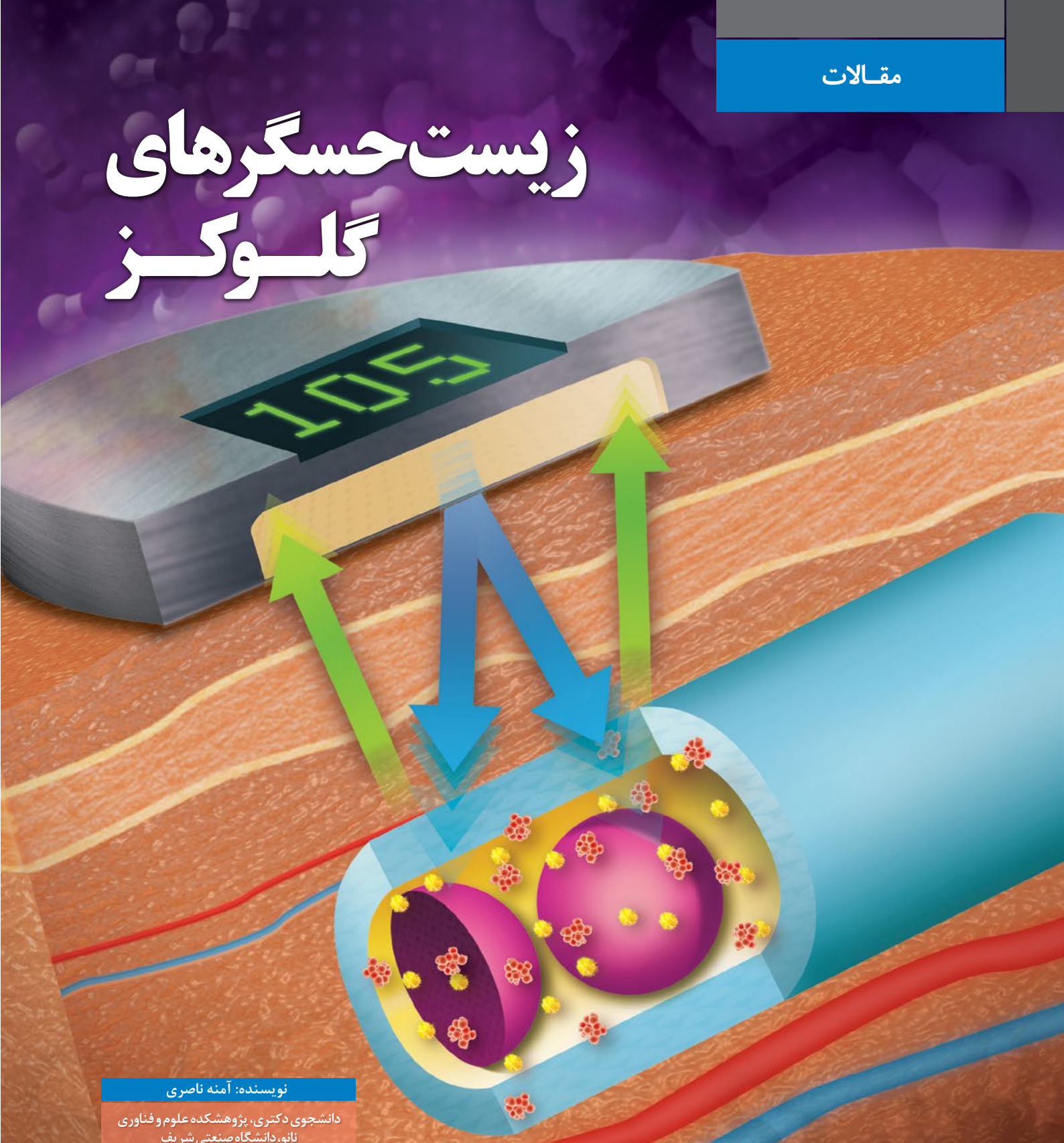
# زیست‌حسگرهای گلـوکـز

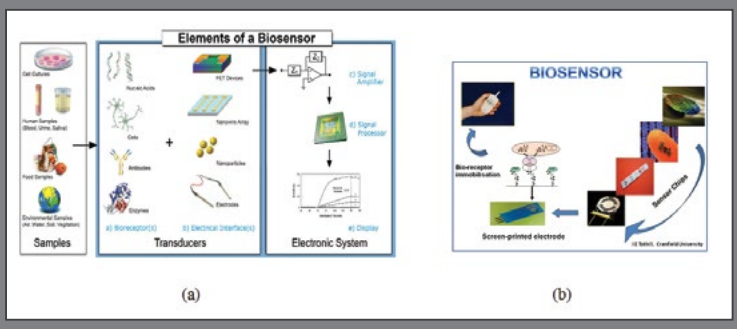


نویسنده: آمنه ناصری

دانشجوی دکتری، پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه صنعتی شریف
amenenasseri@mehr.sharif.ir

دیابت در هر سـنی، از کودکی تا بزرگسالی، می‌تواند بروز کند و یک عمر همراه بیمار باشد. بنابراین، یافتن راه‌هایی جهت بهبود زندگی بیمار از طریق اندازه‌گیری پیوسته گلوکز خون بسیار مهم است. علاوه بر این، حدود ۵ ـ ۴٪ از افراد سفیدپوست به دیابت مبتلا هستند و این عارضه یکی از عوامل مرگ و میر در دنیا اسـت. از همین رو، تحقیقات بسیار زیادی در مورد حسگرهای زیسـتی گلوکز انجام شده اسـت. در این سـمینار به بررسی حسگرهای الکتروشیمیایی و نوری گلوکز پرداخته شده است. روش‌های الکتروشیمیایی که گسـترده‌ترین روش‌های مورد اسـتفاده در اندازه‌گیری گلوکز هستند به صورت‌های مختلفی انجام می‌پذیرند که رایج‌ترین آن‌ها روش‌های آمپرومتری هسـتند. در روش‌های آمپرومتری از آنزیم‌ها جهت افزایش سرعت انتقال الکترون‌ها استفاده شده و در نسل دوم و سوم آن‌ها از نانوساختارها نیز بهره گرفته شـده اسـت. اندازه‌گیری گلوکز به‌صورت نوری شـامل روش‌های جذب‌سنجی و فلوئورسان‌سنجی اسـت که در این روش‌ها هم از آنزیم‌ها و نانوساختارها جهت ساخت حسگرهای زیستی استفاده شده است. در نهایت، مهم‌ترین مسئله در اندازه‌گیری گلوکز اندازه‌گیری پیوسته و داخل بدن است که در این سمینار اندکی هم به این روش‌ها پرداخته می‌شود.

کلمات کلیدی: حسگر زیسـتی گلوکز، حسگرهای الکتروشیمیایی و نوری، آنزیم، اندازه‌گیری پیوسته.




شـــکل ۱. a) شمای کلی از زیست‌حسگرها، b) شـــمای کلی از زیست‌حسگرهای نوعی گلوکز [۲].

## ۱ مقدمه

تشـــخیص گلوکز در زمینه‌های مختلف شـــامل کاربردهای بیوداروییی تا رهیافت‌های بوم‌شناســـی دارای اهمیت بالایی اســـت. در طب بالینی، دیابت (قند شیرین) یکی از عوامل ناتوانی و مرگ در دنیا اســـت. در حال حاضر، ۳۶۶ میلیون نفر در دنیا به دیابت مبتلا هســـتند [۱]. این اختلال متابولیک از ناکارآمدی انســـولین ناشـــی می‌شـــود و ازدیاد قند خون منجر به بیشـــتر شدن غلظت گلوکز از گستره نرمال ۶/۲ ـ ۳/۹ میلی‌مولار (با معده خالی) و ۷/۸ ـ ۳/۹ میلی‌مـــولار (۲ ســـاعت پس از غذا) می‌گردد. بررســـی کمی گلوکز قنـــد خون از نظر بالینی بسیار دارای اهمیت است، زیرا می‌تواند خطر بیماری‌های قلبی، کم‌کاری کلیه، و نابینایی ناشی از دیابت را به میزان زیادی کاهش دهد. در نتیجه، حدود ۹۰۰۰ مقاله مربوط به حسگرهای گلوکز در ISI web of knowledge به ثبت رسیده است.

یک زیست‌حسگر ابزاری تجزیه‌ای است که شامل سه قســـمت کلی گیرنده زیســـتی، مبدل، و ابزار الکترونیکی اســـت. این مجموعه به‌صورت سریع و دقیـــق و ویژه به آنالیت مورد نظر که می‌تواند یک نمونه زیســـتی یا محیطی باشد پاسخ می‌دهد. در اینجا آنالیت مورد نظر گلوکز است که متداول‌ترین مبدل‌های مورد استفاده در زیست‌حسگرهای آن مبدل‌های الکتروشـــیمیایی و نوری هســـتند که فرایند زیستی اتفاق‌افتاده بر روی گیرنده زیستی (اغلب آنزیم) را به ســـیگنالی قابـــل ثبت تبدیل می‌کنند و آن را به ابزار الکترونیکی انتقال می‌دهند. آنزیم به‌صورت فیزیکی یا شیمیایی روی مبدل گیر انداخته می‌شود. یک شمای کلی از بیوسنسورها در شکل ۱ ارائه شده است [۲].

روش‌هـــای الکتروشـــیمیایی و نـــوری به میزان زیادی جهت بررســـی کمی گلوکز مورد استفاده قرار گرفته‌اند. بدیهی است که در روش‌های نوری فوتون‌ها و در روش‌های الکتروشیمیایی الکترون‌ها اندازه‌گیری می‌شوند. بنابراین، ویژگی بی‌سیم بودن روش‌های نـــوری آن‌ها را به روش‌های مناســـبی برای تصویربرداری زیســـتی و زیست‌حسگری در محیط داخل بدن تبدیل کرده اســـت. بسیاری از روش‌های نوری شامل جذب‌سنجی، فلوئورسانس، و رزونانس پلاسمون سطحی در تشخیص گلوکز اســـتفاده شده اســـت. روش‌های الکتروشیمیایی، به‌خصوص روش‌های آمپرومتری (جریان‌سنجی)، در اندازه‌گیری گلوکز بسیار استفاده شده است و در آن‌ها اغلب از آنزیم‌ها به‌عنوان گیرنده‌های زیستی زیست‌حسگر بهره‌گیری شده است [۳]. حسگرهای واقعی (یعنی حسگرهایی که به‌صورت برگشت‌پذیر به گلوکز پاسخ می‌دهند) در نوع خانگی مورد نیاز نیستند. در نتیجه، این تست‌ها را می‌توان به‌وسیله ســـنجه‌های معمول الکتروشـــیمیایی با نوارهای تست (که به‌صورت برگشت‌ناپذیر به گلوکز پاسخ می‌دهنـــد) انجام داد. اما از آنجا که انتظار نمی‌رود چنین حسگرهایی سازگار زیستی باشند یا پاسخ مســـتقل از زمان داشته باشند، از روش‌های نوری اندازه‌گیـــری گلوکز در داخل بـــدن یا اندازه‌گیری پیوسته استفاده می‌شود [۴]. در این مقاله مروری بر انواع زیست‌حســـگرهای جریان‌ســـنجی گلوکز و ابزارهای حالت جامد اندازه‌گیری آن، ســـنجش خانگی، و انواع زیست‌حســـگرهای مورد استفاده در بدن جهـــت اندازه‌گیری مـــداوم گلوکز انجام خواهد شد. علاوه بر این، به انواع زیست‌حسگرهای نوری که در آن‌ها از چهار دســـته گیرنده زیستی خاص شامل گلوکز اکســـیداز، concanavalin A، و بورونیک اســـید استفاده شده است اشاره خواهد شد. در خلال این روش‌ها، به تعدادی روش کاشت برخی از زیست‌حســـگرهای گلوکز در داخل بدن جهت اندازه‌گیری مداوم آن پرداخته می‌شود.

## ۲ زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی گلوکز

### ۲.۱ زیست‌حسگرهای آنزیمی جریان‌سنجی گلوکـــز

در این دسته از ابزارها از شدت جریان ایجادشده از واکنش اکسایش/ کاهش انجام‌شده روی سطح الکترود برای تعیین غلظت گلوکز استفاده می‌شود. اولین الکترود آنزیمی ساخته‌شده جهت اندازه‌گیری گلوکز، مربوط به سال ۱۹۶۲، شامل یک لایه نازک از آنزیم گلوکز اکسیداز بود که از طریق یک غشای دیالیز نیمه‌تراوا روی ســـطح الکترود اکسیژن گیر انداخته شده بود. در این صورت، آنزیم استفاده‌شده اکسیداســـیون گلوکز را در حضور اکسیژن کاتالیز می‌کرد (واکنش شماره ۱).

$$\text{glucose}+O_2 \xrightarrow{GOx} \text{gluconic acid}+H_2O_2 \quad (۱)$$

سپس، مصرف اکسیژن به‌وسیله یک کاتد پلاتینی تشخیص داده می‌شود و به‌عنوان سیگنالی جهت اندازه‌گیری گلوکز استفاده می‌گردد (واکنش ۲).

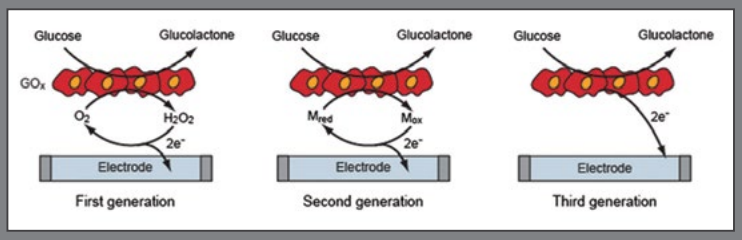
$$O_2+4H^++4e \rightarrow 2H_2O \quad (۲)$$

نحوه عملکرد گلوکز اکسیداز به این صورت است که گروه فلاویـــن (FAD) موجود در آن که مرکز فعالش اســـت با گلوکز برهم‌کنش می‌کند تا فرم کاهش‌یافته فلاوین ($FADH_2$) تولید شود. سپس، فرم کاهش‌یافته فلاوین توســـط یک گونه واسطه (mediator) بـــه حالت اولیه برگردانده می‌شـــود (واکنـــش ۳ و ۴). تولید مجـــدد آنزیم یک فرایند حیاتی است که در صورت انجام نشدن آن، آنزیم از چرخه واکنش حذف می‌گردد.

$$GOx(FAD) + \text{glucose} \rightarrow GOx\,(FADH_2)+ \text{gluconic acid} \quad (۳)$$

$$GOx(FADH2)+Medo_x \rightarrow GOx(FAD) + \text{Medred} \quad (۴)$$

بر اســـاس نوع گونه حد واســـط استفاده‌شـــده، زیست‌حســـگرهای جریان‌ســـنجی گلوکز به سه نسل تقسیم می‌شوند [۵]. این سه نسل به‌صورت شماتیک در شکل ۲ نشان داده شده‌اند.




شکل ۲. سه نسل زیست‌حسگرهای جریان‌سنجی گلوکز [۵] A) نسل اول با گونه واسطه اکسیژن، B) نسل دوم با گونه واسطه فیزیولوژیک، C) نسل سوم با انتقال الکترون مستقیم بین الکترود و گلوکز اکسیداز.

### ۲.۱.۱ نسل اول زیست‌حسگرهای جریان‌سنجی گلوکز

در این نسل زیست‌حسگرها بر اساس استفاده از سوبسترای همراه (cosubstrate) اکسیژن طبیعی و تولید و تشخیص هیدروژن پراکساید عمل می‌کنند. این بدان معنی است که در واکنش ۴ medox اکسیژن و medred تولیدشده $H_2O_2$ باشند. اندازه‌گیری هیدروژن پراکساید از اندازه‌گیری اکسیژن ساده‌تر است. پس، این نسل زیست‌حسگرها نسبت به اولین زیست‌حسگرهای ساخته‌شده در سال ۱۹۶۲ بهبود پیدا کرده‌اند. این نسل از زیست‌حسگرهای تهیه‌شده به اکسیژن به‌عنوان پذیرنده فیزیولوژیک الکترون نیازمندند. پس، در معرض خطاهای ناشی از نوسان فشار اکسیژن و محدودیت استوکیومتری آن هستند. مسئله بیان‌شده که تحت عنوان کمبود اکسیژن (oxygen deficit) از آن نام برده می‌شود منعکس‌کننده این واقعیت است که غلظت‌های نرمال اکسیژن به اندازه یک مرتبه بزرگی از میزان فیزیولوژیک گلوکز کمتر هستند. برای حل این معضل از روش‌های مختلفی استفاده شده است که یکی از این روش‌ها استفاده از فیلم‌های محدودکننده انتقال جرم، مثل پلی‌اورتان یا پلی‌کربنات، برای تنظیم شار گلوکز و اکسیژن است که نفوذپذیری اکسیژن نسبت به گلوکز را افزایش دهند. روش دیگر استفاده از یک الکترود استوانه‌ای است که اکسیژن از دو سمت وارد آن شود، در حالی که گلوکز تنها از یک سمت وارد می‌گردد.

### ۲.۱.۲ نسل دوم زیست‌حسگرهای جریان‌سنجی گلوکز

اگر اکسیژن با یک پذیرنده غیرفیزیولوژیک الکترون مثل مشتقات فروسین عوض شود، مشکلات موجود در نسل قبل تا حدودی مرتفع می‌گردد. این پذیرنده غیرفیزیولوژیک الکترون را از مرکز اکسایش/کاهش آنزیم به سطح الکترود انتقال می‌دهد. اصولا به این علت به انتقال‌دهنده‌های الکترون (گونه‌های واسطه) نیازمندیم که اطراف مرکز فعال آنزیم (در اینجا فلاوین) یک لایه نازک پروتئین هست که یک سد ذاتی در برابر انتقال الکترون ایجاد می‌کند. گونه‌های واسط نفوذ الکترون که در این نسل از زیست‌حسگرها مورد استفاده قرار گرفته‌اند ترکیباتی مثل مشتقات فروسین، فری سیانید، نمک‌های آلی رسانا، کمپلکس‌های فلزات واسطه، و تعدادی ترکیبات دیگر هستند. نانولوله‌های کربنی می‌توانند به آنزیم‌ها متصل شوند و یک جهت‌گیری مطلوب روی سطح ایجاد کرده و به‌عنوان یک اتصال‌دهنده الکتریکی بین مرکز فعال آنزیم و سطح الکترود عمل کنند. مثالی از این نوع نانولوله‌های کربنی منظم‌شده به‌صورت عمودی به‌عنوان سیم‌های مولکولی (نانواتصال‌دهنده‌ها) هستند که مرکز فعال آنزیم را به سطح الکترود متصل و فرایند انتقال الکترون را تسهیل می‌کنند [۶].

### ۲.۱.۳ نسل سوم زیست‌حسگرهای جریان‌سنجی گلوکز

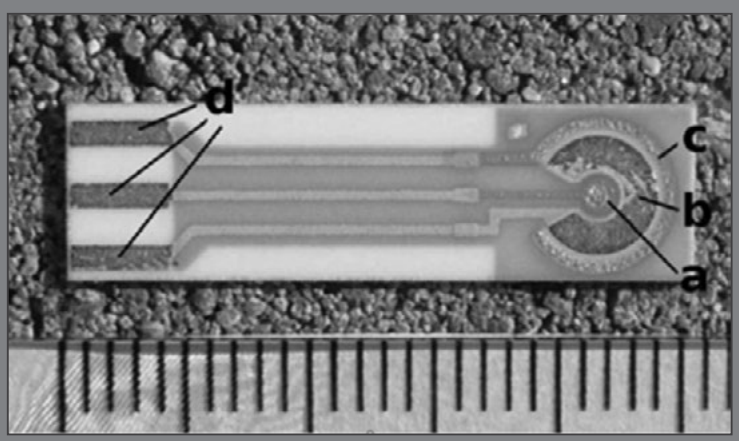
در این نسل گونه‌های واسطه حذف شدند و زیست‌حسگرهای بدون واکنشگر (reagentless) با پتانسیل کارکرد کم نزدیک به پتانسیل اکسایش/کاهش آنزیم تهیه شدند. در این مورد پتانسیل الکترود بر روی یک پتانسیل مثبت‌تر از پتانسیل اکسیداسیون گلوکز اکسیداز قرار می‌گیرد. بنابراین، انتقال الکترون به‌صورت مستقیم از مرکز فعال آنزیم به سطح الکترود صورت می‌گیرد. اما این انتقال الکترون مستقیم با چالش‌هایی روبه‌رو است، به این علت که جفت دهنده و پذیرنده الکترون به‌صورت فضایی از هم جدا هستند. تلاش‌های ناموفقی جهت این انتقال الکترون به الکترودهای سنتی انجام شده است. بنابراین، از مواد الکترودی جدید برای ساخت این نسل از زیست‌حسگرها استفاده شده است. یک راه استفاده از الکترودهای نمک‌های آلی هادی بر اساس کمپلکس‌های انتقال بار مثل تتراتیافولوالن ـ تتراسیانوکوئینودی متان است. راه دیگر استفاده از سیستم گلوکز اکسیداز متصل‌شده به پلی‌پایرول است که در آن احتمال تسهیل انتقال الکترون به‌وسیله پایرول‌های الیگومری (مجموعه‌ای از تعداد محدودی مونومر پایرول) حاضر بر روی سطح وجود دارد [۷].

## ۲.۲ ابزارهای حالت جامد شناسایی گلوکز

خواص الکتریکی ممتاز نانومواد یک‌بعدی، مثل نانولوله‌های کربنی، آن‌ها را به ساختارهای مناسبی جهت ساخت نانوحسگرهای هدایت‌سنجی گلوکز (که در آن‌ها با تغییرات غلظت گلوکز میزان هدایت یا مقاومت اندازه‌گیری‌شده تغییر می‌کند) تبدیل کرده است. در مطالعه‌ای نانوحسگری از این نوع ساخته شده است که در آن دو الکترود به‌وسیله نانولوله کربنی تک‌دیواره پوشیده‌شده با گلوکز اکسیداز به هم متصل شده‌اند. این حسگر به تغییرات pHای که در اثر تولید گلوکونیک اسید (ایجادشده از واکنش گلوکز با اکسیژن) ایجاد می‌گردد حساس است و هدایت نانولوله‌های کربنی موجود در این حسگر با افزایش غلظت گلوکز تغییر می‌کند. بنابراین، می‌توان از آن به‌عنوان حسگری برای اندازه‌گیری گلوکز استفاده کرد [۸]. پلیمرهای هادی (پلیمرهایی که به‌علت وجود ساختار مزدوج الکترونی هادی الکتریسیته هستند) نیز در ساخت نانوحسگرهای حالت جامد هدایت‌سنجی گلوکز استفاده شده‌اند؛ مثالی از این نوع حسگری است که در آن دو میکرو الکترود طلا که فاصله‌ای نانومتری با هم دارند به‌وسیله پلیمر هادی پلی‌آنیلین (پلیمری که به‌علت وجود ساختار مزدوج الکترونی هادی الکتریسیته است) پوشیده‌شده با گلوکز اکسیداز به هم اتصال داده شده‌اند. گلوکز بر روی این اتصال با گلوکز اکسیداز واکنش می‌دهد و طبق واکنش ۱ هیدروژن پراکساید را تولید می‌کند. هیدروژن پراکساید تولیدشده می‌تواند با پلی‌آنیلین واکنش دهد و آن را اکسید کند و ترازهای هدایتش را تغییر دهد. در نتیجه، هدایت بین دو میکروالکترود طلا تغییر می‌کند و با تغییرات هدایت می‌توان تغییرات غلظت گلوکز را بررسی کرد [۹].

## ۲.۳ سنجش خانگی گلوکز

زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی برای سنجش شخصی گلوکز بسیار مناسب هستند. از آنجا که این ابزارها به‌صورت روزانه جهت تشخیص عوامل خطر بالقوه برای زندگی افراد استفاده می‌شوند باید کیفیت بسیار بالایی داشته باشند. بیشتر مونیتورهای گلوکز خون بر نوارهای تست الکترودهای آنزیمی screen-printed متکی‌اند که نمونه‌ای از آن‌ها در شکل ۳ نشان داده شده است. فناوری screen-printing شامل الگوهای




شکل ۳. سطح مقطع یک نوار تست برای اندازه‌گیری شخصی گلوکز خون. (a) الکترود کار طلا، (b) الکترود مرجع Ag/AgCl، (c) الکترود مقابل طلا، (d) اتصالات خروجی از جنس نقره [۱۰].

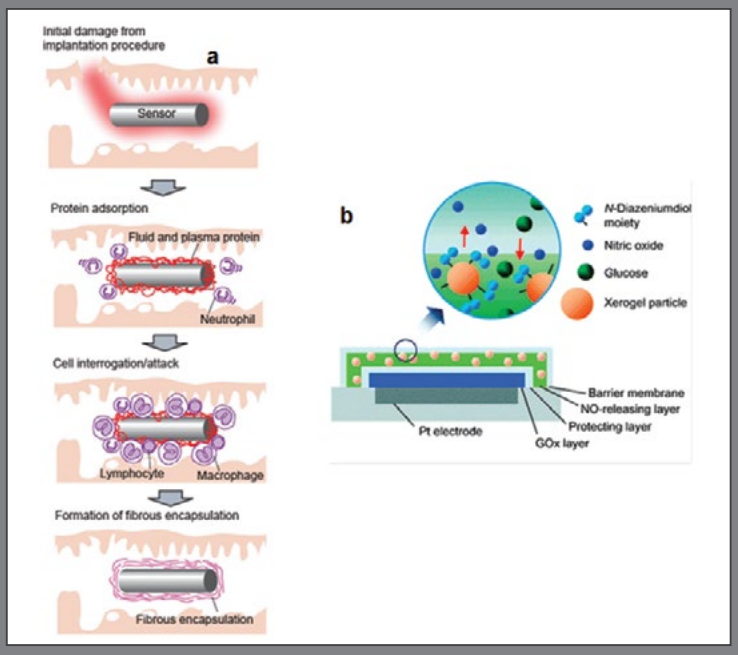
چاپ هادی‌ها و عایق‌ها بر روی سوبستراهای جامد مسطح (مثل پلاستیک یا سرامیک) با استفاده از پرس کردن جوهرهای مربوطه توسط یک ماسک الگودار است. در ساخت نوارهای ذکرشده الکترود کار طلا بر روی سطح پلی‌وینیل کلراید با تکنیک screen-printig چاپ می‌شود و سپس مخلوطی از آنزیم و پایدارکننده و اتصال‌دهنده و سورفکتانت بر روی این الکترود با تکنیک ink-jet printing نشانده می‌شود و این الکترود به‌عنوان الکترود کار در نظر گرفته می‌شـــود[۱۰]. یک الکتـــرود مقابل و یک الکترود مرجع هم در سیستم وجود دارند. معمولا غشاهای مختلفی جهت پوشش یکنواخت نمونه و جدا کردن سلول‌های خونی در این نوارها موجود است. در این ابزارها دستگاه سنجش کوچک است و با اســـتفاده از باتری کار می‌کنـــد. در همه این دستگاه‌ها بیمار نوک انگشتش را سوراخ می‌کند و قطره‌ای از خون را روی نوار حسگر قرار می‌دهد و با یک فاصله زمانی ۵ تا ۲۰ ثانیه‌ای غلظت گلوکز خون روی یک مانیتور LC نمایش داده می‌شود.

## ۴.۲ زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی قابل کاشت در بدن جهت اندازه‌گیری پیوسته گلوکز

اگرچه تست شخصی گلوکز بسیار گسترش یافته است، تعداد تســـت‌هایی که می‌توان در طول یک روز انجام داد محدود است. از آنجا که نمونه خون باید از انگشت فرد گرفته شود، بیمار از اندازه‌گیری مداوم باز می‌ماند. علاوه بر این، این‌گونه تســـت‌ها در ساعات شـــب انجام نمی‌شوند. همه این عوامل به این معنی هستند که این اندازه‌گیری‌ها جهت و الگوی میزان گلوکز را مشخص نمی‌کنند. بنابراین، ممکن است تقریب نادرســـتی از تغییرات گلوکز خون ارائه بدهند. کنترل شدیدتر قند خون توسط اندازه‌گیری‌هـــای مکرر یا اندازه‌گیری مداوم جهت تشخیص تغییرات شـــدید در میزان گلوکز و ارائه هشدار به‌موقع در موارد بالاتر یا پایین‌تر بودن قند خون از حد مجاز مورد نیاز است. اندازه‌گیری مداوم گلوکز بیشترین اطلاعات را درباره تغییرات مقدار آن در طول روز فراهم می‌کند.

زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی احتمالی گلوکز به شکل ســـوزن (needle-type) بســـیار بررسی شده‌اند[۱۱].

این حســـگرها به‌صورت زیرپوستی در سیال بین ســـلولی کاشـــته می‌شـــوند و میزان گلوکز را در این ســـیال اندازه‌گیری می‌کننـــد که این غلظت اندازه‌گیری‌شده با غلظت گلوکز در خون متناسب است. جهت اســـتفاده از زیست‌حسگرها در داخل بدن مشکلاتی وجود دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به پس زدن حســـگر توســـط بدن بیمار، کوچک کردن حسگر، کمبود اکســـیژن، کالیبراسیون در محیط داخل بدن، و راحت نبودن بیمار اشاره کرد. یکی از مهم‌ترین مشـــکلات بر سر راه حسگرهای قابل کاشـــت در بافت زیرپوســـتی ایجاد کپسول فیبری اطراف زیست‌حســـگر کاشته‌شـــده است [۱۲ و ۱۳] که پاسخ حســـگر را نسبت به گلوکز




شکل ۴. (a) پاســـخ میزبان به حسگر کاشته‌شـــده. در اثر حمله پروتئین‌ها به حسگر، ســـلول‌هایی مثل نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها و لمفوســـیت‌ها به حسگر می‌چسبند و یک کپسول فیبری اطراف حسگر ایجاد می‌کنند[۱۲]، (b) پوشش آزادکننده نیتریک اکسید جهت بهبود زیست‌سازگاری حسگر گلوکز [۱۳].

متوقف می‌کند. این کپســـول فیبری که در شکل a۴ نشـــان داده شده است به‌علت جای زخم ناشی از کاشت حسگر که منجر به چسبیدن باکتری‌ها و ماکروفاژها به حســـگر می‌گردد تولید می‌شود. برای از بین بردن این کپســـول فیبری از رهایش کنترل‌شده نیتریک اکسید (NO) یا از پوشش‌های پلیمری مثل پلی‌اتیلن گلیکول یا پلی‌اتیلن اکساید اســـتفاده می‌گردد. در مطالعه‌ای از این نوع [۱۴] حسگری ســـاخته شده اســـت که با چهار غشای پلیمری پوشیده شده است. این غشاها، همان‌طور که در شکل b۴ نشـــان داده شده است، به‌ترتیب شـــامل لایه گلوکز اکسیداز داخل یک پلیمر، لایه پلی‌اورتـــان جهت محافظت از آنزیم، ســـل ـ ژلی (شبکه پلیمری سه‌بعدی) از پلی‌اورتان اصلاح‌شده با ترکیبی که NO را در محلول آزاد می‌کند، و در نهایت یک لایه پلی‌اورتان هستند. نیتریک اکسید یک مانع قوی در برابر چسبیدن پلاکت‌ها و عامل ضدباکتری است و علاوه بر این می‌تواند باعث بهبود محل جراحت کاشت ابزار حسگری باشد.

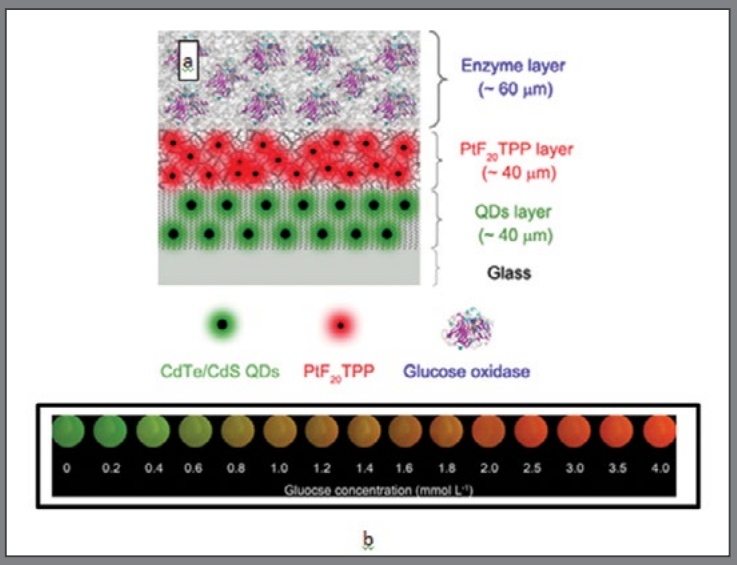
## ۳ زیست‌حسگرهای نوری گلوکز

در این نوع از حسگرها واکنش زیستی اتفاق افتاده به اطلاعات نوری تبدیل می‌شـــود. این اطلاعات می‌تواند به‌صورت رنگ‌سنجی، فلوئورسان‌سنجی، و جذب‌سنجی باشـــد. این روش‌ها به چند دسته تقسیم می‌شـــوند [۱۵]: ۱ تشـــخیص گلوکز با اســـتفاده از آنزیم‌ها یا کوآنزیم‌هـــا (جایگاه فعال آنزیم)، ۲ اندازه‌گیری میزان تشـــکیل یا مصرف موادی که توسط آنزیم‌ها تولید یا مصرف می‌شوند، ۳ اندازه‌گیـــری گلوکز بـــا اســـتفاده از بورونیک اســـیدهای آلی، و ۴ اندازه‌گیری بر اساس تمایل گلوکز به اتصال با concanavalin A.

علاوه بر این‌ها از تغییرات در رزونانس پلاسمون ســـطحی پلاســـمون‌ها هم در اندازه‌گیری گلوکز استفاده شده است.

## ۱.۳ حسگرهای گلوکز با استفاده از خواص نوری فلوئورسان ذاتی آنزیم‌ها یا کوآنزیم‌ها و یا فلوئورسان آنزیم‌های برچسب‌دارشده

در این دســـته از حســـگرها هنگام اتصال گلوکز بـــه آنزیم‌های خاص یا کوآنزیم‌های آن‌ها جذب یا فلوئورســـانس آن‌ها تغییر می‌کند. آنزیم‌هایی که در این دسته استفاده می‌شـــوند گلوکز اکسیداز، گلوکـــز دهیدروژناز، و گلوکوکیناز هســـتند. برای انتقال پنجـــره تجزیه‌ای به ناحیـــه مرئی با طول موج‌های بلند (که برای زیست‌حســـگرهای نوری داخل بدن هم مناســـب باشند) آنزیم‌های مربوطه با فلوئوفورها برچســـب‌دار می‌شـــوند. در یک نوع حسگر از این دسته از فلوئورسانس ذاتی سبز گروه فلاوین موجود در آنزیم گلوکز اکســـیداز استفاده شده است [۱۶] . حین برهم‌کنش با گلوکز، شدت فلوئورســـانس فلاوین تغییر می‌کند. در ســـاخت این حســـگر محلول آنزیم بر روی یک فیبر نوری توسط یک غشای نیمه‌تراوا گیراندازی شده است.




شکل ۵. (a) شکل شماتیک لایه‌های حسگری در حسگر رنگ‌سنجی گلوکز، (b) رنگ‌های مشخص از لایه‌های حسگری در غلظت‌های مختلف گلوکز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد [۱۸].

حسگر دیگری بر اساس استفاده از گلوکز اکسیداز اصلاح‌شده با مشتقی از فلوئورسین تهیه شده است. در این حسگر آنزیم اصلاح‌شده توسط پلی‌اکریل آمید گیراندازی شده است و افزایش فلوئورسانس آنزیم با افزایش غلظت گلوکز ثبت شده و سیگنال حاصل به غلظت گلوکز ربط داده شده است [۱۷].

### ۲.۳ اندازه‌گیری گلوکز با اندازه‌گیری محصولات اکسیداسیون آنزیمی گلوکز توسط گلوکز اکسیداز

این حسگرها بر اساس اندازه‌گیری میزان اکسیژن مصرف‌شده یا هیدروژن پراکساید تولیدشده طبق واکنش ۱ هستند. بر اساس اندازه‌گیری میزان اکسیژن مصرف‌شده، یک خط‌کش گلوکز ساخته شده است [۱۸]. در این نوار از یک لایه نقاط کوانتومی هسته/پوسته CdTe/CdS با فلوئورسانس سبز به‌عنوان رنگ زمینه پایدار استفاده شده و یک لایه پلاتین ـ پورفیرین با فلوئورسانس قرمز حساس به اکسیژن (در اثر تماس این لایه با اکسیژن رنگ قرمز لایه از بین می‌رود) بر روی لایه اول قرار داده شده است؛ سپس، یک لایه گلوکز اکسیداز هم بر روی این لایه‌ها قرار داده شده است. وقتی سنسور در معرض گلوکز قرار می‌گیرد، اکسیژن مصرف می‌شود بنابراین، رنگ حسگر از سبز (وقتی که اکسیژن حضور داشت) به قرمز تغییر می‌کند که تغییرات رنگ مربوط به حسگر در اثر تغییرات غلظت گلوکز در شکل ۵ نشان داده شده است.

بر اساس اندازه‌گیری میزان اکسیژن مصرف‌شده در واکنش آنزیمی گلوکز یک زیست‌حسگر هیبریدی قابل کاشت در بافت زیرپوستی تهیه شده است [۱۹]. در این حسگر دو optode (ابزار حسگر نوری) حساس به اکسیژن تعبیه شده که روی یکی از آن‌ها گلوکز اکسیداز تثبیت گردیده است. حسگر حاضر بر اساس اندازه‌گیری همزمان فشار موضعی اکسیژن و میزان آن در نتیجه تخلیه‌اش توسط گلوکز اکسیداز عمل می‌کند. مزیت این حسگر این است که به نوسانات فشار اکسیژن حساس نیست. این optodeها بر اساس زمان از بین رفتن (decay) فلوئورسانس فلوئوروفر(مولکولی که فلوئورسانس دارد)های حساس به اکسیژن موجود بر روی سطحشان عمل می‌کنند. یک شمای کلی از این حسگرها در شکل ۶ آورده شده است.

یک مثال از زیست‌حسگرهایی که بر اساس اندازه‌گیری میزان هیدروژن پراکساید تولیدشده عمل می‌کنند حسگری است که در آن از کمپلکس یوروپیوم (III) تتراسایکلین (EuTc) در یک ماتریکس پلیمری نسبتا آبگریز به‌عنوان پروبی جهت اندازه‌گیری گلوکز استفاده شده است [۲۰]. این کمپلکس فلوئورسانس قوی‌ای در ۶۱۶ نانومتر دارد که در اثر تماس با هیدروژن پراکساید تولیدشده از واکنش آنزیمی گلوکز فلوئورسانس آن به‌شدت تقویت می‌گردد. عامل حساس به هیدروژن پراکساید (یعنی EuTc) در اینجا خودش فلوئورسانس دارد. پس، از روش time resolved fluorescence decay (که در آن قسمتی از زمان خاموشی فلوئورسانس در نظر گرفته می‌شود که فلوئورسانس زمینه یعنی EuTc به کمترین مقدار ممکن رسیده باشد) به‌صورت نسبی برای اندازه‌گیری میزان هیدروژن پراکساید تولیدشده و در نهایت غلظت گلوکز استفاده شده است.

### ۳.۳ اندازه‌گیری گلوکز با بورونیک اسیدهای مصنوعی (سنتزی)

بورونیک اسیدها می‌توانند در یک محلول آبی به‌صورت برگشت‌پذیر با گلوکز برهم‌کنش کووالانسی کنند، که این عاملی اساسی در حسگرهای تشخیص گلوکز بر اساس بورونیک اسید است. در ساخت یک زیست‌حسگر از یک مولکول رنگدانه فلوئورسان آنیونی همراه با مشتقی کاتیونی از یک بورونیک اسید که خاموش‌کننده فلوئورسانس است استفاده شده است [۲۱]. در اثر برهم‌کنش الکتروستاتیک بین این دو ترکیب و ایجاد کمپلکس بین آن‌ها، فلوئورسانس رنگدانه خاموش می‌شود. اما در اثر ورود گلوکز به محلول، این کاتیون و آنیون از هم جدا شده و فلوئورسان رنگدانه بازیابی می‌گردد.

از بورونیک اسیدهای متصل به فلوئوروفر کوئینولین که در حضور گلوکز فلوئورسانس آن‌ها خاموش می‌شود در لنزهای یک‌بارمصرف جهت اندازه‌گیری گلوکز در اشک افراد استفاده شده است [۲۲]. این حسگرها بسیار حساس‌اند و به نور فرابنفش جهت برانگیختگی نیازی ندارند. گلوکز موجود در اشک به اندازه ۵ تا ۱۰ مرتبه کوچک‌تر از میزان گلوکز موجود در خون پیروی می‌کند و به همین جهت میزان گلوکز اندازه‌گیری‌شده در اشک را می‌توان به میزان گلوکز موجود در خون نسبت داد.

### ۴.۳ اندازه‌گیری گلوکز با concanavalin A

concanavalin A (Con-A) یک lectin گیاهی (پروتئینی که به کربوهیدرات‌ها متصل می‌گردد) است و چهار جایگاه جهت اتصال گلوکز دارد. Con-A در سنجه‌های رقابتی گلوکز، که در آن‌ها گلوکز با سایر کربوهیدرات‌ها رقابت می‌کند، استفاده می‌شود. در مطالعه‌ای حسگری ساخته شده که بر اساس اندازه‌گیری گلوکز در اتصال برگشت‌پذیر رقابتی Con-A به گروه‌های گلوکز باقی‌مانده داخل دانه‌های Sephatex (نام تجاری ژل دکستران) عمل می‌کند[۲۳]. همان‌طور که در شکل C۶ نشان داده شده است، در این حسگر دانه‌های Sephatex با رنگ قرمز به‌شدت رنگ شده‌اند. Con-A موجود به فلوئوروفرهایی متصل شده است که رنگ قرمز دانه‌های Sephatex موجود مانع از این می‌گردد که نور فرودی با طول موج ۴۹۰ نانومتر توسط این فلوئوروفرها جذب شود. به همین علت، فلوئورسانس آن‌ها به شدت ضعیف است. هنگامی که این حسگر در معرض تماس با گلوکز قرار می‌گیرد و گلوکز به محل دانه‌ها می‌رسد، Con-A باقی‌مانده‌های گلوکز داخل دانه‌ها را رها کرده و به گلوکزی که به داخل حسگر نفوذ کرده است متصل می‌گردد. در این صورت، Con-A در فضای خالی داخل حسگر رها خواهد بود و فلوئوروفر متصل به آن به‌راحتی نور فرودی را دریافت می‌کند و شدت فلوئورسانس آن افزایش می‌یابد.

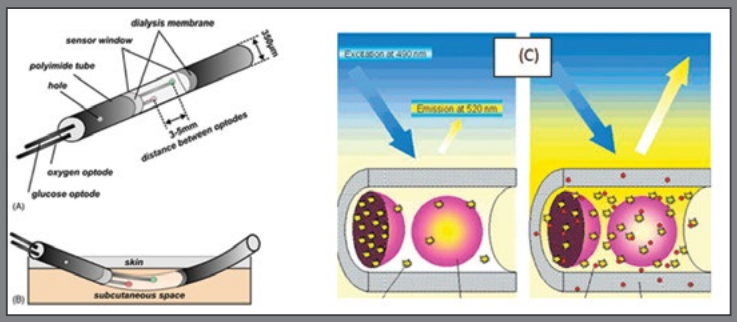
یک نانوبیوسنسور جدید بر اساس QDs-Con A-β-CDs-AuNPs ساخته شده است [۲۴] که در آن فرایند حسگری بر اساس FRET (fluorescence resonance energy transfer) انجام می‌شود (که در آن یک گروه دهنده انرژی هست که به‌علت مجاورت با یک گروه گیرنده انرژی، انرژی تابشی ترکیب‌دهنده به گیرنده انتقال می‌یابد و در نتیجه فلوئورسانس ترکیب‌دهنده خاموش می‌گردد). در این نانوبیوسنسور نقاط کوانتومی CdTe به‌عنوان دهنده انرژی و نانوذرات طلا به‌عنوان گیرنده استفاده شده‌اند. Con-A به نقاط کوانتومی متصل شده است و β-سیکلودکسترین (β-CD)های تیوله به نانوذرات طلا متصل شده‌اند. در اثر تمایل Con-A برای اتصال به β-CD، دهنده و گیرنده به هم نزدیک شده و در اثر FRET فلوئورسانس نقاط کوانتومی خاموش می‌گردد. هنگامی که گلوکز وارد می‌شود، با β-CDها در اتصال به Con-A رقابت می‌کند. در این صورت، دهنده و گیرنده را از هم جدا می‌کند و فلوئورسانس نقاط کوانتومی بازیابی می‌شود. هر چه غلظت گلوکز بیشتر باشد میزان این بازیابی بیشتر خواهد بود.

## ۵.۳ اندازه‌گیری گلوکز به‌وسیله پلاسمون رزونانسی سطح

در این تکنیک از تغییرات رزونانس پلاسمونی ذرات در اثر حضور گلوکز برای اندازه‌گیری آن استفاده می‌شود. بر این اساس، یک مونیتور پلاسمونی گلوکز خون بر اساس خوردگی آنزیمی نانومیله‌های طلا ساخته شده است [۲۵]. در این حسگر از هیدروژن پراکساید تولیدشده در اکسیداسیون آنزیمی گلوکز برای خوردگی نانومیله‌های طلا و کوتاه کردن آن‌ها استفاده شده است. در نتیجه کوتاه شدن طول نانومیله‌های طلا پیک پلاسمونی طولی آن‌ها به سمت طول موج‌های کوتاه‌تر شیفت پیدا می‌کند که از میزان این شیفت طول موج می‌توان به غلظت گلوکز موجود در محلول پی برد. در این فرایند مکانیسم خوردگی نانومیله‌های طلا به این صورت است که هیدروژن پراکساید ابتدا به رادیکال‌های OH تبدیل می‌گردد و سپس منجر به حل شدن نانوذرات طلا می‌شود. یون برمید موجود در سورفکتانت روی نانومیله‌های طلا هم این واکنش را کاتالیز می‌کند [۲۶ و ۲۷].

## ۴ نتیجه‌گیری

در این مقاله به بررسی مکانیسم‌های مهم‌ترین روش‌های اندازه‌گیری گلوکز پرداخته شد. مکانیسم‌های موجود در زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی و نوری استفاده‌شده در اندازه‌گیری گلوکز بیان شدند و تعدادی از زیست‌حسگرهای مورد استفاده در بدن که با این مبدل‌ها ساخته شدند مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت، هدف همه بررسی‌های انجام‌شده بر روی این دسته از زیست‌حسگرها رسیدن به روش‌هایی است که به‌طور مداوم گلوکز موجود در خون را اندازه‌گیری کنند و بر اساس این اندازه‌گیری‌های پیوسته در مواردی که ازدیاد قند خون وجود دارد انسولین به‌صورت خودکار به بدن تزریق شود.




شکل ۶. طرح شماتیک (A) حسگر نوری هیبریدی (B) حسگر هیبریدی کاشته‌شده [۱۹]، (C)طرح شماتیک یک زیست‌حسگر رقابتی گلوکز بر اساس Con-A[۲۳].

## منابع:


1. Z Gu, A.A Aimetti, Q.Wang, T.T Dang, Y Zhang, O Veiseh, H Cheng, R.S Langer, D.G Anderson, ACS NANO, DOI: 10.1021/nn400630x, (2013).
2. J Bai, D Trau, comprehensive biomaterials, Vol.3, (2011).
3. C Chen, Q Xie, D Yang, H Xiao, Y Fu, Y Tan, S Yao, RSC Adv., Vol.3, (2013).
43. M-S Steiner, A Duerkop, O.S Wolfbeis, Chem. Soc. Rev., Vol. 40., (2011).
5. J Wang, Chem. Rev., Vol.108, (2008).
6. F Patolsky, Y Weizmann, I Willner. Angew. Chem., Int. Ed., Vol.43, (2004).
7. M Gerard, A Chaubey, B.D Malhotra, Biosens. & Bioelect., Vol.17, (2002).
8. K Besteman, F Lee, F Wiertz, H Heering, C Dekker, Nano Lett., Vol.3, (2003).
9. E.S Forzani, H.Q Zhang, L Nagahara, I Amlani, R Tsue, N.J Tao, Nano Lett., Vol.4, (2004).
10. M Pohanka, P Skládal, J. Appl. Biomed., Vol.6, (2008).
11. A Heller, Annu. Rev. Biomed. Eng., Vol.1, (1999).
12. Y.J Heo, S Takeuchi, Adv. Healthcare Mater., Vol.2, (2013).
13. M. Frost, M. E. Meyerhoff, Anal. Chem. Vol.78, (2006).
14. J.H Shin, S.M Marxer, M.H Schoenfisch, Anal. Chem., Vol. 76, (2004).
15. J.C Pickupa, F Hussaina, N.D Evansa, O.J Rolinskib, D.J.S Birchb, Biosensors and Bioelectronics, Vol.20, (2005).
16. W Trettnak, O.S Wolfbeis, Anal. Chim. Acta, Vol.221, (1989).
17. V Sanz, J Galban, S de Marcos, J.R Castillo, Talanta, Vol.60, (2003).
18. X Wang, H Chen, T Zhou, Z Lin, J Zeng, Z Xie, X Chen, K Wong, G Chen, X Wang, Biosens. Bioelectron., Vol.24, (2009).
19. A Pasic, H Koehler, I Klimant, L Schaupp, Sens. Actuators B, Vol.122, (2007).
20. M Schäferling, M Wu, O.S Wolfbeis, J. Fluoresc., Vol.5, (2004).
21. D.B Cordes, A Miller, S Gamsey, Z Sharrett, P Thoniyot, R Wessling ,B. Singaram, Org. Biomol. Chem., Vol.3, (2005).
22. R Badugu, J.R Lakowicz, C.D Geddes, J. Fluoresc., Vol.13, (2003).
23. R Ballerstadt, J.S Schultz, Anal. Chem., Vol.72, (2000).
24. B Tang, L Cao, K Xu, L Zhuo, J Ge, Q Li, L Yu, Chem.–Eur. J., Vol.14, (2008).
25. X Liu, S Zhang, P Tan, J Zhou, Y Huang, Z Nie, S Yao, Chem. Commun., Vol.49, (2013).
26. W Ni, X Kou, Z Yang, J Wang, ACS Nano, Vol.2, (2008).
27. G Chandrasekar, K Mougin, H Haidara, L Vidal, E Gnecco, Appl. Surf. Sci., Vol.257, (2011).