

阵列生物传感器研究进展*

李 丽 张 云 郁彩虹 黑婷婷 张耀东[△]

(陕西省生命分析化学重点实验室 陕西师范大学化学与材料科学学院 陕西 西安 710062)

摘要 简要介绍了阵列生物传感器的基本原理和分类。根据换能器的不同,评述了光学、电化学、质量型、磁致阻抗等阵列生物传感器的研究进展,并对目前阵列生物传感器研究中存在的问题进行了分析。

关键词 生物传感器 阵列 高通量分析

中图分类号 Q68,TP212 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2011)01-187-03

Current Development of Array Biosensors*

LI Li, ZHANG Yun, YU Cai-hong, HEI Ting-ting, ZHANG Yao-dong[△]

(Key Laboratory of Analytical Chemistry for Life Science of Shaanxi Province, School of Chemistry and Materials Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

ABSTRACT: The principle, specification of array biosensor is described herein. The progress in basic and application researches of arrays biosensor, including optical, electrochemical, mass and magneto resistance arrays is reviewed in detail. The current problems of array biosensor are also briefly discussed.

Key words: Biosensor; Array; High throughput analysis

Chinese Library Classification: Q68, TP212 **Document Code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)01-187-03

生物传感器(biosensor)主要由生物识别元件(molecular recognition element)和换能器(transducer)两部分组成^[1]。其基本工作原理是,被测物通过扩散进入生物敏感膜层,经分子识别、发生生化反应后,所产生的信号经过换能器转换与被测物浓度有关的物理化学信号^[2-3]。它是将具有生物活性的分子识别物质与各种固态物理换能器相结合而形成的一种检测仪器,具有灵敏度高、准确度高、选择性好、检测限低、价格低廉、稳定性好、能在复杂的体系中进行快速在线连续监测等特点,能广泛应用于基础研究、生物、临床化学和诊断、农业和畜牧兽医、化学分析、军事、过程控制与检测、环境监测与保护等领域。阵列生物传感器是在生物传感器的基础上,为适应多样品、多组分的高通量检测的实际要求而快速发展起来的,是生物传感器研究领域近年来最为活跃的课题之一^[4-5]。阵列生物传感器受到人们的广泛关注,并且已有部分研究成果商品化投入市场。本文拟简要介绍阵列生物传感器的基本原理和分类,评述阵列生物传感器方面的研究进展。

1 阵列生物传感器的基本原理和分类

阵列生物传感器是对生物物质的多项指标同时转换为电信号进行检测的仪器,是高通量分析中很重要的分析技术,可以认为阵列生物传感器是多个生物传感器的有机组合,它能够进行高通量的生物学信息转换和获取,并且具有选择性高、灵敏度高、稳定性好等优点。因此,可以认为阵列生物传感器的原理和生物传感器的原理基本一样,也是待测物质经扩散进入固定化生物敏感膜层,经分子识别,发生生物学反应,产生的信息

继而由相应的化学换能器转变成可定量和可处理的电信号,再经过二次仪表放大并输出,便可知道待测物浓度^[6]。

按照生物识别元件,可将阵列生物传感器分为两大类,即亲和型和催化型。前者是基于底物分子与固定化的敏感成分具有生物亲和作用,两者特异性的结合引起敏感成分分子结构和/或固定介质发生物理化学变化;后者是指当固定化分子与待测物反应后,产生生化代谢物质,再引起敏感成分分子结构和/或固定介质发生物理化学变化。根据换能器的不同,可将阵列生物传感器分为以下几种类型:光学、电化学、质量型、磁致阻抗等阵列生物传感器。本文根据换能器的不同,分别介绍近几年来各种类型阵列生物传感器的研究进展。

2 阵列生物传感器的研究进展

2.1 阵列光学生物传感器

表面等离子体共振(Surface Plasma Resonance, SPR)是电磁波所激励的在金属和电介质交界面上形成的影响电磁波传播的谐振波,是一种光学现象,一种消逝波。表面等离子体共振技术是19世纪70年代开始逐渐发展起来的一项新型的测量测试技术。利用SPR制成的生物传感器进一步利用了生物分子相互作用分析(bio-molecular interaction analysis, BIA)这一原理。基于SPR技术的传感器具有免标记、实时检测、灵敏度高、非破坏性、样品不需要纯化和抗背景干扰等优点,尤其是在动力学分析上优势明显。SPR技术被广泛应用于研究各种生物分子如蛋白质之间、核酸之间以及蛋白质核酸之间和药物与蛋白质之间相互作用的结合位点、反应物浓度和反应动力学等各

* 基金项目 国家自然科学基金(No.30600494)、中央高校科研基本业务费资助项目(No.GK200902010)

作者简介 李丽,女,硕士研究生,主要研究方向为生物分析

[△]通讯作者 张耀东,博士,副教授, E-mail: ydzhang@snnu.edu.cn

(收稿日期 2010-10-04 接受日期 2010-10-28)

种信息,也被广泛应用于光无源器件的制作、新型材料的获取及物质的筛选鉴定等方面^[7]。SPR 容易变成高通量的并行分析方法,比如多通道分析和成像分析等,其中表面等离子体共振成像分析(SPRI)可以同时成批样品阵列进行现场适时的动态或静态观测^[8]。Dostalek 等^[9]利用多通道 SPR 传感器,以抗体作为分子识别元件,可同时检测有机污染物中多种内分泌干扰物,该传感器不仅检测限低,而且还可再生和重复使用。表面等离子体共振显微镜(SPRM)能够以微阵列方式进行无标记实时研究生物分子的相互作用。Liu 等^[10]对微流控芯片与 SPRM 进行整合,原位制备了微阵列生物传感器,并对多目标生物分子进行了分析,检测限比传统推荐的方法低 6 倍。Fernandez 等^[11]发展了一种新型便携式六通道 SPR 生物传感器,在仅对全脂牛奶进行加水稀释,而不需要进行脱脂处理的条件下,即可对全脂牛奶中的多种抗生素进行同时检测。

由于荧光分析法具有多种测定参数(如荧光寿命、荧光各向异性、荧光量子产率、荧光激发波长、发射波长等)和多种检测技术和方法(如同步荧光、导数荧光、荧光偏振、荧光动力学分析法、三维荧光光谱法及相分辨、时间分辨荧光分析法等),以及灵敏度高、选择性好等许多突出优点,因此,阵列生物传感器与荧光法的结合非常紧密^[9-10]。消除背景干扰是荧光传感器阵列技术的关键问题,一般利用荧光探针在两个不同波长下荧光强度的差异,以内部校准的方式解决^[12]。Schultz 等^[13]用显微镜载玻片制作了一种可应用于 DNA 杂交分析的阵列生物传感器,载玻片上既固定有分子识别元件,本身又可作为换能器。激发光通过全内反射作用于荧光标记物,对 DNA 杂交分析的检出限是 $16 \text{ mol}/\mu\text{m}^2$,并可进行 DNA 杂交反应动力学研究,以及实时监控杂交探针和目标物在阵列传感器表面的反应。Doong 等^[14]利用溶胶-凝胶技术,将辣根过氧化物酶、谷氨酸脱氢酶和乙酰胆碱酯酶分别与不同的荧光物质共固定于载玻片上,采用荧光法同时测定老年痴呆症的几种生物标示物 β -淀粉样多肽、谷氨酸和乙酰胆碱,对应的检测限分别为 0.63 nM 、 $0.55 \mu\text{M}$ 和 $1.0 \mu\text{M}$,并且没有明显的交叉干扰。

与常规有光子进出的反射或透射的方法不同,椭圆偏振光度法是研究进出光的偏振态的技术^[15-16]。椭圆偏振阵列生物传感器可以实现无标记多元生物分子自动化检测、静态或动态测量及定性和定量测量等,已应用于生物医学与临床检测等方面,如肿瘤标志蛋白检测、乙肝五项同时检测、蛋白质竞争吸附以及多元蛋白质相互作用动态测量等^[17]。利用基于椭圆光度法成像原理的微阵列生物传感器并行检测的优势可对乙肝五项指标进行同时检测,通过微流道系统把 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 与 HBcAb 固定在芯片上,分别与患者血清反应,检测结果同 ELISA 方法检测结果完全一致。同 ELISA 方法比较,显著降低了试剂及样品的消耗、缩短了检测时间、提高了检测效率^[18]。

2.2 阵列电化学生物传感器

阵列电化学生物传感器是具有电化学信号转换器的阵列生物传感器,一般认为它是多个化学修饰电极,即以电导、半导体或者离子导电的材料构成电化学电极作为信号转换器,涂上一层生物化学薄膜作为敏感元件,最后以电信号为特征检测信号的传感器。根据电信号测定方式的不同,一般可分为电流式、电位式和电导式三类,电流式和电位式占主导地位。微阵列电

极作为生物传感器的信号转换器,可以同时探测多个参数,或者作为一个测量相同参数的传感器集合。微电极阵列(MEA)保留了微电极的优点,而且可以实现高通量的样品测定,大大降低了单个样品测定测试成本,此外,把微阵列电极并联起来还可以增大响应电流。由于微电极阵列所具有的优越性,以电极微阵列为基础电极的各类生物传感器报道日渐增多^[19]。Revzin 等^[20]使用标准照相平版印刷法结合金属沉积,在 SiO_2/Si 和聚脂薄膜衬底上制造 5 个金微电极的阵列。由于溶液中微阵列电极间的扩散层可能会发生部分重叠,分别使用单个电极和相邻的 2 个电极对乳酸盐浓度进行电化学测试,对两者的电流响应进行比较,发现相邻 2 个电极总的电流响应比单电极的增加了接近 100%,说明电极间的扩散层没有互相干扰。Radke 等^[21]用双功能交联剂将多克隆抗体固定在微阵列金电极表面上,用于检测大肠杆菌 O157:H7,能够区分菌数 10^4 – 10^7 CFU/mL ,并可用于检测食物样本中的病原体。Arya 等^[22]使用双功能试剂 3,3'-二硫代二丙酸二(N-琥珀酰亚胺)酯(DSTP)将皮质醇特异性单克隆抗体共价固定在微阵列金电极表面,并采用无标记的电化学阻抗(EIS)的技术测定皮质醇,线性范围为 1 pM – 100 nM 。

2.3 阵列质量型生物传感器

基于质量检测的压电免疫传感器是以石英晶体为敏感材料,通过压电石英谐振器对质量变化的敏感进行测定。阵列石英晶体传感器^[23]又称多道石英晶体微天平(Multichannel Quartz Crystal Microbalance, MQCM),是将一系列石英晶体振荡器组成石英晶体振荡器阵列,通过一定的制作工艺,组成阵列石英晶体振荡器,再用照相平板印刷术和氢氟酸与铵盐双氟化物的混合液进行化学蚀刻,把阵列石英晶体振荡器装配在一块单独的石英晶体上。阵列石英晶体传感器的多个振荡器与其它传感器技术相结合可同时获得多种分析化学信息,如通过对样品处理系统的改进,可提高电子鼻的定性定量分析容量,提高对特定分析对象的选择性和灵敏度^[24]。

Escuderos 等^[25]以 5 种气相色谱固定相(OV-17, OV-275, 聚乙二醇, Span 80 和凡士林)作为 QCM 传感器传感薄膜,制作了由 5 个 QCM 传感器组成的阵列生物传感器,将其作为人造嗅觉分辨系统,并对橄榄原油的芳香气味进行研究。Jin 等^[26]制作了可检测气体的 QCM 阵列生物传感器,并考察了制作过程中各种影响因素。电极选择性地涂敷了各种各样的传感膜(离子液体 BMICS、BMIBF₄ 和导电聚合物 PVF),可对一些挥发性有机化合物,即乙醇、二氯甲烷、正己烷和水,进行检测和分类。对该 QCM 阵列生物传感器的传感性能与单个的 QCM 传感器进行了全面的比较,试验结果表明 QCM 阵列生物传感器中的每一个 QCM 的行为都可以对质量及粘度等信号的变化表现出独立 QCM 传感器的性能。该方法具有高灵敏度、可进行多元分析、低成本、高通量、耗时短、试剂用量少等优点。

2.4 阵列磁致阻抗生物传感器

磁致阻抗阵列生物传感器通常由磁传感器阵列、流通池和电磁装置构成,通常将磁标记的分子识别物质固定于传感器的表面。Sanvicens 等^[27]用可被酶识别序列的肽编码顺磁性磁珠,并标记于 DNA,构建了磁生物传感器阵列。由于在顺磁性磁珠与 DNA 之间就多肽相连,目标 DNA 与顺磁性磁珠标记 DNA 杂交后,利用蛋白酶对肽的识别水解,进行 DNA 杂交分析。巨

磁阻抗 (Giant Magnetoimpedance, GMI) 效应,是指磁性材料的交流阻抗随着外加直流磁场的变化而发生显著变化的效应。采用非晶或纳米晶材料可以制备丝、薄带、薄膜和多层膜等不同的形态,利用它们的 GMI 效应制成 GMI 磁传感器^[28]。Chiriac 等^[29]以 CoFeSiB 非晶磁性微丝制作了基于巨磁阻抗(GMI)效应的磁性传感器,并用于生物活性分子的检测,响应非常灵敏。GMI 传感器与传统的磁电式传感器相比,具有响应快、灵敏度高、无磁滞、非接触、体积小、热稳定性好等优点,因此它在传感器领域中有十分诱人的应用前景。

3 结束语

阵列生物传感器将生物传感器组合并微型化,是一门集生化技术、物理学、微电子技术 with 生命科学等众多学科领域交叉综合的学科。阵列生物传感器作为一种高选择性、测试方法灵活、易于实现仪器微型化和集成化的分析技术,具有同时对不同分析对象进行识别和检测的优点。阵列生物传感器已取得了一系列的研究成果,但是在理论和技术仍有许多问题尚未解决,例如,阵列传感器的批量信号获取和大量的数据处理、阵列之间的交叉干扰、传感器的稳定性和重现性等问题都有待进一步解决。另外,许多应用研究仍处在开发阶段。随着研究工作的逐渐深入及这些问题的逐步解决,阵列生物传感器必将发挥越来越重要的作用。

参考文献(References)

[1] Murphy L. Biosensors and bioelectrochemistry [J]. Curr Opin Chem Biol, 2006, 10:177-184

[2] Scheller FW. From biosensor to biochip [J]. FEBS J, 2007, 274 (21): 5451-5451

[3] Turner PF. Biosensors-Sense and sensitivity [J]. Science, 2000, 17,290:1315-1317

[4] 李玉元, 张国林. 高通量分析中生物传感器阵列研究的进展 [J]. 生命科学仪器, 2003, 1(1):26-30

Li Yu-yuan, Zhang Guo-lin, Progress of biosensor arrays in high throughput analysis [J]. Life Science Instruments, 2003, 1(1):26-30

[5] Ligler FS, Sapsford KE, Golden JP, et al. The array biosensor:portable, automated systems [J]. Anal Sci, 2007, 23(1):5-10

[6] 张先恩. 生物传感器 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005:6-8

Zhang Xian-en, Biosensor [M]. Bei Jing: Chemical industry press, 2005:6-8

[7] Phillips KS, Cheng Q. Recent advances in surface plasmon resonance based techniques for bioanalysis [J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 387(5): 1831-1840

[8] Scarano S, Mascini M, Turner AP, et al. Surface plasmon resonance imaging for affinity-based biosensors [J]. Biosens and Bioelectron, 2010, 25(5):957-966

[9] Dostálek J, Pšibyl J, Homola J. Multichannel SPR biosensor for detection of endocrine-disrupting compounds [J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 389(6):1841-1847

[10] Liu J, Eddings MA, Miles AR, et al. In situ microarray fabrication and analysis using a microfluidic flow cell array integrated with surface plasmon resonance microscopy [J]. Anal. Chem, 2009, 81(11): 4296-4301

[11] Fernández F, Hegnerová K, Piliarik M, et al. A label-free and portable multichannel surface plasmon resonance immunosensor for on site analysis of antibiotics in milk samples [J]. Biosens and Bio-

electron, 2010, doi:10.1016/j.bios.2010.06.012

[12] Demchenko AP. The future of fluorescence sensor arrays [J]. Trends Biotechnol, 2005, 23(9):456-460

[13] Schultz E, Galland R, Bouatier DD, et al. A novel fluorescence-based array biosensor: principle and application to DNA hybridization assays [J]. Biosens and Bioelectron, 2008, 23(7):987-994

[14] Doong RA, Lee PS, Anitha K. Simultaneous determination of biomarkers for Alzheimer's disease using sol-gel-derived optical array biosensor [J]. Biosens and Bioelectron, 2010, 25(11):2464-2469

[15] Bae YM, Oh BK, Lee W, et al. Immunosensor for detection of yersinia enterocolitica based on imaging ellipsometry [J]. Anal Chem, 2004, 76(6):1799-1803

[16] Jin G, Tengvall P, Lundström I, et al. A biosensor concept based on imaging ellipsometry for visualization of biomolecular interactions [J]. Anal Biochem, 1995, 232(1):69-72

[17] Wang ZH, Jin G. A Label-Free multisensing immunosensor based on imaging ellipsometry [J]. Anal Chem, 2003, 75(22):6119-6123

[18] Qi C, Zhu W, Niu Y, et al. Detection of hepatitis B virus markers using a biosensor based on imaging ellipsometry [J]. J Viral Hepat, 2009, 16(11):822-832

[19] 黄钦文, 李斌, 黄美浅, 等. 微阵列电极电化学生物传感器 [J]. 传感器技术, 2004, 23(2):1-3

Huang Qin-wen, Li Bin, Huang Mei-qian, et al. Microarray electrode electrochemical biosensors [J]. Journal of Transducer Technology, 2004, 23(2):1-3

[20] Revzin AF, Sirkar K, Simonian A, et al. Glucose, lactate, and pyruvate biosensor arrays based on redox polymer/oxidoreductase nanocomposite thin-films deposited on photolithographically patterned gold microelectrodes [J]. Sens Actuators B, 2002, 81:359-368

[21] Radke SM, Alcolija EC. A high density microelectrode array biosensor for detection of E. coli O157:H7 [J]. Biosens and Bioelectron, 2005, 20(8):1662-1667

[22] Arya SK, Chornokur G, Venugopal M, et al. Dithiobis(succinimidyl propionate) modified gold microarray electrode based electrochemical immunosensor for ultrasensitive detection of cortisol [J]. Biosens Bioelectron, 2010, 25(10):2296-2301

[23] Marx KA. Quartz crystal microbalance: a useful tool for studying thin polymer films and complex biomolecular systems at the solution-surface interface [J]. Biomacromolecules, 2003, 4(5):1099-1120

[24] Shen F, Lu P. Influence of interchannel spacing on the dynamical properties of multichannel quartz crystal microbalance [J]. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, 2004, 51(2):249-253

[25] Escuderos ME, Sánchez S, Jiménez A. Virgin olive oil sensory evaluation by an artificial olfactory system, based on quartz crystal microbalance (QCM) sensors [J]. Sens Actuators B, 2010, 147:159-164

[26] Jin X, Huang Y, Mason A, et al. Multichannel monolithic quartz crystal microbalance gas sensor array [J]. Anal. Chem, 2009, 81 (2): 595-603

[27] Sanvicens N, Galvin P, Cotter TG. Multiplex analysis with peptide-encoded beads [J]. Bioconjug Chem, 2006, 17(6):1607-1611

[28] Ong KG, Tan EL, Pereles B, et al. Wireless, magnetic-based sensors for biomedical applications [C]. Engineering in Medicine and Biology Society, 2009. EMBC 2009. USA: Conf [J]. Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2009:5436-5439

[29] Chiriac H, Tibu M, Moga AE, et al. Magnetic GMI sensor for detection of biomolecules [J]. J Magn Magn Mater, 2005, 293:671-676