

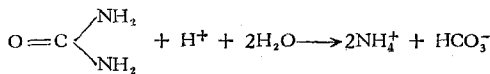
脲酶电极的研究

王厚行

(第三军医大学野战外科研究所,重庆)

最近,酶电极的研究有了显著的进展,其应用也很引人注目。酶电极由固定化酶与离子选择性电极组成。固定化酶识别复杂组分中的特殊物质,并将其转化为产物,由此引起的电化学变化为电极所响应而被检测^[1]。根据以往的文献介绍,酶电极主要用于定量检测与机体有关的物质。因此研究适用于临床的酶电极是生化工作者关注的课题。

作者在试用几种固定化酶方法的基础上,选用价廉的载体——PVC(聚氯乙烯)制备固定化脲酶膜;在研究其表观动力学参数^[2]并用于测定血浆尿素氮^[3]之后,将酶膜与pH玻璃电极结合组成酶电极。因为固定化脲酶膜在pH9.3以下的酶促反应



吸收H⁺,产生的pH变化及mV变化符合Nernst方程。该酶电极制作方便,只需将适量脲酶与PVC制成胶液,将电极浸入,取出干燥后即涂上酶膜。无需覆盖尼龙网、透析膜,也无需加固O型橡皮圈。而且当涂在电极上的酶膜损坏、破裂、酶活力丧失时,很容易将酶膜完整剥离,该电极可重新用作pH电极或再制备酶电极。

作者制备的PVC固定化脲酶膜性能稳定,室温下保存2个月仍有很高的活力,20天连续77次测定其活力仅下降15%。所选用的pH玻璃电极是研究得最早、使用最广泛、性能最稳定的商品化离子选择性电极^[4],因此制备的酶电极性能良好。响应时间3—5分钟,洗涤时间约5分钟,校正曲线的线性范围为0.25—4.76mmol/L,酶电极在4℃保存40天仍可用于检测。血浆标本0.02ml注入1ml缓冲液,即稀释51倍,其ΔpH为0.10,ΔmV为5。

鉴于用国产玻璃电极与PVC固定化脲酶膜组成酶电极的方法未见报道,对该酶电极的其他参数的测试和应用于临床的方法学研究作者正在进行之中。

参 考 文 献

- [1] 河崎拓怡:《蛋白质、核酸、酵素》,1985,30,247。
- [2] 王厚行:《全国第二次工业生化学术会议论文摘要》,1987, p. 195。
- [3] 王厚行:《全国第二次工业生化学术会议论文摘要》,1987,194。
- [4] Vadgama, P.: *Analyst*, 1986, 111, 875。

[本文于1987年10月9日收到]

插入座槽。加样。然后按常规方法电泳跑带。

3. 染色 将上下模板从座槽中取出平放,拿开上板,让凝胶留在下板框中。水漂洗后用吸管直接向胶体上滴加染色液进行染色。图谱照相时在冰浴盒中放一张白纸反射光线,仍让胶体留在原处进行照相效果很好。

三、注 意 事 项

1. 上下模板制胶后构成上电极槽,标有“E”字的两个小条的作用在于增加胶体附着力。但仍需小心轻放,不可摔碰,以免上电极液缓慢渗漏。

2. 标有“B”字的小块作用在于保持胶体下端留出

5毫米宽电极通路。

3. 标有“A”字的圆孔是冰浴盒流出孔,用乳胶管套上用后夹子夹住。在夏天电泳时如中途添加冰块,则先放出其中水液后再加冰块。

4. 在上下板图中画有斜线部位是两块3毫米普通窗玻璃,其作用在于防止有机玻璃对泳动率的影响。注意用强力胶粘封严密,以免上电极液顺着其中空隙下漏。

5. 所有部件间均为松配合,可很方便插入取出。胶板厚度可根据需要取定。

[本文于1987年9月1日收到]