



*本项研究得到国家自然科学基金重点基金(69936010)和国家自然科学基金重大项目(20299030)的共同资助

摘要:作为传感技术领域一个非常活跃的研究前沿,近十多年以来,随着各种新原理、新技术的发展和出现,生化传感器的发展呈现出商品化、微型化、集成化、智能化等许多新特点。本文将介绍当前生化传感器发展的新特点,并对其发展的新趋势进行探讨。

关键词:生化传感器;商品化;微型化;集成化;智能化;生物芯片

中图分类号:TP212.3/TP212.2 文献标识码:A 文章编号:1006-883X(2004)03-0006-06

▶▶ 崔大付 刘长春 陈翔萌

一、引言

生化传感器是指能感应(或响应)生物、化学量,并按一定规律将其转换成可用信号(包括电信号、光信号等)输出的器件或装置。它一般由两部分组成,其一是生化分子识别元件(感受器),由具有对生化分子识别能力的敏感材料(如由电活性物质、半导体材料等构成的化学敏感膜和由酶、微生物、DNA等形成的生物敏感膜)组成;其二是信号转换器(换能器),主要是由电化学或光学检测元件(如电流、电位测量电极,离子敏场效应晶体管,压电晶体等)。然而,随着当前各种新材料、新原理和新技术的不断发展,特别是微电子机械系统(Micro electro mechanical system, MEMS)技术和生物芯片技术的出现,目前生化传感器的概念已经跳出了原来狭义的圈子,扩展为以微型化、集成化、智能化和芯片化为特征的生化微系统。

生化传感器已经经历了一段较长的发展历程,最早的化学传感器可以追溯到100多年前的 H^+ 离子选择性电极,而生物传感器也可以追溯到上个世纪60年代英国人Clark发明的酶电极。近些年来生化传感器的研究与发展更加迅速和深入,表现出了一些新特点,主要有:

- (1) 在广阔市场前景的驱动下,实用化、商品化的生化传感器与系统越来越多;
- (2) 微电子机械系统技术和纳米技术不断渗入到传感技术领域,微型化、集成化和多功能化的生化传感器进入全面深入研究开发时期;
- (3) 随着计算机技术的广泛应用,一种具有信息检测、信号处理、信息记忆、逻辑思维与判断功能的智能灵巧型生化传感系统开始出现;
- (4) 自从上世纪80年代末提出人类基因组计划以来,以芯片化为结构特征,以系统集成成为最终目标的各种新型的生化微系统(包括微阵列基因芯片、微流体生物芯片等)应运而生,把生化传感器的研究推进到一个前所未有的崭新阶段。

下面将就这些特点作些简要介绍。

二、生化传感器的商品化、实用化

血糖传感器是生物传感器中最先商品化和实用化的一种。自从 1990 年英国首先研制成功了一种用于糖尿病患者自我检测血糖浓度的葡萄糖酶生物传感器之后，这种传感器在制造中采用了丝网印刷技术印制电极和酶层，已实现了大批量生产；这项研究在我国也获得成功，并已商品化、产业化。除此以外，能快速分析葡萄糖、谷氨酸、乳酸、乳糖、半乳糖的多功能生物传感器以及测定生物肌体内三磷酸腺苷（ATP）变化的新鲜度传感器也都已得到实用。图 1 所示为一种小型血糖测试仪。

近些年来无标记检测方法得到迅速发展，它是直接利用抗原与抗体反应的生成物所引起物理、化学参数变化来检测的。这种无标记检测不仅操作简化，而且可以实时、在线检测，光、声、电、热等多种敏感元件都可以作为这种生物传感器的转换元件，如表面等离子体谐振 SPR（Surface Plasmon

Resonance）、椭圆偏振光 EPL（Ellipsometry and Polarized Light）、光寻址电位传感器 LAPS（Light Addressable Potentionmetric Sensor）、离子敏场效应晶体管 ISFET（Ion Sensitive Field Effect Transistor）、表面声波 SAW（Surface Acoustic Wave）和石英晶振微天平 QCM（Quartz Crystal Microbalance）等。这里特别要指出的是近些年表面等离子体谐振（SPR）生物传感器得到迅速的发展和实际应用。

表面等离子体谐振生物传感器是利用固态表面上生物敏感膜的亲和反应检测光学参数变化的一种具有高灵敏、快速、稳定的生物传感器。检测时，样品不需要标记，可以直接、实时、原位地检测，且需要量少；其可以监测吸附过程的连续反应，监

测可逆性程度，也可以详尽地检测生物分子相互作用的动力学过程。SPR 分析技术的出现，大大加快和优化了免疫测定过程。几十年来，DNA 和蛋白质之间相互作用的反应动力学测定一直没有简便快捷的方法，而 SPR 技术解决了这一难题。现今，瑞典 Phamacia 公司的 Biacore 系列产品已占据国际市场主导地位，英国的 Iasys 公司、美国 TI 公司以及日本、德国也都有自己的产品。

中科院传感技术国家重点实验室自行设计研制的谐振角调制型 SPR-2000 生物传感器，性能稳定，特点突出，调制范围宽（ $40^{\circ}\sim 70^{\circ}$ ）、精度高（ 0.001° ）、折射率测试范围宽（ $1.04\sim 1.47$ ），可对液相和气相样品检测；反应池温度可以调控，高温达 95°C ，满足 DNA 扩增要求，系统智能化程度很高，也已商品化。图 2 所示为 SPR-2000 型表面等离子体谐振生物传感器及分析仪照片。^[1,2]



图 1 小型血糖测试仪



图 2、SPR-2000 型表面等离子体谐振生物传感器及分析仪照片

三、生化传感器的微型化、集成化和多功能化

各种新型加工材料和先进制造技术的出现给当前生化传感器的发展带来巨大的推动力。电子集成电路（IC）工艺技术，特别是 MEMS 技术在生化传感器中的应用，加速了生化传感器的微型化、集成化和多功能化。MEMS 技术是在微电子器件制造技术的基础上进一步

融入微机械加工技术，并把两者结合起来的微制造技术。它包括了平面工艺中的光刻、氧化、扩散、CVD 生长、镀膜、压焊等，又增加了三维加工工艺，如双面光刻、各向异性和各向同性化学腐蚀、等离子深刻蚀、LIGA（光刻、电铸、铸塑）技术、硅—硅键合、硅—玻璃键合等等，加工尺度在微米级。

以生物传感器为例来说，继第一代传统的酶电极和第二代便携式实用性葡萄糖酶电极之后，现在正在研制第三代阵列化、集成化、多功能化器件。把血糖、血脂、酮体和乳酸等四种参数的检测集成在一个芯片上，这样对糖尿病患者，不仅能检测血糖指标，还检测血脂（高血脂不仅引发高血压、动

脉粥样硬化还将诱发糖尿病加重)、酮体和乳酸指标。把检测四种参数功能集成化,而只采一滴不到 $5\mu\text{l}$ 的血样,就可以给出全面结果,这是新一代血糖检测仪。同样,检测血液中 pH、 pO_2 、 pCO_2 含量的血气检测仪也正在向微型化、集成化、多功能化的方向发展,不久的将来就会商品化。

与传统的生化传感器相比,微型化、集成化的生化传感器系统表现出了许多独特的优点:小型便携、分析速度快(可以提高 $2\sim 3$ 数量级)、所需样品量少(只需几微升)、污染大大减少(可以采用一次性使用器件)、实现临床实时分析、性能价格比高、便于批量生产制造等。

微米技术(MEMS 技术)给生化传感器的发展带来深刻的影响,成为当今发展生化传感器的核心技术;而纳米技术的出现和兴起将为生化传感器的发展提供更为广阔的空间。

随着纳米技术的发展,纳米生物学、纳米医学诞生了,生化传感器在纳米技术的推动下也带来了新的革命;一些纳米传感器和纳米执行器应运而生。例如有一种为糖尿病患者研制的超小型的、模仿健康人体内的葡萄糖检测系统的智能药丸,即为纳米智能药物,它能被植入皮下,监测血糖水平,必要时释放出胰岛素,使人体内的血糖和胰岛素含量总处于正常水平。由生物大分子构成,利用化学能进行机械做功的分子马达,也是一种纳米系统,它包括线性推进和旋转式推进两类。DNA 解旋酶是线性分子马达,而生物体中普遍存在的三磷酸线苷酶(ATP)是旋转式分子马达。近年来科学家利用 ATP 酶作为分子马达(被称为纳米机电设备——“纳米直升机”)进入人体细胞,完成在人体细胞内发放药物等任务。图 3 为 ATP 酶分子马达示意图。

纳米传感器目前已有多种型号,比如,有种能探测单个活细胞的纳米探针,可插入活细胞内,探知会导致肿瘤的早期 DNA 损伤程度;还有一种 DNA 纳米传感器,很容易把锌、镍、钴等离子并入 DNA 的双螺旋中心,从而获得新的 DNA 导体。由于其能够选择性结合,从而可探测遗传 DNA 畸变或鉴别环境

毒素等。另外,利用纳米技术的两大效应——量子尺寸效应和表面效应可把传感器的性能提高到新水平,使其不仅体积更小、而且速度更快、精度更高和可靠性更好。基于表面效应的纳米结构敏或膜是当前气敏传感器研究的热点,如把纳米金颗粒引入敏感膜制备中,则生化传感器灵敏度等性能有极大的提高。Mirkin, Lin 等采用金纳米—DNA 探针识别靶基因的成功表明,纳米技术能对 DNA 传感器的灵敏度、稳定性及专一性发挥重要作用。^[3]

四、生化传感器的智能化

计算机技术、通信技术和传感技术被认为是当前信息技术的三大支柱技术,计算机技术、通信技术在近 20 年内取得了举世瞩目的成就,它们已经从根本上改变人们传统的生活方式和习惯。与之相比,传感技术相对滞后,成为当前信息技术发展的一个“瓶颈”,当然它也是最具挑战性和吸引力的领域。就生化传感器而言,由于其主要的应用范围是与人们生活息息相关的临床医学、环境检测等领域,这就给生化传感器提出了更高的要求:准确度高、可靠性高,稳定性好、而且要具备一定的数据处理能力,并能够自检、自校、自补偿。传统意义上的传感器已不能满足这样的要求。另外,为构建高性能的生化传感器系统,仅仅依靠当前的生化技术来改造生化敏感材料还是远远不够的,因此需要把当前已经成熟的计算机技术与生化传感技术结合起来,弥补其性能上的不足,由此,智能型生化传感器诞生了。

所谓智能型生化传感器,就是一种带有微处理机的,兼有信息检测、信号处理、信息记忆、逻辑思维与判断功能的生化传感器系统。

大家熟悉的“电子鼻”就是一类非常典型的智能型生化传感器系统,它是将不同气敏传感元集成起来,利用各种敏感元对不同气体的交叉敏感效应,采用神经网络模式识别等先进数据处理技术,对混合气体的各种组分同时监测,得到混合气体的组成信息的。从 20 世纪 50 年代首次提出“电子鼻”概念,到 80 年代英国沃威克大学 Dodd 研制出早期的

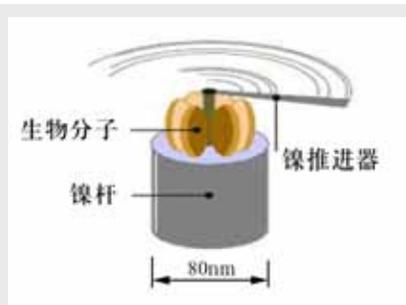


图 3 ATP 酶分子马达示意图



图 4 Cyranose 320“电子鼻”照片

“电子鼻”系统,今天美、英、法、德等发达国家均已电子鼻产品问世。如美国 Cyranose 320 “电子鼻”就是由 32 个传感器组成的阵列,英国的 Osmetech、Neotronics 等公司均有“电子鼻”产品。图 4 为 Cyranose 320 “电子鼻”照片。

“电子鼻”系统通常由一个交叉选择式气体传感器阵列和相关的数据处理软件组成,并配以恰当的模式识别系统,具有识别简单和复杂气味的能力。其敏感材料主要是金属氧化物半导体和导电聚合物,配置阵列单元数量则从几个到数十个不等,由阵列响应模式来确定其所测气体的特征。阵列响应模式采用关联法、最小二乘法、群集法以及主要元素分析法等方法对所测气体进行定性和定量鉴别。“电子鼻”具有极大的市场潜力,目前用于质量控制和在线检测的较大型“电子鼻”系统一般售价达 6~10 万美元,而手持式“电子鼻”产品,售价仅为 5000 美元左右。其市场增长迅速,具有超过气相色谱分析和质谱仪等传统技术的势头。

味觉是同时捕捉多种物质的复合感觉,能探测味觉的传感器就是“人工舌”,一个完善的“人工舌”必须包括不同种敏感材料的膜电极阵列,以感受不同味道,进而对味觉信息进行编码,综合图像处理 and 进行味觉识别。图 5 为一种“人工舌”芯片样品照片。

国外学者采用胆固醇油脂与人工合成的氯化乙烯脂质混合成味觉敏感膜,因膜电位在不同的味道中不同,因此可测定酸、甜、苦、辣以及啤酒、咖啡等味道。这是用人工合成仿生脂质膜来模拟“人工舌”的一个例子。巴西一家公司研制出一种便携式“电子舌头”,电子舌上共装有 4 个化学传感器,每个都有薄膜高分子聚合物沉积在金属电极上并与电路相连。电子舌接触待测溶液时,



图 5 一种“人工舌”芯片样品照片

薄膜吸收溶解在水中的物质,电极的电容值发生变化。4 个传感器的状态组合与包含有甜、咸、酸、苦等标尺的图谱对照即可以确定溶液的味道。由于非常精密,它能够发现水中极少量的杂质,能取代品味专家的职能,精确可靠地测定饮料和食物的味道,评定酒、矿泉水及其它食物的质量。^[3]

五、生化传感器的芯片化

生物芯片技术是随着人类基因组计划的实施发展起来的新兴技术,尽管生物芯片这一概念并不是在生化传感器的基础上提出来的,但自从 1990 年瑞士科学家 Manz A. 提出微全分析系统 (Micro Total Analytical System, μ TAS) 这一概念以来,生化传感器从此步入了一个崭新的发展阶段,如今,生化传感器的发展思路不再仅仅局限于其自身的微型化和集成化,而是朝着以分析化学和分析生物化学为理论基础,以微电子机械系统技术为技术依托,以微管道网络芯片为结构特征,以系统集成成为最终目标的生化微系统方向发展。所以,以芯片化为结构特征的生物芯片系统不仅是当前生化传感器的一个重要的组成部分,更是未来生化传感技术发展的一个重要方向。纵观当前的生物芯片技术,依据芯片结构及工作机理不同,通常可以分为两大类:即微阵列芯片 (Microarray chip) 和微流体芯片 (Microfluidic chip)。

微阵列芯片主要包括基因芯片、蛋白质芯片、细胞芯片、组织芯片等,其中基因芯片是微阵列芯片中最先实现商品化的产品,目前市场上出现的微阵列芯片大多数是基因芯片;蛋白质芯片是微阵列

芯片研制中极有潜力的一种芯片,因为它从蛋白质水平去了解和研究各种生命现象。图 6 是 Affymetrix 公司研制的一种平面阵列 P53 基因芯片,由 50000 个 DNA 探针组成,试图监测 400 个以上的 DNA 突变。通过分子生物学,表面/界面化学,分子电子学和仿生学的发展与结合,基

因检测技术得以完善,最终达到能快速、准确、特异地揭示分子异常事件,为临床诊断提供可靠的依据的目标。此外,美国 Motorola 公司发展了一种基

于电化学传感器阵列的基因芯片，他们巧妙地把基因芯片技术与 DNA 生物传感器技术结合起来，大大减化了检测仪器，同时也加快了分析速度。事实上，无论是基于光学原理还是电化学原理检测的微阵列芯片，芯片点阵中的每一个单元微点都可以看作生化传感器的一个探头，所以生化传感技术的精髓已经应用到了当前生物芯片系统的发展上。

微流体芯片通常又称为芯片实验室 (Lab On a Chip, LOC), 按其功能不同, 可以分为样品处理芯片、生化反应芯片以及结果检测芯片, 但其发展的最终目标是把上述三种具有不同功能的芯片集成化, 实现检测过程的连续化和一体化, 最终达到微全分析的目的。中科院传感技术国家重点实验室采用硅微加工技术和塑性材料加工技术, 已制作出 DNA 样品处理芯片, PCR 芯片和集成毛细管电泳芯片, 如图 7 所示。

在各种单一的功能芯片得到充分研究的基础上, 1998 年 Burns M. A. 等人构建了一个集成的纳升级 DNA 分析系统, 如图 8 所示, 该集成分析系统融合了多项芯片技术, 具有较高智能度和集成度。其大小为 $47\text{mm} \times 5\text{mm} \times 1\text{mm}$, 采用标准光蚀刻技术和微细加工技术, 在硅片基上构建了各种微流体网络及各种复杂的

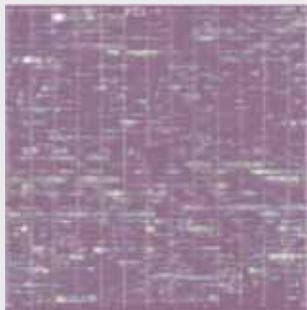
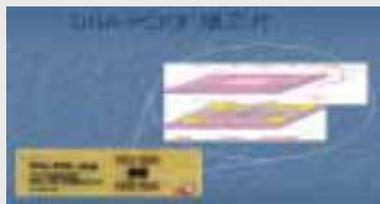


图 6、平面阵列 DNA 芯片测试显示图



样品处理芯片



PCR 芯片



集成毛细管电泳芯片

图 7 中科院传感技术国家重点实验室研制的 DNA 芯片

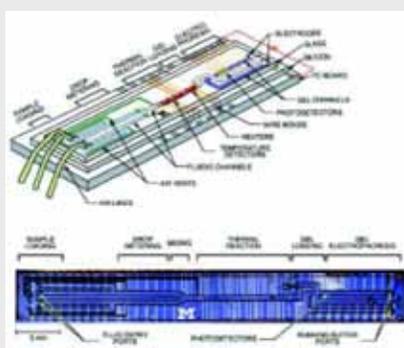


图 8 集成的纳升级 DNA 分析系统

功能器件。在计算机控制下, 流体由芯片外围的空气泵进行驱动, 流体定位和计量由微沟道中的疏水区带来完成, 集成在芯片上的加热子和温度传感器对扩增室的温度进行精确监控, 扩增后的 DNA 样品通过压力输送到电泳注样口, 然后在电场作用下实现电动进样和电泳分离。整个系统除了激发光源、压力源和控制电路部分外, 其他部分都已经制作在微芯片上了。这种整合了纳升进样器、温控反应室、样品混合及定位、电泳分离和荧光检测等系统的高度集成装置的出现, 表明复杂系统可缩微到微纳米大小, 推动了实验室的微型化和芯片化。^[4]

在这里我们还要特别介绍一下基于电化学传感器的电泳芯片实验室系统, 其结构如图 9 所示。Wang J 领导的研究小组在这一领域做了大量的卓有成效工作, 并对其进行了非常系统深入的研究。他们首先构建了一套基于柱前生化反应、柱中电泳分离和柱后电化学检测的生化微系统分析平台。实验时, 首先让样品溶液中的葡萄糖与葡萄糖氧化酶在入柱前发生衍生化反应生成具有电活性的 H_2O_2 , 接下来生成的 H_2O_2 与尿酸、抗坏血酸在微毛细管柱中进行电泳分离, 最后在电泳柱末端丝网印刷碳电极分别对它们进行电化学响应, 从而实现对尿酸、抗坏血酸的直接电化学检测和葡萄糖的间接电化学检测。该芯片实验室系统既有效地利用了电化学传感器检测的高灵敏度和酶反应的高特异性, 更是充分发挥了毛细管电泳芯片分离的高效性, 由于该系统从芯片本身到电化学检测的外围设备都可以全部微型化, 从而实现真正意义的便携式系统。所以基于这一理念设计的芯片实验室系统, 在未来床边检测 (point of care test, POCT) 芯片的

开发方面将具有极高的应用价值和广阔的应用前景。^[5]

六、结束语

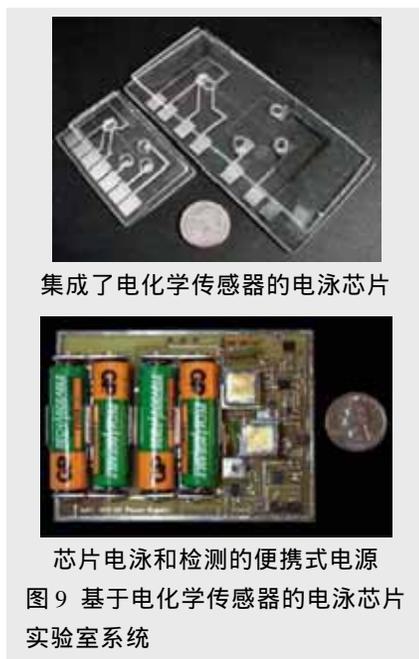
21 世纪是生命科学的世纪,特别是人类基因组计划的实施大大加速了与生物学、医学、卫生、食物等学科息息相关的各类新型生化传感器的发展,这给当前生化传感器的研究提供了前所未有的发展机遇。可以预见,在不久的将来,一种新型的生化传感器微系统将走进我们的生活,它将在疾病诊断、生物信息学和基因检测分析等方面显示出广泛的应用前景。

参考文献:

- [1] 崔大付等.表面等离子体谐振(SPR)生化分析仪的研制[J].现代科学仪器,2001,6:34~38
- [2] 崔大付等.表面等离子体谐振(SPR)生化分析仪的研制与应用[J].仪器仪表与传感器,2002,2:33~37
- [3] 崔大付,陈翔.生物传感器的研究和发展[J].电子产品世界,2003,1:55~57
- [4] Burns M A, et al.. An Integrated Micro-fabricated DNA Analysis Device[J]. Science, 1998, 282: 484~487
- [5] 刘长春,崔大付.电化学传感器及其在芯片实验室中的应用[J].传感器技术,2003,22(7):1~3

Novel Characteristics Of Biochemical Sensors In Their Development

Abstract: Biochemical sensor is one of the most



集成了电化学传感器的电泳芯片

芯片电泳和检测的便携式电源

图9 基于电化学传感器的电泳芯片实验室系统

attractive fields in sensors research. Especially in recent decade, with the development and occurrence of all kinds of novel theory and technology, biochemical sensors show a lot of novel characteristics, including commercialization, miniaturization, integration, and intelligence, in their development. In this paper, new characteristics of biochemical sensors are described, and their novel trends are also discussed.

Keywords: biochemical sensors; commercialization; miniaturization; integration; intelligence; biochip

作者简介:

崔大付,研究员,博士生导师。研究方向为集成微传感器、微系统以及 DNA 芯片等。现任传感技术国家重点实验室副主任和学术委员会委员;中科院电子所学术委员会委员和学位委员会委员,担任中国电子学会传感技术分会离子敏、生物敏专业委员会主任及传感技术应用专业委员会副主任委员。

通讯地址:中国科学院电子学院研究所

邮编:100080

联系电话:010-62554503

E-mail: dfcui@mail.ie.ac.cn

陈长春,在读博士生,研究方向为集成微传感器、微系统以及 DNA 芯片等。

陈翔萌,在读博士生,研究方向为集成微传感器、微系统以及 DNA 芯片等

本文编辑:李晓延 读者服务卡编号 001