

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610034855.1

[51] Int. Cl.
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)

[43] 公开日 2007年10月10日

[11] 公开号 CN 101051047A

[22] 申请日 2006.4.4

[21] 申请号 200610034855.1

[71] 申请人 张 薇

地址 518000 广东省深圳市福田区绿景花园
E-3201

[72] 发明人 杨宵临 纪 鑫

权利要求书 2 页 说明书 11 页

[54] 发明名称

一种新颖的化学发光酶免疫分析方法

[57] 摘要

本发明涉及一种用于临床及实验室检测的化学发光酶免疫分析方法，其特征在于，使用辣根过氧化物酶标记的以及辣根过氧化物酶化学发光底物标记的特异性结合物质，检测分析过程中可以避免分离步骤。

1. 一种用于临床及实验室检测的化学发光酶免疫分析方法，该方法包含以下特征环节：1) 将下列组分：A. 辣根过氧化物酶标记的特异性结合物质，B. 辣根过氧化物酶化学发光底物标记的特异性结合物质，C. 被分析样品，按某一次序混合。当样品中含有目的分析物时，A 和 B 因与该目的分析物特异性结合形成免疫反应复合物而空间上彼此接近；2) 加入一种或多种过氧化物。在上述免疫反应复合物中，辣根过氧化物酶与其化学发光底物空间上比邻，在过氧化物存在下产生化学发光，其强度高于样品中不含目的分析物时的情形。通过测定该发光强度，便可定性或定量地检测目的分析物。
2. 根据权利要求 1 所述的化学发光酶免疫分析方法，其特征在于，所述组分 A 与 B 中有一组分附载于固相表面，该固相表面是下列情形中的一种：1) 检测分析所用容器的内壁，2) 固体微粒。
3. 根据权利要求 1 所述的化学发光酶免疫分析方法，其特征在于，所述组分 A 与 B 分别附载于两种固相表面，并为下列情形中的一种：1) 组分 A 与 B 中有一组分附载于检测分析所用容器的内壁，另一组分附载于固体微粒；2) 组分 A 与 B 所附载于的固相表面为固体微粒。
4. 根据权利要求 2~3 任意一项所述的化学发光酶免疫分析方法，其特征在于，所述组分 A 与 B 中至少有一组分，其中所述标记物与所述特异性结合物质并非直接联结，而是彼此邻近地附载于所述固相表面。
5. 一种用于临床及实验室检测的化学发光酶免疫分析方法，该方法包含以下特征环节：1) 将被分析样品与 A. 辣根过氧化物酶化学发光底物标记的目的分析物、B. 辣根过氧化物酶标记的相应目的分析物之特异性结合物质相混合，或者将被分析样品与 A. 辣根过氧化物酶标记的目的分析物、B. 辣根过氧化物酶化学发光底物标记的相应目的分析物之特异性结合物质相混合。被标记的目的分析物同被分析样品中存在的目的分析物相竞争，与被标记的相应目的分析物之特异性结合物质结合形成免疫复合物；2) 加入一

种或多种过氧化物。被标记的目的分析物与被标记的相应目的分析物之特异性结合物质形成的免疫复合物中，辣根过氧化物酶与其化学发光底物空间上比邻，在过氧化物存在下产生化学发光，通过测定该发光强度，便可定性或定量地检测目的分析物。

6. 根据权利要求 5 所述的化学发光酶免疫分析方法，其特征在于，所述被标记的目的分析物之特异性结合物质附载于固相表面，该固相表面是下列情形中的一种：1) 检测分析所用容器的内壁，2) 固体微粒。
7. 根据权利要求 6 所述的化学发光酶免疫分析方法，其特征在于，所述标记物（辣根过氧化物酶或辣根过氧化物酶化学发光底物）与所述特异性结合物质并非直接联结，而是彼此邻近地附载于所述固相表面。
8. 根据权利要求 1~7 任意一项所述的化学发光酶免疫分析方法，其特征在于，所述特异性结合物质是下列情形之一：1) 抗体，2) 抗原，3) DNA 探针。
9. 根据权利要求 1~9 任意一项所述的化学发光酶免疫分析方法，其特征在于，该方法无需分离步骤。

一种新颖的化学发光酶免疫分析方法

技术领域

本发明属于临床及实验室化学发光免疫分析方法技术领域，更具体地说，本发明所揭示的化学发光免疫分析方法与通常的免疫分析方法相比减少了或无需分离步骤。

背景技术

近年来随着新型自动化仪器和新型试剂的开发，临床及实验室免疫分析方法的研究取得了极大进展，基于其优异的特异性以及抗体-抗原结合反应的无限多样性，免疫分析方法被广泛应用于生物学及临床诊断领域。

在特异性结合分析中，通常是一种物质（一般为目的分析物）充当桥联中介，将两个受体（例如，抗体、抗原、或 DNA 探针）联结起来形成“夹心”复合物，该复合物中的两个受体至少有一个被标记。在非均相免疫分析中，没有形成免疫复合物的被标记受体被分离除去，通过测定分析体系中所剩余被标记物的含量即可测定目的分析物。而在均相免疫分析中，无需将没有形成免疫复合物的被标记受体被分离除去。相比而言，在此意义上均相免疫分析是一种更优越的方法。但是由于设计上的困难，均相免疫分析在实际应用上还多只限于小分子目的分析物的测定。

化学发光免疫分析是新近十年来发展起来的，基于放射免疫分析的基本原理将化学发光与免疫反应结合起来建立的一种分析方法。根据标记方法的不同，化学发光免疫分析方法可分为化学发光标记免疫分析方法和酶标记的、以化学发光酶底物作信号试剂的化学发光酶免疫分析方法。化学发光标记免疫分析方法用化学发光试剂直接标记抗体、抗原或 DNA 探针， γ 吡啶酯类化合物（acridinium ester）是目前应用最广泛的化学发光标记物。此类化合物在 $\text{NaOH-H}_2\text{O}_2$ 作用下产生强烈的闪烁发光。化学发光酶免疫分析方法则属于酶

免疫分析范畴，该方法用酶标记的生物活性物质（如抗体或抗原）进行免疫反应，免疫反应复合物上的酶作用于化学发光底物而产生光信号。最常用的酶标记为辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AP)。其中，使用辣根过氧化物酶作标记的化学发光酶免疫分析方法常用的底物有鲁米诺(3-氨基邻苯二甲酰肼, luminol)、异鲁米诺(4-氨基邻苯二甲酰肼, isoluminol)以及新近报道的二氢丫啶酯类化合物(acridan ester)。

已有的研究表明，在辣根过氧化物酶催化的过氧化物氧化反应中，过氧化物（通常为过氧化氢）首先将辣根过氧化物酶活性中心的 Fe^{III} 氧化成 $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ ，含有该高氧化态活性中心的酶作用于底物，使得其被氧化，同时自身转化回初始态辣根过氧化物酶。

现有的化学发光酶免疫分析方法绝大多数为非均相系统，例如美国公司 DPC 的 Immulite 全自动免疫分析仪以碱性磷酸酶为标记物，1,2-环二氧乙烷为发光底物，采用聚苯乙烯珠为载体。美国公司 Beckman Coulter 的 Access 系统采用磁性微粒子 (magnetic microparticles) 为载体，其特点是磁性微粒子表面积大，结合快，达到最大发光信号时间短。所有这些非均相系统都不可避免地需要有多次分离洗涤步骤，故此不但耗时而且增加了自动化仪器的设计难度。

德国公司 Dade Behring 新近开发的一项技术采用两种微粒子，其中一种微粒子附载有目的分析物之特异性结合物及光敏化剂(photosensitizer)，另一种微粒子附载有目的分析物之特异性结合物及一种能够与单线态氧反应而产生化学发光的化合物。当被分析介质中含有目的分析物时，由于免疫复合物的形成，使得光敏化剂与上述化合物空间上接近，在外来光的激发和氧存在下，光敏化剂产生单线态氧，由于其寿命极短，只能扩散至极为邻近的区域，只有存在于免疫复合物中的上述化合物能捕获到单线态氧而产生化学发光。根据此技术设计的分析系统可以避免分离洗涤步骤。

发明内容

本发明提供了一种新的化学发光酶免疫分析方法，其原理基于如下现象：一体系中同时含有辣根过氧化物酶标记的抗体及辣根过氧化物酶化学发光

底物标记的相同或相似抗体，实验表明，当体系中含有上述抗体之抗原时，加入过氧化物后所产生的化学发光强度高出体系中不含相应抗原时的发光强度。此处，当体系中存在相应抗原时，即可形成“夹心”免疫复合物，在该免疫复合物中辣根过氧化物酶与其化学发光底物在空间上彼此邻近；反之，若当体系中不含相应抗原时，即无法形成免疫复合物，辣根过氧化物酶与其化学发光底物游离存在于体系中。很显然，在前一情形中，辣根过氧化物酶与其化学发光底物在空间上的彼此邻近促进了化学发光反应。虽然化学发光反应被促进的具体机制尚不清楚，但这并不妨碍根据该实验现象来设计新的化学发光酶免疫分析方法。

根据本发明所提供的分析方法，在非竞争性免疫分析中，将被分析样品与辣根过氧化物酶标记的目的分析物之特异性结合物质及辣根过氧化物酶化学发光底物标记的目的分析物之特异性结合物质相混合，当被分析样品中含有目的分析物时，上述被标记的特异性结合物质与目的分析物结合形成免疫复合物，在其中，辣根过氧化物酶与其辣化学发光底物在空间上彼此邻近，在过氧化物作用下产生增强的化学发光，通过测定该发光强度即可定性或定量地检测目的分析物，该过程无需分离步骤，从而可以实现均相免疫分析。

此处，特异性结合物质是指一种能选择性地与某一物质（大分子或小分子）特异性结合的化合物。通常该两种物质被称为特异性结合配对物，在本发明中，它们包括免疫学意义上的抗体-抗原，也包括其它特异性结合配对物，例如，生物素-抗生物素蛋白(biotin-avidin)、荷尔蒙-荷尔蒙受体、IgG-蛋白 A 以及 DNA-DNA、DNA-RNA 等等。

辣根过氧化物酶化学发光底物是指一种在辣根过氧化物酶和过氧化物存在下，于适合的化学反应条件下能够产生化学发光的化合物。这里，适合的化学反应条件是指诸如介质、温度、pH 值以及其它反应物的参与，等等因素，故此，在该反应体系中，除该化合物、辣根过氧化物酶及其化学发光底物之外，不排除其它化学组分的存在，例如发光增强剂、辅助增强剂等。虽然在本发明的实例中，只使用了鲁米诺、异鲁米诺以及二氢丫啶羰基磺酰胺作为辣根过氧

化物酶化学发光底物，但基于本发明的原理，任何一位熟知本技术领域的人士都可轻易将此推广至其它辣根过氧化物酶化学发光底物，因此需要特别指出，本发明之权利要求书中所述的辣根过氧化物酶化学发光底物包含任何符合上述定义的化合物。

根据本发明所提供的方法，在一种情形下，辣根过氧化物酶标记的特异性结合物质与其化学发光底物标记的特异性结合物质，二者当中有一者附载于固相表面，该固相表面可以是检测分析所用容器的内壁，也可以是任何一种固体微粒。此处，被固载化的辣根过氧化物酶或其化学发光底物标记的特异性结合物质可以是标记物与该特异性结合物质的直接偶联物(conjugate)，也可以由标记物与该特异性结合物质分别附载于该固相表面而形成。例如，可以将异鲁米诺标记的抗体通过物理吸附或化学键联的方式附载于96孔微板的内壁，也可将该异鲁米诺标记的抗体通过物理吸附或化学键联的方式附载于某种固体微粒表面，同时还可以将异鲁米诺和该抗体分别通过物理吸附或化学键联的方式彼此邻近地附载于同一固相表面，如上所述，该固相表面可以是检测分析所用容器的内壁，也可以是任何一种固体微粒。在上述这些情形下，免疫复合物形成于固相表面，检测灵敏度有显著提高。

根据本发明所提供的方法，在另一种情形下，辣根过氧化物酶标记的特异性结合物质与其化学发光底物标记的特异性结合物质，二者分别附载于两种固相表面。此处可以有以下两种设计，第一种情形，辣根过氧化物酶标记的特异性结合物质与其化学发光底物标记的特异性结合物质，二者当中有一者附载于检测分析所用容器的内壁，另者附载于一种可自由悬浮(suspensible)的固体微粒上，此处，该可自由悬浮的固体微粒的大小须小至一定程度，使得该固体微粒与水的悬浮液在无外力存在下能稳定存在相当长时间。第二种情形，辣根过氧化物酶标记的特异性结合物质与其化学发光底物标记的特异性结合物质，二者分别附载于两种可自由悬浮的固体微粒上，该两种固体微粒的性状如上所述。在此两种情形下，与前文所述类似，被固载化的辣根过氧化物酶或其化学发光底物标记的特异性结合物质可以是标记物与该特异性结合物质的直接偶

联物(conjugate), 也可以由标记物与该特异性结合物质分别附载于该固相表面而形成。这里, 免疫复合物的形成将两种固相表面桥联起来, 而没有形成免疫复合物的辣根过氧化物酶以及其化学发光底物则分别存在于彼此分开的两种固相表面, 这将有助于提高信噪比。

根据本发明所提供的方法, 在非竞争性免疫分析的形式下, 各组分混合的次序对分析结果影响并不显著。值得指出的是, 根据本发明所提供的方法, 将被标记的特异性结合物质固载化可以显著提高检测灵敏度。此处, 虽然固载化过程本身可能需要分离洗涤步骤, 但所有固载化过程可以预先完成, 而在实际分析检测过程中无需分离洗涤步骤, 故此, 极大地缩短了分析时间, 而且有助于简化仪器设计, 缩小仪器体积, 有利于便携式设备的设计与生产。

本发明所提供的方法也可应用于竞争性免疫分析。在此情形下, 辣根过氧化物酶标记的目的分析物与被分析样品中可能存在的目的分析物相竞争, 同辣根过氧化物酶化学发光底物标记的相应目的分析物之特异性结合物质结合形成免疫复合物; 或者, 辣根过氧化物酶化学发光底物标记的目的分析物与被分析样品中可能存在的目的分析物相竞争, 同辣根过氧化物酶标记的相应目的分析物之特异性结合物质结合形成免疫复合物。被标记的目的分析物所形成的免疫复合物, 在过氧化物作用下产生增强的化学发光。因此当被标记的目的分析物和被标记的目的分析物之特异性结合物质使用量固定时, 被分析样品中存在的目的分析物含量越大, 体系中被标记的目的分析物形成免疫复合物的几率就越小, 过氧化物作用下所产生的化学发光强度也就越弱, 据此便可测定被分析样品中目的分析物的含量。此处, 被标记的目的分析物之特异性结合物质可以附载于一种固相表面, 该固相表面可以是检测分析所用容器的内壁, 也可以是任何一种固体微粒。如前所述, 固载化了的被标记的目的分析物之特异性结合物质可以是标记物与该特异性结合物质的直接偶联物(conjugate), 也可以由标记物与该特异性结合物质分别附载于该固相表面而形成。

具体实施方式

下面通过具体的实施例对本发明进行更详细的描述。

实施例 1

异鲁米诺标记的兔抗鼠 IgG 的制备：根据文献方法由 N-4-氨基丁基-N-乙基异鲁米诺(ABEI)与硫光气反应制得 N-4-氨基丁基-N-乙基异鲁米诺异硫氰酸酯(ABEI-ITC)。ABEI-ITC 标记兔抗鼠 IgG 的反应在 $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ 缓冲液 (0.1M, pH 9.5)中进行，反应中 ABEI-ITC 与抗体的摩尔比为 10:1，反应后抗体经 Sephadex G-25 凝胶层析纯化，所得抗体溶液浓度为 0.25 mg/mL。

鼠 IgG 的检测分析：配制六种不同浓度的鼠 IgG 溶液(Tris 缓冲液, 0.1 M, pH 8.5) (100 μL)，向上述每种溶液加入 10 μL 上述异鲁米诺标记的兔抗鼠 IgG 溶液，混合放置 2 分钟后加入 10 μL 辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠 IgG F(ab)₂ (0.25 mg/mL)，混合放置 2 分钟后加入 50 μL H_2O_2 -四苯硼钠溶液(Tris 缓冲液, 0.1 M, pH 8.5, H_2O_2 浓度 7.5 mM, 四苯硼钠浓度 0.8 mM)，2 秒钟后纪录发光强度，结果如下：

实验序号	鼠 IgG 浓度(ng/mL)	最大光强度
1	0	170
2	15	182
3	30	254
4	60	375
5	120	621
6	240	793

实施例 2

二氢丫啶-9-羧基磺酰胺标记的兔抗鼠 IgG 的制备：10-(3-磺酸基丙基)二氢丫啶-9-羧基[N-对甲苯磺酰-N-(3-羧基丙基)]酰胺由相应的丫啶化合物(acridinium 9-carboxamide) 经锌/氯化铵还原反应制得，用 HPLC 提纯。标记

反应在酸性缓冲液(0.1 M MES, pH 4.7)中使用 EDC 偶联方法完成, 反应期间标记化合物与抗体的摩尔比为 10:1, 反应后抗体经 Sephadex G-25 凝胶层析纯化, 所得抗体溶液浓度为 0.25 mg/mL。

鼠 IgG 的检测分析: 按照实施例 1 所述方法进行, 结果如下:

实验序号	鼠 IgG 浓度(ng/mL)	最大光强度
1	0	810
2	15	861
3	30	924
4	60	1325
5	120	1970
6	240	2404

实施例 3

将实施例 1 中制得的异鲁米诺标记的兔抗鼠 IgG 溶液稀释 10 倍。取一可分离式 96 孔微板, 向其中一纵列条(strip)各孔中加入 100 μ L 上述稀释了的抗体溶液, 4 $^{\circ}$ C 下放置过夜, 充分洗涤(10x200 μ L), 加入 100 μ L 1% BSA 溶液, 37 $^{\circ}$ C 恒温 1 小时, 充分洗涤(10x200 μ L), 向该纵列条各孔中依次加入 100 μ L 不同浓度的鼠 IgG 溶液(Tris pH 8.5), 稍后加入 10 μ L 辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠 IgG F(ab)₂ (0.25 mg/mL), 混合放置 2 分钟后加入 50 μ L H₂O₂-四苯硼钠溶液(Tris 缓冲液, 0.1 M, pH 8.5, H₂O₂ 浓度 7.5 mM, 四苯硼钠浓度 0.8 mM), 2 秒钟后纪录发光强度, 结果如下:

实验序号	鼠 IgG 浓度(ng/mL)	最大光强度
1	0	35
2	3.75	37
3	7.5	59

4	15	78
5	30	131
6	60	212
7	120	395
8	240	630

实施例 4

用二氢丫啶-9-羰基磺酰胺标记的兔抗鼠 IgG 取代实施例 3 中的异鲁米诺标记的兔抗鼠 IgG，进行同样实验，结果如下：

实验序号	鼠 IgG 浓度(ng/mL)	最大光强度
1	0	150
2	3.75	190
3	7.5	195
4	15	270
5	30	368
6	60	516
7	120	970
8	240	1655

实施例 5

将 1 mL 10%聚苯乙烯乳胶颗粒(latex particle, 1.0 μm)水溶液离心分离，所得聚苯乙烯乳胶颗粒以去离子水洗涤(4x1 mL)，然后悬浮于 1 mL 去离子水中制成乳液。将 2 mL 按实施例 2 制得的二氢丫啶-9-羰基磺酰胺标记的兔抗鼠 IgG 溶液与 0.5 mL 上述聚苯乙烯乳胶颗粒悬浮液混合，置于 4 °C 摇床上过夜，离心分离，将所得乳胶颗粒充分洗涤(6x1mL)后悬浮于 10 mL 缓冲液(0.1M Tris,

pH 7.4)中制成乳液。取一可分离式 96 孔微板, 向其中一纵列条(strip)各孔中加入 100 μL 不同浓度的鼠 IgG 溶液(Tris pH 8.5), 然后加入 10 μL 上述附载有二氢丫啶-9-羰基磺酰胺-兔抗鼠 IgG 的聚苯乙烯乳胶颗粒悬浮液, 混合放置 2 分钟, 加入 10 μL 辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠 IgG F(ab)₂ (0.25 mg/mL), 混合放置 2 分钟后加入 50 μL H₂O₂-四苯硼钠溶液(Tris 缓冲液, 0.1 M, pH 8.5, H₂O₂ 浓度 7.5 mM, 四苯硼钠浓度 0.8 mM), 2 秒钟后纪录发光强度, 结果如下:

实验序号	鼠 IgG 浓度(ng/mL)	最大光强度
1	0	210
2	3.75	235
3	7.5	251
4	15	299
5	30	380
6	60	605
7	120	850
8	240	1499

实施例 6

将 4 mL 2.5%附载有鲁米诺的聚苯乙烯乳胶颗粒(1.0 μm , Polysciences)水溶液离心分离, 所得聚苯乙烯乳胶颗粒以去离子水洗涤(4x1 mL), 然后悬浮于 1 mL 去离子水中制成乳液。将 2 mL 兔抗鼠 IgG 溶液(0.4 mg/mL)与 0.5 mL 上述聚苯乙烯乳胶颗粒悬浮液混合, 置于 4 °C 摇床上过夜, 离心分离, 将所得乳胶颗粒充分洗涤(6x1mL)后悬浮于 10 mL 缓冲液(0.1M Tris, pH 7.4)中制成乳液。采用此同时附载有鲁米诺及兔抗鼠 IgG 的聚苯乙烯乳胶颗粒乳液, 按照实施例 5 所述方法进行鼠 IgG 检测分析, 结果如下:

实验序号	鼠 IgG 浓度(ng/mL)	最大光强度
------	-----------------	-------

1	0	25
2	3.75	27
3	7.5	36
4	15	44
5	30	105
6	60	177
7	120	320
8	240	584

实施例 7

将 1 mL 10%羧基乳胶颗粒(carboxylated latex particle, 0.7 μm)水溶液离心分离, 所得羧基乳胶颗粒以去离子水洗涤(4x1 mL), 然后悬浮于 1 mL 去离子水中制成乳液。将 2 mg ABEI 与 0.5 mL 上述羧基乳胶颗粒悬浮液于 1.5 mL 缓冲液(MES, pH 4.7)中, 在 EDC 存在下反应 3 小时, 离心分离, 所得微颗粒以去离子水洗涤(6x2 mL), 再与 0.1 mg 兔抗鼠 IgG 于同样条件下反应 3 小时, 离心分离, 以去离子水洗涤(6x2 mL)后悬浮于 10 mL 缓冲液(0.1M Tris, pH 7.4)中制成乳液 A。另将 0.1 mg 辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠 IgG F(ab)₂ 与 0.5 mL 上述羧基乳胶颗粒悬浮液于 1.5 mL 缓冲液(MES, pH 4.7)中, 在 EDC 存在下反应 3 小时, 离心分离, 所得微颗粒以去离子水洗涤(6x2 mL), 悬浮于 10 mL 缓冲液(0.1M Tris, pH 7.4)中制成乳液 B。

取一可分离式 96 孔微板, 向其中一纵列条(strip)各孔中加入 100 μL 不同浓度的鼠 IgG 溶液(Tris pH 8.5), 然后加入 10 μL 乳液 A, 混合放置 2 分钟, 加入 10 μL 乳液 B, 混合放置 2 分钟后加入 50 μL H₂O₂-四苯硼钠溶液(Tris 缓冲液, 0.1 M, pH 8.5, H₂O₂ 浓度 7.5 mM, 四苯硼钠浓度 0.8 mM), 2 秒钟后纪录发光强度, 结果如下:

实验序号	鼠 IgG 浓度(ng/mL)	最大光强度
------	-----------------	-------

1	0	27
2	3.75	34
3	7.5	45
4	15	68
5	30	134
6	60	195
7	120	330
8	240	575

专利名称(译)	一种新颖的化学发光酶免疫分析方法		
公开(公告)号	CN101051047A	公开(公告)日	2007-10-10
申请号	CN200610034855.1	申请日	2006-04-04
[标]申请(专利权)人(译)	张薇		
申请(专利权)人(译)	张薇		
当前申请(专利权)人(译)	张薇		
[标]发明人	杨宵临 纪鑫		
发明人	杨宵临 纪鑫		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种用于临床及实验室检测的化学发光酶免疫分析方法，其特征在于，使用辣根过氧化物酶标记的以及辣根过氧化物酶化学发光底物标记的特异性结合物质，检测分析过程中可以避免分离步骤。

实验序号	鼠 IgG 浓度(ng/mL)	最大光强度
1	0	810
2	15	861
3	30	924
4	60	1325
5	120	1970
6	240	2404