



## MIKROELEKTRONIKAI ÉRZÉKELŐK I

Dr. Pődör Bálint

BMF KVK Mikroelektronikai és Technológia Intézet  
és  
MTA Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Kutató Intézet

### 10. ELŐADÁS: BIKOÉRZÉKLEŐK

2008/2009 tanév 2. félév

1

## 10. ELŐADÁS: BIOÉRZÉKELŐK

1. Bioérzékelők általános jellemzése
2. Bioérzékelők működése

Irodalom:

Harsányi G. és munkatársai jegyzete 162-174. old.

Tóth K, Gyurcsányi E. R.: Szenzorok az analitikai kémiában, Magyar Tudomány, 2002/12, 1614. old.  
([www.matud.iif.hu/02dec/toth.html](http://www.matud.iif.hu/02dec/toth.html))

2

## BIOÉRZÉKELŐK: ALAPOK

A kémiai szenzorok jelének feldolgozásával egyes alkotók (atomok, molekulák és ionok) koncentrációja vagy szerkezetének megváltozása határozható meg.

A kémiai szenzor két részegységből áll: egy molekuláris felismerést biztosító anyagot (például receptort) tartalmazó felismerő részből (felismerő zónából) és egy fizikai-kémiai jelátvivő egységből.

A felismerő egység funkciója kettős: szelektív kölcsönhatás révén a szenzor szelektivitásának biztosítása, és a kémiai paraméter (általában koncentráció) mérhető jellé való átalakítása, amelyre a jelátvivő egység reagál.

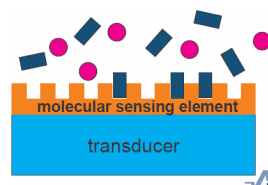
A kémiai és bio-szenzoroknál a legnagyobb kihívás a szelektív felismerő zóna (egység) tervezése és a jelátvivő egységhez való rögzítése.

3

## BIOSZENZOR

BIOSZENZOR = MOLEKULÁRIS ÉRZÉKELŐELEM + ÁTALAKÍTÓ

BIORECEPTOR + TRANSDUCER



4

## BIOÉRZÉKELŐK: ALAPOK

Jellemző tulajdonságuk, hogy a kémiai felismerést biztosító alkotóelem és a fizikai-kémiai jelátalakító egység egy analitikai eszközben van integrálva.

Ennek az integrációnak több fontos vonzata is van, amiért, annak ellenére, hogy a detektálási elvek (elektrokémiai, optikai, mikro-tömegmérésre visszavezetett, stb.) nem térnek el a többi analitikai eszköztől, a kémiai- és bioszenzorok külön, önálló tárgyalást igényelnek.

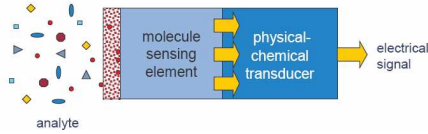
5

## BIOÉRZÉKELŐK: ALAPOK

A bioszenzorok (biológiai szenzorok) a kémiai szenzorok alcsoportját alkotják, amelyeknél a felismerő anyag biológiai eredetű, és a szelektív felismerési lépés biológiai folyamatra épül, így lehet enzim-szubsztrát, antigén-antitest, receptor-agonista kölcsönhatás vagy nukleinsav hibridizáció. A különböző biológiai anyagok közül legáltalánosabban az enzimeket használják. A jelátvitel lehet elektrokémiai (amperometriás, potenciometriás), optikai vagy reakcióhő mérésén alapuló. Újabban készítenek felületi plazmon-rezonancia detektáláson vagy tömegváltozás mérésén alapuló (kvarckristály mikromérleg alapú) és felületi akusztikus hullám detektáláson alapuló kémiai és bioszenzorokat is.

6

## BIOSZENZOR DEFINÍCIÓJA (IUPAC)



A biosensor is a self-contained integrated device, which is capable of providing specific quantitative or semi-quantitative analytical information using a biological recognition element (biochemical receptor) which is retained in direct spatial contact with a transduction element. Because of their ability to be repeatedly calibrated, a biosensor should be clearly distinguished from a bioanalytical system, which requires additional processing steps, such as reagent addition.

7

## BIOÉRZÉKELŐK

A bioérzékelők olyan érzékelők, melyek működése az élő szervezetekre jellemző specifikus reakción alapul. Pl. a véroxigén-érzékelő NEM bioszenzor, hanem egy, az orvosi biológiai célokra kialakított kémiai érzékelő. Ugyanakkor az enzimatis reakción alapuló alkohol-érzékelő bioszenzor, még akkor is, ha azt ipari folyamatokban használják oldatok összetételének meghatározására.

8

## BIOÉRZÉKELŐ: KÖVETELMÉNYEK

### Requirements for an ideal biosensor

- The output signal must be relevant to measurement environment.
- The functional surface must be compatible with the transducer.
- High specificity and selectivity (low interference).
- Sufficient sensitivity and resolution (i.e. detection limit  $\leq 1$  nmol/l)
- Sufficient accuracy and repeatability (no false-positive or false-negative results).
- Sufficient speed of response, in milliseconds (preferentially real-time response).
- Sufficient dynamic range.
- Insensitivity to environmental interference or their effects must be compensated
  - temperature
  - chemical environment: pH
  - high selectivity: no non-specific binding
  - electric and electromagnetic (including the ones related to the dielectric and optical properties of samples)
- etc.

9

## BIOÉRZÉKELŐK: PIACKÉPSSÉG

- acceptability by user
- reproducible and easy to calibrate and test
- service requirements
- user friendly (automated, should require minimal operator skills)
- reliability and self-checking capability
- physical robustness
- product safety: sample host system must not be contaminated by sensor (sterilisable)
- validation (evaluated against current standard techniques)
- legislation
- capital costs of production and usage
- running costs and life
- special biocompatibility required for some applications (implantation)

10

## LAB-ON-CHIP

Igen nagy jelentőséggel és perspektívával bírnak a bioszenzorokat alkalmazó, mintakezelő egységet is tartalmazó analitikai rendszerek, illetve azok miniaturizált változatai (MEMS, mikroelektronikai technológiák, stb.).

A mikro- illetve nano-szenzorokat és mintakezelési (elválasztási) egységet is tartalmazó, perspektivikusan egy chip-en integrált komplett mikroanalitikai rendszerek neve

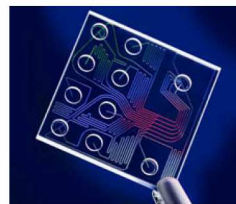
lab-on-chip

Előnyös alkalmazásuk az orvosi biológiában, in-vitro, nagysebességű szűrések és a molekuláris biológiai kutatások terén várható.

11

## LAB-ON-CHIP: ILLUSZTRÁCIÓ

### Commercial lab-on-a-chip products



#### Agilent Technologies

This technology utilizes a network of channels and wells that are etched onto glass or polymer chips to build mini-labs. Pressure or electrokinetic forces move pico liter volumes in finely controlled manner through the channels.

Lab-on-a-Chip enables sample handling, mixing, dilution, electrophoresis and chromatographic separation, staining and detection on single integrated systems.

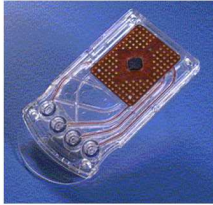
The main advantages of Lab-on-a-Chip are ease-of-use, speed of analysis, low sample and reagent consumption and high reproducibility due to standardization and automation.

The Agilent 2100 bioanalyzer is offering solutions for the analysis of DNA, RNA, proteins and cells.

12

## LAB-ON-CHIP: ILLUSZTRÁCIÓ

### Commercial lab-on-a-chip products



#### NanoChip® Molecular Biology Workstation

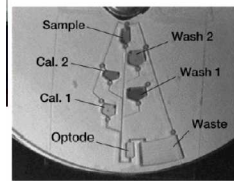
Nanogen is a technology company specializing in integrating microelectronics with molecular biology - DNA arrays.

DNA arrays make it possible to quickly determine characteristics of an unknown DNA sample.

Applications range from studying regulation of gene expression to detection of genetic diseases.

13

## BIOMEMS: ILLUSZTRÁCIÓ



BIOLOGICAL  
MICRO  
ELECTRO  
MECHANICAL  
SYSTEMS

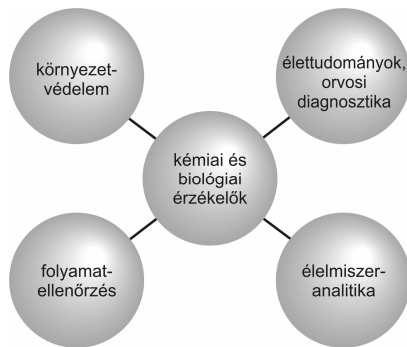
Flow order: Cal. 1 → Wash 1 → Cal. 2 → Wash 2 → S

An automated microfluidic compact disc (CD) based system

Automatikus mikrofluidikai CD alapú BIOMEMS rendszer.  
Cal.1 → Wash → Cal. 2 → Wash → Sample

14

## KÉMIAI ÉS BIOLÓGIAI ÉRZÉKELŐK: FŐBB ALKALMAZÁSI TERÜLETEK



15

## BIOSZENZOROK: ALKALMAZÁSI TERÜLETEK

- medical and health care:
  - clinical diagnosis and biomedicine (rapid diagnostics: home test, doctors office tests)
  - pharmaceutical and drug analysis
  - gene chips
- screening of drugs and doping
  - industrial process control and safety:
  - microbiology: bacterial and viral analysis
  - food and drink production and analysis (bacteria, toxic products)
  - fermentation control analysis
  - industrial effluent control
- environmental (air, water, soil)
- pollution control and monitoring of mining, industrial and toxic wastes
- farm, garden and veterinary analysis (pesticides, herbicides)
- contaminated land and water (PAH, chlorinated hydrocarbons, heavy metals)
- military
- chemical and biological weapons and explosives

16

## ALKALMAZÁSI PÉLDÁK

**Orvosi diagnosztika:** glükóz-érzékelő

**Környezetvédelem:**

szennyvizek, talaj- és felszíni vizek minősége  
toxikus anyagok (pl. peszticidek) meghatározása  
környezeti mintákban

**Biztonság (bioterrorizmus):**

veszélyes biológiai ágensek detektálása

17

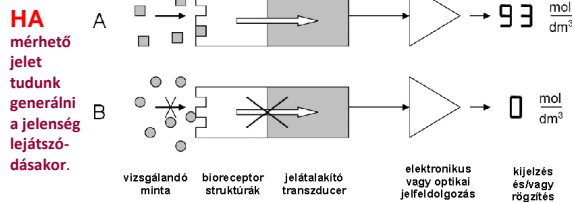
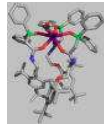
## BIOÉRZÉKELŐK MŰKÖDÉSÉNEK ALAPJAI

A működés alapja lényegében hasonló a jól ismert  
gyerek- (és felnőtt-) kirakós játékhoz (jigsaw puzzle).

18

## Bioérzékelők – az alapelv

- A természetben számtalan specifikus molekuláris szintű felismerési mechanizmus létezik.
- Ezeket mindig egy biomolekula és annak morfológiájához (3D struktúra, elektromos töltésselés stb.) illeszkedő komplementer molekula között figyelhetjük meg.
- Ez az érzékeny és szelektív felismerés kiaknázható,



"Kulcs-zár" összekapcsolódás

## A BIOÉRZÉKELŐK MŰKÖDÉSI MECHANIZMUSAI ÉS FAJTÁI

### Affinitás bioérzékelők

(csak a szelektív „kulcs-zár” összekapcsolódásból áll a bioaktivitás, nincs ezzel járó plusz reakció)

### DNS érzékelők

immobilizált egyszálú DNS molekula segítségével detektálható egy komplementer bázissorendű egyszálú DNS. (A DNS nanoszerkezetében rejlik a kódolás egy-egyértelműsége is és az információ sokszorosíthatóság is)

### Immunoszenzorok

egy antigén és az ellene pl. nyúlban termelődő komplementer antitest összekapcsolódását használjuk ki.

20

## A BIOÉRZÉKELŐK MŰKÖDÉSI MECHANIZMUSAI ÉS FAJTÁI

### Reaktív bioérzékelők

a „kulcs-zár” összekapcsolódás eredményeképpen lezajlik valamilyen plusz reakció is, ami megkönnyíti a detektálást.

### Egész sejt alapú érzékelők

kiaknázhatójuk, hogy bizonyos sejtek anyagcseréje (és így környezete is) szelektíven változik egyes biológiai v. kémiai behatásokra.

### Enzimatis (más néven biokatalitikus) érzékelők

egy érzékelő transzducerére immobilizált enzimfehérje-molekula aktív centrumába bekötődő szubsztrát molekulák enzimreakciókat váltanak ki, és a reakció(k) sebessége arányos a szubsztrátmolekulák koncentrációjával.

21

Sok dolog, ami **bio...**



## ESETTANULMÁNY: E. COLI BACILLUS

Why is determination *Escherichia coli* important?

- Infectious diseases account for nearly 40% of the total 50 million annual estimated deaths worldwide.
- Microbial diseases are the major cause of death in many developing countries.
- Drinking water is an essential part of the human diet, and contamination of municipal and other supplied water with pathogenic microorganisms constitutes a serious threat to public health.
- Escherichia coli*, a typical inhabitant of the human intestinal tract, is one of the most dangerous food-borne and water-borne pathogens that can also be a causative agent of intestinal and extra-intestinal infections.
- Total coliforms, fecal coliforms, and *E. coli* are used as indicators of fecal contamination of water supplies and recreational waters. Among these, *E. coli* is usually regarded as the most reliable, because its presence directly relates to fecal contamination.
- Sensitive and rapid methods with low detection limits and high accuracy to prevent false negatives and positives are needed for detecting and providing early warning of fecal water contamination, for process control, and for monitoring water quality in distribution networks.

23

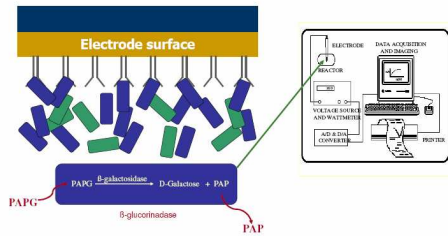
## BIOSENZOR TECHNIKÁK VÁLASZTÉKA

What kind of biosensors could be prepared for determination of *Escherichia coli*?

- Amperometric immunosensor (direct or sandwich)
- Optic immunosensor (direct or sandwich)
- Piezoelectric biosensor immunosensor
- Surface plasmon resonance immunosensor
- DNA sensor

## AMPEROMETRIKUS ÉRZÉKELÉS

Amperometric immunosensor-direct method

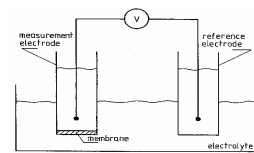


5

## ELEKTROKÉMIAI CELLÁK MINT ÉRZÉKELŐK

Az elektrokémiai cellákat elterjedten használják kémiai mennyiségek (pl. ionok és oldott gázok koncentrációja) meghatározására, valamint az enzimátikus és immunérzékelőkben.

Elektrokémiai cella két elektródból és a közöttük lévő ionvezető anyagból (elektrolit) áll.

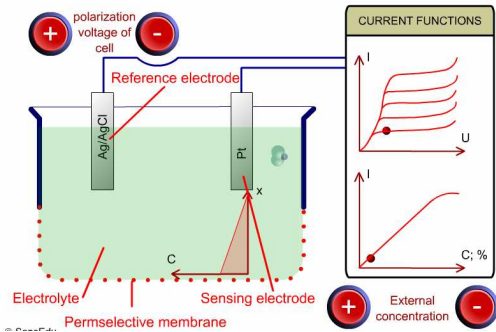


Membrán: vékony üveg réteg.

Mindkét elektróda vezető elektrolittal van töltve. Amikor ionok diffundálnak át a membránon, potenciálkülönbség jön létre a membrán két oldalán.

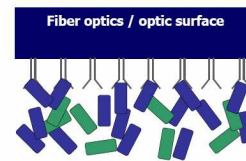
26

## AMPEROMETRIKUS ELEKTROKÉMIAI CELLA

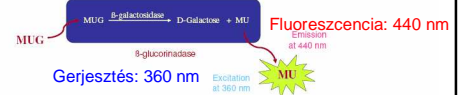


## SZÁLOPTIKAI IMMUNOSZENZOR

Optic immunosensor-direct method-I

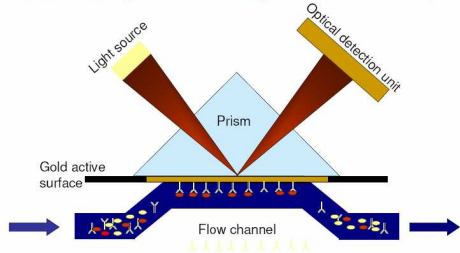


Fluorescence spectrophotometer



## SURFACE PLASMON DETECTION

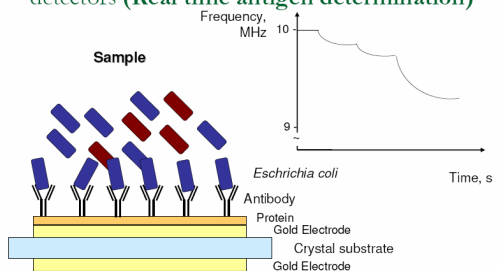
Immunosensors using surface plasmon resonance (Real time antigen determination)



29

## E. COLI DETEKTÁLÁSA: QMB

Immunosensors using piezoelectric crystal detectors (Real time antigen determination)



0

## IMMUNÉRZÉKLÉS: QMB

### Immunosensors using piezoelectric crystal detectors (Real time antigen determination)



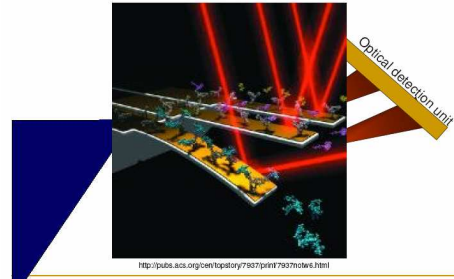
The piezoelectric sensor is thought to be one of the most sensitive analytical instruments developed to date, being capable of detecting antigens in the picogram range. Moreover, this type of sensor is believed to have the ability to detect antigens in the gas phase as well as in the liquid phase.

$$\Delta F = -2.3 \times 10^6 F^2 \frac{\Delta M}{A}$$

$\Delta F$  = frequency change in oscillation in Hz,  $F$  = frequency of piezoelectric quartz crystal in MHz,  $\Delta M$  = mass of deposited film in g, and  $A$  = area of electrode surface in  $\text{cm}^2$ .

## LEHAJLÓ KONZOL ÉRZÉKELŐ

### Cantilever-Based Biosensors for E. Coli enumeration (Real time antigen determination)

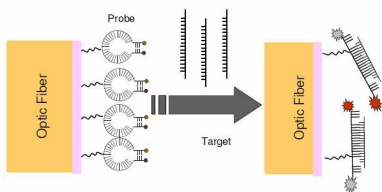


32

## E. COLI: DNA SZENZOR

### DNA sensor for *E. coli* determination

Molecular Beacon Based Optical Fiber DNA Biosensors



## E. COLI ÉRZÉKELÉS: ÉRTÉKELÉS

Enumeration of bacteria where the sample is found not in laboratory.

Determination of 1 bacteria in 100 mL sample volume (it is official requirement for drinking water).

Real time determination/enumeration of *E. coli*.

Low analyze cost.

Usability with common people (not requirement of over qualified person).

34

## VÉRCUKOR (GLÜKÓZ) SZELEKTÍV ÉRZÉKELÉSE

A biológiai eredetű szelektivitás bevezetése a szenzorkutatásba egy egészen új szenzortípus, a bioszenzorok kifejlesztéséhez vezetett, amelyet a vércukor szelektív mérésének igénye indított.

A cukorbetegség prevalenciája az iparilag fejlett országokban közel 4 %. A Clark és Lyons úttörő munkája alapján elindult glükóz-szenzor 40 éves története sikertörténet, és ma már többféle, kis térfogatú, esetenként 100 (L vérmintát igénylő) miniatűrített glükózmérő szenzor és rendszer található a kereskedelmi forgalomban.

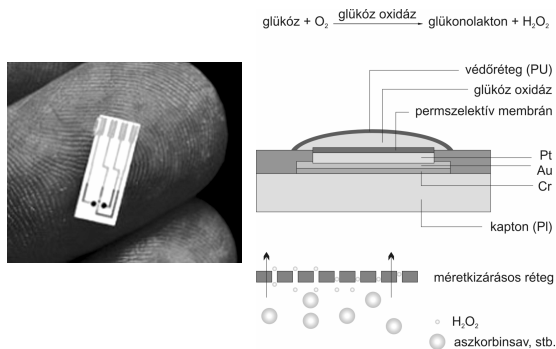
35

## VÉRCUKOR (GLÜKÓZ) SZELEKTÍV ÉRZÉKELÉSE

Mindegyik glükózmérő érzékelő (tesztcsík) enzim alapú, és a biokatalitikus réteg a jelátvivő elektrokémiai vagy optikai egységre van rögzítve. A glükóz-koncentráció meghatározása gyakran a glükóz és az oxigén között lejátszódó reakción alapszik. A biokatalitikus reakcióban keletkező lokális hidrogénperoxid koncentrációjának mérésével történik a glükóz-koncentráció meghatározása. A kereskedelmi glükóz-szenzorok többségénél ez általában elektrokémiai úton (amperometriásan) történik. Az egyes glükózmérő szenzorok a szenzor méretében, a biokatalitikus réteg kialakításának módjában, a zavaró hatások kiküszöbölésére kialakított megoldásokban térnek el egymástól.

36

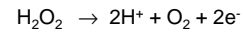
## PLANÁRIS ELEKTROKÉMIAI GLÜKÓZ ÉRZÉKELŐ



## MŰKÖDÉSI MECHANIZMUS

Az enzimreakció melléktermékeként molekulánként egy H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrogénperoxid) molekula keletkezik

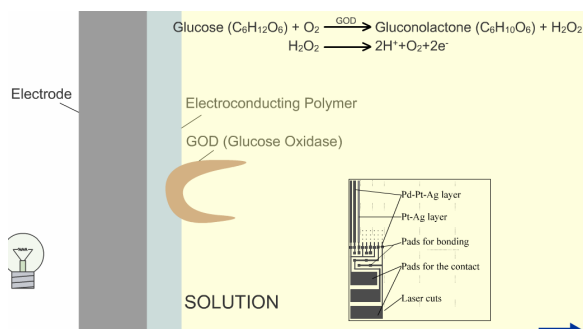
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bomlása az elektrokémiai cella anódján



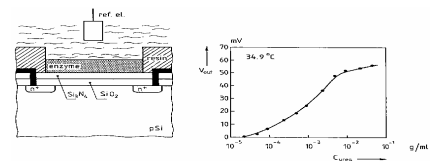
A keletkező töltéshordozók (H<sup>+</sup>, e<sup>-</sup>) megváltoztatják a működő elektrokémiai cella "egyensúlyi határáramát", és ez mérhető.

38

## AMPEROMETRIKUS GLÜKÓZ SZENZOR



## BIOSZENZOR: UREA ÉRZÉKENY ISFET



Enzim: olyan katalizátor, mely csak egy bizonyos reakciót gyorsít (pl. inzulin → glükóz). ENFET=ENZymeFET  
 Az ureáz a vese működésével kapcsolatban van jelen a vérben, és katalizálja a következő reakciót:  
 $(\text{NH}_2)_2\text{CO} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}^+ \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + \text{HCO}_3^-$   
 Az oldat pH-ját befolyásolja a reakció, ez az ISFET-tel mérhető.

## VÉGSZÓ

### Reality with Biosensors

- Biosensors have the potential to drastically change medicine, research, science, and consequently society.
- The technologies are far from robust.
  - Only 1 DNA microarray is approved by the FDA as a clinical diagnostic.
  - No protein arrays are currently approved by the FDA as a clinical diagnostic.

*The Biology Works,  
 Better Engineering is Needed*

41

VÉGE

42