

І.С. Чекман, Н.О. Горчакова

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, Київ

БІОСЕНСОРИ: СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ



Надані узагальнені відомості про сенсори взагалі та біосенсори зокрема, описані історія створення, класифікація сенсорів та біосенсорів, механізм їх дії та сфера застосування.

Ключові слова: сенсори, біосенсори, класифікація, механізм дії, застосування.

ВСТУП

Велика кількість різноманітних технологічних процесів застосовується при виготовленні як медичних засобів (медикаментів, ферментів, антитіл, апаратів), так і промислових товарів (надзвичайно чистих речовин, металів, органічних сполук). Виробництво вимагає постійного моніторингу технології на промислових підприємствах, в процесах імунологічних реакцій та біотрансформації ксенобіотиків. Поступово дійшли висновку, що температура, тиск, рівень рідини, швидкість робочого процесу в біореакторах повинні постійно контролюватися. Отже, необхідні спеціальні пристрої для визначення кількості рідини або газу, що надходять під час процесів у біореакторах з метою визначення субстратів, продуктів і метаболітів та рН. Такі системи — різноманітні сенсори, включаючи біосенсори для контролю середовища навколо виробничого процесу — були розроблені і почали застосовувати у високих біотехнологіях. Крім того, в останні роки з'явилося багато проблем, пов'язаних зі стабільністю, стерилізацією, точністю, а також впливом отриманих продуктів на навколишнє середовище та людину. Для розв'язання цих проблем необхідний моніторинг традиційних процесів [1, 2, 3].

БІОСЕНСОРИ

Біосенсори — чутливі системи зі спеціальними елементами, що мають властивість визначати кількість субстанції, яка утворюється в процесі реакції завдяки високій селективності. Є інші визначення і завдання біосенсорів. Біосенсори — це аналітичний винахід, який інтегрує біологічний елемент і не здатний до зворотної біоспецифічної взаємодії з аналітичним та сигнальним переносником. Активним елементом біосенсорів є шар молекул, названий біовизначальником. Це — ферменти, ДНК, лектини тощо. Біосенсори складаються з трьох частин: біологічний визначальний компонент, сигнальний трансдуктор та електрична або селективна одиниця. Більшість медичних біосенсорів — це антитіла або ензими (очищені або у формі цілісних клітин) як біокомпоненти. Такі біосенсори знайшли застосування в різних галузях медичної науки і практики як оптичні, амперометричні або п'єзотрансдуктори [4, 5, 6].

Однією з провідних галузей біосенсорної технології є застосування таких біокомпонентів, як аптамери та вуглеці. Для кожного класу біокомпонентів існують різні переваги та аналітичні коливання в певних межах, тому визначення нових елементів біосенсорного виявлення має значний науково-практичний

інтерес. Серед класу біокомпонентів з великим потенціалом виділяють аптамери, короткі РНК та ДНК олігонуклеотиди зі специфічними трьохрозмірними конформаціями, що дає їм можливість зв'язувати велику кількість малих і великих молекул [7]. Аптамери можуть бути синтезовані і проявляти зв'язуючу активність та специфічність до аналізованої сполуки, якою може бути білок, вуглевод, лікарський засіб з малою молекулярною масою [8]. Як біосенсорні компоненти аптамери збуджуються, тому що вони більш чутливі і мають більш виражену зв'язуючу властивість, ніж антитіла (імуносенсиори можуть бути адаптовані для аптамерів) [9]. Аптамери стали широко застосовуватися для зменшення негативного впливу на організм патогенних мікроорганізмів і токсинів. В останні роки завдяки їм був створений біозахист від багатьох екзогенних токсинів, зроблені певні кроки до біозахисту від пріонів [10, 11]. Зростає зацікавленість дослідників до вуглеводів та глікопротеїнів. Є повідомлення, що вуглеводи самі можуть бути новим класом біосенсорних біокомполітивів. Відома важлива роль вуглеводів в поверхневих рецепторах, які впізнають різноманітні молекули [2]. Встановлено, що головними з вуглеводних біосенсорів є глікопротеїди (лектини) [12]. Саме лектини почали застосовувати як біокомпоненти біосенсорів для вуглеводів (як і для гліколіпідів) [12, 13].

Важливим став пошук сенсора для очищених продуктів, визначення домішок або головного елемента суміші. Сенсори можуть бути застосовані як різні види рецепторів організму для виявлення фази речовини (порошку, газу або рідини) [14]. Біосенсиори вже застосовують для ідентифікації рівня росту бактерій [15] та інфекцій в клітинній культурі молочної залози [16].

Головна перевага біосенсорів — висока специфічність біомолекул до цільового субстрату. Імуносенсиори — це клас біосенсорів, пов'язаний із застосуванням антитіл як елементів біочутливості.

Реакція відбувається між цільовою аналізованою речовиною та специфічним антитілом [17]. Електрохемілюмінісценція — імунодосліджувана система для виявлення тринітроетилена, при якому антитіла, мічені до ензиму, фіксовані на парамагнітних носіях, сконцентровані на електроді завдяки магнетизму [18]. Проводяться дослідження з метою використання компактних мембран для імунологічних досліджень [17]. У цій системі антитіла іммобілізовані на мембрані та насичені міченим антигеном. Коли немічений антиген (зразок) проводять крізь текучу систему, пропорційна кількість міченого антигену переміщується з іммобілізованого антигену на місце зв'язку, і це переміщення визначається флуориметром. Концентрація переміщеного міченого антигену визначається пропорційно до концентрації цільового аналітика, що був введений в систему.

Автори [19] визначали 2,4,6-тринітротолуен у морській воді, застосовуючи імуночутливий метод, а автори [20] користувалися як імуносенсорами хімічно модифікованими скляними мікрокапілярами. Внутрішня поверхня скляного мікрокапіляра була модифікована 3-амінопропілтриетоксисиланом та флуоресціювала з антигеном 2,4,6-тринітротолуетиеном, тринітробензенсульфоновою кислотою. Коли 2,4,6-тринітротолуетилен надходив в мікрокапіляр, його комплекс з антитілом змінював флуоресценцію, що вимірювалася флуориметром з визначенням часу аналізу.

Новий імуносенсор з поверхневим плазмовим резонансом, в основі якого лежить конкурентна імунна реакція з застосуванням кон'югата тринітрофенолу з сироватковим альбуміном бика та антитіла до тринітрофенолу, застосовують для визначення 2,4,6-тринітрофенолу [21]. Тринітрофенол в розчині конкурує з іммобілізованим комплексом тринітрофенол-сироватковий альбумін за зв'язок з антитілом до тринітрофенолу, причому сту-

пінь пригнічення залежить від концентрації тринітрофенолу.

Існують два імуночутливих методи для визначення тринітрофенолу, в основі яких є конкурентна інгібіція [21]. Візьмімо для прикладу два поліклональних антитіла: одне з яких отримали з 2,4,6-тринітрофенол-бичачого сироваткового альбуміну кон'югату, друге — з 2,4,6-тринітрофенолу, що було приєднано до немодифікованого кон'югату, який застосовували в імунологічних дослідженнях. Імобілізований тринітрофенол взаємодіє з антитілами та резонансно змінює кут при біомолекулярних взаємодіях, що монітуються. Це застосовується для визначення 2,4,6-тринітрофенолу. Обидва антитіла мають високу ступінь афінитету до 2,4,6-тринітрофенолу.

Запропонована також біочіп-технологія для визначення 2,4,6-тринітрофенолу [22]. Слід зазначити, що, незважаючи на успіхи імунологічних досліджень, є труднощі: необхідні специфічні антитіла до кожної сполуки; імуносенсори мають високу вартість; важко розрізнати сигнали при застосуванні імуносенсорів; можлива втрата чутливості до них. До негативних моментів слід також віднести матричні ефекти, неспецифічну взаємодію, гетерогенність.

Таким чином, створення біосенсорів та їх використання сприяють розвитку науки і промисловості. Сфера їх застосування різноманітна, включаючи моніторинг навколишнього середовища. Фундаментальною основою імуносенсорів стало визначення антигенів антитілами завдяки утворенню стабільного компоненту. Водночас необхідне підвищення їх специфічності та розпізнавальної здатності. Цей метод не може бути застосований поки що у виробництві, а застосовується тільки в лабораторних дослідженнях. Маючи характеристики трасдукторів, біосенсори істотно малі, але активно проводяться спроби понизити їх розмір для більш ефективного застосування і для експериментів *in vitro* і *in vivo*. Це

необхідно для досягнення певного фізичного стану, а не для сенсорів взагалі.

Перспективи застосування біосенсорів розширюються, більшість досліджень пов'язані з розробками чутливих до медикаментів сенсорів та діагностикою різних захворювань [23, 24]. Відомі біосенсори, що можуть контролювати кількість глюкози [25], лактату [26], гормонів [27] у біологічних середовищах. Більшість цих завдань об'єднуються, узагальнюються, деякі з них пов'язані з молекулярними відбитками, матеріалами санітарії і гігієни, особливістю дії лікарських препаратів [28, 29].

Аптамери можуть бути біосенсорами до спор *Bacillus anthracis*, вірусу *Influenza*, збудників туляремії, трипаносомозу, сальмонельозу, деяких інших збудників інфекційних хвороб [30]. Тому дослідження в цьому напрямку будуть розвиватися і далі. Встановлено, що сигнали внутрішньоклітинного кальцію можуть бути отримані *in vivo*. На сьогодні вже визначені метаболітотропні рецептори до катіонів, а також розшифровано процес вивільнення кальцію з внутрішньоклітинних депо [31, 32, 33]. Це перспективний напрямок для створення біосенсорів лікарських засобів, які впливають на обмін кальцію.

Роботи в напрямку пошуків біосенсорів, дослідження їх властивостей, застосування в медичній практиці будуть сприяти підвищенню діагностики та ефективного лікування різних захворювань.

ЛІТЕРАТУРА

1. Becker Th., Hitzmann B., Maffei K et al. Future aspects of bioprocess monitoring // Adv. Biochem. Engin — 2007. — Vol. 105. — P. 249–293.
2. Haes A.J., Van Duyn R.P. Nanosensors enable portable detectors for environment and medical applications // Laser Focus World. — 2003. — Vol. 39, N 5. — P. 153–156.
3. O'Connell P.J., Guilbault G.G. Future trends in biosensors research // Anal. Lett. — 2001. — Vol. 34, N 7. — P. 1063–1078.
4. Mehrvar M., Aldi M. Recent developments, characteristics and potential applications of electrochemical

- biosensors // *Anal. Sci.* — 2004. — Vol. 20. — P. 113–1126.
5. *Striver-Lake L.C., Charles P.T., Kusterbeck A.W.* Non-aerosol detection of explosives with a continuous flow immunosensors // *Annual. Bioanal. Chem.* — 2003. — Vol. 377. — P. 550–563.
 6. *Wolfbeis O.S.* Fiber-optic chemical sensors and biosensors // *Anal. Chem.* — 2004. — Vol. 76, N 12. — P. 3269–3283.
 7. *Kirby R., Cho E.J., Gehrke B. et al.* Aptamer based sensor arrays for the detection and quantization of proteins // *Anal. Chem.* — 2004. — Vol. 76, N 14. — P. 4066–4075.
 8. *Forbeller S., Minummi M., Mascini M.* Analytical applications of aptamers // *Biosensors and Bioelectronics.* — 2005. — Vol. 20. — P. 2424–2434.
 9. *O'Sullivan C.K.* Aptasensors — the future of biosensing // *Anal. Bioanal. Chem.* — 2002. — Vol. 372, N 1. — P. 44–48.
 10. *Fischer N.O., Tarasow Th.M.* Aptasensors for biosecurity applications // *Current opinion in chemical biology.* — 2007. — Vol. 11. — P. 316–328.
 11. *Tschmela K.J., Proll G., Gauglitz G.* Optical biosensors for pharmaceutical antibiotics, hormones, endocrine disruptivity chemicals and pesticides in water: assay optimization process for estrogen as example // *Talanta.* — 2005. — Vol. 65, N 2. — P. 313–323.
 12. *Duverger E., Frision N., Roche A.C., Mousigny M.* Carbohydrate — lectin interactions assessed by surface plasmon resonance // *Biochimie.* — 2003. — Vol. 85, N 1, 2. — P. 167–179.
 13. *Liljeblad M., Lundblad A., Pudhlsm P.* Analysis of glycoproteins in cell culture supernatans using a lectin immunosensor technique // *Biosens. Bioelectron.* — 2002. — Vol. 17, N 10. — P. 883–891.
 14. *Bachinger T., Riese U., Enksson R.K., Mandenius C.P.* Gas sensor arrays for early detection of infection in mammalian cell culture // *Biosens. Bioelectron.* — 2002. — Vol. 17, N 5. — P. 395–403.
 15. *Bachinger T., Mandenius C.F.* Physiologically motivated monitoring of fermentation processes by means of an electronic nose // *Chem. Eng. Technol.* — 2001. — Vol. 24, N 7. — P. 33–42.
 16. *Rimmell M.* Nucleic acid aptamers as tools and drugs: recent developments // *Chem. Biochem.* — 2003. — Vol. 4, N 10. — P. 963–971.
 17. *Rabbany S.Y., Lane W.J., Marganski W.A. et al.* Trace detection of explosives using a membrane-based displacement immunoassay // *J. Immunol. Methods.* — 2000. — Vol. 246. — P. 69–89.
 18. *Wilson R., Claveriny C., Hutchinson A.* Paramagnetic bead based enzyme electrochemiluminescence immunoassay for TNT // *J. Electroanal. Chem.* — 2003. — Vol. 557. — P. 1–7.
 19. *Green T.M., Charles P.T., Andersen G.P.* Detection of 2,4,6-trinitrotoluene in seawater using a reversed displacement immunosensor // *Anal. Biochem.* — 2002. — Vol. 310. — P. 36–63.
 20. *Charles P.T., Ranyasamy J.G., Andersen G.P.* Microcapillary reversed-displacement immunosensor for trace level detection of TNT in seawater // *Anal. Chem.* — 2004. — Vol. 525. — P. 199–212.
 21. *Shankaran D.R., Masumoto V., Toko K., Miura N.* Development and comparison of two immunoassays for detection of 2,4,6-trinitrotoluene based on surfaced plasmon resonance // *Sens. Actuators. B.* — 2006. — Vol. 114. — P. 71–81.
 22. *Larsson A., Anybrant J., Ekeroth J. et al.* A novel biochip technology for detection of explosives TNT-synthesis, characterization and application // *Sens. Actuators. B.* — 2006. — Vol. 113. — P. 130–136.
 23. *Чекман И.С., Горчакова Н.А., Французова С.Б. и др.* Кардиопротекторы // К.: 2005. — 204 с.
 24. *Demidov V.V.* Nanobiosensors and molecular diagnostics: a promising partnership // *Expert. Rev. Mol. Diag.* — 2004. — Vol. 3, N 4. — P. 267–268.
 25. *Dai Y.Q., Shiu K.K.* Glucose biosensor based on multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode // *Electroanalysis.* — 2004. — Vol. 16, N 20. — P. 1697–1703.
 26. *Zhang F.P., Wan Q, Li C.X et al.* Simultaneous assay of glucose lactate, L-glutamate and pyroanthine levels in a rat striatum using enzyme electrodes based on neutral red-doped silica nanoparticles // *Annual. Bioanal. Chem.* — 2004. — Vol. 380, N 4. — P. 637–642.
 27. *Haseley S.R.* Carbohydrate recognition: a nascent technology for the detection of bioanalytes // *Analytic Chemica Acta.* — 2002. — Vol. 457, N 1. — P. 39–45.
 28. *Галенко-Ярошевский П.А., Чекман И.С., Горчакова Н.А.* Очерки фармакологии средств метаболической терапии. — М.: Медицина, 2001. — 240 с.
 29. *Чекман И.С., Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О. та ін.* Магнієвімісні препарати: фармакологічні властивості, застосування // Запоріжжя, Київ: Вид-во ЗДМУ, 2007. — 124 с.
 30. *Lee J.P., Stovall G.M., Ellington A.D.* Aptamer therapeutics advance // *Current opinion in Chemical Biology.* — 2006. — Vol. 10. — P. 282–289.
 31. *Koticoff M.I.* Genetically encoded Ca²⁺ indicators: using genetics and molecular design to understand complex physiology // *J. Physiol.* — 2007. — Vol. 578. — P. 55–67.
 32. *Colton R.J.* Nanoscale measurement and manipulation // *J. Vacuum Sci. Technol. B.* — 2004. — Vol. 22, N 4. — P. 1609–1639.

33. Sarkaia M., Tamerler C., Jen A.K. et al. Molecular biomimetics: nanotechnology through biology // Nature Mater. — 2003. — Vol. 2, N 9. — P. 577–585.

И.С. Чекман, Н.А. Горчакова

БИОСЕНСОРЫ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ
НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Представлены обобщенные сведения о сенсорах вообще и биосенсорах в частности, описаны история создания, классификация сенсоров и биосенсоров, механизм их действия и сфера применения.

Ключевые слова: сенсоры, биосенсоры, классификация, механизм действия, применение.

I.S. Chekman, N.A. Gorchakova

BIOSENSORS: STATE AND PROSPECTS
OF SCIENTIFIC RESEARCHES

Integrated data about sensors in general and biosensors in particular are presented. History of creation, classification of sensors and biosensors, mechanism of their action and application sphere is described.

Key words: sensors, biosensors, classification, mechanism of action, application.

Надійшла до редакції 21.01.08.