

经验交流

一种新型的半导体氢离子活度测量器

陈冰铨 张鹏 姚淑珍 刘健

(北京市劳动卫生职业病研究所)

(北京电子管厂)

关键词 氢离子,敏感器件,生物医学

离子敏感场效应器件(简称 ISFET),是近年来发展的一种测定溶液中离子活度的半导体敏感器件。它将半导体表面场效应原理和离子敏感膜的电化学特性两者相结合,而设计成具有体积小、阻抗低、响应时间短、取样少、操作方便、灵敏度高、稳定可靠和全固体化等优点的新型功能器件。在生物、医学、化工、环保、水文和地质等领域里有着广泛的应用前景。 H^+ -ISFET 是这类器件中最基本、最重要的一种。

氢离子敏感场效应器件的结构是将 MOSFET 的金属栅代之以氢离子敏感膜,整个器件除敏感膜外全部用密封材料覆盖,如图 1 所示。当器件的敏感膜与溶液接触时,在其界面产生界面势 E ,符合能斯特响应。其 E 与溶液的 pH 值成线性关系,直接控制着 ISFET 的沟道电流,因而根据器件输出电流的改变量可度量氢离子活度。 H^+ -ISFET 经反复试验并成功地应用于生物医学实验,结果如下:

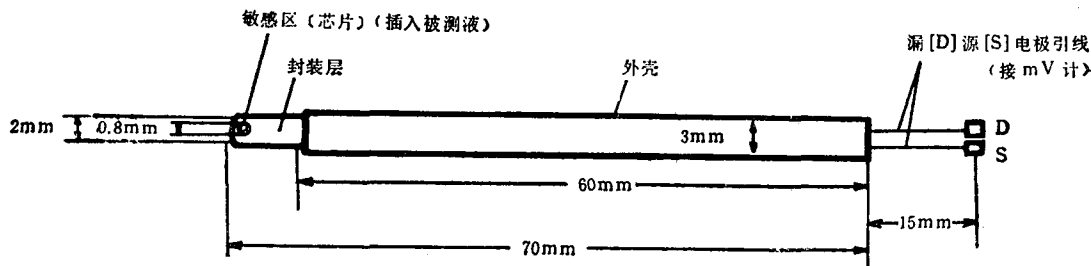


图 1 氢离子敏感场效应器件 (H^+ -ISFET) 示意图

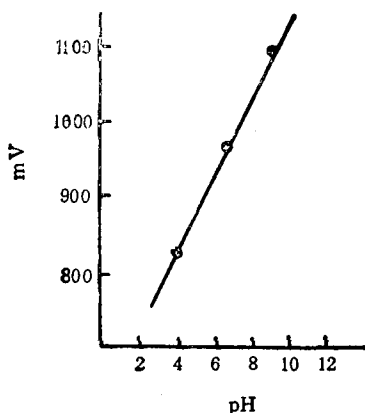


图 2 H^+ -ISFET 响应特性曲线

一、灵敏度 测试了不同 pH 值,实验结果表明, pH 与 mV 相关系数 $r = 0.9989$,斜率为 50.8 mV/pH (见图 2)。

二、重现性 将不同 pH 值的溶液,重复测试 3 次,实验结果表明 3 次偏差小于 $\pm 0.5 \text{ mV}$,见表 1。

表 1 重现性试验结果

pH	4.00	6.86	9.18
mV (1 次)	806	952	1076
mV (2 次)	806	951	1076
mV (3 次)	未测	951	1076

三、稳定性 当 H^+ -ISFET 插入 pH 为 6.86 标准液后,不同时间读取 mV 数。结果表明,插入被测

表2 稳定性实验结果

T	0.5s	5s	10s	1.5 min	40min	1.5h	16h	17h
mV	949	949	949	950	951	951	951	951

液后 0.5s 内即达恒定, 17h 内仍保持稳定, 见表 2。

四、在生物及医学上的应用

1. 用 H⁺-ISFET 测定 10 例铅中毒患者尿样品的

表3 铅中毒患者尿样品 pH 值

尿样品	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	均值	标准差	P 值
H ⁺ -ISFET 法 (x)	5.85	5.66	5.37	5.93	5.68	5.97	6.38	5.52	6.12	5.60	5.81	0.30	
玻璃电极法 (y)	5.93	5.72	5.41	6.03	5.76	6.06	6.52	5.69	6.25	5.79	5.92	0.32	
差数 (d=y-x)	0.08	0.06	0.04	0.10	0.08	0.09	0.14	0.17	0.13	0.19	0.11	0.02	<0.01

2. 测定了 34 例正常人尿液 pH 值。用 H⁺-ISFET 法, 其均值为 6.11, 标准差为 0.57。用玻璃电极法, 其均值为 6.24, 标准差为 0.59。每个样品用 H⁺-ISFET 法所得结果均比电极法低, 两方法差数的均值为 0.13, 差数的标准差为 0.07, 经平均差数的显著性检验, P<0.01, 有极显著差异。两方法的相关系数 r = 0.9688, 说明 H⁺-ISFET 法与原玻璃电极法测定结果呈正相关, 而且关系十分密切, 同时 H⁺-ISFET 对氢离子更为敏感。

3. 用 H⁺-ISFET 测定铅中毒大鼠血液 pH 值, 全血 pH = 7.53, 血浆 pH = 7.85。

4. 用 H⁺-ISFET 测定生物膜提取液(镍中毒红细胞 NaKATP 酶提取液) pH = 10.22。

以上结果表明, H⁺-ISFET 器件各项性能良好, 可在有复杂成分并存的尿液、血液及生物膜提取液等

(上接第 326 页)

提取过程可随时开始。(4)结果可靠, 图 1(见封二)显示了三种不同方法提取的质粒经酶切后的电泳图谱。用改良快提法获得的质粒, 其纯度及产量均与碱法及煮沸法相似, 甚至更好。

用改良快提法获得的质粒可满足不同酶切条件的需要。用快提法所得质粒作酶切检查常会遇到切不开的现象, 尤其是用低盐缓冲液限制性内切酶更是如此^[2]。为此对改良快提法所得质粒进行不同酶切检查, 结果显示, 无论是高盐浓度 (React 3)、中等盐浓度 (React 2) 还是低盐浓度 (React 1), 甚至在某些含特殊离子的缓冲液 (React 4 和 React 6) 中, 相应的酶都显示理想的酶切效果(图 2, 见封二)。这表明, 改良快提法所得质粒可满足不同酶切条件的需要。

本文介绍的改良快提法及在酶切、电泳过程中的某些改进, 可在三小时内完成至少 18 个样品的筛选工

pH 值, 并与 231 型玻璃电极比较, 两方法相关系数 r = 0.9936, 结果见表 3。实验结果表明, 用 H⁺-ISFET 测得每个样品的 pH 值都比用玻璃电极的结果低, 平均低 0.11 pH, 经平均差数显著性检验, P<0.01, 表明两方法有极显著差异, 可能是由于 H⁺-ISFET 对氢的敏感性比玻璃电极对氢的敏感性更强所致(同样氢离子浓度的条件下, 测得 pH 值越低, 说明酸度越大, 即能被器件测到的氢离子越多)。

生物医学材料中得到满意的测试结果。由于 pH 值与许多生化反应有关, 所以可广泛用于多学科的研究中。又由于体积小、伸入被测液的尖端芯片仅 0.8mm 宽, 包括外封装仅 2mm 宽, 特别适用于体积小的标本测试。并可不经活化, 不用外加电源, 直接测试。且携带方便, 有较好的实用价值。此外, 该器件将来可进一步制成针尖形, 从而为实现直接植入人体进行整体生化动态观察创造条件。

参 考 文 献

- 1 Chauvet F et al. *Sensors and Actuators*, 1984; 6 (4): 255
- 2 輕部征夫. センサ技術, 1983; 3(12): 43

[本文于 1989 年 5 月 11 日收到]

作。图 3(见封二)显示了一次实验的结果。若加上细胞生长 5—6 h, 也可在接种当天(共 9 h)获得结果。

本文承蒙徐铃教授指导帮助, 特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Mariatis T, Fritsch E T et al. *Molecular cloning: A laboratory manual*, New York: Cold Spring Harbor, 1982
- 2 Karen Lech, Roger Brent. In: Freulerick M et al. ed, *Current protocols in molecular biology*, New York: John Willey and Sons, 1987: 161—164
- 3 Alter D C, Subramanian K N. *Biotechniques*, 1989; 7 (5): 456
- 4 Windle B E. *Biotechniques*, 1989; 6(5): 402
- 5 Zhou Chen et al. *J Biol Chem*, 1989; 264 (15): 9022

[本文于 1989 年 7 月 24 日收到]