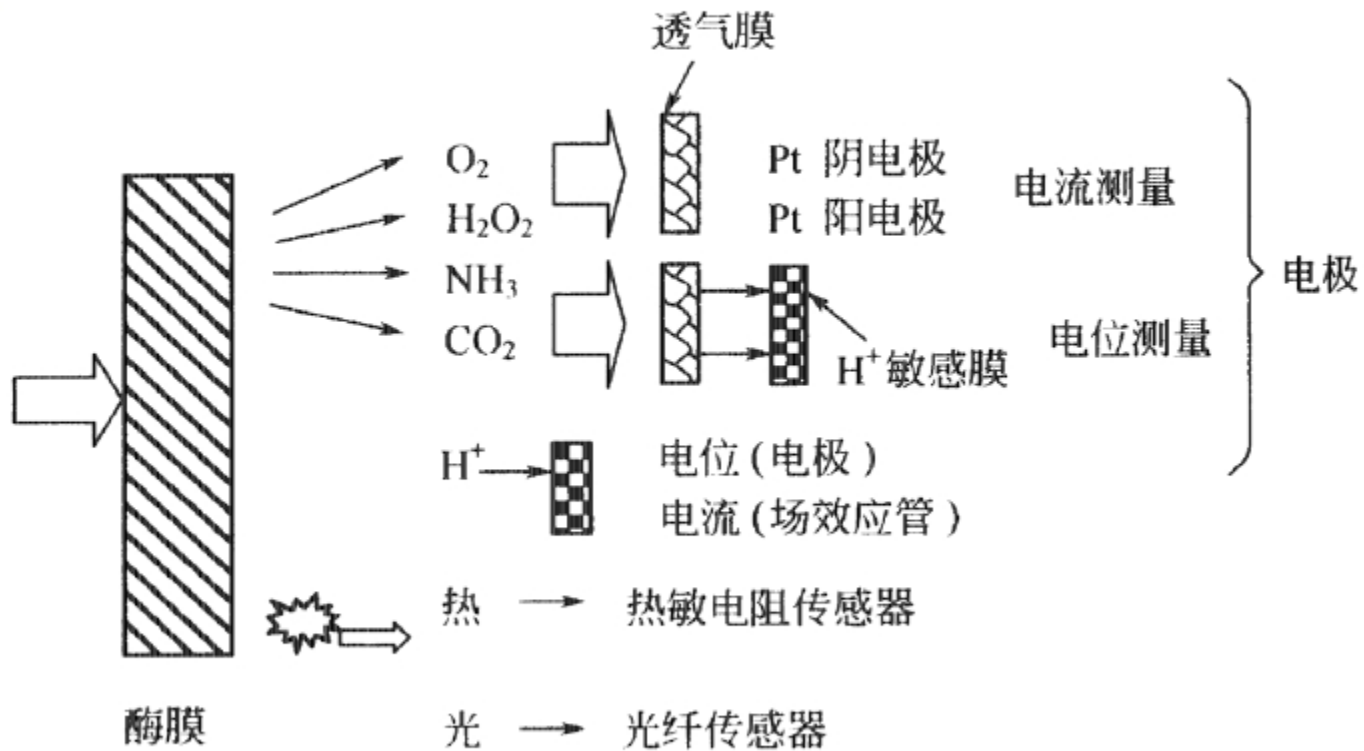


酶传感器

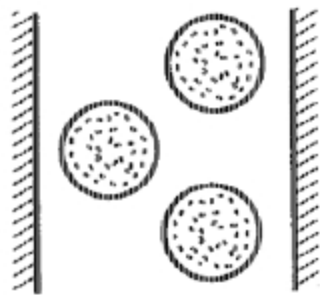
- 酶传感器是由固定化酶与传感元件两部分组成的，其中酶是与适当的载体结合形成的不溶于水的固定化酶膜。
- 最常用的酶传感器是酶电酶膜与转换电极做在一起，当酶膜与被测物发生催化反应而生成电极活性物质后，电极测定活性物质并将其转换为电信号输出。极，即将固定化

葡萄糖酶电极的敏感膜是葡萄糖氧化酶，它被固定在聚乙烯酰胺凝胶上。在酶膜的作用下葡萄糖发生氧化反应，消耗掉氧而生成葡萄糖酸和过氧化氢。通过用电极测量被消耗的氧或生成的过氧化氢就可了解葡萄糖浓度。

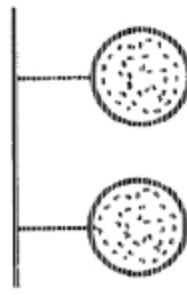
酶传感器类型



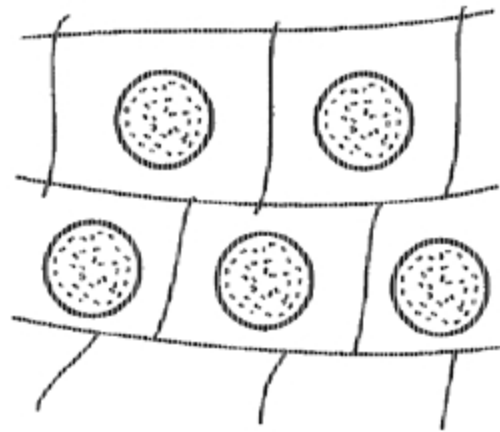
酶传感器的类型



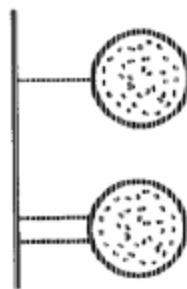
(a)



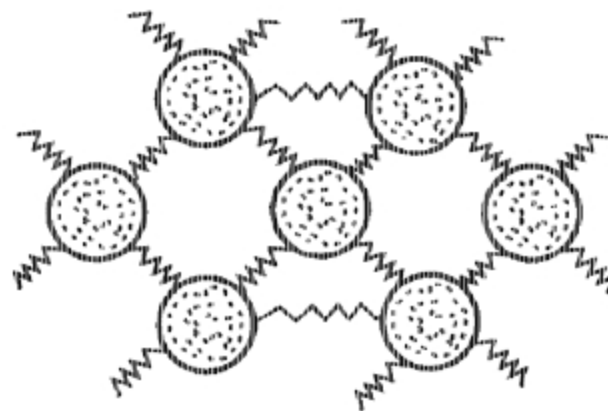
(b)



(c)



(d)



(e)

酶的固定化方法

(a)夹心法 (b) 吸附法 (c) 包埋法 (d) 共价连接法 (e) 交联法

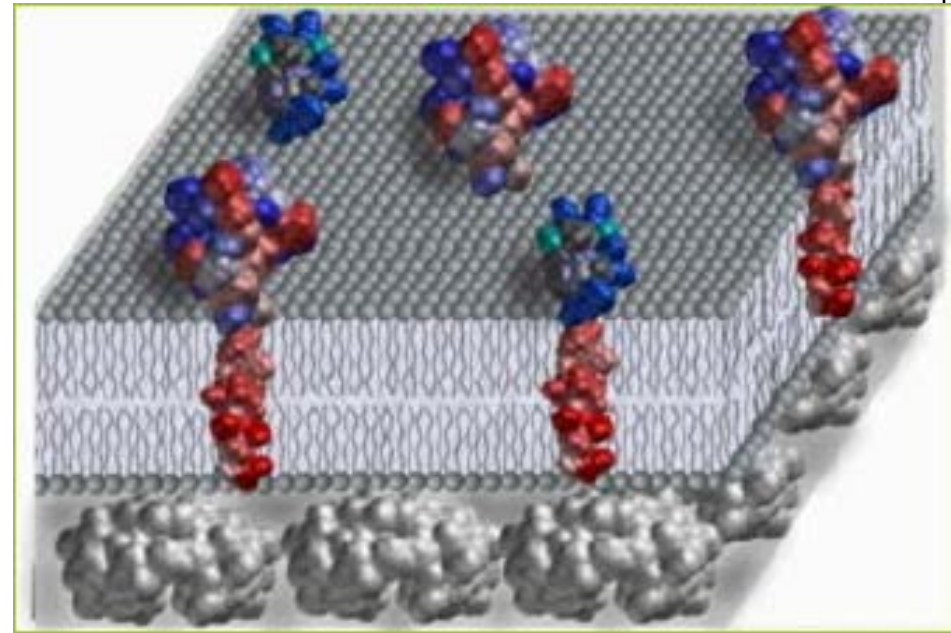
各种固定化方法介绍

- (1) 共价键结合：牢固，易失活，单层
- (2) 交联固定：固定量大，部分失活
- (3) 包埋：多样，失活小，影响因素多
- (4) 吸附：简单，失活小，牢固性差
- (5) 夹心：简单
- (6) LB膜等新技术

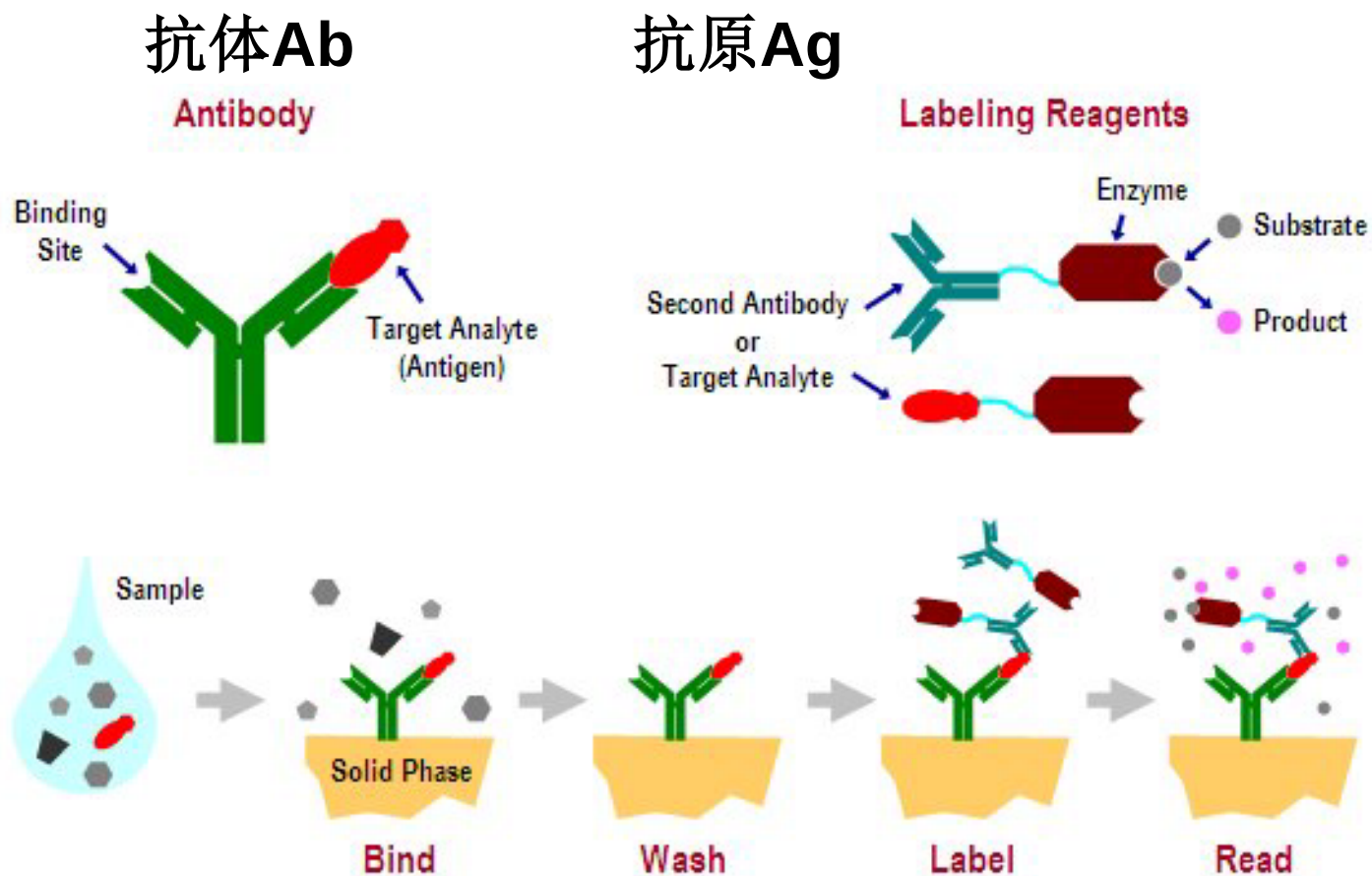
Langmuir-Blodgett 膜

为了获得高灵敏度和稳定性的生物传感器，应能有效控制酶在电极表面的存在形式，维持高的有序程度。

LB膜可用于将酶和其它物质修饰到电极表面。



2、免疫化学反应

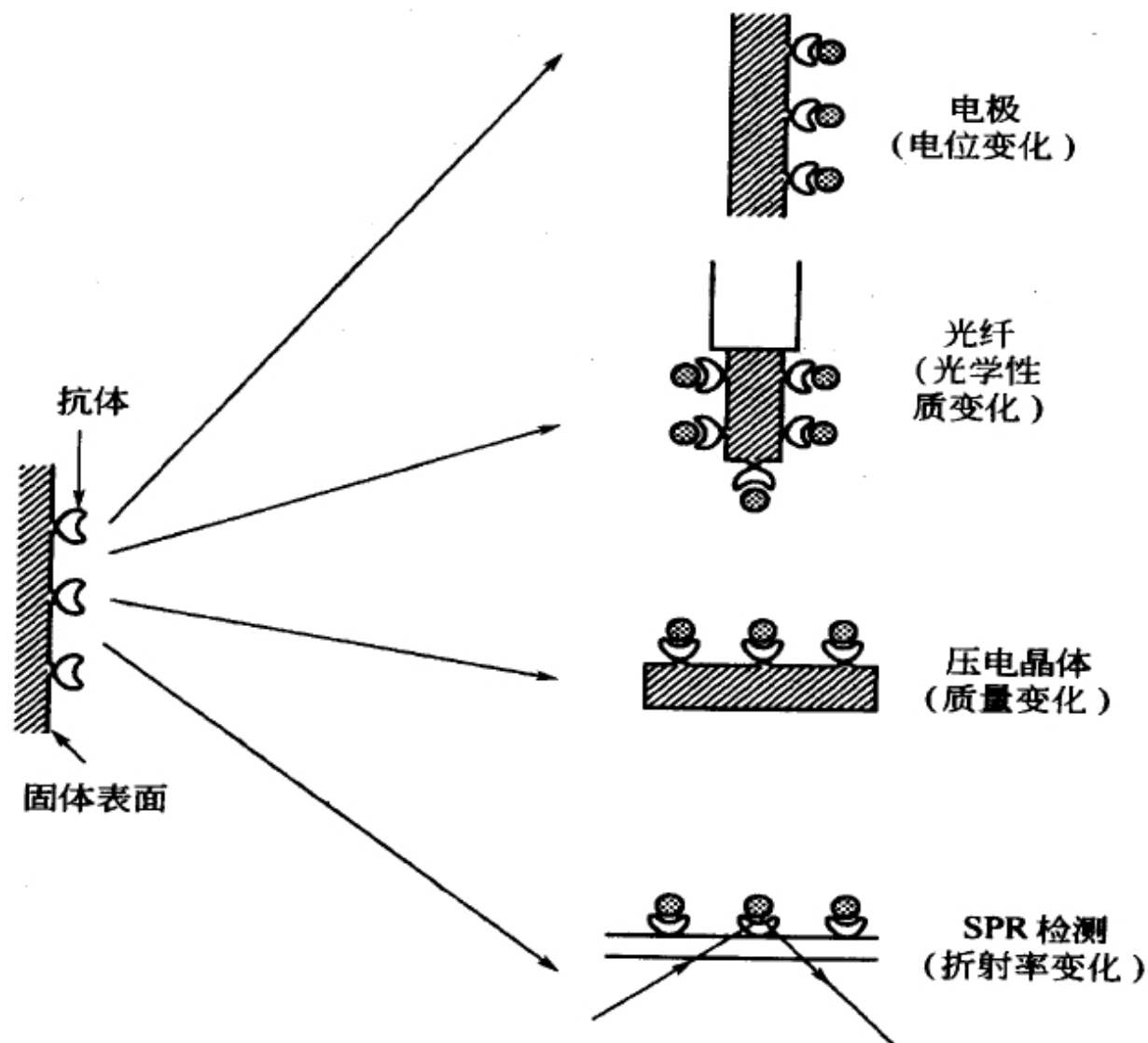


免疫传感器

- 免疫传感器是利用抗体对抗原的识别和结合功能，高选择性地测定蛋白质、多糖类等高分子化合物的传感器。
- 根据免疫反应的不同可分为非标记免疫传感器和标记免疫传感器。

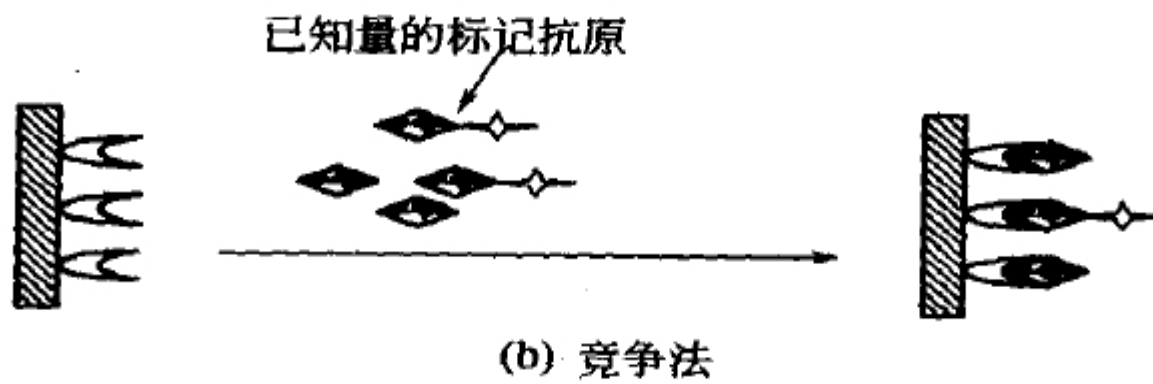
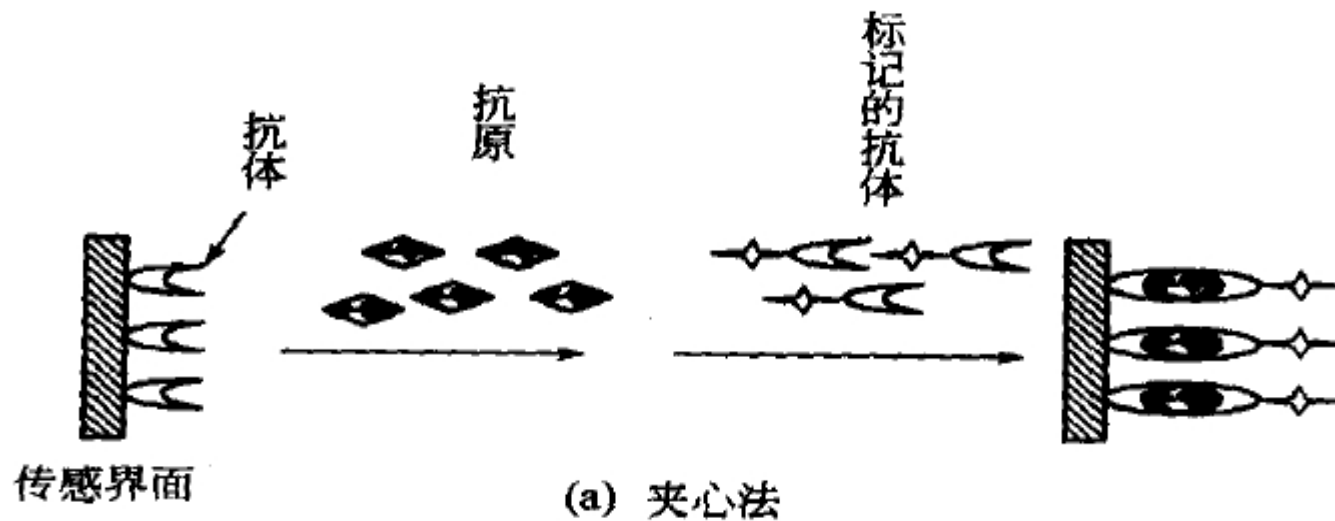
非标记免疫传感器也称直接免疫电极。它的工作原理为：不使用任何标记物，根据蛋白质分子（抗原或抗体）携带大量电荷，当抗原抗体结合时会产生电导率、膜电位、离子浓度等若干电化学或电学的变化，根据这种变化可以检测免疫反应的发生。

实际操作时可把抗体（或抗原）固定在敏感膜表面或金属电极表面，然后检测抗原—抗体复合物形成后膜或电极的电位变化，以此测定抗原的浓度。此种传感器响应快速、操作容易，但灵敏度较低。



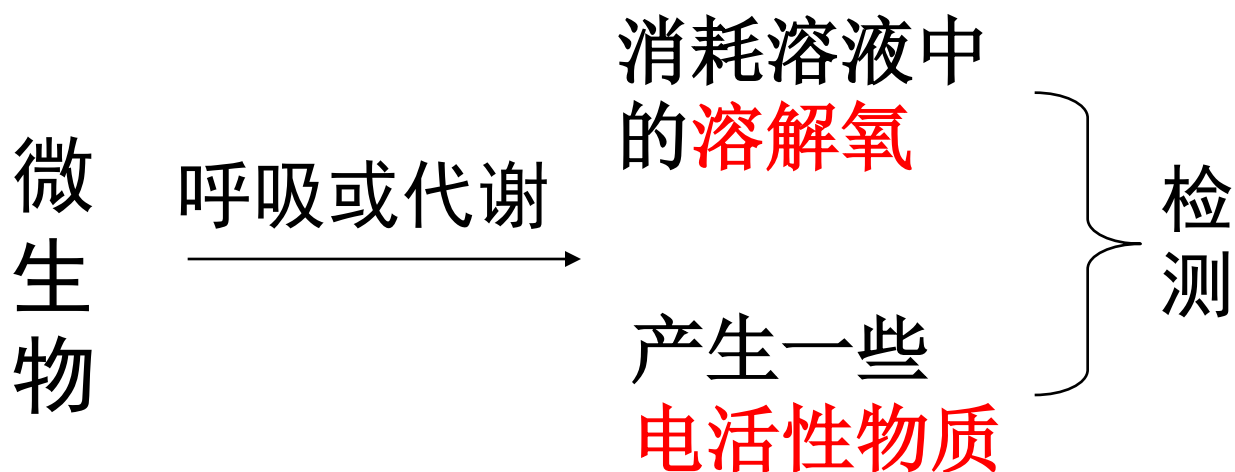
非标记法免疫传感器原理

标记免疫传感器

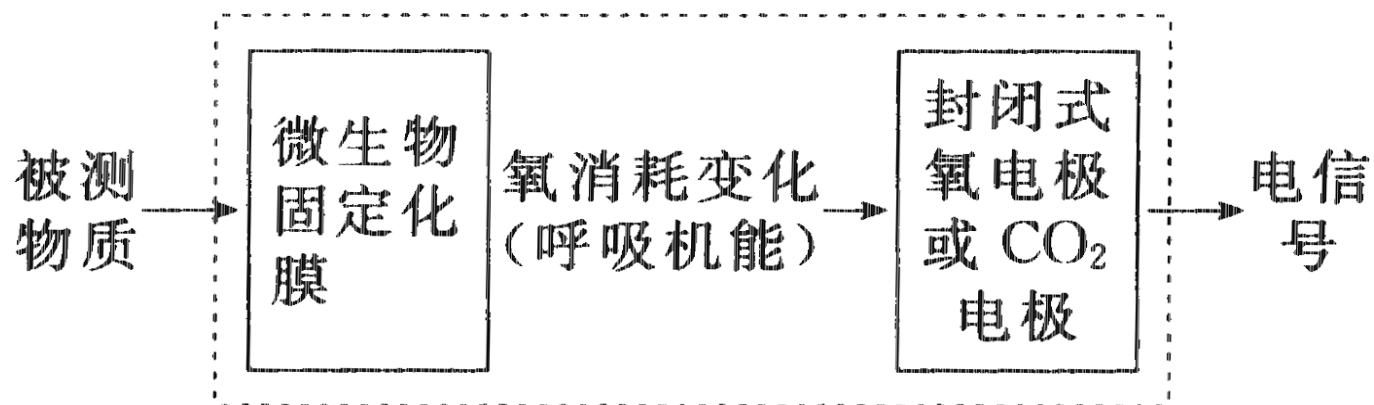


标记法免疫传感器原理

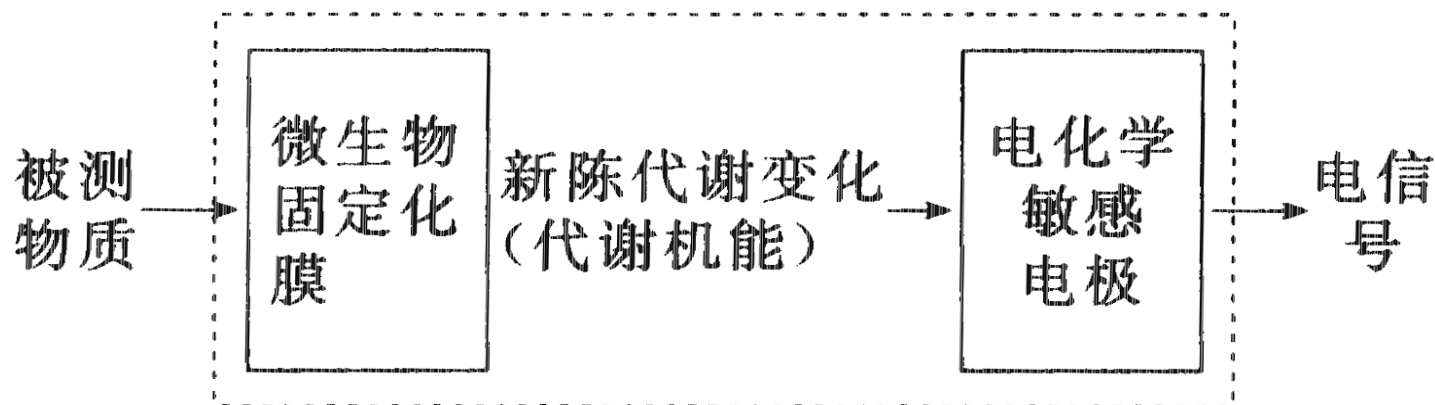
3、微生物反应



- 根据微生物在同化底物时消耗氧的呼吸作用（好氧性微生物电极）或不同微生物含有不同的酶或代谢产物设计。
- 也可以通过微生物数量变化检测抗生素或相关物质。



(a) 呼吸机能型



(b) 代谢机能型

微生物传感器的工作原理

4、生物学反应中的物理量变化

(1) 热焓变化

根据热力学第二定律，一个能自发进行的反应，总伴随着自由能的降低。

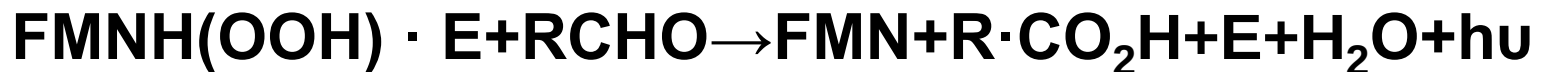
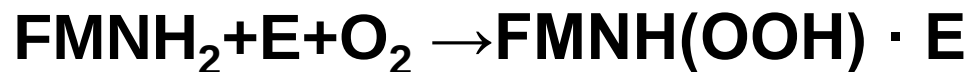
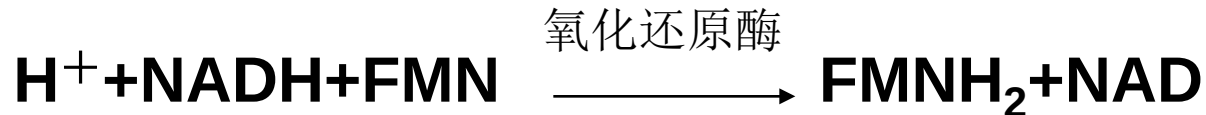
$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

酶促反应和微生物反应常常释放出可观的热量，根据焓变可定量测定底物的浓度。

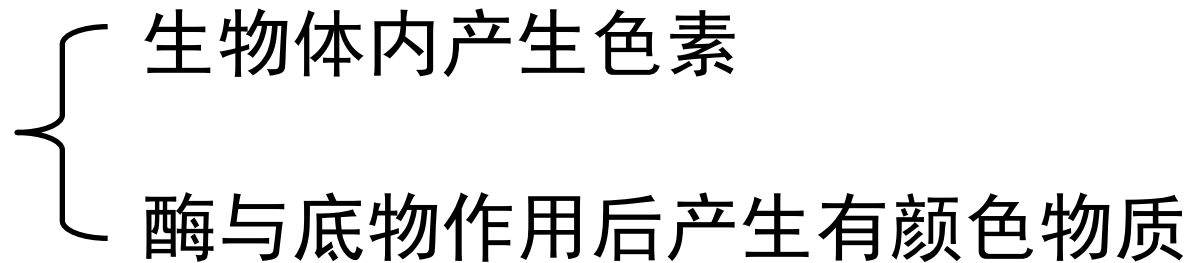
(2) 生物发光

生物发光是由于某些生物体内的一些特殊物质（如荧光素）的氧化而产生的现象。

细菌发光其强度取决于积累的还原型FMN的量。



(3) 颜色反应



(4) 阻抗变化

培养基中的电惰性物质

↓ 微生物代谢

电活性产物



培养液的导电性
增大，阻抗降低

细胞器传感器

- 细胞器传感器与组织电极一样，细胞器传感器并且是一种多酶电极。细胞器中的酶有较高的酶活性和稳定的状态，将含所需酶的细胞器经过加工、分离，制成薄膜状并固定，再与相应敏感电极结合构成细胞器传感器。
- 例如将线粒体处理后的凝胶膜结合氧电极，利用其氧化磷酸化酶（电子传递粒子ETP）将NADH（辅酶 I）氧化，此过程消耗氧，通过测定氧含量就可测定NADH含量。

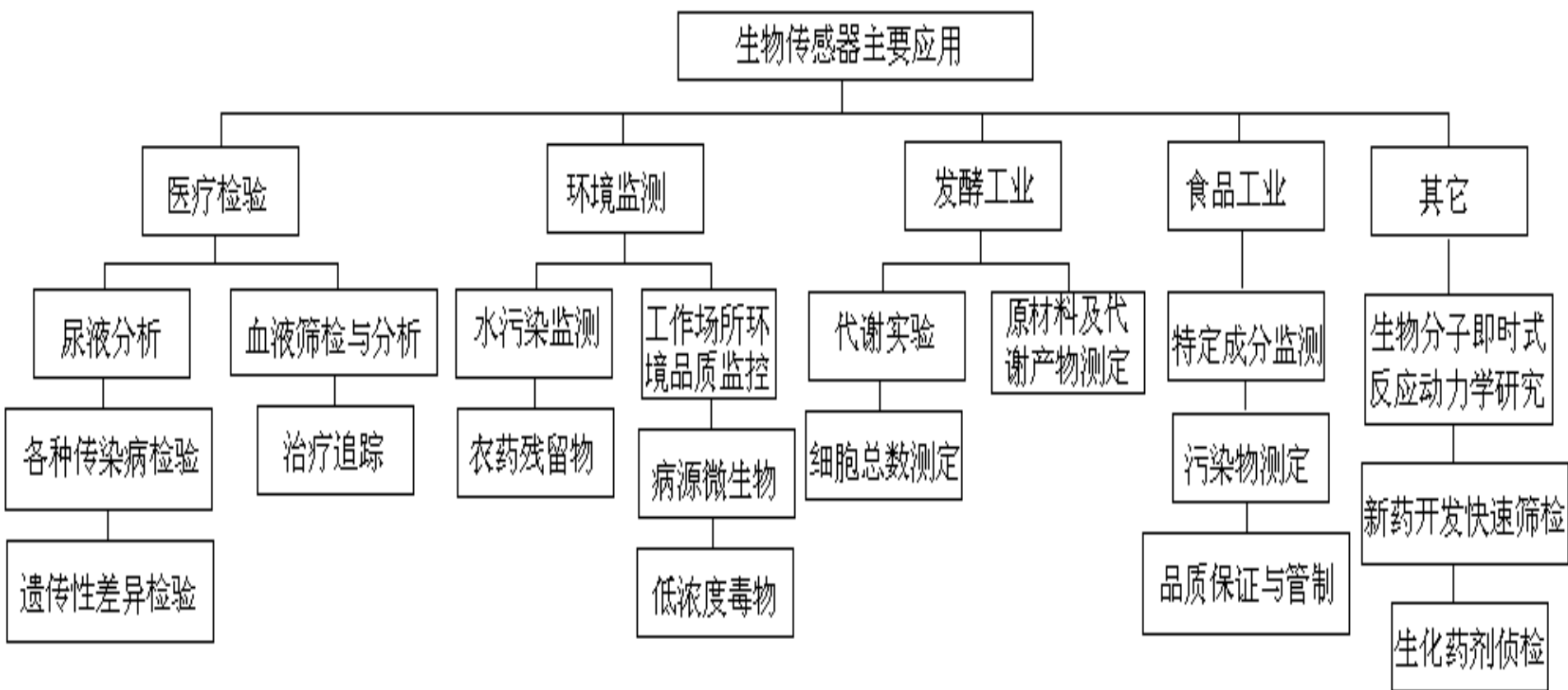
组织传感器

- 组织传感器是以动植物组织薄片材料作为生物敏感膜并利用酶组为反应催化剂的生物传感器，也称组织电极。
- 组织电极的工作原理类似于酶电极，但因为酶促反应存在于稳定的自然环境中，组织电极的酶活性比酶电极的离析酶活性高而且稳定性强，另外还不需要固定化等处理；但组织电极目前存在的问题就是其酶的选择性和灵敏度不太理想，因此目前组织电极还未能形成产品。

五、生物传感器特点

- (1) 测定过程简单。生物传感器使用时一般不需要样品的预处理，样品中的被测组分的分离和检测同时完成，且测定时一般不需加入其它试剂。
- (2) 体积小、携带方便，可实现连续检测、在线检测。
- (3) 响应快，样品用量少，敏感材料是固定化的，可以反复多次使用。
- (4) 准确度和灵敏度高。一般相对误差不超过1%。
- (5) 专一性强，只对特定的底物起反应，而且不受颜色、浊度的影响。
- (6) 成本低。

六、生物传感器应用领域



1、食品工业

生物传感器在食品分析中的应用包括食品成分、食品添加剂、有害毒物及食品鲜度等的测定分析。

肉鲜度传感器

肉类在腐败过程中会产生各种胺类，故胺类测定能反映肉类的新鲜程度。

用腐胺氧化酶与过氧化氢电极构成多胺生物传感器，或用单胺氧化酶膜和氧电极组成的酶传感器测定肉在贮藏过程中的鲜度。

2、环境监测

污染微生物及病原菌的检测通过免疫学方法，即获得相应的特异性抗原和抗体进行分析和检测。

德国研发的环境废水BOD分析仪



3、发酵工业

微生物传感器具有成本低、设备简单、不受发酵液混浊程度的限制、可能消除发酵过程中干扰物质的干扰等特点。

微生物传感器可用于测量发酵工业中的原材料和代谢产物。还用于微生物细胞数目的测定。利用这种电化学微生物细胞数传感器可以实现菌体浓度连续、在线的测定。

生物传感在线分析系统，为发酵自动控制提供了新的基础平台



4、医学领域

(1) 临床医学

在临床医学中，**酶电极**是最早研制且应用最多的一种传感器，目前，已成功地应用于血糖、乳酸、维生素C、尿酸、尿素、谷氨酸等物质的检测。利用具有不同生物特性的微生物代替酶，可制成微生物传感器，在临床中应用的**微生物传感器**有葡萄糖、乙醇、胆固醇等传感器。



手掌型血糖分析器

在葡萄糖传感器问世之前，患者需采用所谓“班氏试验尿糖估计法”来指导胰岛素注射量。这一方法相当烦琐，需备酒精灯一个、试管一支、吸管一支、班氏剂一瓶。每次注射胰岛素前，取班氏试剂2毫升放入试管中，置酒精灯上烧开，开后试剂保持蓝色不变，说明试剂有效，加入病人尿液3滴，再置酒精灯上烧开，根据试剂的变色情况决定胰岛素用量的增减。

班氏试剂颜色	砖红	橘红	黄	绿	蓝
胰岛素增减量(单位)	> +16	+12	+8	+4	0或-4

班氏尿糖估计法确定胰岛素用量

手掌型葡萄糖 (glucose) 分析仪



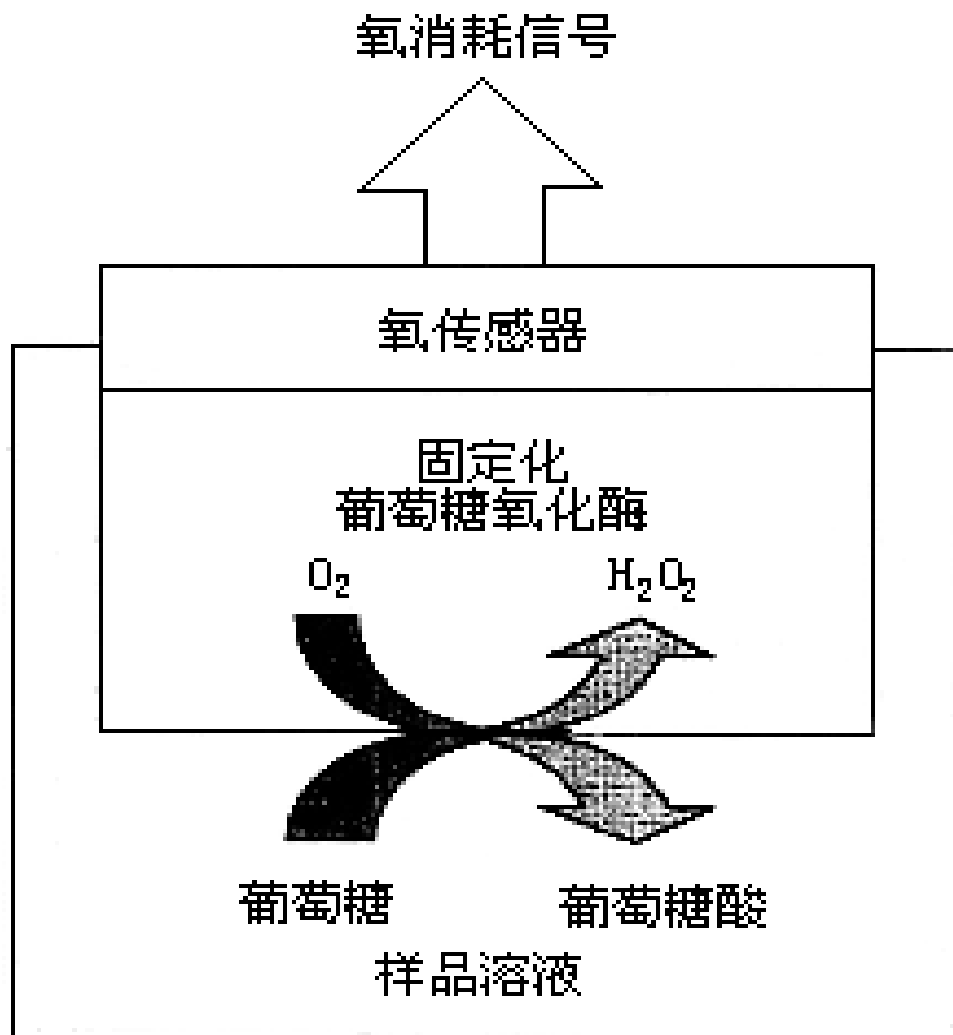
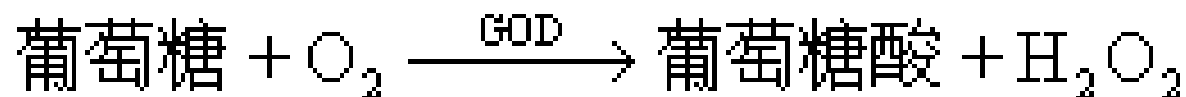


图1.9 葡萄糖传感器结构示意图

用电化学葡萄糖传感器测定人体血糖

葡萄糖传感器传感器的响应原理

葡萄糖氧化酶（**GOD**）参与的酶促反应



胰岛素泵



装置由三部分组成：
血糖传感器、供药泵、胰
岛素药源。
传感器、泵与病人的血液
三者构成一个闭环控制系
统（图）。
传感器将测定的信号变为
对供药泵开启与关闭的指
令，使糖尿病病人能像正
常人一样保持最恰当的血
糖含量

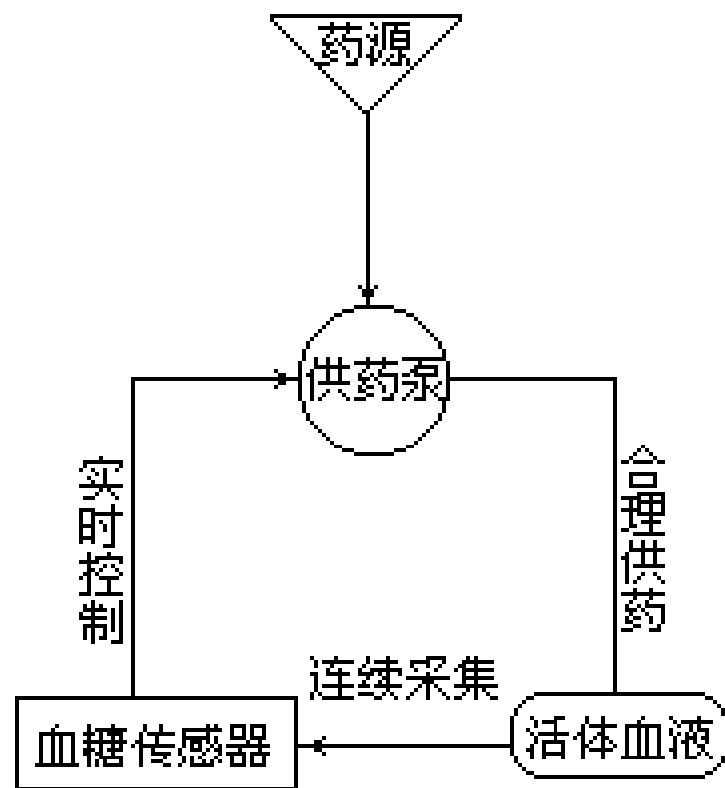


图 6 人工智能胰腺

酶联免疫测定

- (1) 将适宜的酶与抗原或抗体结合在一起。制成酶标抗体（或酶标抗原）；
- (2) 将酶标抗体（或酶标抗原）与样品中的待测抗原（或抗体）混合，通过免疫反应二者即可特异性地结合在一起，形成酶—抗体—抗原复合物。
- (3) 通过酶催化反应的速度即可测定复合物中酶的含量，进而测出样品中的待测抗原（或抗体）的量。

DNA传感器是目前生物传感器中报道最多的一种，用于临床疾病诊断是DNA传感器的最大优势，它可以帮助医生从DNA、RNA、蛋白质及其相互作用层次上了解疾病的发生、发展过程，有助于对疾病的及时诊断和治疗。

此外，在法医学中，**生物传感器**可用作DNA鉴定和亲子认证等。

(2) 军事医学

军事医学中，对生物毒素的及时快速检测是防御生化武器的有效措施。生物传感器已应用于监测多种细菌、病毒及其毒素，如鼠疫耶尔森菌、肉毒杆菌类毒素等。

SPR生物传感器



SBA-50型单电极生物传感分析仪

谷氨酸(乳酸)-葡萄糖双功能分析仪

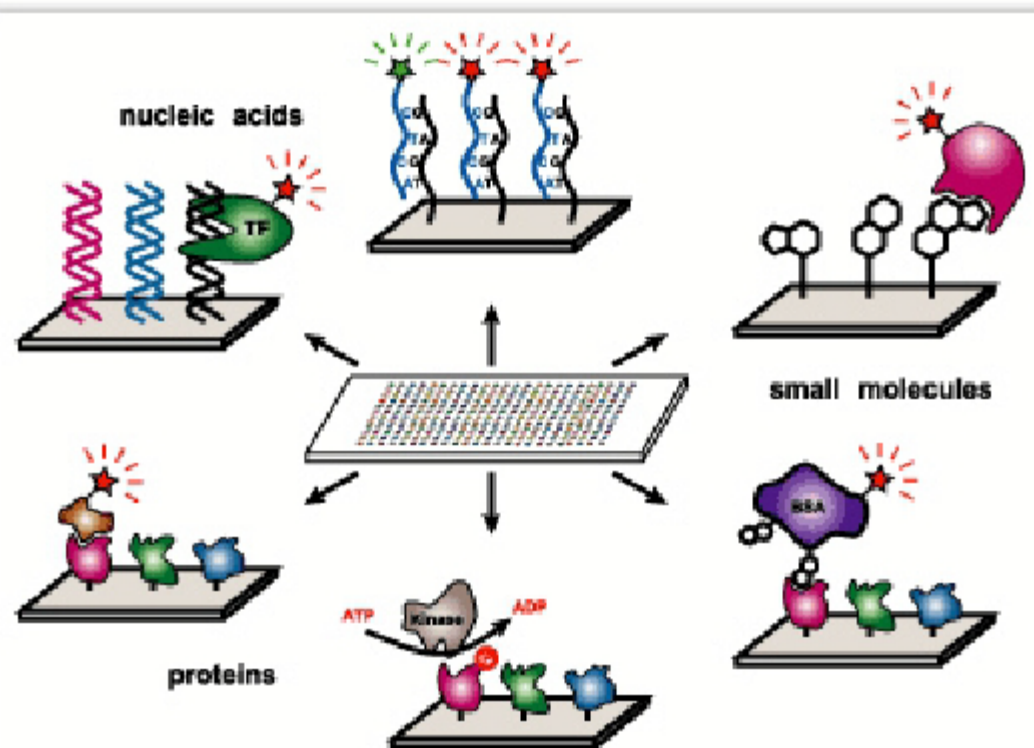


SBA-70型血糖乳酸自动分析仪



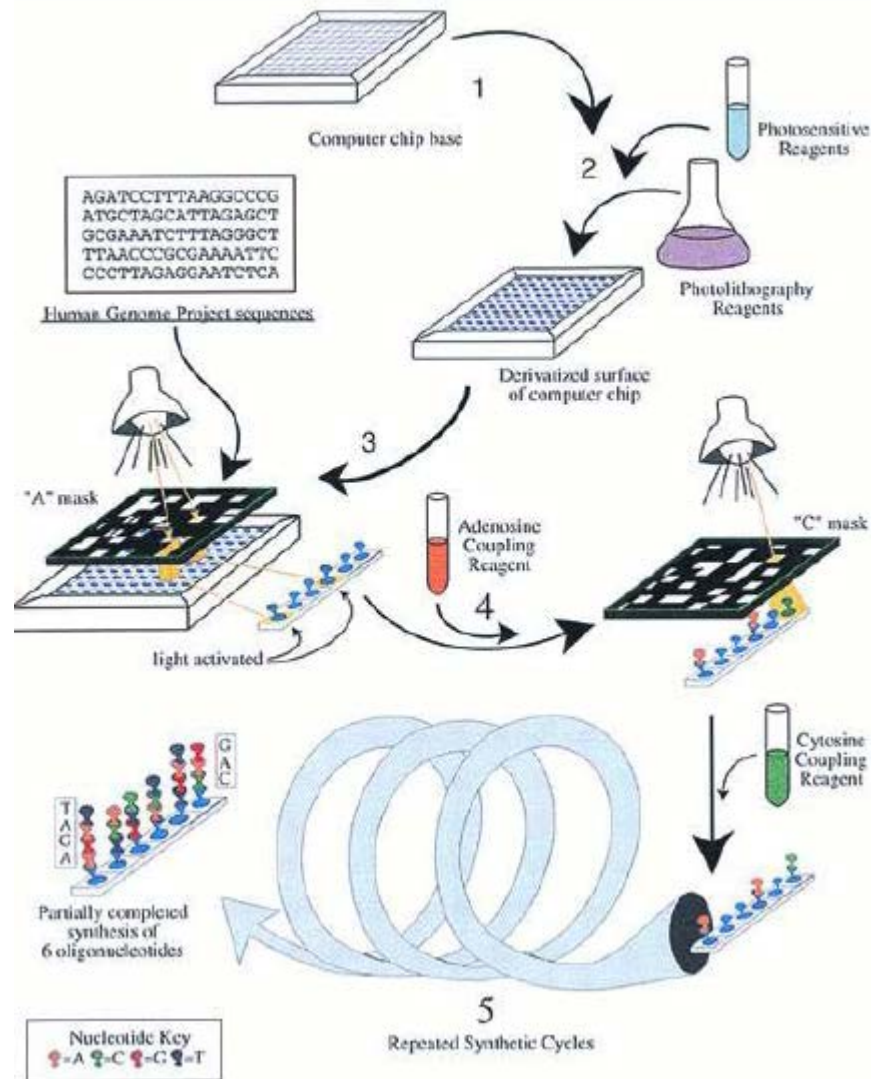
生物芯片是指包被在硅片、尼龙膜等固相支持物上的高密度的组织、细胞、蛋白质、核酸、糖类以及其它生物组分的微点阵。芯片与标记的样品进行杂交，通过检测杂交信号即可实现对生物样品的分析。

生物芯片(高通量)



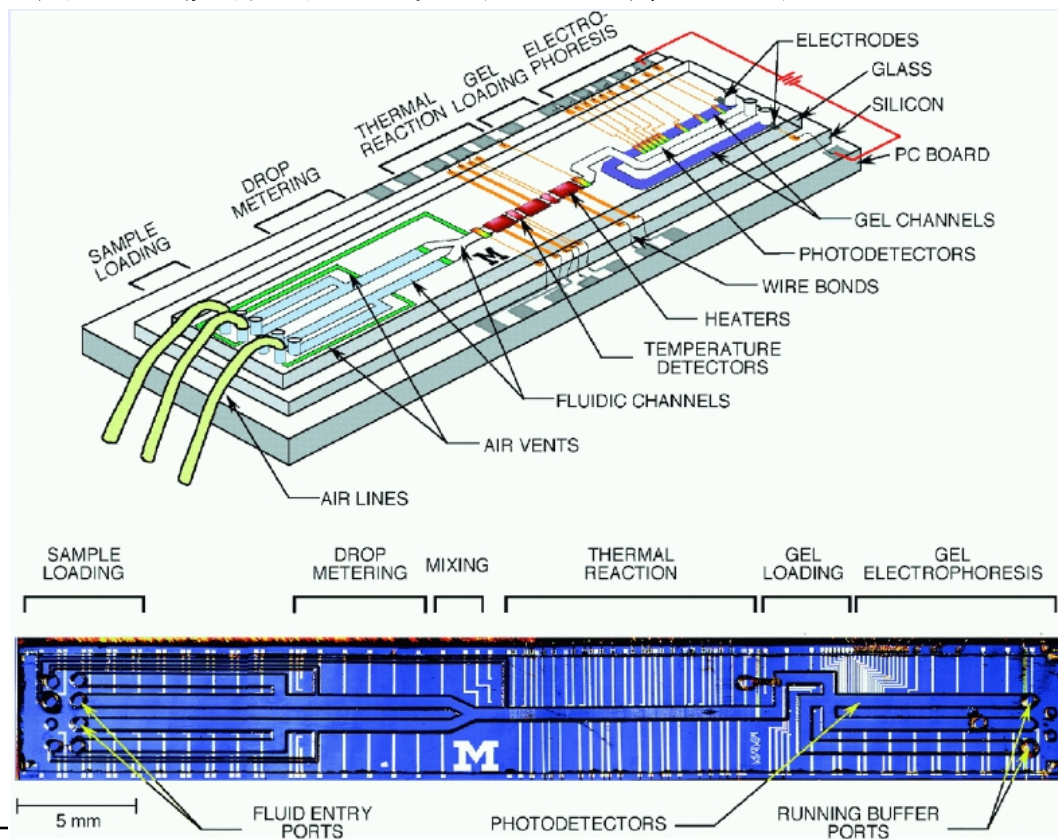
基因芯片又称寡核苷酸探针微阵列。将系列DNA片段固定在载体上（硅片、尼龙膜），利用DNA双链的互补碱基之间的氢键作用，与标记的样品分子进行杂交，然后用精密扫描仪或摄像纪录，通过计算机软件分析处理，得到有价值的生物信息。基因芯片可同时对大量核酸分子进行检测分析。

基因芯片



芯片上的实验室

将生命科学研究中的许多不连续的分析过程如样品制备、生物化学反应和目标基因分离检测等烦琐的实验操作，通过采用象集成电路制作中的半导体光刻加工那样的缩微技术，移植到芯片上进行，使其连续化、微型化。



生物芯片
biochip

芯片实验室
lab on chip

分析生物芯片
analytical biochip

生物计算机芯片
biocomputer

DNA芯片

蛋白质芯片

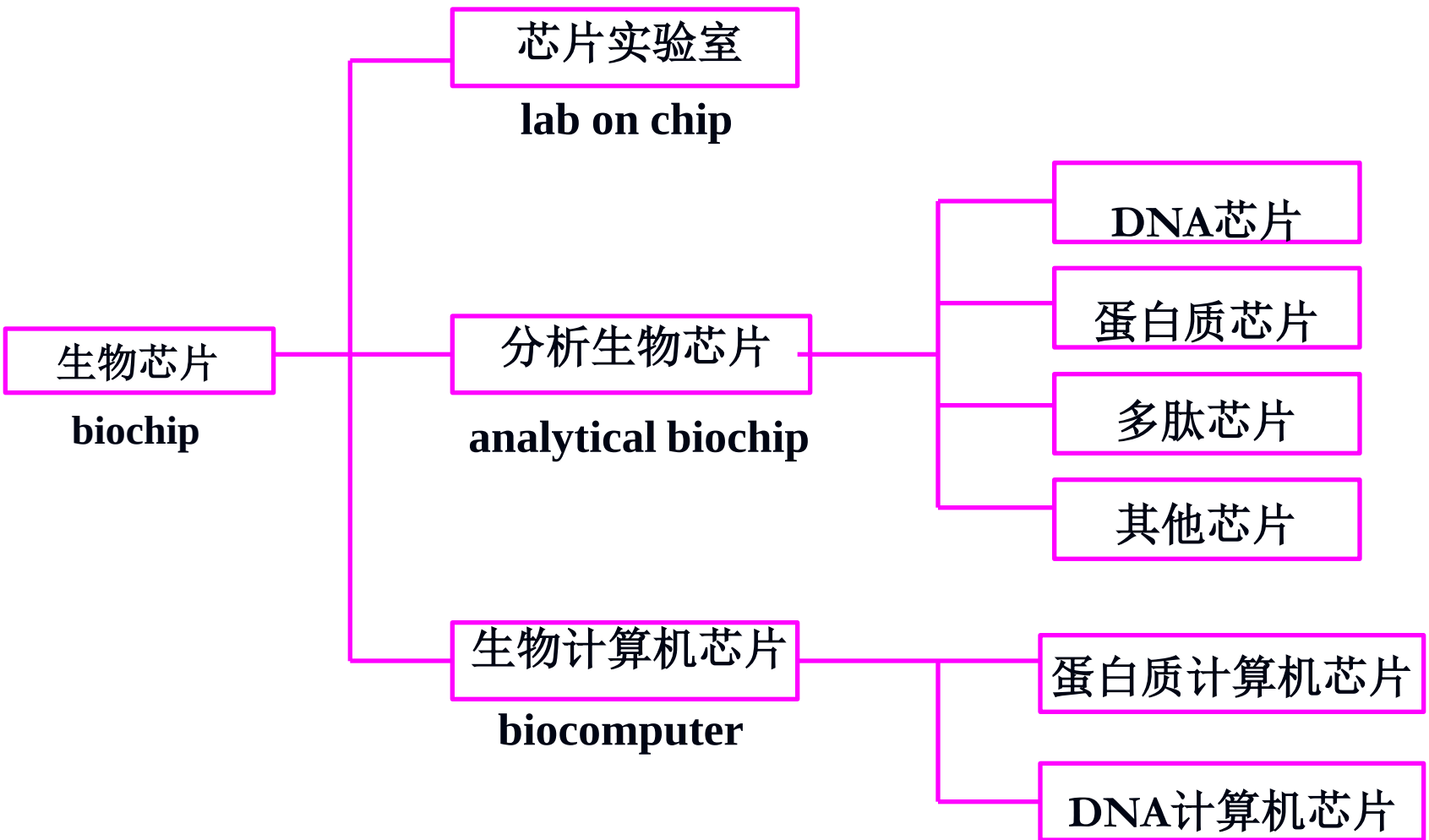
多肽芯片

其他芯片

蛋白质计算机芯片

DNA计算机芯片

生物芯片基本类型

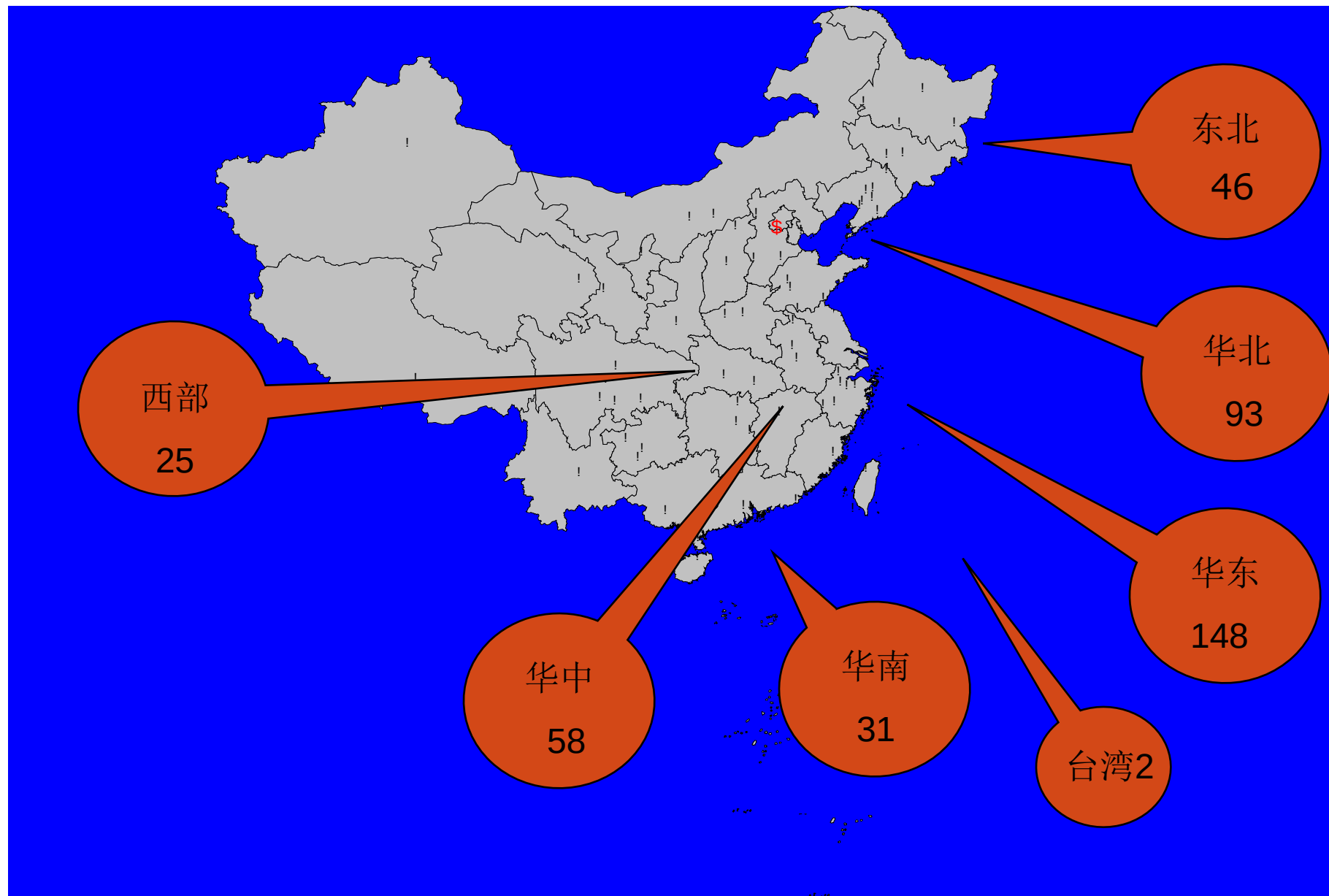


我国生物传感器领域的主要研究机构

单位	研究方向
中国科学院微生物所	临床诊断分析用生物传感器
中国科学院武汉病毒所	生物传感器和生物芯片、分析用酶的分子工程, BOD微生物传感器, 手掌型血糖分析仪研制
山东省科学院生物研究所山东省生物传感器重点实验室主任	固定化酶生物传感分析系统及其应用 生物传感在线分析系统、系列化生物传感分析仪器的制造技术、系列化固定化酶膜及配套试剂盒
清华大学生物技术系生物膜重点实验室	用于分子识别分析的SPR生物传感器的研制和应用
上海工业微生物研究所	手掌型血糖分析仪研制和产业化
中国科学院上海生化所	生物传感器技术的最新发展
中国科学院电子学研究所传感技术国家重点实验室	氢离子敏场效应管, 仿生生物传感器, 小型台式SPR测试仪, 微全分析系统
上海冶金研究所	生物传感器技术的最新发展
中国科学院长春应用化学所	主编的中国生物传感器进展一书在美国出版, BOD微生物传感器 基于化学修饰电极的电流型酶电极

我国生物传感器领域的主要研究机构

华东师范大化学系	基于化学修饰电极的电化学生物传感器
复旦大学化学系	电化学的酶、组织、微生物传感器
湖南大学化工系	组织、免疫传感器
湖南师范大学化学研究所	压电化学与生物传感, 提出了完整的压电晶体液相振荡性能定量关系式
陕西师范大学化学系	光生物传感器
浙江大学教育部生物传感器国家专业实验室	嗅觉和味觉生化传感器
上海师范大学化学系	微生物传感器的发展
河北科技大学	BOD微生物传感器
南开大学生命科学学院教育部生物活性材料重点实验室	体内药物传感器的开发研究



生物传感器在全国应用数量和地理分布

当前我国生物传感器产业化现状和市场特点是：

我国自主研发生物传感器产品及跨国企业集团在中国推出的产品共存并相互竞争。

一些掌握生物传感器技术的跨国大企业集团，看好被称为“世界工厂”的中国市场，采取技术输出的途径，吸收我国的技术力量和销售途径，在我国市场上进行生物传感器的开发、产品制造和销售。

一部份海外留学归国的生物传感器专门人才也将自己的成果在中国转化并设厂办企业。

家用保健类生物传感器技术已率先较好地实现了产业化突破，取得了显著经济效益。

固定化酶生物传感器作为一类多品种的精密科学仪器，支撑了一部份生物技术过程检测，对传统生物产业技术改造具有重要意义。

我国已产业化和应用的主要生物传感器种类

生物传感器种类	研究、生产或研制单位	开始完成时间	年产值或市场规模分析
手掌型血糖分析器	上海工业微生物研究所(新立), 中国科学院武汉病毒所, 长沙三诺公司, 北京世安公司	1996年至今	估测, 2003年销售量为1亿元人民币(含进口产品)
胰岛素泵	北京鼎涛医疗器械公司 珠海福尼亚医疗设备有限公司	2002年	2003年销售量已达到1亿元人民币。(含国外厂商进口产品)
固定化酶生物传感器分析仪和系统	山东省科学院生物研究所, 山东省生物传感器重点实验室	1989年至今	共供应各类固定化酶分析仪423台套, 年完成分析200万次, 产值120万元人民币
BOD微生物传感器	中国科学院武汉病毒所、中国科学院长春应用化学所、清华大学环境系、河北科技大学、江苏分析仪器厂等	1990年至今	小规模应用
SPR生物传感器	清华大学生物技术学院, 中国科学院电子研究所	1998年至今	实验室规模应用与推广