

# 影響生命與生活之檢測技術

## — 生物感測技術之發展與應用

文／陳建源(農化系教授)

張谷昇(博士班研究生)

**檢**測技術是與生命及生活息息相關之重要技術，前者例如從血液樣品檢測血糖、膽固醇、三酸甘油酯、尿酸、以及GOT/GPT等肝功能指標酵素活性，甚至檢測AFP、PSA、CEA、以及CA125、CA19-9、CA15-3等與肝癌、肺癌、乳癌、前列腺癌等各種癌症密切關聯之腫瘤標記，在臨床醫療上居功厥偉，對生命之保養維護貢獻卓著。後者例如魚類與肉類食品之新鮮度、蔬果殘餘農藥等毒性物質、腸毒素等食物中毒成分、肉品中殘留抗生素與磺胺劑、食品中之過敏原等食品關聯檢測，以及水體之生化需氧(BOD)、空氣土壤及水體中之重金屬與多氯聯苯、戴奧辛等致癌物質等環境關聯檢測，對日常生活之品質提昇具有顯著影響。尤其檢測儀器若能小型便宜，操作若能簡單迅速，能夠提供對於健康、生活、或環境有疑慮或需要時都能夠立刻進行檢測並獲取正確數據之方便性，則對於生命與生活之貢獻將更顯著。如何滿足這些生命與生活相關之檢測需求，就是生物感測技術之研究開發方向與目的。

生物感測技術是由具有特異性分子識別能力之材料與各種物理或化學感測器組合而成之分析技術[1]。生物體內存在各式配對親和性物質，例如酵素與基質、酵素與輔酵素、酵素與抑制劑、抗原與抗体、以及激素與受体等，只要將任何一方固定化處理，再配合適當之訊號轉換裝置以追蹤反應過程，即可在成分複雜之樣品中只針對相對應之一方做選擇性之感測分析。

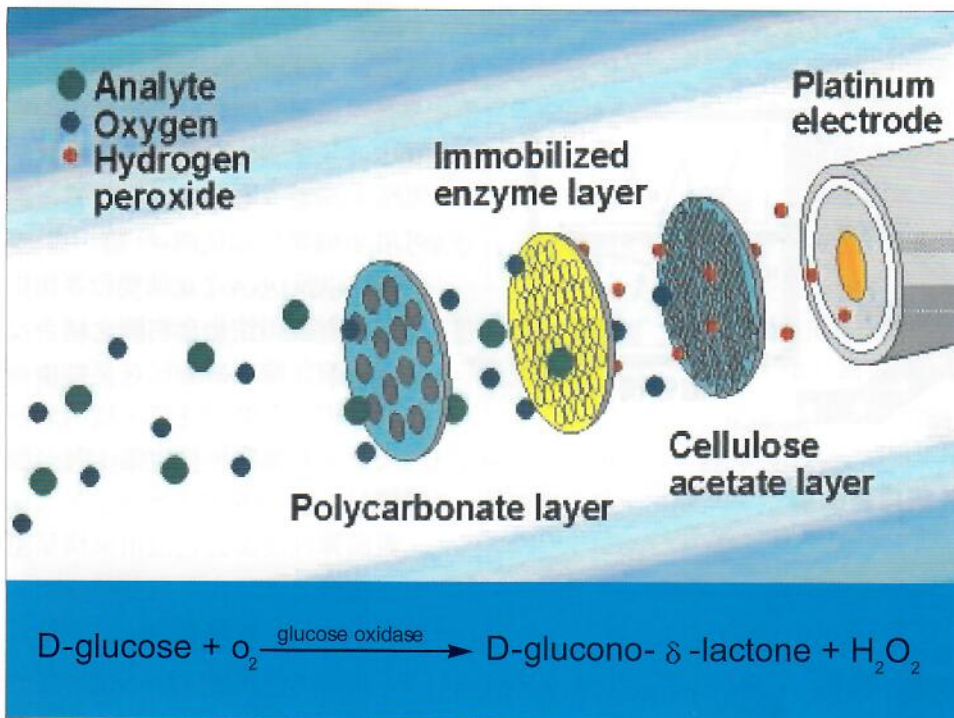
生物感測器之常用檢測系統包括電化學反應與親和性反應等類別，早期以前者為主要應用系統。最早期的商品化生物感測器於1975年由美國 YSI 公司(Yellow Spring Instrument Company)首先上市，以葡萄糖(血糖)為主要分析項目。其電極構築機制示如圖一，係將葡萄糖氧化酶(Glucose oxidase)經由共價鍵結固定於醋酸纖維素(cellulose acetate)薄膜，再配合能夠檢測過氧化氫之白金電極構築而成。

這種電化學式酵素反應型生物感測器可用來快速檢測樣品中之葡萄糖濃度。然而該感測器體積較大，無

法隨身攜帶，而且更換酵素時必須拆卸固定膜，電極之方便性不足。1988年MedSense公司則依據 Hill 等人之研究結果而更進一步推出家用型電化學式血糖分析儀，係將碳漿以網印(screening printing)方式印在聚氯乙烯(PVC)基版上構成平版狀電極，再將酵素液與其它成份混合後直接固定在電極表面即可構成酵素電極。依此原理構築而成之小型葡萄糖測試儀，可順應糖尿病患者居家自行檢測血糖濃度之需求，只需要一小滴取自指尖之末梢血液即可進行檢測，全血樣品完全不需要任何前處理，所需檢測時間在一分鐘以內，操作非常方便。尤其隨著電腦科技之進展，這些家用小型血糖儀通常具備記憶及傳輸功能，可記憶數百次檢測時間及結果數據，患者在家檢測數百次後攜帶赴醫，將數據傳送到醫生之電腦中，即可據以判斷患者血糖之長期調控狀態，作為調整藥品種類或劑量之有效依據。

血糖測試儀是目前最成功的生物感測器商品，年產值高達數十億美元，而且每年以20%~30%之高比率成長。目前大部分血糖測試儀及檢測試片之市場掌握在包括亞培、羅氏、拜耳等數家大廠手中。國內亦有五鼎生技等公司投入生產，各廠牌之試片及測試儀大同小異，試片約指頭大小而測試儀約手掌大小(圖二)，充分發揮攜帶方便性功能。

除了血糖檢測外，另有十餘種成分例如尿酸(uric acid)、乳酸(lactic acid)、麩胺酸(glutamic acid)、抗壞血酸(ascorbic acid)等，有潛力利用同樣系統進行檢測。已成功上市之商品包括瑞典Pharmacia公司之抗壞血酸檢測儀(BIACOREquant<sup>®</sup>)、及國內五鼎公司的尿酸檢測儀等。此外，大部分臨床診斷，必須仰賴多種項目之檢驗結果進行綜合判斷，因此，配合微機電系統技術(micro electro mechanical system, MEMS)等微細加工製程構築多功能檢測系統，將是未來發展方向之一。典型成功上市之例為I-State公司的攜帶型臨床分析儀(I-State™ Portable Clinical Analyzer)，可用來對心臟疾病進行臨床診斷，分析的項目包含肌酸酶檢測套



←圖一 葡萄糖感測器之電極結構示意圖 (資料來源: www.ysi.com)

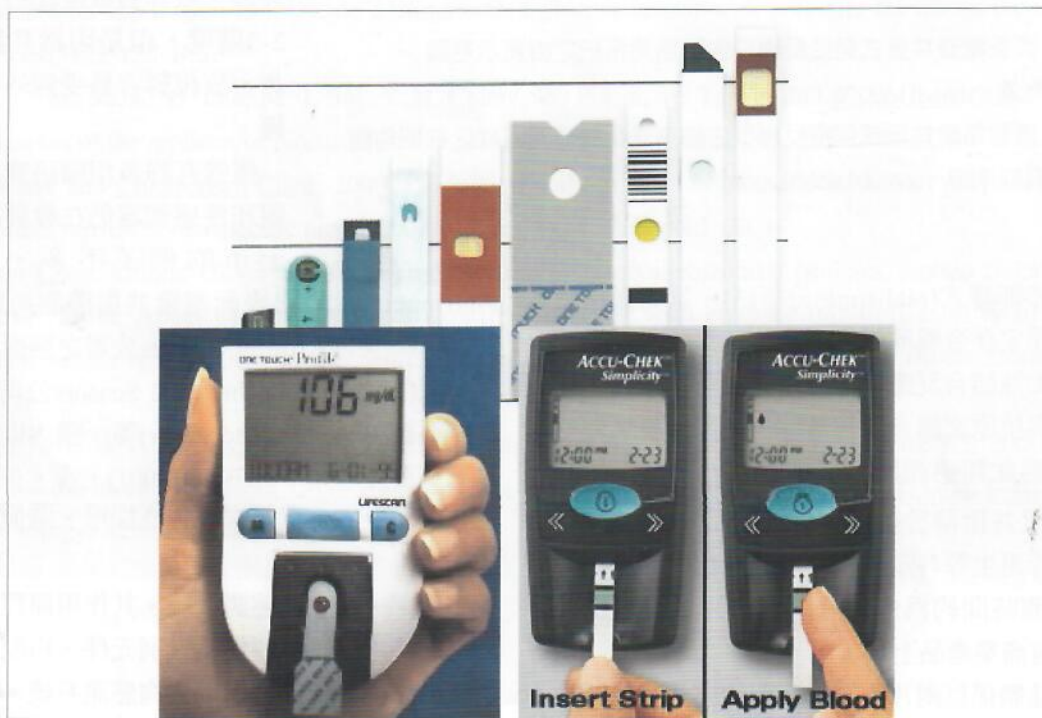
效固定於金電極表面，存在樣品中之抗原和被固定的抗體產生親合性結合，再經由光學(光纖及表面電漿共振)或振盪晶體(石英振盪晶體及表面彈性波裝置)等訊號轉換系統進行量測，即可有效定量樣品中之抗原濃度。

表面電漿共振之主要原理是當入射光束在傳導途徑上碰到金屬層界面時，由於光束之電子振盪與金屬薄層內之金屬原子產生共振作用，某一個入射角度之光能將被吸收而在反射光譜中產生一條暗帶，此入射角即是表面電漿共振角。該共振角會隨著金屬薄膜非照射面臨近介質之折射指數(refractive index)而改變，當鄰近介質之組成或濃度改變時，所導致的折射指數改變將反映在共振角之變化上，亦即金屬薄膜表面質量之變化將導致共振角之移動(圖三)。由於表面電漿共振技術可用來量測金屬薄膜表面之待測物濃度變化，樣品無須預先進行任何標識(labeling)等前處

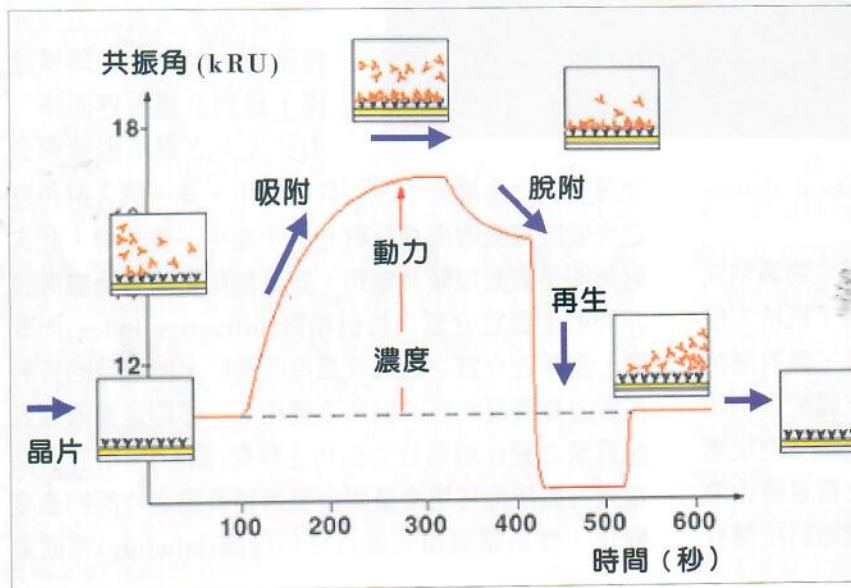
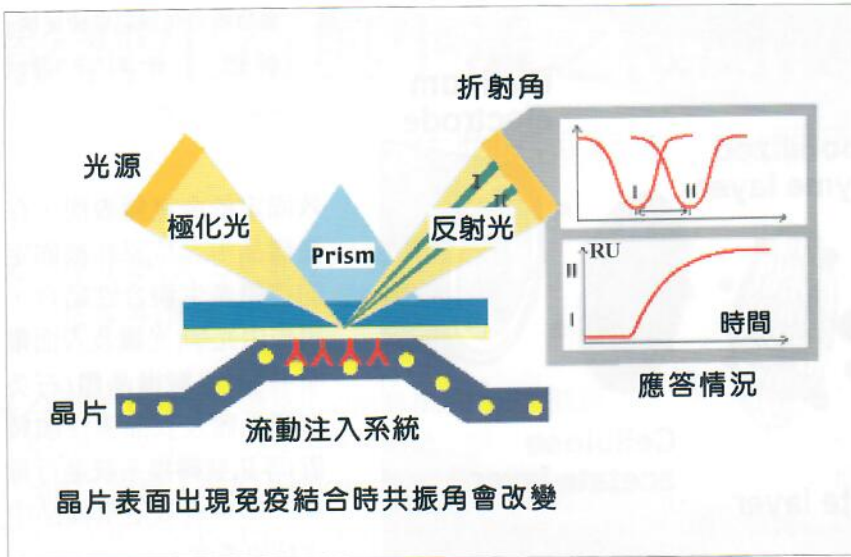
組(creatine module)及凝血機能檢測套組(blood clotting module)等。

自80年代中期以來，以抗體蛋白質作為生物識別元件之案例最受矚目。由於抗體是生物體為了抵抗入侵之異種高分子(抗原)而產生之特種蛋白質，與對應抗原之間具有極佳專一性與親和性，若將抗體配合例如微量天秤(Microbalance)等適當量測系統構成免疫反應型生物感測器，則可經由量測反應過程之質量變化來定量樣品中之抗原濃度。例如經由化學鍵結將抗體有

屬薄層內之金屬原子產生共振作用，某一個入射角度之光能將被吸收而在反射光譜中產生一條暗帶，此入射角即是表面電漿共振角。該共振角會隨著金屬薄膜非照射面臨近介質之折射指數(refractive index)而改變，當鄰近介質之組成或濃度改變時，所導致的折射指數改變將反映在共振角之變化上，亦即金屬薄膜表面質量之變化將導致共振角之移動(圖三)。由於表面電漿共振技術可用來量測金屬薄膜表面之待測物濃度變化，樣品無須預先進行任何標識(labeling)等前處



圖二 家用型血糖檢測器及其檢測試片 (資料來源: www.childrenwithdiabetes.com)



圖三(上圖) 表面電漿共振式免疫反應型生物感測系統之檢測示意圖

(資料來源: www.biocore.com)

圖四(下圖) 表面電漿共振式免疫反應型生物感測系統檢測流程之共振角變化圖(資料來源: www.biocore.com)

理,故可用於即時式(real-time)分析[3]。量測操作時通常將抗體固定在金屬薄膜表面,再使抗體與樣品中抗原進行親和性結合反應,即可由共振角之移動,即時掌握抗體與抗原之結合及解離等親和性反應之完整過程。圖四為此類感測器以流動注入方式進行檢測時,表面電漿共振器於抗原吸附、洗去非親合性結合、以及晶片再生等各階段的共振角變化曲線,每一樣品所需檢測時間約為5-10分鐘,晶片可以再生使用,目前已有商業產品上市。

典型石英晶體係以兩片金屬以三明治方式將石英晶體夾在其間,於電極上以接近石英晶體之自然諧振頻

率施加交替電壓,使晶體產生機械性振盪。1959年Sauerbrey[4]導出石英晶體金屬電極表面之質量與頻率變化之關係式,得知只要在晶片的電極上固定一層分子辨識薄膜,即可用來檢測例如抗原-抗體、激素-受體、以及DNA之互補雙股等相對應的成對親和性化合物間之結合反應。目前此檢測系統已在免疫檢測化學分析方面廣受注目,被用於沙門氏菌、殺蟲劑、抗生素、甚至腫瘤標記(3)等檢測項目。

表面彈性波裝置也被用來構築壓電感測器,通常在壓電材料表面配置兩對交叉指狀電極而成。若於電極上施加交替電壓,可使壓電材料產生變形而轉換成機械能。此機械波之傳遞僅限於壓電薄膜表面,故稱之為表面彈性波(Surface acoustic wave, SAW),若將分子辨識薄膜固定於電極上,則因親和性結合會改變表面聲波的傳遞頻率,故可用來檢測分子間的親和性結合反應過程。此類振盪裝置之振頻由電極之寬度及距離決定,近來半導體製程的進步,穩定的高頻訊號產生不成問題,故其靈敏度比石英震盪器高2-3階度,但是因為其振盪頻率較高,故相對容易受到外界雜訊的干擾。

儘管有許多相關研究持續進行,親和性感測器仍在發展階段,成功上市的例子不多,包括瑞典

Pharmacia 公司之表面電漿共振感測系統(BIAcore 2000™)、英國Affinity sensors公司之表面電漿共振感測系統(Iasys)、美國Universal Sensors公司的石英震盪感測系統(Piozoimmunosensor)等。國內則有泰勝科技之石英震盪感測系統(Bio-E 2001)上市。但是目前即使已有商品上市,但仍未被廣泛採用,造價昂貴是主要的問題。

不論那一種生物感測系統,其作用原理均係結合具備專一性之生體材料作為識別元件,再配合適當種類之訊號轉換系統聯合構成生物感測系統。由於生物感測系統具備樣品無需前處理、儀器容易小型化、操作

簡單方便、短時間或甚至即時取得分析數據等特殊優點，對於生命與生活能夠提供重要貢獻，因此廣受重視。除了生物感測技術相關文獻及專利逐年增加外，應用市場及其商業價值亦逐年大幅擴大提昇，可預期成爲生物技術產業之重要發展項目。尤其最近生物感測技術與半導體微機電系統技術逐漸整合，更有利於發展多功能、微小化之檢測系統。

生物感測技術可預期將被廣泛應用於生命與生活息息相關之各項檢測分析，其應用範圍可能涵蓋下列領域：

1. 生醫檢測(腫瘤等疾病篩檢、荷爾蒙檢測、血庫篩檢、手術監控、藥物試驗、生化分析、血清學檢驗、

血液析等)。

2. 食品檢測(病原微生物檢測、農藥檢測、食品製程線上檢測、營養分析等)。

3. 工業用途(醱酵、食品、藥物等之製程監控與品質管制，污染、毒性物質、空氣污染之監控)

4. 環境檢測(環境污染物篩檢，臭味及毒性物質檢測，空氣、水質及土壤監測等)。

5. 軍事用途(生化戰劑之偵檢、毒性化學物質、神經毒氣、爆裂物、病毒及致死病菌之診斷)。

6. 農業用途(動植物疾病、土壤及水質監測，儲運監控等)。<sup>Ω</sup>

### 參考文獻

1. Scheller, F. et. al., 1989. Research and development of biosensors: a review. *Analyst* 114, 653-662.
2. Cass, A.E.G., Davis, G., Francis, G.D., Hill, H.A.O., Aston, W.J., Higgins, I.J., Plotkin, E.V., Scott, L.D.L., Turner, A.P.F. 1984. Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Anal. Chem.* 56, 667-675.
3. 周淑芬, 2000, 多功能免疫反應型腫瘤標記生物感測器之開發研究。國立台灣大學農業化學研究所博士論文, 論文指導教授陳建源。
4. Sauerbrey, G.Z. 1959. Use of quartz crystal vibrator for weighting thin films on a microbalance. *Z. Phys.* 155,206-209.
5. K. Yagiuda, A. Hemmi, S. Ito, Y. Asano, Y. Fushinuki, Chien-Yuan Chen and I. Karube: 1996, Development of a conductivity-based immunosensor for sensitive detection of methamphetamine (stimulant drug) in human urine. *Biosensors and Bioelectronics*, 11(8), 703-707. (SCI)
6. Chien-Yuan Chen, K. Ishihara, N. Nakabayashi, E. Tamiya and I. Karube: 1999, Multifunctional biocompatible membrane and its application to fabricate a miniaturized glucose sensor with potential for use in vivo. *Biomedical Microdevices*, 1(2), 155-166.
7. Y. T. Liu, C. M. Su, C. H. Lee, M. J. Sui, Y. H. Chang, W. P. Lin, W. T. Wu, and C. Y. Chen: 2000, Cloning and characterization of the replicon of *Nocardia italica* plasmid, pNI100. *Plasmid*, 43, 223-229. (SCI)
8. Shu-Fen Chou and Chien-Yuan Chen: 2000, Production and purification of monoclonal and polyclonal antibodies against human ferritin, a nonspecific tumor marker. *Hybridoma*, Accepted. (SCI)
9. Chien-Yuan Chen, Yulong Oliver Su, Tong-Ying Ho, Eiichi Tamiya, Kazuhiko Ishihara, Nobuo Nakabayashi, and Isao Karube: 2000, Application of A Biocompatible polymer with enzyme immobilizability to construct a miniaturized needle-type glucose sensor with potential for use in vivo. *Biosensors and Bioelectronics*, Revised. (SCI)
10. Chen, C.Y., Wu, W.T., Lin, M.H., Ch'ang, C.K., Huang, H.J., Liao, J.M., Chen, L.Y. and Liu, Y.T: 2000, A common precursor for the three subunits of L-glutamate oxidase from *Streptomyces platensis* NTU3304. *Canadian Journal of Microbiology*, Accepted. (SCI)