БИОСЕНСОРЫ

1. Определение биосенсора. Типы.

Биосенсоры — аналитические устройства, конструктивно состоящие из двух блоков: биологического, включающего ферменты или антитела, целые клетки либо их органеллы, срезы тканей и т.п., и физико-химического датчика (трансдуктора) для регистрации сравнительно небольшого числа физических величин (температуры , интенсивности светового потока, электрического тока или потенциала) или концентрации простых химических соединений (кислорода, углекислого газа, аммиака). На входе первого блока протекает специфическая биологическая реакция, а на выходе формируется сигнал, который преобразуется трансдуктором в физически измеряемую величину.

Биосенсорами на зываются первичные преобразователи, где чувствительными элементами служат биологические компоненты (материалы биологического происхождения), тесно связанные с последующими элементами преобразования в сигнал, удобный для использования. В качестве биологических элементов и последующих преобразователей могут применяться элементы, перечисленные в таблице.

Тип биосенсора определяется либо биологическим материалом, используемым для опредеелния конценрации аналита, либо применяемым трансдуктором.

Биологические компоненты	**Последующие преобразователи (трансдукторы)**
Органические молекулы	Потенциометрические
Нуклеиновые кислоты	Амперометрические
Антитела	Импедансометрические
Рецепторы	Кондуктометрические
Компоненты ферментов	Оптические, цветовые
Ферменты	Калориметрическое
Клеточные мембраны, органеллы	Акустические
Клетки	Механические
Ткани и целые организмы	Химические

В реальных сенсорах наиболее удобны варианты, где в конечном итоге (с учетом промежуточных химических реакций) выходной сигнал биосенсора представлен в электрической форме – электрохимические биосенсоры. Если на поверхности трансдуктора присутствуют антитела или ферменты, то говорят о иммунологических или ферментативных биосенсорах. Если присутствуют микроорганизмы или целые клетки – то о клеточных или микробных биосенсорах. Если сделан акцент на тип трансдуктора, то – оптические, потенциометрические, амперометрические или гравиметрические биосенсоры. Количество различных типов биосенсоров как сочетание какой либо специфической биологической системы и определнного вида трансдуктора практически неограничено.

2. Характеристики биосенсоров

Характеристики биосенсоров — чувствительность, время отклика, линей-

ный диапазон, предел обнаружения, селективность и специфичность — совпадают с таковыми для физических и химических датчиков. Относительно специфической характеристикой биосенсора является время его жизни; чувствительность биосенсоров со временем уменьшается из-за деструкции биологического материала. Понятно, что время жизни зависит от условий хранения и эксплуатации датчика (температуры, pH, применяемых консервантов).

Главные достоинства биосенсоров – их универсальность, сравнительно малое время отклика, высокая чувствительность и селективность, определяемая специфичностью используемых метериалов, а также низкая себестоимость.

3. Разновидности биосенсоров

3.1. Тканевые биосенсоры

Тканевые биосенсоры появились сравнительно недавно, однако привлекают все большее внимание исследователей простотой конструкции, низкой стоимостью, высокой каталитической активностью и сравнительно продолжительным временем жизни. При разработке такого типа биосенсоров используются данные о том, что растительные и животные ткани содержат специфические наборы ферментов, которые могут быть использованы как катализаторы соответствующих химических реакций. Например, листья, цветки и плоды растений (структуры, связанные с ростом, репродукцией и накоплением питательных веществ) не только богаты каталитическими веществами, но и различаются по качественному составу. Для иммобилизации используют гомогенаты или срезы тканей, фиксируя их на поверхности трансдуктора. В результате ферментативной реакции, протекающей в ткани, выделяются вещества, концентрация которых определяет величину выходного сигнала трансдуктора, в качестве которого чаще всего используется газочувствительный хемосенсор.

Селективность тканевых сенсоров иногда снижается за счет присутствия в тканях не одного, а нескольких ферментов. Однако влияние "лишних" ферментов в каждом конкретном случае можно исключить или значительно ослабить подбором pH, температуры среды либо с помощью соответствующих ингибиторов и стабилизирующих компонентов ферментативной активности. С другой стороны, наличие в ткани разных ферментов позволяет в некоторых случаях использовать один биосенсор для измерения концентрации нескольких субстратов.

К настоящему времени разработаны тканевые биосенсоры на целый ряд диагностически значимых веществ: мочевину, катехоламины, аминокислоты и др. Для некоторых из них описано несколько разных биосенсоров, как, например, для перекиси водорода. C.Lu и соавт. предложили амперометрический биосенсор на основе ткани листа кольраби. Гомогенат ткани с добавлением ферроцена (медиатора переноса электронов) иммобилизовали в графитовой смоле на угольном электроде. Содержащаяся в кольраби пероксидаза катализирует восстановление перекиси водорода до воды ферроценом, а образующийся на электроде (-200 мВ) феррициний вновь восстанавливается в ферроцен. Область определения концентрации перекиси водорода $4 \cdot 10^{-5}$—$6 \cdot 10^{-4}$ М, время отклика 2—6 с, предел определения $8{,}4 \cdot 10^{-5}$ М. Биосенсор с использованием ткани винограда позволяет измерять концентрацию перекиси водорода в диапазоне $1 \cdot 10^{-5}$ —$5 \cdot 10^{-4}$ М при времени отклика 1 мин. Еще один биосенсор на перекись водорода содержит эритроциты человека. Чувствительность сенсора $1 \cdot 10^{-4}$ М, диапазон ли-

нейности $1,5 \cdot 10^{-4}$ — $5 \cdot 10^{-4}$ М, время жизни 2 мес.

Разработано несколько биосенсоров на перекись водорода, различающихся по способам иммобилизации ткани корней хрена . Проведен сравнительный анализ этих сенсоров по основным параметрам. Лучшими характеристиками обладает сенсор с растительной тканью, иммобилизованной на фотомембране на основе n-азидо-тетрафторбензальдсгида : диапазон линейности от $9 \cdot 10^{-5}$ до $6 \cdot 10^{-3}$ М при пределе обнаружения перекиси водорода $9 \cdot 10^{-6}$ М, время отклика менее 3 мин, время жизни более 2 мес. В качестве трансдуктора был использован кислородный зонд. Описанные биосенсоры могут быть применены не только для измерения концентрации перекиси водорода. На их основе возможна разработка целого комплекса комбинированных биосенсоров для определения субстратов, в результате реакций разложения которых (катализируемых их оксидазами) образуется перекись водорода — L-аминокислоты, глюкоза, лактат и др. С помощью сенсора на основе растительной ткани корней хрена можно определять концентрацию перекисей не только в водных растворах, но и в органических растворителях .

Описан также биосенсор на основе срезов ткани печени свиньи, содержащей в значительных количествах фермент разложения перекиси — каталазу .

Перекись водорода, образующаяся в ходе многих ферментативных реакций, является токсичным веществом и в норме инактивируется каталазой и пероксидазой. При генетически детерминированных патологиях, связанных с изменением активности этих ферментов, происходит накопление H_2O_2, что приводит к развитию некоторых заболеваний (например, акаталазии). Известно также, что побочным эффектом определенных фармакологических веществ является их влияние на активность ферментов, катализирующих разложение ряда субстратов (L-аминокислот, глюкозы, лактата и др.) с образованием перекиси водорода . Таким образом, определение концентрации H_2O_2 необходимо при постановке диагноза, а мониторинг этого параметра требуется для контроля действия фармакологических препаратов в процессе лечения.

Несколько тканевых биосенсоров создано для определения концентрации катехола. Один из них включает ткань баклажана, содержащую окислительный фермент полифенолоксидазу (ПФО) . Другой сенсор основан на присутствии ПФО в картофеле . Тонкий срез картофеля (100 мкм) фиксируется на кислородном электроде. Реакция

$$\textbf{КАТЕХОЛ} \xrightarrow[O_2]{\text{ПФО}} \textbf{О - БЕНЗОХИНОН}$$

идет с потреблением кислорода. Для этого биосенсора время отклика меньше 3 мин, линейный диапазон $2,5 \cdot 10^{-5}$— 2,3 М, $\cdot 10^{-4}$ время жизни 3 мес. В основе еще одного биосенсора на катехол, включающего ткань листа шпината, лежит другая химическая реакция, катализируемая ферментом катехолоксидазой (КО):

$$\textbf{КАТЕХОЛ} + 3\,0_2 \xrightarrow{\text{КО}} \textbf{2-ДИБЕНЗО-1,4-ДИОКСИН-2,3-ДИОН}$$

Время жизни этого биосенсора 18 дней. Диапазон линейности $2 \cdot 10^{-4}$ — $8 \cdot 10^{-4}$ М . L. Macholan и B. Chelikova измеряли концентрацию аскорбиновой кислоты, используя срезы ткани кабачка или огурца, прикрепленные к кислородному электроду. Ткани этих овощей богаты ферментом ас-

корбатоксидазой (АО), которая катализирует следующую реакцию:

$$\text{L-АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА} + 1/2\,O_2 \xrightarrow{\text{АО}} \text{ДЕГИДРОАСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА} + H_2O$$

Этот сенсор не реагировал на другие органические кислоты, фенолы, аминокислоты и глюкозу. Его линейный диапазон 0,02—2 • 10^{-3} М, время отклика 70—90 с. Большей чувствительностью к аскорбиновой кислоте обладает биосенсор на основе сока огурца, иммобилизованного в пористой угольной пасте . Диапазон линейности этого сенсора 2,5 • 10^{-4} —1,6 • 10^{-3} М, а время отклика 3—6 мин.

Срез ткани кабачка, прикрепленный к поверхности амперомстрического биосенсора, позволяет определять концентрацию дофамина и норэпинефрина в присутствии аскорбиновой кислоты, мешающее влияние которой в данном случае обусловлено близкими значениями окислительно-восстановительных потенциалов этих веществ. АО кабачка элиминирует аскорбиновую кислоту с поверхности электрода .

Для измерения концентрации дофамина описан биосенсор, содержащий ткань банана, богатую ПФО . Реакция идет с потреблением кислорода

$$\text{ДОФАМИН} + 1/2\,O_2 \xrightarrow{\text{ПФО}} \text{ДОФАМИНБЕНЗОЛ}$$

Линейный диапазон 1,3 • 10^{-6}—9 • 10^{-5} М, время отклика 12 с, время жизни 10 дней. Сенсор позволяет проводить 60 анализов в час .

Описан биосенсор для определения мочевины, в котором используется мука из бобов канавалии мочевидной. Мука содержит большое количество фермента уреазы, катализирующей следующую реакцию :

$$\text{МОЧЕВИНА} + H_2O \xrightarrow{\text{УРЕАЗА}} 2NH_3 + CO_2$$

В качестве трансдуктора в данном биосенсоре был использован аммиачный электрод. Этот датчик выделяется среди других большим временем жизни — 94 дня. Повышенный уровень мочевины может быть связан с острой почечной недостаточностью, диабетической комой, желудочно-кишечными кровотечениями, недостаточностью кровообращения. Пониженный уровень наблюдается при циррозах печени, острой желтой атрофии, отравлениях фосфором, мышьяком и другими ядами, поражающими паренхиму печени.

Биосенсор, содержащий срез сахарной свеклы, прикрепленный к кислородному электроду, позволяет измерять тирозин, количественное определение которого важно при заболеваниях щитовидной железы. Время жизни сенсора 8 дней. Тирозин можно определять и с помощью биосенсора на основе тканей грибов, содержащих тирозиназу или ПФО .

Известно несколько гибридных биосенсоров, в которых, кроме ткани, иммобилизован еще и фермент. Так, сенсор на фосфат и флюорид включает срез картофеля, содержащий кислую фосфатазу (КФ) и иммобилизованную глюкозо-оксидазу (ГО) . Реакция имеет две стадии:

$$\text{ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТ} + H_2O \xrightarrow{\text{КО}} \text{ГЛЮКОЗА} + HPO_4^{2-}$$

$$\text{ГЛЮКОЗА} + O_2 \xrightarrow{\text{ГО}} \text{ГЛЮКОНОЛАКТОН} + H_2O_2$$

В качестве трансдуктора используется кислородный электрод. Диапазон

линейности 2,5 • 10^{-5}— 1-10^{-4} М. Биосенсор позволяет провести около 300 анализов. Время жизни 28 дней.

Разработан также гибридный биосенсор на основе ткани картофеля с добавлением β-глюкуронидазы, позволяющий определять концентрации соответствующих субстратов в микромолярном диапазоне. При комнатной температуре время жизни датчика превышало 2 мес. В перспективе такого типа сенсоры могут быть использованы при диагностике мукополисахаридрзов.

Описан целый ряд биосенсоров на аминокислоты, содержащих в качестве биокаталитического материала компоненты цветков растений. Так, сенсор, включающий кашицу тычинок хризантемы, используют для измерения концентрации L-аргинина (до.1 • 10^{-3} М),.L-орнитина (до 1 • 10^{-2} М), мочевины (2 •10^{-5}— 3 • 10^{-4} М). Использование срезов пестика позволяет измерять, кроме этих веществ, еще и L-цитруллин и L-пролин . Очевидно , тычинки и пестик содержат ферменты, катализирующие соответствующие реакции (аргиназу, аргининсукцинатсинтетазу.

Кроме того, на основе ткани цветков магнолии разработан биосенсор на L-глутамин и L-аспарагин .

Описан биосенсор на основе ткани огурца на аминокислоту цистеин. Реакция идет с выделением NH_3. Время жизни сенсора 28 дней.

В университете г. Канагава (Япония) разработан биосенсор для определения концентрации аминокислот на основе ткани семян сельдерея или петрушки. Муку семян наносили на поверхность аммоний-селективного электрода и покрывали сверху целлофаном. Таким биосенсором можно было определить концентрацию 20 аминокислот в диапазоне от 2 до 250 мг/л. Недостатком биосенсора является низкая селективность, обусловленная тем, что семена содержат несколько ферментов, разлагающих аминокислоты. Поэтому если в растворе содержится несколько аминокислот, то возможно определение лишь их суммарной концентрации.

Аминокислоты имеют важное диагностическое значение при многих заболеваниях. Изменение их концентрации, в частности, может свидетельствовать об изменении содержания общего аминного азота в сыворотке и моче, что служит одним из показателей превалирования катаболических или анаболических процессов в организме, сопровождающих ряд патологических процессов. Количество аминокислот в крови увеличивается при заболеваниях печени (при тяжелых заболеваниях печени повышается содержание в крови цистеина, метионина, тирозина, глутаминовой кислоты), что связано с пониженным синтезом мочевины, при экссудативном диатезе, спазмофилии, фенилкетонурии, различных инфекционных заболеваниях, опухолях, тяжелых оперативных вмешательствах и т.д. При пониженной выделительной способности почек содержание аминокислот в крови увеличивается совместно с остальными фракциями остаточного азота. Гипераминоацидурия встречается при заболеваниях паренхимы печени, что связано с нарушением в этом органе процессов дезаминирования и переаминирования, а также в связи с усиленным распадом клеток, при тяжелых инфекционных заболеваниях, злокачественных новообразованиях, тяжелых травмах, миопатии, коматозных состояниях, гипертиреозе и других патологических состояниях. При врожденном заболевании гиперпролинемии, возникающем вследствие недостатка фермента пролиноксидазы, наблюдается повышенная концентрация пролина. Увеличенное количество в моче цитруллина имеет место при дитруллинемии (врожденном нарушении цикла образования мочевины , обусловленном недостатком фермента аргининсукцинатсинтетазы.

В пируватном сенсоре тонкий срез кукурузного зерна фиксировали на

поверхности датчика к диоксиду углерода. Содержащаяся в зерне пируватдекарбоксилаза (ПДК) катализировала следующую реакцию:

$$\text{ПОРУВАТ} + H_2O \xrightarrow{\text{ПДК}} \text{АЦЕТАЛЬДЕГИД} + CO_2$$

Диагностическое значение определения концентрации пирувата связано с тем , что наиболее резкое повышение его концентрации в крови отмечается при мышечной работе и недостаточности витамина B_1, при паренхиматозных заболеваниях печени, сахарном диабете, сердечной декомпенсации, токсикозах и некоторых других заболеваниях. В спинномозговой жидкости концентрация пирувата значительно повышается после травмы черепа, при воспалительных процессах (менингите, абсцессе мозга) .

Создано и описано несколько биосенсоров и на основе животных тканей. Так, в глутаминовом электроде и сенсоре на глюкозамин-6-фосфат используется тонкий срез (около 0,05 мм) свиной почки, а в электроде, чувствительном к 5-аденозинмонофосфату, — слой мышечной ткани кролика . Срез печени кролика, входящий в состав биосенсора на гуанин , содержит ферменты превращения гуанина в ксантин с выделением аммиака. Время отклика 2—3 мин, диапазон линейности $1{,}12\text{-}10^{-5}$— $1{,}0 \cdot 10^{-4}$ М. Биосенсор на гуанин разработан также и на основе срезов мозга крысы. Линейный участок рабочей характеристики этого биосенсора от 0,02 до 0,63 мм, время жизни 28 суток. Индикаторным электродом во всех этих биосенсорах служит аммиачный газочувствительный электрод. В биосенсоре, чувствительном к аденозину , применяют смесь клеток, выделенных из внешней слизистой оболочки тонкой кишки мыши. Время жизни описанных сенсоров 21—30 дней.

Некоторые ткани животных обладают высокой активностью фермента моноаминоксидазы (МАО). В биосснсоре на основе печени крысы для определения субстратов МАО катехоламинов и индоламинов срезы толщиной 25—200 мкм, изготовленные на криомикротоме, помещаются на нейлоновую сетку. В процессе измерения они инкубируются вместе с образцом 20 мин. Затем пробы инжектируются в проточную термостатируемую ячейку с аммоний-селективным электродом для определения концентрации образовавшегося аммония:

$$RCH_2NH_2 \xrightarrow{\text{МАО}} RCHO + NH_4^+$$

Диапазон измерения концентрации аммония 1—10 мМ. Сенсор может быть использован в 20 измерениях в течение 20—25 дней .

Чешуя определенных видов рыб (например, Labrus assifagus) содержит специальные клетки (хроматофоры) с гранулами пигментов, которые могут быть расположены дисперсно или создавать агломераты в клетках. Степень агрегации определяется норадреналином, выделяемым симпатическим нервом, заканчивающимся в коже рыбы. Изолированная чешуя сохраняет большую чувствительность к норадреналину и другим катехоламинам в течение нескольких недель. На этой основе создан биосенсор для определения концентрации катехоламинов в плазме крови человека. Диагностика катехоламинов представляет особый интерес, так как они обладают широким диапазоном биологических свойств, позволяющих им активизировать процессы высвобождения энергии (стимуляция гликогенолиза, липолиза, окислительных процессов), возбуждать активность нервной системы, усиливать и уча-

щать сокращения сердца, повышать периферическое сопротивление ряда сосудистых областей и т.д. Клиническое значение определение дофамина имеет при диагностике опухолей симпатических нервных образований и хромаффинной ткани, диабета, поражений почек, цирроза печени, гепатита, гиперкортицизма и других заболеваний. Повышение уровня катехоламинов в крови наблюдается при феохроматомах, сердечной недостаточности, острой пневмонии и бронхиальной астме и других патологических состояниях .

S. B. Hoath и соавт. рассматривают возможность использования эпидермиса млекопитающих для создания сенсоров на определенные биогенные соединения.

S. Updike и I. Treichel разработали биосенсор на антидиуретический гормон. На стеклянный натрий-селективный электрод натягивается мочевой пузырь жабы. В присутствии гормона в исследуемом растворе через стенки пузыря происходит перенос ионов натрия. Отклик натриевого электрода прямо пропорционален концентрации гормона. Определение антидиуретического гормона имеет диагностическое значение при заболеваниях, связанных с нарушениями водного обмена, в частности при несахарном диабете. При недостаточной его выработке происходит избыточная потеря жидкости организмом.

Основные исследования в области биосенсоров имеют целью создание коммерческих образцов, которые характеризовались бы длительным временем жизни и стабильностью своих основных характеристик. Однако если говорить об использовании тканевых биосенсоров в научных исследованиях, то необходимо отметить, что существует большое число направлений в области электрофизиологии, фармакологии, нейробиологии, где используются биологические тест-системы, некоторые из которых можно рассматривать как тканевые биосенсоры или их предшественники. Так, например, еще в начале 30-х годов W. Feldberg использовал в качестве теста на ацетилхолин спинную мышцу венгерской пиявки Hirudo officinalis. Было показано, что ацетилхолин является практически единственным веществом, обнаруживаемым в крови, которое вызывает сокращение этой мышцы .

В 50-х годах был разработан препарат для исследования вкусовых рецепторов мясной мухи.

На вкусовые волоски, расположенные на хоботке мухи, надевалась стеклянная трубка, которая служила и для подведения тестируемых веществ к рецепторам, и одновременно являлась отводящим электродом. На основании анализа импульсной активности рецепторных клеток было установлено, что существуют два типа рецепторов: одни высокоспецифичные для сахаров, а другие, менее специфичные, реагируют на соли и целый ряд веществ, не представляющих для мухи пищевой ценности. Время отклика такой системы на химический стимул составляло несколько миллисекунд.

Не так давно появились разработки нового типа биосенсора на основе хеморецепторных структур , находящихся в антеннулах крабов ("рецептрод") . Выделенные усики помещали в термостатированную проточную камеру таким образом, что хемочувствительный кончик антеннул находился в протоке, а нейроны и отходящие от них аксоны были в отдельном отсеке, заполненном искусственной морской Водой. Импульсную активность нервных клеток регистрировали с помощью внеклеточного стеклянного микроэлектрода. Анализируемый раствор вводили в проток, и если в пробе содержались вещества, обладающие сродством к рецепторам, то по изменению импульсной активности нейронов можно было определить концентрацию тестируемого вещества. С помощью "рецептрода", полученного из усиков голубого краба, удалось определить концентрации всех 20 аминокислот.

Для глутамата предел обнаружения был равен 10-8 М .

При исследовании биосенсора на основе интактных хеморецепторов из усиков гавайских крабов было найдено, что время отклика сенсора на триметиламин-N-оксид (маркера возможной пищи крабов) составляет миллисекунды, а диапазон измеряемых концентраций — от 10 до 10^{-12} М. На основе хеморецепторных структур речного рака разработаны также биосенсоры для детектирования пирозинамида , 3-ацетилпиридина и определения концентраций ряда местных анестетиков .

Достоинствами такого типа сенсоров являются короткое время отклика (миллисекунды), высокая специфичность и чувствительность, широкий динамический диапазон, а основным недостатком — небольшое время жизни — 8—24 ч. Однако разработчики этих биосенсоров полагают, что время жизни таких систем может быть увеличено до 100—250 дней .

3.2.Клеточные биосенсоры

Анализируется также возможность использования и отдельных нервных клеток в качестве первичных преобразователей при конструировании биосенсоров. Например, с помощью микроэлектродной техники исследована связь между внеклеточной концентрацией аналита и электрическими характеристиками нейронов Limnea stagnalis, клетками мышиных нейробластом N-18 и NIE-115 .

Нервные клетки могут послужить и основой при разработке иммунологических датчиков, поскольку показано, что с помощью микроэлектродной техники, тестируя изменения электрических характеристик мембраны, можно зарегистрировать образование иммунного комплекса на поверхности клетки. Так, например, при аппликации антител, полученных к синаптосомам мозга кошки, на нейроны садовой улитки происходило снижение интенсивности спонтанных разрядов, исчезала реакция на ацетилхолин, происходили деполяризация и снижение сопротивления мембраны нервной клетки .

При исследовании электрофизиологических эффектов антител к нервноспецифическому белку S-100 было найдено, что образование комплекса антиген—антитело на поверхности нервной клетки приводит к снижению амплитуды потенциала действия, уменьшению максимального значения входящего тока и смещению вольтамперных характеристик каналов входящего тока в сторону деполяризации .

С помощью метода voltage clamp была показана зависимость развития эффектов антител от величины удерживаемого мембранного потенциала: гиперполяризация мембраны предотвращала развитие мембранотропного действия антител . Эти данные говорят о контроле реакции антиген—антитело, протекающей на поверхности мембраны, электрическим полем самой мембраны.

Потенциалзависимость эффектов антител может быть использована при разработке биосенсоров на основе искусственных мембран с встроенными антителами, антигенами или ферментами. По изменению электрических характеристик таких мембран можно судить о наличии биологически активных веществ в пробах жидкости. Установленный эффект потенциалзависимости реакции антиген—антитело, возможно, позволит в таких датчиках использовать одну мембрану с несколькими типами антигенов. Антигенная конфигурация такого биодатчика, т.е. его специфичность по отношению к антителам, содержащимся в исследуемой пробе, может управляться с помощью электрического поля, создаваемого на мембране.

В последнее время рассматривается возможность использования мембранных рецепторных структур и ионных каналов при конструировании биосенсоров. В трансмембранный механизм передачи сигнала о связывании рецептором лиганда вовлекаются процессы с участием G-белков, приводящие к изменению проводимости ионных каналов и включению ферментативных реакций. Коэффициент усиления таких макромолекулярных систем может достигать 10,0. Биосенсоры на основе молекулярных рецепторных структур способны регистрировать следовые количества аналита. Так, описана искусственная система, моделирующая обонятельный рецептор, которая была получена путем встраивания гомогената обонятельного эпителия крыс в липидный билой. Чувствительность такой системы к одорантам, определяемая по среднему времени нахождения калиевого канала в открытом состоянии, составляла несколько наномолей.

4.ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БИОСЕНСОРОВ

Расширение сферы применения биосенсоров в настоящее время обусловлено не только высокой чувствительностью этих систем, но и тем, что биосенсор, как правило, содержит весь набор реагентов, необходимых для определения концентрации какого-либо вещества, а это позволяет свести процедуру анализа к одному этапу. Можно говорить о своего рода автоматизации определения химических параметров тестируемых образцов, поскольку структура сенсоров, создаваемых методами биотехнологии, реализует алгоритм биохимического анализа.

В последние годы наблюдается быстрый рост областей использования биосенсоров, особенно в экологии и медицине. Это обусловлено как появлением новых прогрессивных технологий, так и, увеличением объема продаж биосенсорной продукции. Развитие рынка биосенсоров зависит от степени надежности и адекватности количественных методов, определения аналитов, представляющих экологический и клинический интерес, от совместимости биосенсорных технологий с крупномасштабными методами производства, от технической грамотности потребителей при работе с биосенсорами.

В экологии биосенсоры используются для мониторинга параметров окружающей среды . Например биосенсор для определения химического состава сточных вод. Датчик позволяет определять концентрации органических веществ в воде и детектировать наличие в среде гербицидов и мутагенов. Для определения концентраций фосфорорганических пестицидов на основе электрода Кларка разработаны биосенсоры, в которых чувствительным биологическим элементом является иммобилизованная в целлюлозную мембрану холиноксидаза либо бутирилхолиноксидаза. Разработаны амперометрические микробные биосенсоры, в которых уровень загрязнения окружающей среды определяется по влиянию вредных веществ на дыхание микробной компоненты .

В медицине биосенсоры применяются при биохимическом скрининге жидких сред организма во время массовых обследований, для непрерывного мониторинга физиологических параметров больных, как первичные датчики при разработке систем биохимического протезирования . Спектрофотометрические и хроматографические методы, которые традиционно используются в клинике для определения органических веществ, малопригодны для измерений в режиме on-line. Этим обусловлены интенсивные исследования и разработки биосенсоров на физиологически значимые соедине-

ния, ответ которых составлял бы минуты, а при использовании кинетических методов — секунды . Такие датчики можно будет применять для непрерывного контроля биохимических показателей жидких сред организма. Например,разрабатываются имплантируемые ферментные датчики на глюкозу , которые предполагается использовать при лечении диабета с помощью компенсаторных устройств, управляемых микропроцессорами, поддерживающих нормальную концентрацию инсулина в крови .