

仿生嗅觉与味觉传感技术及其应用的研究进展

秦臻¹ 董琪¹ 胡靓^{1,2} HUANG Li-Quan² HSIA Jimmy³ 王平^{1#*}¹(浙江大学 生物传感器国家专业实验室, 生物医学工程教育部重点实验室, 生物医学工程与仪器科学学院, 杭州 310027)²(Monell Chemical Senses Center, 3500 Market Street, Philadelphia, PA 19104, USA)³(University of Illinois at Urbana-Champaign, IL 61801 USA)

摘 要: 动物的化学感受系统具有惊人的能力,能够在极低的浓度下识别数千种分子结构各异的化学物质,其灵敏性、选择性和响应速度都远高于当前的人工识别系统。近年来,研究者致力于利用完善的天然分子识别机制,开发出一种与传统嗅觉/味觉传感器相比更具仿生意义的新型化学探测系统,即仿生嗅觉/味觉传感器。仿生嗅觉/味觉传感器通常将动物嗅觉味觉的受体、细胞和组织作为敏感材料,然后使用多种人工检测方法,如光学、电化学和声波检测器件等,实现对化学物质的检测和识别。文中概述了动物嗅觉/味觉感受系统对化学物质的信息处理机制,并结合本实验室的工作,综述了目前仿生嗅觉/味觉传感器的常用技术及其未来发展趋势,并展望了其在医疗、工业和军事等领域的应用前景。

关键词: 仿生;嗅觉;味觉;生物传感;化学传感

中图分类号 R318 文献标志码 A 文章编号 0258-8021(2014) 05-0609-011

Recent Advances in Bioinspired Olfaction/Gustation Sensors and their Applications

QIN Zhen¹ DONG Qi HU Liang HUANG Li-Quan² HSIA Jimmy³ WANG Ping^{1#*}¹(Biosensor National Special Laboratory, Key Laboratory of Biomedical Engineering of Education Ministry, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)²(Monell Chemical Senses Center, 3500 Market Street, Philadelphia, PA 19104, USA)³(University of Illinois at Urbana-Champaign, IL 61801, USA)

Abstract: The biological chemical sensory system has the ability to discriminate and identify thousands of chemical compounds at very low concentrations with extremely higher sensitivity and specificity than current artificial sensing devices. Recently, many researchers are trying to develop novel chemical detecting systems called as bioinspired olfaction/gustation sensors which take advantages of optimized natural molecular recognition. Bioinspired olfaction/gustation sensors consist of a primary transducer and a secondary transducer. The primary transducer is the biological recognition element of molecules such as biological tissues, cells and proteins. The second ary transducers such as optical devices, electrochemistry devices and acoustic-wave devices are the biochips for the detection of binding of chemical compounds to the primary transducers. In this article, we introduced the mechanism of biological sense of smell and taste, and outlined the latest advances of bioinspired olfaction/gustation sensors. Current research trends and future challenges in this field will be discussed.

Key words: bioinspiring; olfaction; gustation; biosensor; chemical sense

doi: 10.3969/j.issn.0258-8021.2014.05.012

收稿日期: 2014-05-12, 录用日期: 2014-07-04

基金项目: 国家自然科学基金重大国际合作项目(61320106002); 海外学者合作基金(31228008); 高校博士点基金(20120101130011)

#中国生物医学工程学会会员(Member, Chinese Society of Biomedical Engineering)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: cnpwang@zju.edu.cn

引言

嗅觉和味觉共同构成了人类和动物的化学感受系统,这两种感受系统的合作为生物的生存、觅食、繁育等活动提供了重要的保障,具有重要的生理意义和生存意义。经过长期的生物进化,生物的化学感受系统能够快速、灵敏、特异地检测识别复杂的气体和液体环境中大量不同的物质,是迄今为止性能最佳的化学检测系统。自古以来,人类利用自身和动物的嗅觉和味觉,辨识各种气味、品尝美味、躲避危险、查找危险物品。但是随着社会和文明的进步,人类对气体和液体成分的检测精度和准确度提出了更高的要求,天然的生物化学感受系统在许多领域的使用受到不同程度的限制,研究者一直期望能够研制出更客观准确的检测仪器来替代生物的感觉。长期以来,使用人造仪器进行气相或液相检测的方法主要是色谱-质谱联用仪(GC-

MS)等^[1]。这些方法能够较为准确地分析混合物中单一成分的种类和浓度,缺点是检测消耗时间长、设备仪器昂贵,且难以对混合物做整体的评价。

1982年Persaud和Dodd等开创性地提出了一种模拟生物嗅觉工作原理的新颖气味探测系统——电子鼻^[2]。1990年Toko等基于此系统研制出了第一个基于非特定传感器方法的液体分析传感器系统——电子舌^[3]。通常,这些系统由交叉敏感的化学传感器阵列和适当的模式识别算法组成(见图1),可用于检测、分析和鉴别简单或复杂化学成分^[4]。经过约30年的快速发展,电子鼻和电子舌在食品加工、环境监测、公共安全和医学诊断等诸多领域得到了大量应用^[5]。然而受到传感技术发展的限制,目前应用于电子鼻或电子舌系统的化学传感器成本较高,其灵敏性、选择性和响应速度都不能和生物化学感受系统相比。

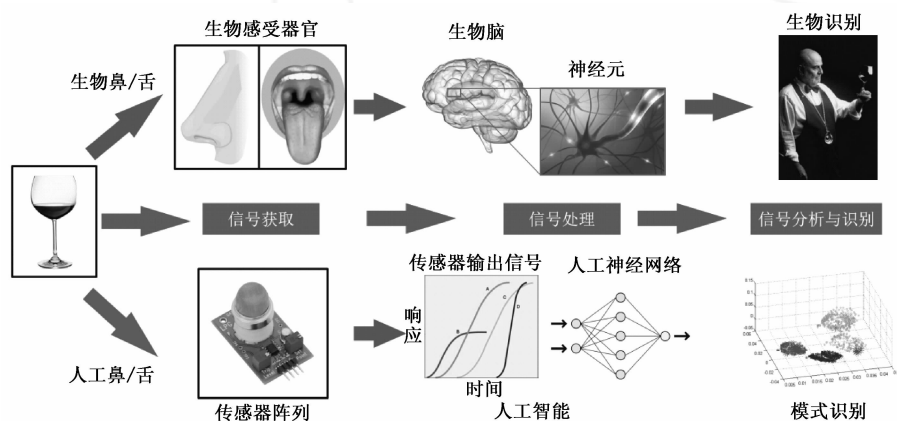


图1 生物鼻/舌和人工鼻/舌

Fig.1 Natural and artificial nose/tongue

为了克服传统电子鼻/电子舌的瓶颈,近年来,研究者提出了仿生嗅觉/味觉传感器的概念^[6]。与基于化学传感器的传统电子鼻/电子舌不同,仿生嗅觉/味觉传感器从模拟生物嗅觉/味觉系统的角度出发,以生物活性材料作为敏感元件,结合二级传感器实现对气味物质的特异灵敏检测,以期获得类似生物嗅觉和味觉系统的检测性能。由于引入了生物的原代组织、受体神经元、天然或异源表达的受体蛋白作为敏感元件,仿生嗅觉/味觉传感器部分继承了生物化学感受系统具有的优点,比如灵敏度高、检测限低、选择性好等,在环境监测、食品安全、疾病检测等多个领域具有广阔的应用前景,电子鼻/电子舌的集成化应用更是具有重要的研究意义和实际应用价值。本文以生物嗅觉和味觉系

统感知机理为研究的理论基础,结合不同的敏感材料及特定类型的二级传感器系统,对仿生嗅觉/味觉传感器的研究现状进行了探讨。同时结合作者所在实验室当前的工作,提出了基于在体植入电极的仿生嗅觉/味觉传感器概念,并展望了其未来发展。

1 哺乳动物嗅觉和味觉系统的识别机理

1.1 哺乳动物嗅觉系统识别机理

如图2(a)所示,从解剖结构上讲,哺乳动物的嗅觉系统主要包括嗅上皮、嗅球和嗅皮层等3个部分。气味的识别始于鼻腔上部的嗅上皮,其上分布的嗅觉感受神经元担负着将化学信号转化成电

信号的职责。嗅觉感受神经元顶部突起至嗅上皮的表面形成树状结构。这些树状结构上生出数十根具有特异性的纤毛,其质膜上含有气味受体^[7-8]。哺乳动物的嗅觉受体属于 G 蛋白偶联受体,气味受体与特定气味相结合后引起动作电位的产生,将细胞外的气味配体化学信息转化为细胞的电信号^[9]。研究表明,动物的嗅觉系统具有高度“专业化”的特征。单个嗅觉感受神经元只表达一种受体,只能接受有限的几个相关气味的刺激^[10]。同时,一种气味也可以兴奋若干不同的嗅神经元^[11]。虽然表达同一种嗅觉受体蛋白的嗅觉感受神经元在嗅粘膜上是分散分布的,但是它们的轴突能汇聚于嗅球的同一个丝球小体 (glomerulus) 中^[12],使得表达同种嗅觉受体的嗅觉感受神经元在嗅球上有一个特定的投射位点,如图 2(a)所示。嗅球中的僧帽细胞和丛状细胞的轴突平行连接至嗅觉皮层 (olfactory cortex, OC),因而气味信息从嗅球平行投射至嗅觉皮层。嗅觉细胞形成的网络结构以及特殊的神经投射模式是生物嗅觉系统强大的气味分子检测识别功能的重要基础,嗅觉神经信号在细胞网络中进行逐级处理与整合在气味检测和分辨的过程中具有关键作用。

1.2 哺乳动物味觉系统识别机理

哺乳动物的味觉系统可以通过有味物质检测化学物质的种类和浓度,与嗅觉系统同属于生物的化学感受系统。图 2(b)所示为人类的味觉感受系统的结构和组织^[13]。哺乳动物味觉的产生源自于味蕾对复杂化学物质分析,每个味蕾中约有 50 至 100 个味觉细胞^[14]。味觉感受细胞顶部有微绒毛,微绒毛从味蕾顶部的味孔伸出并暴露于唾液中,与溶解于唾液中的有味物质结合,其质膜上嵌有对产生五种基础味道即酸、甜、苦、咸、鲜的味质的特异性受体^[15-16]。有研究表明,不同类味觉感受细胞所表达的味觉受体不同,使不同味觉感受细胞表现出不同的功能和特性,对不同味质敏感,这种模式可能有利于味觉信号的编码^[17-18]。味觉感受细胞将味觉信号通过胞内信号传导通路转化为细胞响应,包括动作电位产生和神经递质合成与释放^[19]。不同的味觉感受细胞对不同的有味物质产生高灵敏度和特异性的响应,使得细胞对味质的响应可以快速、容易地被电位式传感器测量到。这些特性都使味觉感受细胞成为仿生传感器结构中良好的换能器。

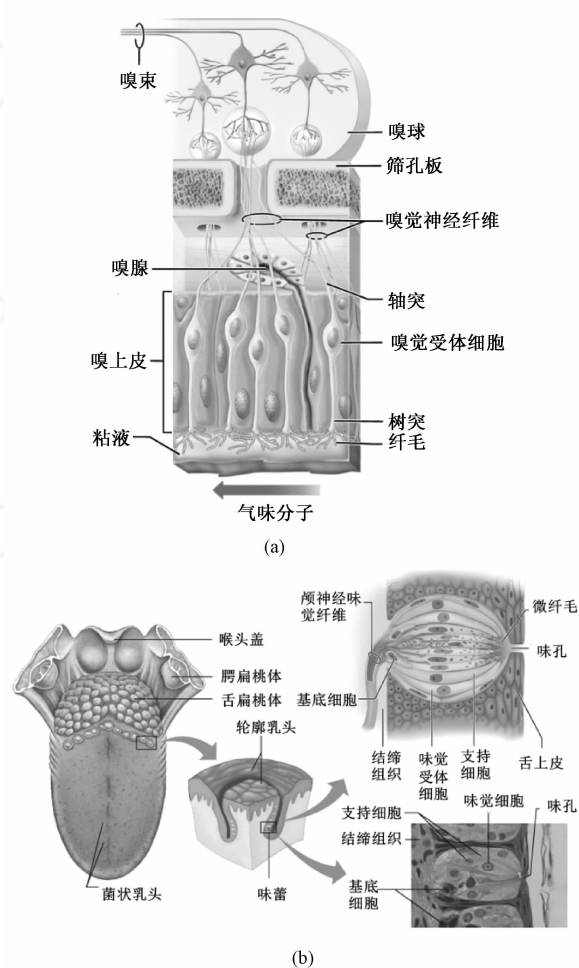


图 2 哺乳动物嗅觉/味觉系统示意图。(a)哺乳动物嗅觉系统结构示意图;(b)哺乳动物味觉感受系统的基本结构

Fig. 2 Diagrams of mammalian olfactory/gustatory system. (a) Structure of mammalian olfactory system; (b) Elementary structure of mammalian gustatory sensory system

2 仿生嗅觉/味觉传感技术的研究进展

得益于分子遗传学的进展,人们对生物嗅觉/味觉识别的认识有了质的飞跃^[20]。随着嗅觉/味觉传导机理研究的不断深入以及嗅觉/味觉系统本身具有各种优点,人们模仿嗅觉/味觉系统识别和分辨化学物质的原理,构建一种把生物嗅觉活性组分和物理化学探测器相结合的生物—电子复合系统——仿生嗅觉/味觉传感器,主要用来分析、识别和检测气味和味道。

仿生嗅觉/味觉传感器主要由两个部分构成,首先是作为敏感元件的生物活性组分,能与目标分

子或离子发生相互作用,产生特异响应。另一部分是作为换能器的物理化学探测器,能把敏感元件产生的响应转换为更易于处理和分析的物理信号,比如电信号。最后仿生传感器与信号处理以及显示相关的电子电路和仪器相结合构成一个完整的检测系统,使检测的结果能以更加友好的方式呈现出来。因此,这三部分构成了一个仿生系统,部分继承了生物化学感觉系统所特有的响应迅速、灵敏度高、选择性好等优点。

2.1 仿生嗅觉/味觉传感器的敏感材料

目前用于仿生嗅/味觉感觉传感器研究的生物敏感材料主要包括嗅/味觉组织、嗅/味觉细胞、能与气味分子或味质产生特异性结合生物活性分子。

用于研制仿生嗅觉/味觉传感器的嗅味觉细胞和组织可以是来自生物的原代嗅味觉神经元,如科罗拉多马铃薯甲虫的触角^[21]、丽蝇嗅觉感受神经元^[22]以及原代大鼠嗅觉/味觉感受细胞或组织等^[23-25]。这些原代嗅觉/味觉细胞的优势是受体蛋白具有天然的结构和功能,细胞具有电兴奋性,对气味配体的特异灵敏响应使得非常适合构建传感器检测化学成分。然而缺点是无法确定细胞表面受体的种类,多个细胞对化学刺激的响应结果复杂难以分析,难以研制响应特性稳定、重复性良好的仿生嗅觉/味觉传感器。为了获得具有明确受体种类的嗅觉/味觉细胞,研究人员利用现代基因工程技术,将嗅觉/味觉受体蛋白表达在特定的细胞系中,应用于仿生嗅觉/味觉传感器的研究。其中包括表达有离子通道型嗅觉受体的 *Xenopus oocyte* 细胞^[26],表达有大鼠嗅觉受体 OR17 的 HEK-293 细胞^[27],转染了线虫嗅觉受体 ODR-10 的 MCF-7 细胞^[28],表达有甜味受体 T1R1/T1R2 的人类结肠癌 NCI-H716 细胞株^[29]和表达有苦味受体的人类肠内分泌细胞 STC-1^[30]。这些细胞解决了原代嗅觉/味觉细胞组织中受体蛋白种类无法确定的问题,无需大量杀死实验动物获得细胞,具有重要的实际意义。但是受体蛋白在异源细胞系中的表达效率仍有待提高。这些嗅觉/味觉细胞和组织可结合多种二级传感器,其中电化学类的包括微电极阵列(microelectrode array, MEA)、场效应管器件(field effect transistor, FET)、光寻址电位型传感器(light addressable potentiometric sensors, LAPS);光学检测类传感器包括表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)器件、荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)技术、

生物发光共振能量转移(bioluminescence resonance energy transfer, BRET)技术等。通过检测这些信息的改变,分析其与气味分子的相关性,可应用于研制基于嗅觉细胞和组织的仿生电子鼻实现气味物质的检测。

嗅觉/味觉相关蛋白如嗅觉/味觉受体蛋白、嗅觉结合蛋白(olfactory binding proteins, OBPs)等,因其具有特异性结合相应气味分子的能力,在仿生嗅觉/味觉传感器的研制上也得到了越来越多的应用。与组织和细胞相比,嗅觉/味觉相关蛋白更容易长时间保存,稳定性和活性更好,有利于仿生嗅觉/味觉传感器朝着微型化和便携式的方向发展。对于味觉受体蛋白,目前的研究仍停留在细胞水平上,提纯技术尚不能做到分离出纯化的受体,使得味觉受体蛋白在仿生味觉传感器的应用受到了限制。根据二级传感器检测原理的不同,基于嗅觉受体的仿生嗅觉传感器主要分为电学检测类和质量检测类。受体-配体相互作用后构象改变可引起电学参数的变化,结合场效应管、电化学阻抗谱(electrochemical impedance spectrum, EIS)等二级传感技术可实现对气味配体的检测;气味分子与嗅觉受体结合后引起的总质量改变可以利用灵敏的质量敏感类二级传感器检测,包括石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)器件、声表面波(surface acoustic wave, SAW)器件。在研制基于嗅觉受体的仿生嗅觉/味觉传感器时,关键的问题包括功能性嗅觉受体蛋白的制备以及嗅觉受体蛋白与二级传感器的有效耦合固定。这两点关键问题将直接影响仿生嗅觉受体传感器的特异性、灵敏性以及稳定性。对这两个关键问题的详细描述见文献[31]。

2.2 仿生嗅觉/味觉传感器的二级传感器

根据与敏感元件耦合的二级传感器的不同,可以分为以下几类。

2.2.1 基于光学检测的仿生嗅觉/味觉传感技术

光学检测是目前在细胞研究领域得到快速发展和普及的技术之一,被广泛应用于检测细胞对小分子刺激的响应,基于光学检测的仿生嗅觉/味觉传感器的整体结构如图3所示。

化学物质可通过荧光成像的方法进行检测。Darcres 等利用基因工程的手段,在线虫嗅觉受体 ODR-10 的 C 末端表达海肾荧光素酶蛋白(RLuc)作为荧光供体(donor),在 ODR-10 的第3个胞内环第240-241个氨基酸之间插入绿色荧光蛋白

(GFP2)作为荧光受体(acceptor),当加入生物发光底物 Clz400a 时,引起 Rluc 生物发光。在没有气味配体存在时,Rluc 和 GFP2 之间的距离相对较小,Rluc 发光能够激活 GFP2 发出绿色荧光。当丁二酮与 ODR-10 结合时,嗅觉受体蛋白构象发生改变,导致 Rluc 和 GFP2 距离增大,GFP2 荧光强度降低,由此可以实现对于气味配体丁二酮的检测。该传感检测系统能够有效地检测气味物质丁二酮,最低检测下限可达 3.55 fM,是目前报道中最灵敏的仿生嗅觉传感器^[32]。

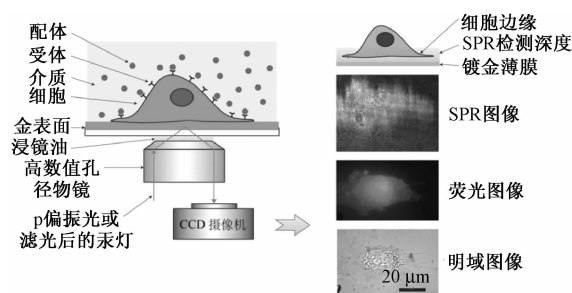


图3 基于光学检测的仿生嗅觉/味觉传感器(左为基于光学检测的仿生传感器原理图,右为几种常用光学检测方法得到的图像)

Fig. 3 Diagrams of several bioinspired olfaction and gustation sensors based on optical detection methods (Schematic of bioinspired sensors based on optical methods (left) and resulting images of several commonly used detection methods (right))

Ca^{2+} 成像技术在仿生嗅觉/味觉传感器的研究中应用广泛。在哺乳动物的嗅觉/味觉系统中, Ca^{2+} 起到了重要的调节作用。在嗅觉/味觉细胞和组织中,受体-配体相互作用后,细胞膜表面的嗅觉受体蛋白构象改变,激活第二信使,最终使得细胞内 Ca^{2+} 的浓度改变。在一些研究中,研究者将表达不同受体的 HEK-293 细胞组成阵列,利用 Ca^{2+} 荧光探针,检测在不同化学物质刺激下进入细胞的 Ca^{2+} 数量^[33-34]。由于不同受体对化学物质响应程度不同,通过不同细胞 Ca^{2+} 荧光强弱的变化,判断刺激化学物质的种类和浓度^[35]。

表面等离子体共振技术是一种光学技术,目前已被用于检测由气味分子和嗅觉受体结合而引发的信号转导过程导致的细胞内分子组份的改变。Vidic 等将表达有大鼠嗅觉受体 ORI7 的 HEK-293 细胞结合 SPR 器件研制仿生嗅觉传感器。结果表明,ORI7 与气味配体结合激活 HEK-293 细胞内的信号转导通路,SPR 器件成功地检测到了随气味物质浓度升高而增加的信号响应^[36]。Lee 等应用类

似技术,以表达了嗅觉受体蛋白的细胞作为敏感元件,构建了用于监测气味分子与嗅觉受体相互作用的仿生嗅觉传感器^[37]。SPR 技术也可用于基于嗅觉受体的仿生嗅觉传感器。Kaiser 等利用无细胞表达系统成功地制备了人嗅觉受体蛋白 hORI7-4,并固定在 SPR 器件上,成功检测到了该嗅觉受体蛋白特异地与天然配体气味分子的结合^[38]。

2.2.2 基于电化学检测的仿生嗅觉/味觉传感技术

目前不少仿生嗅觉/味觉传感器是基于电化学检测的方法,常见的电化学测量手段包括微电极、光寻址电位传感器和电化学阻抗谱等,而仿生味觉传感器主要检测手段主要为前两者。

原代的生物嗅/味觉细胞和组织往往具有电兴奋性。微电极可以记录可兴奋细胞的胞外动作电位。Misawa 等将表达有离子通道类型昆虫嗅觉受体的 *Xenopus oocyte* 细胞固定在微流控芯片中,使用两个电极记录气味物质刺激前后细胞内电流的响应,研制仿生嗅觉传感器。结果表明该传感器最低检测下限可达 10 nM,一旦检测到气味物质的浓度超过阈值,即可控制机器人头部的转动,可实现实时监测^[26]。在过去的研究中,将嗅粘膜组织培养在微电极阵列芯片上,利用天然的嗅觉受体和电生理机制,构建了基于微电极阵列的仿生嗅觉传感器^[24,39]。嗅粘膜组织包含大量的嗅觉感受神经元等,嗅觉感受神经元的纤毛上具有完整的功能性嗅觉受体蛋白,粘膜周围含有各种嗅觉结合蛋白等分子,可促进气味物质与嗅觉受体的结合,因而更加接近在体嗅觉检测的过程。此外,还尝试将嗅球组织切片与微电极阵列芯片耦合,建立嗅觉信号检测的平台。嗅球组织切片良好地保存了嗅觉神经网络和突触连接,非常适合用于探索嗅觉信号编码特征,为仿生嗅觉传感器的研制以及体外嗅觉神经网络信息编码解码提供了实用的研究平台^[40-41]。

利用类似的方法,微电极阵列芯片亦可应用到仿生味觉传感器中。大鼠的舌部上表皮嵌有味蕾,是绝佳的敏感材料,如图 4 所示。通过记录和分析组织受到 5 种味道刺激前后记录到信号的时域和频域的特征,可以将 5 种味觉信号有效地区分开,证实了味觉传感器用于区分不同的味觉物质的可能性^[42]。另外,使用该仿生味觉传感器系统对于鲜觉的进一步研究表明,不同的氨基酸及其钠盐刺激舌上皮组织之后,芯片记录到的局部场电位信号有显著差异,说明其对不同的鲜味物质有着较强的分辨能力^[43]。

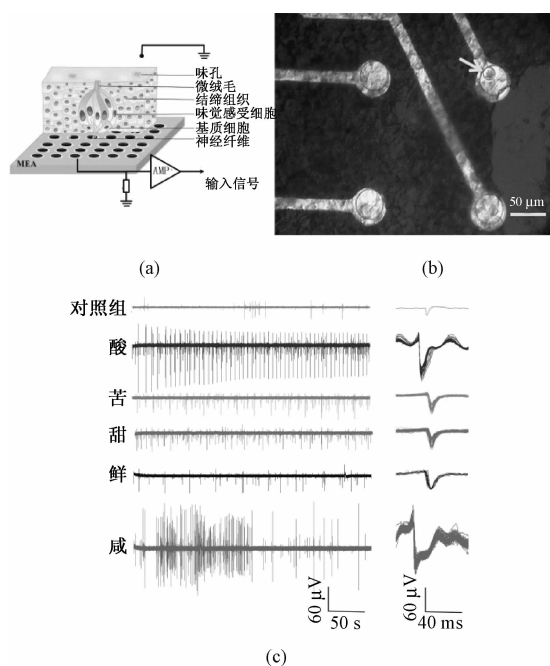


图4 一种基于 MEA 的新型仿生味觉传感器^[42]。(a)带有味蕾的舌上皮与 MEA 复合的仿生味觉传感器;(b)显微镜下的 MEA 芯片,箭头所示为贴附在芯片表面的舌上皮细胞;(c)不同味道刺激下舌上皮细胞胞外电位,每行表示一种味道刺激下舌上皮细胞的响应模式及锋电位的特征波形

Fig. 4 A novel bioinspired gustation sensor based on MEA chips. (a) Schematic plot of the bioinspired gustation sensor composited by MEA and tongue epithelium accompanied with taste buds; (b) Microscope photograph of a MEA chip, as indicated by the arrow, attached by tongue epithelial cells; (c) Extracellular potential of tongue epithelial cells stimulated by distinct tastants. Each row shows the response mode and characteristic waveforms of spikes of tongue epithelial cells under certain stimulation

光寻址电位传感器一种表面电压检测器。在过去的研究中,Liu 和 Wu 等将原代嗅觉感受神经元及嗅粘膜培养在光寻址电位传感器表面,有效监测了气味物质刺激引起的细胞膜电位的变化,利用药物对嗅觉受体细胞信号转导过程进行抑制或激发,成功验证了气味刺激引起的细胞放电并为提高此仿生嗅觉传感器提供了新思路^[28, 44-45]。利用 LAPS 光可寻址能力,Zhang 和 Chen 等将带有大鼠味蕾的舌上皮培养在传感器表面,记录了受 5 种味道刺激后的胞内电位变化。^[46-47]

目前,在仿生嗅觉/味觉传感器领域的二级传感器中,电化学阻抗谱技术主要用于对嗅觉受体蛋

白与气味配体间的相互作用进行检测。Alfinito 等人根据实验数据建立了嗅觉受体阻抗传感器的理论模型,从理论上解释了嗅觉受体与气味配体结合过程引起的阻抗谱变化^[48]。在最近的研究中,将蜜蜂化学感受蛋白 Ac-ASP3 固定在金电极上,利用电化学阻抗谱检测 Ac-ASP3 识别其不同浓度的配体分子(乙酸异戊酯),结果表明该传感器能够特异、定量地检测气味物质^[49]。

2.2.3 基于声波检测的仿生嗅觉/味觉传感技术

常用于仿生嗅觉/味觉传感器的声波检测传感器主要包括石英晶体微天平和声表面波器件。石英晶体微天平是一种基于石英晶体压电效应的质量敏感型传感器。声表面波器件与石英晶体微天平相比,具有更高的灵敏度和更高的精度、抗干扰能力强以及结构工艺性好便于大批量生产等优点。

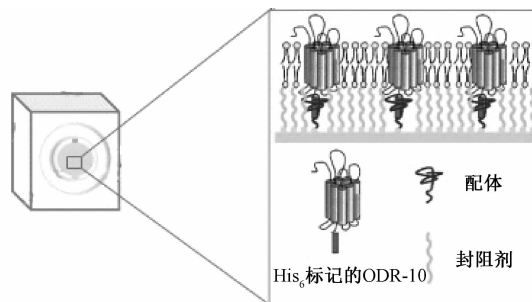


图5 一种基于 QCM 的仿生味觉传感器

Fig. 5 Diagrams of a bioinspired gustation sensor based on QCM

在过去的研究中,研发了基于石英晶体微天平和声表面波器件的仿生嗅觉传感器^[50-51],如图 5 所示,将线虫嗅觉受体蛋白 ODR-10 固定在传感器表面,通过传感器检测气味物质与嗅觉受体蛋白作用后引起的质量变化,实现气味物质的特异性灵敏检测。

3 基于在体的仿生嗅觉/味觉传感器

经过十多年的研究,以嗅觉味觉细胞、组织和受体为敏感材料的仿生嗅觉/味觉传感器得到快速发展。但是目前仿生嗅觉/味觉传感器大多只利用了生物嗅觉/味觉系统的单一成分,切断了神经回路,使得现有系统的灵敏性和选择性都尚达不到完整嗅觉/味觉系统的识别能力。由于在离体环境下生物材料容易失活,限制了仿生嗅觉/味觉传感器在特定环境下的使用^[31]。

近年来,脑-机接口的快速发展为仿生嗅觉/味觉传感器的研究提供了新的思路。脑-机接口

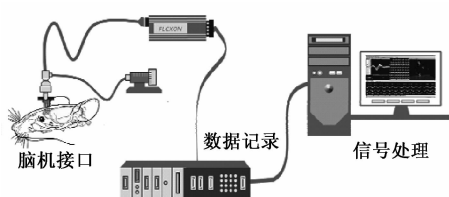


图 6 基于植入式电极的仿生嗅觉传感器

Fig.6 Sketch map of bioinspired olfaction sensor based on implanted electrodes

技术是近年来随着神经科学、信息科学、材料科学等学科的迅猛发展,衍生出来的新兴交叉科学。该技术通过在人或动物的中枢神经系统与外部的电脑之间建立起新型的信息交流通道,实现脑与外界环境之间的直接交互。利用该项技术,研究者开始尝试研发基于植入式电极的仿生嗅觉传感器来识别不同气味^[52-53]。越来越多的证据表明,嗅球可能是嗅觉的初级皮层^[54]。表达同种气味受体的感觉神经元投射到嗅球表面的一个或几个嗅小球中,因此特定气味能够使嗅球产生特定时空特性的活动。利用这一机理,以完整的大鼠嗅觉系统作为气味敏感传感单元,使用植入式微丝电极记录和分析具有气味刺激特征的嗅球电位信号实现气味识别的新型仿生嗅觉传感器。如图 6 所示,该仿生嗅觉传感器主要由气味刺激装置、多通道电极阵列传感器、多通道信号采集装置及计算机数据分析模块四部分组成。

在较早的研究中,采用细胞群脉冲发放矩阵模式分析法来分析嗅球僧帽细胞对气味的响应^[55]。图 7(a)显示了 4 种气味的时空响应曲线,黑色部分表示其自发放阶段,红色部分表示其气味响应阶段。从图中可以看出其从静息状态到激发状态再回到静息状态的整个过程。在后续的研究中^[56],将这种算法进行进一步的发展,并使用支持向量机对气味进行分类,正确率最高达到 95%,图 7(b)显示了气味响应在二维空间中的分布。在后续的研究中,试图将类似的办法运用到清醒大鼠中,并得到了一定的结果^[57]。

近年来,随着医学影像技术的发展,研究者对味觉在大脑中的表达及定位有了更深入的了解。Chen 等通过在体双光子钙成像方法发现 5 种基本味觉中的 4 种在大脑皮层中响应的拓扑图^[58],如图 8 所示,表明动物味觉系统也可被用于在体仿生味觉传感器的研制。

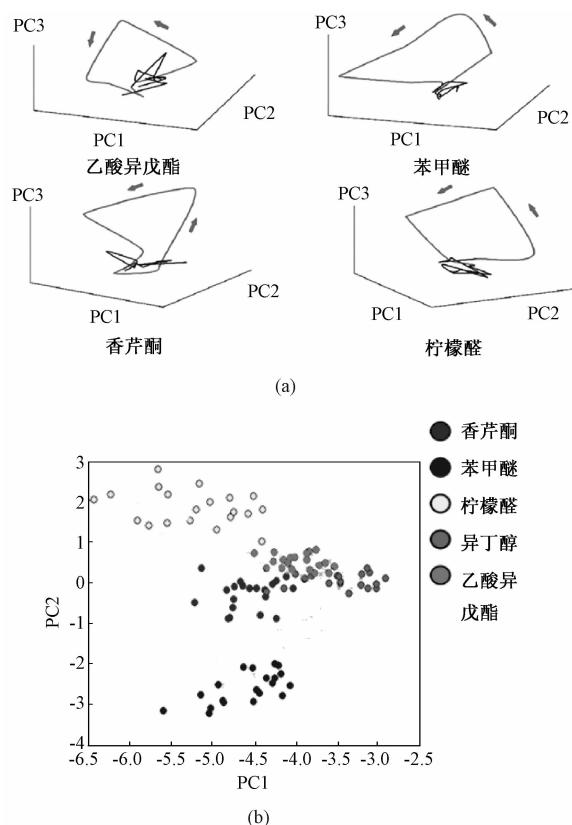


图 7 气味识别。(a) 不同气味刺激引起的僧帽细胞活动在三维主成分空间上投射的动态轨迹线,图中坐标轴分别表示主成分分析后得到的贡献率最大的 3 个主成分;(b) 不同气味刺激下僧帽细胞响应模式在二维主成分空间中的分布,图中每个点表示一次试验

Fig.7 Odor discrimination. (a) The dynamic trajectories of M/T cell activity evoked by different odors projected in a 3D space of principle components (PCs). The coordinate axis represents three PCs of most contribution in PCA; (b) Distribution of response modes of M/T cells evoked by different odors in a 2D space of PCs, with each point representing a trial

4 应用

与生物嗅觉/味觉系统类似,仿生嗅觉/味觉传感器有灵敏度高、响应速度快、选择性好等特点,在诸多领域具有潜在的商业价值和工业应用前景。在食品加工领域,可以通过特定的代谢气体检测细菌。Sankaran 等利用化学合成的嗅觉多肽作为石英晶体微天平传感器的敏感材料,适用于包装牛肉中致病菌的检测^[59]。在医疗诊断领域,籍由对呼吸气体、受感染的伤口和组织释放的气味和体液的探测,仿生嗅觉/味觉传感器有望应用于各种疾病,尤

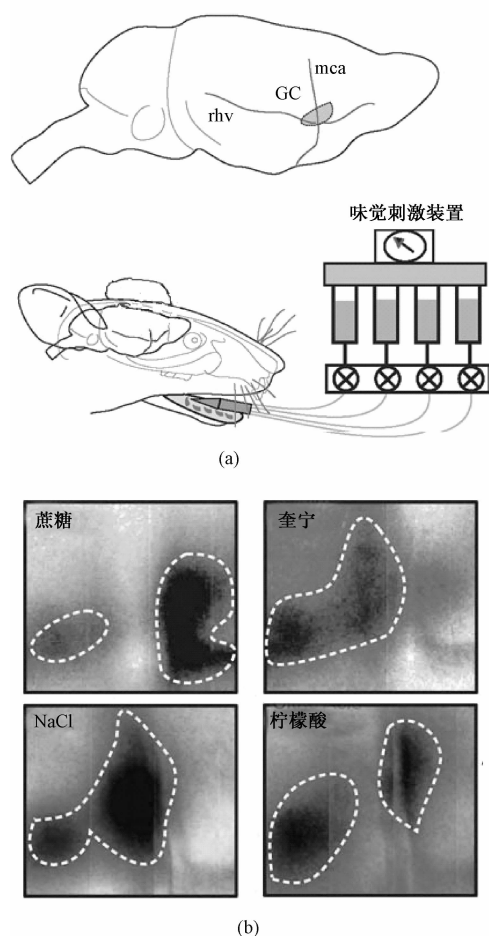


图8 大鼠的味觉在大脑皮层中的集中表达^[58]。(a)大鼠味觉皮层的位置；(b)不同味道刺激投射到味觉皮层上区域不同

Fig. 8 Concentrated expression of gustation in rats' cerebral cortex. (a) Location of rats' gustatory cortex in cerebral cortex; (b) Discrimination of regions that different taste stimuli project in rats' gustatory cortex

其是癌症的早期诊断^[35]。在军事和安全领域,仿生嗅觉传感器有望成为新型的爆炸物等危险品的检测手段^[60,61]。相较于仿生嗅觉传感器,仿生味觉传感器目前还处于初级阶段,应用也收到了较大的限制,但是其广泛的潜在应用空间已经初露端倪。Liu等人利用原代大鼠舌上皮细胞与微电极阵列芯片结合构成仿生电子舌,对于电子舌在食品安全、药物的苦味掩盖等方面的应用提供了新的思路^[62]。Song等使用转染了人类苦味受体基因的大肠杆菌,结合碳纳米管和FET器件,进行苯硫脲等苦味物质进行检测,为今后药物筛选等提供了新方法^[63]。

近年来,脑-机接口的快速发展为仿生嗅觉/味觉传感器的研发提供了新的思路。利用微创手术将电极植入动物体内,通过神经解码的方式进行

气味和味道识别,没有传统电子鼻/电子舌对检测条件的严苛限制,利用动物的自愈能力延长了仿生嗅觉/味觉传感器的使用寿命。近年来,浙江大学郑筱祥教授带领的研究团队开发了复杂环境下的大鼠导航系统^[64]。图9显示了该研究团队将光基因技术和记录微电极阵列进行组合以用于同步控制大鼠行为和记录神经信号。在未来的研究中,期望能将这种技术与基于植入式电极的仿生嗅觉/味觉传感器相结合,研发出用于周围环境中化学物质探测的大鼠机器人。

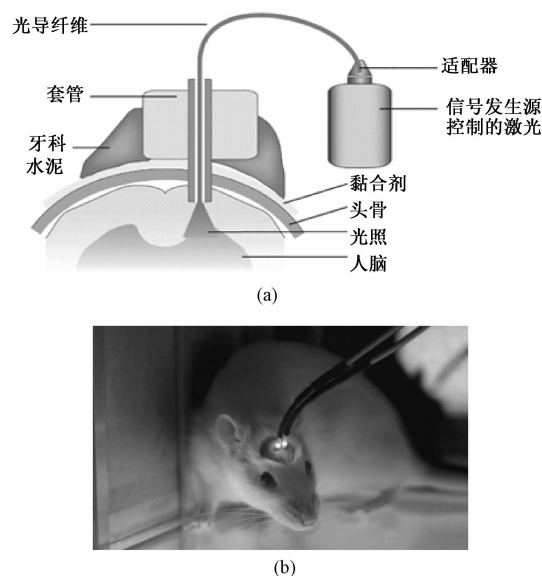


图9 基于光基因的新型大鼠导航技术^[64]。(a)与光基因技术结合的记录电极；(b)已植入电极的导航大鼠

Fig. 9 A novel rat navigation technology based on optogenetic technique. (a) Recording electrode combined with optogenetic technology; (b) Rat implanted with navigator electrodes

5 结语

目前仿生嗅觉/味觉传感器的研究取得了较快进展,并展现出很大的发展潜力。但是,该研究也面临许多困难,生物材料在体外环境中的活性和寿命依然受到着重大挑战,急需进一步的研究和发展,基于脑-机接口的在体仿生嗅觉/味觉传感器的研发也许是解决这项难题的一个新的方向。其次我们尚缺乏能够高通量、多参数实时检测生物元件和配体分子相互作用的有效手段,传感器的灵敏度和特异性仍然受到限制,影响了传感器的实际应用。因此利用基因工程技术获得大量不同类型的

功能性嗅、味觉受体,构建新型的仿生嗅觉/味觉传感器,以实现嗅觉、味觉信号动态、多参数、实时无损的检测,并具有微型化、集成化和智能化等特点是目前仿生嗅觉/味觉传感器发展的主要方向。具有这些特点的传感器具有不少优点,比如可以大规模生产以降低成本并提高器件的一致性;可以更加精确地控制气味或者药物刺激的进样,并能实现多个样本同时监测,加快处理速度,提高监测效率。

参考文献

- [1] Stephan A, Bücking M, Steinhart H. Novel analytical tools for food flavours[J]. Food Research International, 2000, **33**(3): 199–209.
- [2] Persaud K, Dodd G. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose[J]. Nature, 1982, **299**(5881): 352–355.
- [3] Toko K. Taste sensor [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2000, **64**(1): 205–215.
- [4] 李光, 傅均, 张佳. 基于嗅觉模型电子鼻仿生信息处理技术研究进展[J]. 科学通报, 2008, **53**(22): 2674–2686.
- [5] Gutierrez – Osuna R. Pattern analysis for machine olfaction: a review [J]. IEEE Sensors Journal, 2002, **2**(3): 189–202.
- [6] Göpel W, Ziegler C, Breer H, *et al.* Bioelectronic noses: a status report part I [J]. Biosensors and Bioelectronics, 1998, **13**(3): 479–493.
- [7] Firestein S. How the olfactory system makes sense of scents [J]. Nature, 2001, **413**(6852): 211–218.
- [8] 刘清君. 神经芯片及其在生物嗅觉传感机理中的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [9] Boekhoff I, Tareilus E, Strotmann J, *et al.* Rapid activation of alternative second messenger pathways in olfactory cilia from rats by different odorants [J]. The EMBO journal, 1990, **9**(8): 2453–2458.
- [10] Malnic B, Godfrey PA, Buck LB. The human olfactory receptor gene family [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, **101**(8): 2584–2589.
- [11] Touhara K. Odor discrimination by G protein-coupled olfactory receptors [J]. Microscopy Research and Technique, 2002, **58**(3): 135–141.
- [12] 谭洁, 罗敏敏. 嗅球对嗅觉信息的处理[J]. 生物物理学报, 2010, **26**(3): 194–208.
- [13] Wood I K. Neuroscience: Exploring the brain [J]. Journal of Child and Family Studies, 1996, **5**(3): 377–379.
- [14] DeFazio RA, Dvoryanchikov G, Maruyama Y, *et al.* Separate populations of receptor cells and presynaptic cells in mouse taste buds [J]. The Journal of neuroscience, 2006, **26**(15): 3971–3980.
- [15] Matsunami H, Montmayeur JP, Buck LB. A family of candidate taste receptors in human and mouse [J]. Nature, 2000, **404**(6778): 601–604.
- [16] Chandrashekar J, Hoon MA, Ryba NJP, *et al.* The receptors and cells for mammalian taste [J]. Nature, 2006, **444**(7117): 288–294.
- [17] Gilbertson TA, Boughter JD, Zhang H, *et al.* Distribution of gustatory sensitivities in rat taste cells: whole-cell responses to apical chemical stimulation [J]. The Journal of Neuroscience, 2001, **21**(13): 4931–4941.
- [18] Chandrashekar J, Hoon MA, Ryba NJP, *et al.* The receptors and cells for mammalian taste [J]. Nature, 2006, **444**(7117): 288–294.
- [19] Ishimaru Y. Molecular mechanisms of taste transduction in vertebrates [J]. Odontology, 2009, **97**(1): 1–7.
- [20] Vosshall LB, Stocker RF. Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila* [J]. Annu Rev Neurosci, 2007, **30**: 505–533.
- [21] Schütz S, Schöning MJ, Schroth P, *et al.* An insect-based BioFET as a bioelectronic nose [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2000, **65**(1): 291–295.
- [22] Huotari MJ. Biosensing by insect olfactory receptor neurons [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2000, **71**(3): 212–222.
- [23] Liu Q, Cai H, Xu Y, *et al.* Olfactory cell-based biosensor: a first step towards a neurochip of bioelectronic nose [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2006, **22**(2): 318–322.
- [24] Liu Q, Ye W, Xiao L, *et al.* Extracellular potentials recording in intact olfactory epithelium by microelectrode array for a bioelectronic nose [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2010, **25**(10): 2212–2217.
- [25] Chen P, Liu X, Wang B, *et al.* A biomimetic taste receptor cell-based biosensor for electrophysiology recording and acidic sensation [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2009, **139**(2): 576–583.
- [26] Misawa N, Mitsuno H, Kanzaki R, *et al.* Highly sensitive and selective odorant sensor using living cells expressing insect olfactory receptors [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, **107**(35): 15340–15344.
- [27] Lee SH, Ko HJ, Park TH. Real-time monitoring of odorant-induced cellular reactions using surface plasmon resonance [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, **25**(1): 55–60.
- [28] Wu C, Chen P, Yu H, *et al.* A novel biomimetic olfactory-based biosensor for single olfactory sensory neuron monitoring [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, **24**(5): 1498–1502.
- [29] Wang TH, Hui GH, Deng SP. A novel sweet taste cell-based sensor [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2010, **26**(2): 929–934.
- [30] Hui GH, Mi SS, Deng SP. Sweet and bitter tastants specific detection by the taste cell-based sensor [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2012, **35**(1): 429–438.
- [31] Du L, Wu C, Liu Q, *et al.* Recent advances in olfactory receptor-based biosensors [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2013, **42**: 570–580.
- [32] Dacres H, Wang J, Leitch V, *et al.* Greatly enhanced detection

- of a volatile ligand at femtomolar levels using bioluminescence resonance energy transfer (BRET) [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, **29**(1): 119–124.
- [33] Wetzel C H, Oles M, Wellerdieck C, *et al.* Specificity and Sensitivity of a Human Olfactory Receptor Functionally Expressed in Human Embryonic Kidney 293 Cells and *Xenopus Laevis* Oocytes [J]. *The Journal of neuroscience*, 1999, **19**(17): 7426–7433.
- [34] Jacquier V, Pick H, Vogel H. Characterization of an extended receptive ligand repertoire of the human olfactory receptor OR17-40 comprising structurally related compounds [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2006, **97**(2): 537–544.
- [35] Rhee HW, Lee SH, Shin IS, *et al.* Detection of kinase activity using versatile fluorescence quencher probes [J]. *Angewandte Chemie*, 2010, **122**(29): 5039–5043.
- [36] Hou Y, Jaffrezic-Renault N, Martelet C, *et al.* A novel detection strategy for odorant molecules based on controlled bioengineering of rat olfactory receptor I7 [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, **22**(7): 1550–1555.
- [37] Lee SH, Ko HJ, Park TH. Real-time monitoring of odorant-induced cellular reactions using surface plasmon resonance [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009, **25**(1): 55–60.
- [38] Kaiser L, Graveland-Bikker J, Steuerwald D, *et al.* Efficient cell-free production of olfactory receptors: detergent optimization, structure, and ligand binding analyses [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, **105**(41): 15726–15731.
- [39] Liu Q, Hu N, Ye W, *et al.* Extracellular recording of spatiotemporal patterning in response to odors in the olfactory epithelium by microelectrode arrays [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, **27**(1): 12–17.
- [40] 陈庆梅, 董琪, 胡靓, 等. 基于微电极阵列的离子嗅球振荡信号识别 [J]. *科学通报*, 2013, **58**(19): 1851–1854.
- [41] Chen QM, Dong Q, Hu L, *et al.* Discrimination of signal oscillations in the *in vitro* olfactory bulb with microelectrode array [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2013, **58**(24): 3015–3018.
- [42] Liu Q, Zhang F, Zhang D, *et al.* Extracellular potentials recording in intact taste epithelium by microelectrode array for a taste sensor [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, **43**(2): 186–192.
- [43] Zhang D, Zhang F, Zhang Q, *et al.* Umami evaluation in taste epithelium on microelectrode array by extracellular electrophysiological recording [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, **438**(2): 334–339.
- [44] Liu Q, Ye W, Yu H, *et al.* Olfactory mucosa tissue-based biosensor: A bioelectronic nose with receptor cells in intact olfactory epithelium [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2010, **146**(2): 527–533.
- [45] Liu Q, Ye W, Hu N, *et al.* Olfactory receptor cells respond to odors in a tissue and semiconductor hybrid neuron chip [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, **26**(4): 1672–1678.
- [46] Zhang W, Li Y, Liu Q, *et al.* A novel experimental research based on taste cell chips for taste transduction mechanism [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2008, **131**(1): 24–28.
- [47] Wu C, Du L, Mao L, *et al.* A novel bitter detection biosensor based on light addressable potentiometric sensor [J]. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2012, **5**(2): 1–7.
- [48] Alfinito E, Pennetta C, Reggiani L. Olfactory receptor-based smell nanobiosensors: An overview of theoretical and experimental results [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2010, **146**(2): 554–558.
- [49] Liu Q, Wang H, Li H, *et al.* Impedance sensing and molecular modeling of an olfactory biosensor based on chemosensory proteins of honeybee [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, **40**(1): 174–179.
- [50] Du L, Wu C, Peng H, *et al.* Piezoelectric olfactory receptor biosensor prepared by aptamer-assisted immobilization [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, **187**: 481–487.
- [51] Wu C, Du L, Wang D, *et al.* A novel surface acoustic wave-based biosensor for highly sensitive functional assays of olfactory receptors [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, **407**(1): 18–22.
- [52] Lehmkuhle MJ, Normann RA, Maynard EM. Trial-by-trial discrimination of three enantiomer pairs by neural ensembles in mammalian olfactory bulb [J]. *Journal of Neurophysiology*, 2006, **95**(3): 1369–1379.
- [53] You KJ, Ham HG, Lee HJ, *et al.* Odor discrimination using neural decoding of the main olfactory bulb in rats [J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2011, **58**(5): 1208–1215.
- [54] Brunjes PC, Illig KR, Meyer EA. A field guide to the anterior olfactory nucleus (cortex) [J]. *Brain Research Reviews*, 2005, **50**(2): 305–335.
- [55] Zhou J, Dong Q, Zhuang L, *et al.* Rapid odor perception in rat olfactory bulb by microelectrode array [J]. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2012, **13**(12): 1015–1023.
- [56] Dong Q, Du L, Zhuang L, *et al.* A novel bioelectronic nose based on brain-machine interface using implanted electrode recording *in vivo* in olfactory bulb [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, **49**: 263–269.
- [57] Zhuang L, Hu N, Dong Q, *et al.* A high sensitive *in vivo* biosensing detection for odors by multiunit in rat olfactory bulb [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, **186**: 308–314.
- [58] Chen X, Gabitto M, Peng Y, *et al.* A gustotopic map of taste qualities in the mammalian brain [J]. *Science*, 2011, **333**(6047): 1262–1266.
- [59] Sankaran S, Panigrahi S, Mallik S. Odorant binding protein based biomimetic sensors for detection of alcohols associated with salmonella contamination in packaged beef [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, **26**(7): 3103–3109.
- [60] Radhika V, Proikas-Cezanne T, Jayaraman M, *et al.* Chemical sensing of DNT by engineered olfactory yeast strain [J]. *Nature Chemical Biology*, 2007, **3**(6): 325–330.

- [61] Marshall B, Warr CG, De Bruyne M. Detection of volatile indicators of illicit substances by the olfactory receptors of *Drosophila melanogaster* [J]. *Chemical Senses*, 2010, **35**(7): 613–625.
- [62] Liu Q, Zhang D, Zhang F, *et al.* Biosensor recording of extracellular potentials in the taste epithelium for bitter detection [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, **176**(1): 497–504.
- [63] Song HS, Kwon OS, Lee SH, *et al.* Human taste receptor-functionalized field effect transistor as a human-like nanobioelectronic tongue [J]. *Nano Letters*, 2012, **13**(1): 172–178.
- [64] Feng Z, Chen W, Ye X, *et al.* A remote control training system for rat navigation in complicated environment [J]. *Journal of Zhejiang University Science A*, 2007, **8**(2): 323–330.

