

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 33/532 G01N 33/536

G01N 33/551

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00120798.9

[43] 公开日 2001 年 11 月 7 日

[11] 公开号 CN 1320820A

[22] 申请日 2000.7.14 [21] 申请号 00120798.9

[30] 优先权

[32] 2000.4.27 [33] CN [31] 00209973.X

[71] 申请人 赵 翀

地址 100083 北京市海淀区学院路丁 11 号东五楼
602

[72] 发明人 赵 翀

[74] 专利代理机构 北京同立伟业专利代理有限公司

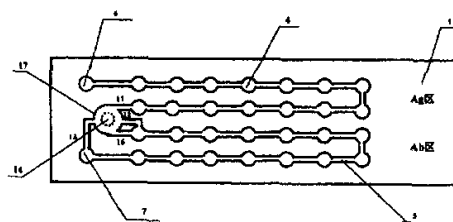
代理人 刘 芳

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图页数 6 页

[54] 发明名称 一种高信息量免疫检测方法及其专用检测板

[57] 摘要

本发明公开了一种新型的抗体或抗原的免疫检测方法及其专用检测板。这是一种简捷灵敏、快速及时、可一次同时检测多种不同的抗原或抗体的检测方法。技术方案的特征在于,将两种或两种以上的不同特异性抗体和/或抗原,按照一定顺序和孔的排列格式,加入并固相化在同一块微孔板上,获得免疫微孔板,然后将待检患者的标本加入该微孔板中进行反应、分析。本方法通过一次免疫微孔板检测,可获得被检标本的多种信息。解决了一种疾病多致病因素时,需做多次检测诊断,延误治疗的问题。



ISSN 1008-4274

权利要求书

1. 一种高信息量免疫检测方法，包括包被、标记、加待检样品、流洗或浸洗、加入标记物、流洗或浸洗、加入底物、显示结果、分析等步骤，其特征在于，其包被步骤是将两种或两种以上不同特异性的抗体和/或抗原分别包被在同一块微孔板的不同微孔中或其他固相基质上，以便同时检测抗原和抗体。
2. 根据权利要求 1 所述的一种高信息量免疫检测方法，其特征在于包被是采用生物大分子固相化处理技术，将抗原、抗体分别固相化在由玻璃，或硅，或金属，或塑料等高分子有机化合物等固相基质材料制成的微孔板上完成的，其具体操作步骤是：
 - 1) 对微孔板进行改善其吸附性能的常规预处理；
 - 2) 加包被物：将两种或两种以上的不同的特异性抗体和/或抗原分别溶解在缓冲液中，用人工或全自动微阵列点样制备系统，分别加到不同的微孔中，1 个孔只添加或包被 1 种抗原或抗体，在同一块微孔板上可包被有抗原也可同时包被有抗体，包被相同抗原或抗体的孔可有多，其排列可以是连续的、也可以不连续；
 - 3) 缓冲液流洗或浸洗，以去除未固相化的抗原或抗体；
 - 4) 加入封闭液，常温孵育 20-360 分钟，以封闭非特异性结合位点；若采用现有的 96 孔或 384 孔等塑料微孔板实施，可将抗原和抗体分别溶解在 pH8.5 以上的碳酸盐缓冲液中直接用于包被。
3. 根据权利要求 1 所述的一种高信息量免疫检测方法，其特征在于：在同一检测系统中，同时进行对应的抗原和抗体的共检测时，可采用下述任意一种方案避免检测误差：
 - 1) 将抗原和抗体包被在高密度微孔板上，用酶、荧光素和生物素等直接标记待检物的方法；
 - 2) 利用一个抗原分子有多个相同和不同的特异性抗原决定簇的特性，在标记物中选取抗原分子的不同肽段与识别同一抗原分子的不同抗原决定簇或不同肽段的抗体配对使用；
 - 3) 用简易分区微孔板，分别将抗原包被在抗原包被区，将抗体包被在抗体包被区；在加标记物时，根据分区向抗原包被区加入标记的抗体，向抗体包被区加入特异性抗原的抗体标记物；但操作中封闭、浸洗、加入待检测标本、加入底物和终止液等操作步骤两个包被区共同进行。
 - 4) 用专用分区微孔板，分别将抗原包被在抗原包被区，将抗体包被在抗体包被区，每一包被区均有完整独立的微流路，按分区分别加待检样品、流洗、加标记物、底物和终止液等；但在加标记物时，向抗原包被区加入标记的抗体，向抗体包被区加入特异性抗原的抗体标记物；
 - 5) 使用专用检测板，将抗原和抗体分区包被，通过专用检测板上的多通路分流阀，在抗原包被区和抗体包被区之间形成即可连通又可相互独立流动的可调变的微流路；在加入标记物时，使加入的抗体标记物只能沿微流路进入抗原包被区；特异性抗原的抗体标记物只能进入抗体包被区；
 - 6) 方案 2 可分别与方案 3 或方案 4、方案 5 合并使用。

4. 根据权利要求 1 或 2 或 3 所述的一种高信息量免疫检测方法，其特征在于：使用带微槽的微孔检测板时，可采用下述方法进行定性、定量分析：因在同一块微孔板上，同一抗原或抗体的包被孔数量可有两个或两个以上，当待检标本中的对应物在带槽微孔板上，逐孔流过各重复包被的微孔时，被不断结合，并被不断地从标本液中去掉，因此，各复孔的结合量，将按照各重复孔排列的前后顺序，逐渐减少，根据各孔反应的有无，进行定性分析；在进行定量分析时，增加重复包被的微孔数量，根据前后各重复孔生成物颜色的深浅、荧光强度、放射强度、生物或化学发光强弱的变化与有无，借助计算机分析可绘出待检物浓度-反应孔数量及强弱变化曲线，对照标本体积，即可获得定量分析结果。
5. 根据权利要求 1 所述的一种免疫检测方法，其特征在于，所用微孔板为高密度微孔板，每平方厘米有 4 孔或 4 孔以上，孔深 0-2 毫米，孔间有或无微槽相连，微孔板可有盖或无盖，在微孔板体（1）或微孔板盖（2）上可设有与微槽（5）相通的进液孔（6）、出液孔（7）。
6. 一种用于权利要求 1 所述免疫检测方法的专用检测板，包括板体（1）、微孔板盖（2）、微孔（4）、与微孔（4）相连的微槽（5），其特征在于，在微孔板盖（2）上分别设有与微槽（5）相通的进液孔（6）、出液孔（7）和多通道分流阀（8），该多通道分流阀（8）的阀孔（17）被阀芯（18）沿周向分为两个区：A 区和 B 区，阀芯（18）中心有一个下部带有管道（15）的样品孔（14），阀孔（17）的侧壁设有与抗原包被区（Ag 区）相通的管道（11）、与抗体包被区（Ab 区）相通的管道（12）和（16）、与出液孔（7）相通的管道（13）。
7. 根据权利要求 5 或 6 所述的微孔板和专用检测板，其特征在于，在板体（1）与微孔板盖（2）之间可加有密封垫（3）。
8. 根据权利要求 6 或 7 所述的微孔板和专用检测板，其特征在于，进液孔（6）、出液孔（7）和样品孔（14）的开口也可以是在板体（1）上。

说明书

一种高信息量免疫检测方法及其专用检测板

本发明涉及一种新型的与疾病检测，医学诊断有关的，也可以是与各种生物学、动植物学、农牧业有关的抗原或抗体的检测方法，特别是生物医学中抗原或抗体的免疫检测方法及其专用检测板。

在免疫学诊断中，一个实验系统，如酶联免疫吸附试验，放射免疫实验和免疫荧光检测技术等，通常一次只能检测一种抗原或抗体（抗体，也称免疫球蛋白）。而一种疾病或临床症状可由多种致病因素引起，如病毒性肝炎，但具有许多相同的临床表现。一种疾病亦可表现出不同的临床症状，即不同的疾病或临床症状也可由同一种致病因素引起。因此，即使一种疾病有时也必须同时用不同的抗原抗体检测系统分别检测。所以现有检测技术费时、费力、操作繁琐、成本高。然而，检测到一种抗原或抗体时，只能证明该抗原或抗体与该疾病有关，但不能排除其它有关致病因素的存在。特别是在获得阴性检测结果时，医生因无法判断该病为何种致病因素所致，而无法确定治疗方案。为了明确诊断，还必须做进一步的检查，直到获得的检测结果可以确诊，以致因诊断不及时而延误治疗。病人则因得不到及时、正确的治疗，延误或坐失治疗时机，而遗憾终生，甚至丧失生命。对于非常见病，由于发病率低，检测标本少，故医院为降低成本，常需要将标本积累到一定的数量后集中进行检测。而中、小级医院甚至常见病亦是如此。因而，现有检测技术成本高，检测结果报告不及时。有些偏远地区的部分中小型医院则根本放弃开展此类检测项目。

本发明的目的是要提供一种简便灵敏、快速及时、可一次同时检测多种抗原和/或抗体的检测方法及其专用检测板。

为了达到本发明的目的所采取的技术方案包括包被、标记、加待检样品、流洗或浸洗、加入标记物、流洗或浸洗、加入底物显示结果、分析等步骤，其特征在于，其包被步骤是将两种或两种以上不同特异性的抗体和/或抗原分别包被在同一块微孔板的不同微孔中或其他固相基质上，以便同时检测抗原和抗体。

本发明的特征还在于：包被是采用生物大分子固相化处理技术，将抗原、抗体分别固相化在由玻璃，或硅，或金属，或塑料等高分子有机化合物等固相基质材料制成的微孔板上完成的（生物大分子固相化处理技术在化学出版社1998年出版的蒋中华著的《生物大分子固定化技术及应用》中有详细介绍），其具体操作步骤是：

1) 对微孔板进行改善其吸附性能的常规预处理；

2) 加包被物：将两种或两种以上不同特异性的抗体和/或抗原分别溶解在缓冲液中，用人工或全自动微阵列点样制备系统，分别加到不同的微孔中，1个孔只包被1种抗原或抗体，在同一块微孔板上可包被有抗原也可同时包被有抗体，包被相同抗原或抗体的孔可有多（称它们为重复孔，或复孔），其排列可以是连续的、也可以不连续；

3) 缓冲液流洗或浸洗，以去除未固相化的抗原或抗体；

4) 加入封闭液，常温孵育20-360分钟，以封闭非特异性结合位点；

若采用现有的96孔或384孔等塑料微孔板实施，可将抗原和抗体分别溶解在pH8.5以上的碳酸盐缓冲液中直接用于包被。

本发明的特征还在于：在同一检测系统中，同时进行对应的抗原和抗体的共检测时，可采用下述任一种方案以避免检测误差：

1) 将抗原和抗体包被在高密度微孔板上（见图 1、2、3），用酶、荧光素和生物素等直接标记待检物的方法。

2) 利用一个抗原分子有多个相同和不同的特异性抗原决定簇的特性，在标记物中选取抗原分子的不同肽段与识别同一抗原分子的不同抗原决定簇或不同肽段的抗体配对使用。

3) 用简易分区微孔板（可无盖，见图 4），分别将抗原包被在抗原包被区，将抗体包被在抗体包被区；在加标记物时，根据分区向抗原包被区（Ag 区）加入标记的抗抗体，向抗体包被区（Ab 区）加入特异性抗原的抗体标记物；但操作中封闭、浸洗、加入待检测标本、加入底物和终止液等操作步骤两个包被区可共同进行。

4) 用专用分区微孔板（见图 3、图 5、图 6），分别将抗原包被在抗原包被区，将抗体包被在抗体包被区，每一包被区均有完整独立的微流路，按分区分别加待检样品、流洗、加标记物、底物和终止液等；在加入标记物时，向抗原包被区（Ag 区）加入标记的抗抗体，向抗体包被区（Ab 区）加入特异性抗原的抗体标记物。

5) 使用专用检测板（见图 7、图 8、图 9、图 10、图 11、图 12、图 13），将抗原和抗体分区包被，通过专用检测板上的多通路分流阀，在抗原包被区（Ag 区）和抗体包被区（Ab 区）之间形成即可连通又可相互独立流动的可调变的微流路，在加入标记物时，使加入的抗抗体标记物只能沿微流路进入抗原包被区；特异性抗原的抗体标记物只能进入抗体包被区。

6) 方案 2 可分别与方案 3 或方案 4、方案 5 合并使用。

本发明的特征还在于：在使用带微槽的微孔检测板时，可采用下述方法进行定性、定量分析：因在同一块微孔板上，同一抗原或抗体的包被孔的数量可有两个或两个以上，当待检标本中的对应物在带槽微孔板上，逐孔流过各重复包被的微孔时，被不断结合，并被不断地从标本液中去除，因此，各复孔的结合量，将按照各重复孔排列的前后顺序，逐渐减少。根据各孔反应的有无，即可进行定性分析；在进行定量分析时，增加重复包被的微孔数量，根据前后各重复孔生成物颜色的深浅、荧光强度、放射强度、生物或化学发光强弱的变化与有无，借助计算机分析可绘出待检物浓度-反应孔数量及强弱变化曲线，对照标本体积，即可获得定量分析结果。

本发明的特征还在于：所用微孔板为中国专利申请号为 00209973.X 所述的微孔板，即高密度微孔板，每平方厘米有 4 孔或 4 孔以上，孔深 0-2 毫米，孔间有或无微槽相连。微孔板可有盖或无盖，在微孔板体 1 或板盖 2 上分别设有与微槽 5 相通的进液孔 6、出液孔 7。

本发明所述的专用检测板，包括板体 1、微孔板盖 2、微孔 4、与微孔 4 相连的微槽 5，其特征在于，在微孔板盖 2 上分别设有与微槽 5 相通的进液孔 6、出液孔 7 和多通道分流阀 8，该多通道分流阀 8 的阀孔 17 被阀芯 18 沿周向分为两个区：A 区和 B 区，阀芯 18 中心有一个下部带有管道 15 的样品孔 14，阀孔 17 的侧壁设有与抗原包被区 Ag 区相通的管道 11、与抗体包被区 Ab 区相通的管道 12 和 16、与出液孔 7 相通的管道 13。

上面两款所述的微孔板和专用检测板，其特征在于，在板体 1 与微孔板盖 2 之间可加有密封垫 3。

本发明的专用微孔板的进液孔 6、出液孔 7 和样品孔 14 的开口也可以是在板体 1 上。

本方法具有以下优点：1. 信息量大。现有的 ELISA 法通常是在同一块微孔板（如 96 或 384 孔板）的所有微孔中均只加入同一种特异性的抗原或抗体，故一块板一次只能检测一种抗原或抗体。本发明与酶联免疫吸附试验（简称 ELISA）法不同的是，待检标本通过一次免疫微孔检测，可获得免疫微孔板中的所有抗原（或抗体）是否存在的结果。解决了一种疾病多致病因素时，需做多次或多种检测诊断，延误治疗的问题；2. 可同时检测对应抗原抗体。在同一块微孔板中，可同时进行对应的抗原和抗体（如检测乙肝表面抗原和抗乙肝表面抗原的抗体）的共检测。本发明通过六种不同的方案，解决了上述酶联免疫吸附实验和免疫斑点杂交法无法同时检测对应抗原抗体的问题；3. 快速及时，成本低。一个病人只需要一块免疫微孔阵列板，可随到随检，检测报告及时。因此，解决了为节约试剂，降低成本需等待积累一定数量的标本再做检测，以至检测结果报告时间延后的问题；4. 灵敏度高。本技术方法采用专用的微孔板或检测板作固相基质，每个微孔，相当于固化了抗原或抗体的亲和层析基质，而免疫微孔板则相当于将不同的亲和层析基质分段串联在一起。当被检测标本中的抗原或抗体在免疫微孔板中逐孔流过时，可与固相中的不同抗体或抗原分别特异结合（既过滤、亲和层析、分离与浓缩效用）；同时被免疫微孔阵列板各孔中不同的固相抗体（或抗原）特异吸附后的样品液不再与样品原液混合，避免了被检测物（抗原或抗体）因反复扩散、平衡而被稀释的影响。此外，微孔板的底和孔壁均可可是包被面和反应面，故与免疫斑点杂交法相比包被量多。本发明由于将蛋白质的分离纯化、免疫亲和层析及浓缩等技术与检测分析方法融为一体，故灵敏度相对较高。因此与现有免疫斑点杂交、酶联免疫吸附实验检测法比，具有灵敏度高的特点；5. 操作简便。为了改进操作方法，本发明优先选用的微孔板是中国专利申请号为 00209973.X 所述的微孔板和本发明所述的专用检测板。其特点是在各微孔之间有微槽连接，在给微孔板加盖后，微槽被密闭成两端与微孔相通的微管。将抗原和抗体分区包被，这些结构与多通道分流阀，微孔板盖上的进液孔、出液孔和样品孔等共同组成微流路。藉此本发明将不同抗原、抗体系统的混合、浓缩、分离、反应以及免疫复合物与未反应的游离标记物的分离，清洗等操作集中在同一块免疫微孔板中进行，使之有机地融为一体。与免疫斑点和 ELISA 检测法不同的是，无须逐孔添加，或将微孔板全部浸入反应液。在检测分析中，不论要检测多少种抗原或抗体，每一实验步骤，用本法进行只需一次操作，即可完成清洗、封闭和待检标本与所有各免疫微孔的反应等。因此与现有酶联免疫吸附试验和免疫斑点杂交技术相比，操作步骤简单；6. 样品量少。如采用专用高密度微孔板进行免疫微孔检测分析，样品沿微流路逐步流经各孔，所以与免疫斑点杂交、酶联免疫吸附实验检测法比，所需样品量少，可以解决因样品不易获得所带来的困扰；7. 节省试剂，易于实现自动化操作。本方法将数十种甚至数千种抗原和/或抗体检测分析集中在一块微孔板上。实施中，标本、标记物和底物的添加及封闭、流洗等全部操作，均经进液孔或样品孔、微管、多通道分流阀和出液孔等共同组成的微流路同时进行，改变了酶联免疫吸附试验法逐孔清洗和免疫斑点杂交法在较大的容器中浸洗的操作方式，可大量节约试剂，易于实现全自动化操作；8. 可用于定性和定量分析。根据免疫微孔板中各孔荧光、胶体金沉积、发光的有无，或成色产物的生成与否，对照抗体和/或抗原在免疫微孔板中的排列位置，可以确定该疾病相关

致病因素中，哪一种或哪几种致病因素（病原体或其抗体）在待检测标本中存在（阳性），哪些不存在（阴性），直接做出定性分析。在定量分析方面，本发明通过在微孔板上增加相同抗原和/或抗体的平行包被的复孔数量，解决了定量分析的问题；9. 保留了现有免疫学检测方法重复性好，准确性高、可靠性强等优点。

图 1 为微孔板板体结构示意图：

图中所示 1 为板体、4 为微孔、5 为与微孔 4 相连的微槽，设在微孔板盖 2 上与微槽 5 相通的有进液孔 6、出液孔 7；

图 2 为微孔板盖结构示意图：

图中所示 2 为板盖，进液孔 6、出液孔 7 与板体 1 上的微槽 5 相通的。板盖 2 可局部透明，透过板盖 2 可看到设在板体 1 上的微孔 4；

图 3 为微孔板剖面图：

图中所示为板体 1、板盖 2、密封垫 3、微孔 4、微槽 5、带有密封圈的进液孔 6；

图 4 为简易分区微孔板结构示意图：

图中所示为板体 1、微孔 4、抗原的包被区 Ag 区、抗体的包被区 Ab 区和反应池 19。

图 5 为专用分区微孔板结构示意图：

图中所示为板体 1、微孔 4、微槽 5、抗原的包被区 Ag 区、抗体的包被区 Ab 区、两个分别与抗原的包被区（Ag 区）、抗体的包被区（Ab 区）相通的进液孔 6、与抗原的包被区 Ag 区、抗体的包被区 Ab 区相通的出液孔 7；

图 6 为专用分区微孔板盖结构示意图

图中所示为板盖 2、分别与板体 1 上的微槽 5 相通的进液孔 6、抗原的包被区 Ag 区和抗体的包被区 Ab 区的公共出液孔 7。板盖 2 局部透明，透过板盖 2 可看到设在板体 1 上的微孔 4；

图 7 为专用检测板板体结构示意图

图中所示为板体 1、微孔 4、微槽 5、抗原的包被区 Ag 区、抗体的包被区 Ab 区、与抗原包被区 Ag 区相通的进液孔 6、与抗体的包被区 Ab 区相通的出液孔 7、多通道分流阀 8 的阀孔 17、带有管道 15 且与其相通的样品孔 14；阀孔 17 侧壁设有与抗原包被区 Ag 区相通的管道 11、与抗体包被区 Ab 区相通的管道 12 和 16、与出液孔 7 相通的管道 13；

图 8 为多通道分流阀与微流路的结构关系示意图：

图中所示为板体 1、与抗原包被区 Ag 区和阀孔 17 相通的管道 11；与抗体包被区 Ab 区和阀孔 17 相通的管道 12 和 16；管道 13 与出液孔 7 相通；

图 9 为多通道分流阀的透视图：

图中所示为从检测板板盖上看到的多通路分流阀 8 及其各通道，显示多通路分流阀 8 与板盖 2 和板体 1 的结构关系。检测板板盖 2 上开有样品孔 14；阀芯 18 将阀孔 17 分为 A 区和 B 区；

图 10 为工况 I 时的微流路的通断关系与液流方向示意图；

图 11 为工况 II 时的微流路的通断关系与液流方向示意图；

图 12 为多通道分流阀阀芯的主视图：

图中所示为阀芯 18、与管道 15 相通的样品孔 14、可与管道 16 相通的管道 15；

图 13 为多通道分流阀阀芯的俯视图：

图中所示为阀芯 18、与管道 15 相通的样品孔 14、连接样品孔 14 与管道 16 的管道 15;

图 14 为免疫微孔阵列操作方法与检测原理示意图:

图中所示 — 为固相载体; —Ag 为固化在固相载体上的固化抗原 Ag; —Ab 为固化在固相载体上的固化抗体 Ab; + 表示加入并结合。

本发明的具体实验操作步骤如下:

1. 包被: 运用公知的各种生物大分子固相化技术, 将多种抗体和/或抗原分别固相化(或称包被)在微孔板的不同微孔中; 各种材料的微孔板均可用 10-200 微克/毫升的多聚赖氨酸处理, 室温 20-360 分钟或 4°C 放置过夜。聚苯乙烯塑料微孔板可用同位素照射、浓硫酸、硝酸浸泡处理, 或在聚苯乙烯材料中, 添加适当比例的带有醛基、氨基、羟基或巯基等活性基团的高分子材料, 以提高其吸附能力。或用商售的各种材料制成的微孔板。将包被抗原和抗体分别溶解在 pH7-10 的缓冲液中, 抗原、抗体的包被浓度为 0.1-2000 微克/毫升; 用人工或全自动微阵列点样系统, 每孔加入 0.1-5 μ l, 或以加满为准。微孔中残留的非特异性结合位点可用含有牛血清白蛋白、脱脂牛奶或正常动物血清的缓冲液进行封闭, 由此即获得包被了不同抗体和/或抗原, 一次检测可同时获得两种或两种以上不同特异性抗体和/或抗原的检测结果的免疫微孔板。此时免疫微孔板可直接使用, 或凉干置 10°C 以下保存备用;

2. 标记: 运用公知的生物分子标记技术, 分别用生物素、酶、荧光素、胶体金和同位素等标记待检标本, 已知抗原、抗体、抗抗体、葡萄球菌 A 蛋白、或亲和素与链亲和素等, 获得相应的标记物。

3. 加待检样品: 将标记或未标记的待检标本加入免疫微孔板中, 使之与各孔中已固相化的不同抗原和/或抗体, 进行免疫学反应; 被检样品中如有对应的抗体和抗原, 即可与包被的抗原和抗体结合, 结合的抗体和抗原即被吸附, 未结合的和无关的抗原和抗体, 流出免疫微孔板。

4. 流洗或浸洗: 借助微孔板的微流路, 被检标本中残留的未结合的无关抗原和抗体, 可用含 Tween 20 的磷酸盐缓冲液等洗液, 流洗去除; (如用直接法进行检测, 即采用标记待检标本的方法, 其操作下接步骤 7。以生物素等作标记物, 也采用直接(桥联)法, 其操作下接步骤 5。如采用无盖微孔板, 还可采用浸洗的方法); 简易微孔板用浸洗法。

5. 加入标记物: 如果待检测标本未经过标记处理, 加入经荧光素、同位素、胶体金、酶或生物素等标记的特异性抗原和/或抗体的标记物进行反应; 如在同一检测系统中同时检测抗体和抗原, 如前所述, 根据所选用的微孔板及包被方式的不同, 可分别按下述不同方案进行: a. 选用无盖的简易微孔板, 见图 4, 分区包被, 分别向抗原包被区(Ag 区)加入抗抗体的标记物, 向抗体包被区(Ab 区)加入特异性抗原的抗体标记物(但封闭、浸洗、加入待检测标本等操作步骤可共同进行)。b. 选用专用分区微孔板, 见图 3、5、6, 按包被分区不同, 经进液孔 6, 向抗原包被区(Ag 区)和抗体包被区(Ab 区)分别加标记物(加待检样品、流洗等步骤也分别进行), 经共同的出液孔 7 流出免疫微孔板; c. 选用专用检测板, 见图 7、8、9、10、11、12、13, 将抗原和抗体分区包被, 通过专用检测板上的多通路分流阀 8, 在抗原包被区(Ag 区)和抗体包被区(Ab 区)之间形成即可连通又可相互独立流动的可调变的微流路; 分别经进液孔 6 和样品孔 14, 同时向抗原包被区(Ag 区)和抗体包被区(Ab 区)分别加标记物, 使加入的抗抗体标记物只能沿微流路进入抗原包被区(Ag 区); 特异性抗

原的抗体标记物只能进入抗体包被区；未结合的标记抗原和/或抗体，经共同的出液孔 7 流出免疫微孔板

6. 流洗或浸洗：被检标本中残留的未结合的抗原和/或抗体等的标记物，可用含 Tween 20 的磷酸盐缓冲液等洗液，流洗或浸洗去除；

7. 加入底物，显示结果：各种酶标记物需经进液孔 6 加入不同的酶底物，然后观察生物化学发光现象；如观察成色反应，还需加终止液或流洗终止反应；荧光素、胶体金标记物的结果可直接观察；同位素标记物则需用放射自显影法观察结果；

8. 结果分析：根据免疫微孔板中各孔荧光、胶体金沉积、发光的有无，或成色产物的生成与否，对照抗体和/或抗原在免疫微孔板中的排列位置，可以确定该疾病相关致病因素中，哪一种或哪几种致病因素（病原体或其抗体）在待检测标本中存在（阳性），哪些不存在（阴性），即同时得到与全部包被抗原和/或抗体有关的定性结论。根据前后各复孔生成物颜色的深浅，荧光强度、放射强度、生物或化学发光等强弱的变化，借助计算机进行定量分析。

上述操作步骤，在实施中，依据其包被物、被检测物、标记物和显示结果方法的不同，可有多种组合方式，如图 14 所示，它们分别是：

1. 直接法：在免疫微孔阵列板中（可包被抗原 Ag 和/或抗体 Ab），加入经荧光素、胶体金或同位素等标记的待检标本（含抗原、抗体）10-300ul，反应 5-120 分钟，磷酸盐或 Tris 缓冲液（视标记物的不同，可加入 0.1-0.5%吐温 20 等不同去垢剂）流洗或浸洗 0.5-15 分钟以去除未结合的部分，然后根据标记物的不同，用扫描仪等各种不同仪器观察各孔的荧光、胶体金沉积或放射性强度。有荧光、胶体金沉积或放射性的微孔既为阳性孔，表示被检标本中有与之对应的抗原或抗体。直接法灵敏度较低，可用生物素——亲和素（或链亲合素）系统作为标记物，以提高其检测灵敏度（见桥联法）。

2. 间接法：在包被抗原（Ag）的免疫微孔板中，加入 30-300ul 待检标本（含抗体），室温反应 1-90 分钟，磷酸盐或 Tris 缓冲液（含 0.1-0.5%吐温 20）流洗或浸洗 0.5-15 分钟，以去除未反应的游离抗体，再加入 30-100ul 酶（如辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等）标记的抗抗体（如羊、兔、鼠抗人或其它动物的免疫球蛋白）或葡萄球菌蛋白 A，反应 1-180 分钟后，流洗或浸洗加入底物（如二氨基联苯胺与过氧化氢的混合液）50-120ul，避光，显色后加入终止液（如 2N 当量硫酸）50-120 微升，或流洗去除底物终止反应，观察各孔的成色反应，有成色反应的孔既为阳性孔，表示被检标本中有与该抗原对应的抗体。

3. 夹心法：在包被抗体（Ab）的免疫微孔板（如包被兔抗小鼠不同类、亚类、型和亚型的抗体）中，加入 30-200ul 待检样品，（如含小鼠单克隆抗体的杂交瘤细胞培养液，在此作为抗原）进行反应，磷酸盐或 Tris 等缓冲液（含 0.1-0.5%吐温 20）流洗或浸洗 0.5-15 分钟，以去除未反应的游离抗原，再加入 30-100ul 胶体金（也可以是其它标记物）标记的兔抗小鼠免疫球蛋白的抗体（种特异性）进行反应，或者加入 30-100ul 酶等标记的抗体进行反应，流洗或浸洗后，再加入酶的底物（以发光法为例，如鲁米诺等化学发光试剂，属商售试剂）50-120ul 进行反应，避光或暗室，观察各孔的发光反应。阳性孔既表示被检标本中有与该孔抗体对应的抗原。

4. 竞争法（以荧光法为例）：将 30-100ul 待检标本与荧光素（如 Cy3, Cy5, FITC、德克萨斯红、罗丹明）等标记的已知抗原或抗体混合，然后加入免疫微孔板（包被 Ag 或 Ab）中，待检抗原或抗体与标记的已知抗原或抗体竞争结合

免疫微孔板中包被的固相化抗体 (Ab) 或抗原 (Ag), 磷酸盐缓冲液流洗或浸洗 0.5-15 分钟, 以去除未反应的游离抗原或抗体, 用激光或 CCD 微阵列扫描仪等仪器观察记录不同的荧光结果。实施中也可以标记待检抗原或抗体, 而己知抗原/或抗体分别用与之颜色不同的荧光素标记来实现, 既所谓的双标记, 或多标记实验。

5. 桥联法: 在上述免疫微孔阵列板中 (以前述间接法的操作步骤为例), 加入 30-200ul 待检标本 (含抗体), 反应 1-90 分钟, Tris 或磷酸盐等缓冲液流洗或浸洗 0.5-15 分钟, 以去除标本中未结合的游离抗体, 再加入 30-100ul 生物素等标记的动物抗人免疫球蛋白抗体, 反应 1-180 分钟, 缓冲液流洗或浸洗 0.5-15 分钟以去除未结合的生物素标记的游离抗体, 然后加入 30-100ul 酶或荧光素等标记的亲合素 (抗生物素) 或链亲合素进行反应, 流洗或浸洗后, 加入底物 50-120ul, 避光, 显色后加入终止液 (如 2 当量硫酸) 50-120 微升或流洗终止反应, 观察各孔反应结果。在前述的操作方法 1-4 中, 其标记物均可采用桥联法进行。即均采用生物素作标记物标记抗原、抗体, 然后加入酶、胶体金、同位素、荧光素等标记的亲合素或链亲合素, 以运用其放大作用提高检测的灵敏度。

实施中, 在同一检测系统中, 常常需同时进行对应抗原和抗体 (如检测乙肝表面抗原和抗乙肝表面抗原的抗体) 的检测, 以判断患者的免疫力和感染状态及传染性。最简捷的解决方案是直接法, 但因灵敏度低, 而较少采用。间接法、夹心法、或竞争法灵敏, 因操作者无需标记待检标本, 故快速简捷, 但是单一方法难以实现对应的抗原和抗体的共检测。如两种或两种以上方法联合使用, 则因交叉结合影响结果分析 (即前文所提的检测误差), 无法实施。以实施方案 I 为例 (详见下文及图 14)。采用间接法 (测抗体), 需在微孔中包被各型肝炎病毒抗原, 加入抗人免疫球蛋白抗体标记物显示反应结果; 抗原检测则必须采用夹心法, 孔中需包被抗体, 显示结果时需加入相关抗原的特异性抗体标记物。由图 14 不难看出, 在夹心法中, 加入的抗原特异性抗体标记物, 也可与间接法中的包被抗原结合。由于结果的显示方法相同 (如标记物均用酶), 故无法区分微孔呈现的颜色是因标本中有待检抗体所致, 还是抗原特异性抗体标记物与包被抗原的交叉结合所致。如以荧光素做标记物, 采用双标记法或多标记法虽可解决此结果无法区分的问题, 但荧光标记物试剂价格昂贵, 结果分析必须使用价格昂贵的精密仪器, 因此成本高。如采用竞争法测抗原和抗体, 则需同时加入抗原和抗体的标记物。由图 14 不难看出, 标记物中的标记抗原和抗体可互相结合, 或与包被的抗原和抗体, 以及标本中的对应抗体或抗原交叉结合, 而影响检测结果的分析, 为解决此问题, 本发明采用了以下方案:

1. 用酶、荧光素和生物素等直接标记待检物的方法, 优选桥联法。其优点是只需标记待检测标本, 但标记操作复杂, 影响因素多, 且操作者的工作量较大, 时间周期长。由于人为影响因素较多, 不同实验室的结果难以比较。

2. 利用一个抗原分子有多个相同和不同的特异性抗原决定簇的特性, 在标记物中选取抗原分子的不同肽段与识别同一抗原分子的不同抗原决定簇或不同肽段的抗体配对使用。例如: 乙肝表面抗原 (HBsAg) 有 a、d、y、w、r 五个抗原决定簇, a 是属特异性的共同抗原决定簇, d 与 y, w 与 r 分别为两对亚决定簇, 可组成 4 个基本亚型 adw、adr、ayw、ayr。在包被时, 可选抗 a 抗体做包被物与抗 d 和 y 或 w 和 r 抗体标记物配对, 用夹心法检测乙肝表面抗原; 选 a 抗原做包被物, 与抗人免疫球蛋白标记物配对, 用间接法测人抗乙肝表面抗

原的抗体。但某些抗原分子只有一种抗原决定簇（如甲型肝炎 HAV 就只有一种血清型），单独用方案 2 无法解决。可用上述方案 1 或下述方案 3、或 4、或 5、或 6 解决。

3. 用无盖简易分区微孔板（见图 4），分别将抗原包被在抗原包被区，将抗体包被在抗体包被区。在加标记物时，根据分区向抗原包被区加入标记的抗抗体，向抗体包被区加入特异性抗原的抗体标记物；但操作中可将封闭、浸洗、加入待检测标本、加入底物和终止液等步骤共同进行。

4. 用专用分区微孔板（有盖）（见图 3、5、6），分别将抗原和抗体包被在不同的包被区，每一包被区均有完整独立的微流路，按分区经不同的进液孔 6，同时分别加待检样品、流洗、加标记物（向抗原包被区加入标记的抗抗体，向抗体包被区加入抗原特异性的抗体标记物）、底物和终止液；如图 3、5、6 所示，标记的抗抗体液体经进液孔 6，进入 Ag 区，由出液孔 7 流出；抗原特异性的抗体标记物，经另一进液孔 6，进入 Ab 区，由出液孔 7 流出；

5. 使用专用检测板，将抗原和抗体分区包被，通过专用检测板上的多通路分流阀 8，在抗原包被区和抗体包被区之间形成连通与独立流动的可调变的微流路，使加入的抗抗体标记物只能沿微流路进入抗原包被区；特异性抗原的抗体标记物只能进入抗体包被区，最终实现在同一个检测系统中同时检测对应的抗原抗体的目的；如图 7-13 所示。抗原和抗体被分区包被在同一块微孔板上的 Ag 区和 Ab 区，在两包被区之间设有多通路分流阀 8。微孔板盖上除留有进液孔 6 和出液孔 7 外，在多通路分流阀上还有样品孔 14。使用本发明有两种工况，如图 8、9、10、11 所示：

工况 I（见图 10）：在封闭、流洗、加入待检标本和底物时，多通路分流阀 8 处于工况 I 的位置，即管道 11 与管道 12 相通，管道 11 与管道 13 不通，样品孔 14 和管道 15 与管道 16 不通，此时液体经进液孔 6、Ag 区、管道 11、管道 12、Ab 区，最后由出液孔 7 流出；

工况 II（见图 11）：在加入标记物时，多通路分流阀 8 处于工况 II 的位置，即管道 11 与管道 13 相通，样品孔 14 和管道 15 与管道 16 相通，但管道 11 与管道 12 不通，加入的抗病毒抗原的抗体标记物经样品孔 14 和管道 15 与管道 16，进入 Ab 区，最后由出液孔 7 流出，因此与间接法（Ag 区）包被的肝炎病毒抗原没有机会相遇或混合而无法直接结合。而加入的抗抗体标记物经进液孔 6、Ag 区、管道 11、管道 13、最后由出液孔 7 流出；在完成孵育和流洗去除未结合的标记物后，多通路分流阀 8 可处于工况 I 或工况 II 中的任何一种位置，完成全部后续操作。见图 7、8、9、10、11、12、13。

6. 方案 2 可分别与方案 3 或方案 4、方案 5 合并使用。

上述方案中，所用微孔板优选中国专利申请号为 00209973.X 所述的微孔板和本发明所述专用检测板。

在实际检测分析中，还经常必须对抗原和抗体的含量进行定量分析，但不同实验室间所获得的绝对光密度值是不一样的，直接比较各孔的光密度值显然会导致错误的结论，特别是在不同的实验室之间。酶联免疫吸附试验的方法通常是，在同一块免疫微孔板上，留出一组免疫微孔，加入不同浓度或稀释度的标准品，制备标准曲线，将待检样品的检测结果与之对比，计算出其浓度或含量。当被检物浓度或含量超出检测范围时，通常需预先稀释。本发明不仅可进行定性分析，还可进行定量分析。解决方案是：在微孔板上增加相同抗原和/或抗体的平行包被的复孔数量，当待检标本中的对应物在逐孔流过各平行包被的

复孔时，被不断结合，并被不断地从标本液中去除，因此，各复孔的结合量，将按照各复孔排列的前后顺序，逐渐减少。所以，加入标记物等，根据前后各复孔生成物颜色的深浅，荧光强度、放射强度、生物或化学发光的强弱的变化，借助计算机分析可绘出待检物浓度-反应孔数量及强弱变化曲线，对照标本体积，即可获得定量分析结果。

下面结合实施例对本发明做进一步的说明。

方案 I：在传染性疾病的诊断中，常需检测抗体以了解患者的抗感染免疫力，测抗原以了解其传染性。以病毒性肝炎为例。引起病毒性肝炎的病毒有甲、乙、丙、丁、戊、庚等各型肝炎病毒，每种病毒可有一种或数种血清型，即产生不同特异性的抗体。首先将病毒性肝炎各型的不同特异性抗原和对应抗体共 20 余种不同成分，通过人工或全自动微阵列点样制备系统，按抗原包被区和抗体包被区，分别加在不同包被区的微孔中，以便同时检测抗原和抗体。将微孔板分别运用公知的生物大分子固相化技术进行固相化处理，即获得包被了各型肝炎病毒的抗原和抗体的免疫微孔板。在实施中的具体操作步骤包括：

1. 微孔板的吸附性处理，以所选材料的不同而略有不同，每种材料其具体处理方法和条件都有多种，本文在此将《生物大分子固定化技术及应用，蒋中华等，1998 年，化学出版社》引用为主要参考文献。按照本发明包括：各种材料的微孔板均可用 10-100 微克/毫升的多聚赖氨酸处理，室温 20-360 分钟或 4℃ 放置过夜。聚苯乙烯塑料微孔板可用同位素照射、浓硫酸、硝酸浸泡处理，或在聚苯乙烯材料中，添加适当比例的带有醛基、氨基、羟基或巯基等活性基团的高分子材料，以提高其吸附能力。或直接用商售的固相基质材料制成的微孔板。

2. 将抗原和抗体分别溶解在 pH7-10 的缓冲液中，每孔所加抗原或抗体包被液的体积可从不足微微升到数微升。抗原、抗体的浓度为 0.5-200 微克/毫升，所加体积以每块微孔板的检测抗原和/或抗体的数量、种类及微孔板微孔的密度及深度而定，抗原、抗体的浓度则随其分子量由大到小的不同而递减。用人工或全自动微阵列点样系统，分别加到不同的微孔中，1 个孔只包被 1 种抗原或抗体。常规操作中，每孔加入 2-5ul，或以加满孔为准。

3. 磷酸盐缓冲液流洗 0.5-5 分钟以去除未固化的抗原或抗体。微孔中残留的非特异性结合位点可用含有牛血清白蛋白、脱脂牛奶或正常动物血清的缓冲液进行封闭，封闭液（磷酸盐缓冲液+3-10%羊血清）200ul 经样品孔加入，常温孵育 180 分钟，由此即获得包被了各型肝炎病毒的抗原和抗体的免疫微孔板；

4. 如用现行的 96 孔或 384 孔等塑料微孔板进行时，可将抗原和抗体分别溶解在 pH9 以上的碳酸盐缓冲液中直接用于包被。

经上述操作获得的免疫微孔板，可直接使用。也可凉干，置 10℃ 以下保存备用。

实际检测中，可依包被方式的不同，分别按下述方案进行操作：

1. 不分区包被（用直接法）：在上述免疫微孔板中，加入经荧光素、胶体金或同位素等标记的待检标本（如血清、组织液、分泌物、排泄物、组织抽提物等，含抗原或抗体）100ul，反应 60-120 分钟后，流洗以去除未结合的部分，然后根据标记物的不同，用扫描仪等各种不同仪器观察各孔的荧光、胶体金沉积或放射性。有荧光、胶体金沉积或放射性的微孔既为阳性孔，表示被检标本中有与之对应的抗原或抗体。如在包被乙肝和丙肝抗原的微孔（测抗体）中呈现阳性反应，其它各孔呈现阴性反应，就表明该患者感染过乙肝和丙肝病毒，

并对其有一定的免疫力，而其它各型无感染史，亦无免疫力。如在包被乙肝和丙肝抗体的微孔（测抗原）中呈现阳性反应，其它各孔呈现阴性反应，则表明该患者已感染乙肝和丙肝病毒，可能具有一定的传染性，而其它各型无感染或无传染性。其它免疫微孔板的结果以相同或类似的方法判定。为提高灵敏度可用桥联法，即将标本用生物素标记，再用荧光素、胶体金或同位素等标记的亲合素或链亲和素显示结果。

2. 分区包被（间接法与夹心法并用）：在肝炎免疫微孔板（简易或专用分区板）中，加入待检标本，反应、洗去未反应的游离抗原和抗体，分别在抗原包被区加入酶等标记的动物抗人免疫球蛋白（或酶等标记的葡萄球菌蛋白 A）（间接法），在抗体包被区加入酶等标记的抗各型肝炎病毒的特异性抗体进行反应（夹心法），流洗或浸洗后加入底物（如化学发光试剂或二氨基联苯胺与过氧化氢的混合液等），暗处观察发光结果。或避光，显色后加入终止液（如 2N 当量硫酸），或洗除底物终止反应，观察各孔的成色反应，有成色反应的孔即为阳性孔，表示被检标本中有对应的抗原或抗体。

3. 使用专用检测板：将多通路分流阀调至工况 I，待检标本经加液孔加入肝炎免疫微孔板中，反应、流洗去除未反应的游离抗原和抗体。将多通路分流阀调至工况 II，抗原包被区经加液孔 6 加入酶等标记的动物抗人免疫球蛋白（或酶等标记的葡萄球菌蛋白 A）（间接法）；抗体包被区经样品孔 14 加入酶等标记的抗各型肝炎病毒的抗体进行反应（夹心法），流洗后多通路分流阀回复工况 I，加入底物（如化学发光试剂或二氨基联苯胺与过氧化氢的混合液），暗处观察发光结果。或避光，显色后加入终止液（如 2N 当量硫酸），或洗除底物终止反应，观察各孔的成色反应，有成色反应的孔既为阳性孔，表示被检标本中有与该抗原对应的抗体。

方案 II：以人类主要组织相容性抗原（HLA）为例。I 类抗原（HLA-A、HLA-B、HLA-C 遗传位点），其 A 位点有 74 种，B 位点有 80 余种，C 位点有 10 余种；II 类抗原 DR 位点有 53 种，DQ 有 9 种，DP 有 6 种，D 抗原（未确定型）有 26 种；III 类抗原有 10 余种之多，总计约 300 余种。这些抗原的不同组合，构成并产生了主要组织相容性抗原的个体差异，在人类器官移植中的移植排斥反应中起决定性作用，是器官移植前进行组织器官配型，选择供体和受体所需的主要参考依据。实施中，首先将各位点共计近 300 余种不同的特异性抗体，用人工或全自动微阵列点样制备系统，分别加在不同的微孔中，进行固相化处理，即获得可用于检测人类主要组织相容性抗原（HLA）的免疫微孔板。

在上述免疫微孔板中，加入用生物素标记的待检标本（组织细胞匀浆或组织细胞抽提物等，含抗原）30-500 μ l 进行反应，流洗以去除未结合的部分，加入用荧光素等标记的亲合素或链亲和素。用扫描仪观察各孔的荧光强度。有荧光的微孔既为阳性孔，表示被检标本中有与之对应的组织相容性抗原。

方案 III：以不同生物的各种生长因子及受体为例，目前已知的人类生长因子约有 65 种、相关受体约有 100 余种，其它动物已知的生长因子及受体的数量多寡略有不同。首先将各种生长因子及受体的不同的特异性抗体，按物种的不同，用人工或全自动微阵列点样制备系统，分别加在不同的微孔中，进行固相化处理，即分别获得可用于检测人类或各种不同物种的各种生长因子及受体的免疫微孔板。然后加入用生物素标记的待检标本（血清、细胞体外培养液、组织细胞匀浆或组织细胞抽提物等，含抗原）进行反应，流洗以去除未结合的部分，加入用酶等标记的亲合素或链亲和素。流洗去除未结合的标记物，加入发

光底物，用扫描仪等观察各孔的发光强度。有发光的微孔既为阳性孔，表示被检标本中有与之对应的细胞因子或受体。如包被时每一成份均包被 4-10 孔的复孔，根据前后各复孔发光的强弱，可进行定量分析。

方案 IV：以肿瘤的诊断检测为例，目前已知的与肿瘤的发生发展及治疗和预后等相关的基因及其蛋白产物有数十类，几千种。首先将与各种肿瘤相关的各种蛋白分子的特异性抗体，用人工或全自动微阵列点样制备系统，分别加在不同的微孔中，进行固相化处理，即获得可用于肿瘤的诊断检测的免疫微孔板。然后加入用生物素标记的待检标本（血清、细胞体外培养液、活检瘤组织细胞匀浆或组织细胞抽提物等，含抗原）进行反应，流洗以去除未结合的部分，加入用酶等标记的亲合素或链亲合素。流洗去除未结合的标记物加入发光底物，用扫描仪等观察各孔的发光强度。有发光的微孔既为阳性孔，表示被检标本中有与之对应的肿瘤相关抗原。有些肿瘤相关抗原在正常或其它非肿瘤组织中或疾病时也会出现，但在量的方面有所差异，因此常需做定量分析。如包被时每一成份均包被 4-10 个孔的复孔，根据各前后复孔发光的强弱，即可进行定量分析。

方案 V：单克隆抗体是各种生物学检验中最常用的生物试剂，在单克隆抗体的研制过程中，对产生的单克隆抗体进行型、亚型、类和亚类的分型鉴定是一项非常重要的工作。通常是采用免疫双扩散法。而采用本发明所述双抗体夹心法，结合胶体金或酶标记技术则简单易行。即将抗不同类、亚类、型和亚型抗体的抗抗体，按物种的不同用人工或全自动微阵列点样制备系统，分别加在不同的微孔中，进行固相化处理，即获得可用于抗体分型鉴定的免疫微孔板。

在小鼠抗体分型鉴定免疫微孔板中，加入 30-50 μ l 小鼠单克隆抗体杂交瘤细胞培养液（含小鼠单克隆抗体，作为抗原）进行反应，流洗以去除未反应的游离抗原，再加入胶体金标记的兔或羊抗小鼠免疫球蛋白的抗体（种特异性）进行反应，或者加入酶等标记的抗体进行反应，然后再加入酶的底物（以发光法为例，如鲁米诺等化学发光试剂，属商售试剂）进行反应，避光或暗室，观察各孔的发光反应。阳性孔既表示被检标本中有与该孔抗体对应的抗体类别。

本发明是一种全新概念的抗原或抗体的免疫学诊断与检测方法--免疫微孔板检测技术。它是一种按照一定的顺序或格式，将几个、几十个，甚至几千个或更高数量种类的抗原和/或抗体加入高密度微孔板的孔中，高密度排列在一起制成免疫微孔板，与病人待检样品进行反应，可一次获得免疫微孔板中所有各孔已知抗原和/或抗体的检测结果的高通量生物信息的生物学检测技术。它一次可对几种、几十种，甚至几千种或更高数量的抗原和/或抗体等致病因素同时进行平行检测分析。其最突出的优点是，只需少量病人标本，通过一次检测可以获得几种甚至上千种有关疾病的信息。所以本发明所述的免疫微孔板检测技术具有信息量大、及时、快速、操作简便以及易于实现全自动化操作、生产成本低等优点。此外，本方法通常是将几十种甚至数千种检测项目集中在一块数毫米厚，面积不足 20 平方厘米的微孔板上进行，大大减少了各种实验耗材及被检样品的用量，因此可降低或部分地解决传染性污物及有害化学物质的处理问题。有利于保护环境，减少对环境的污染。

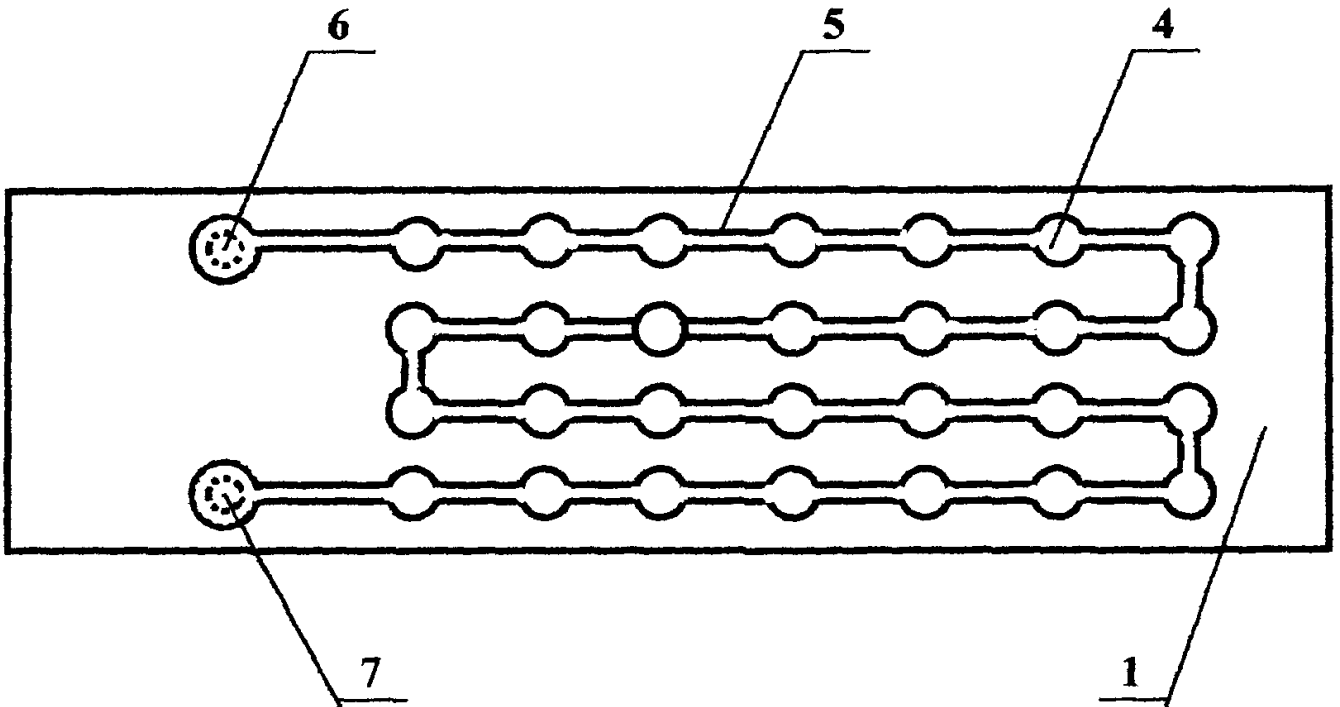


图1

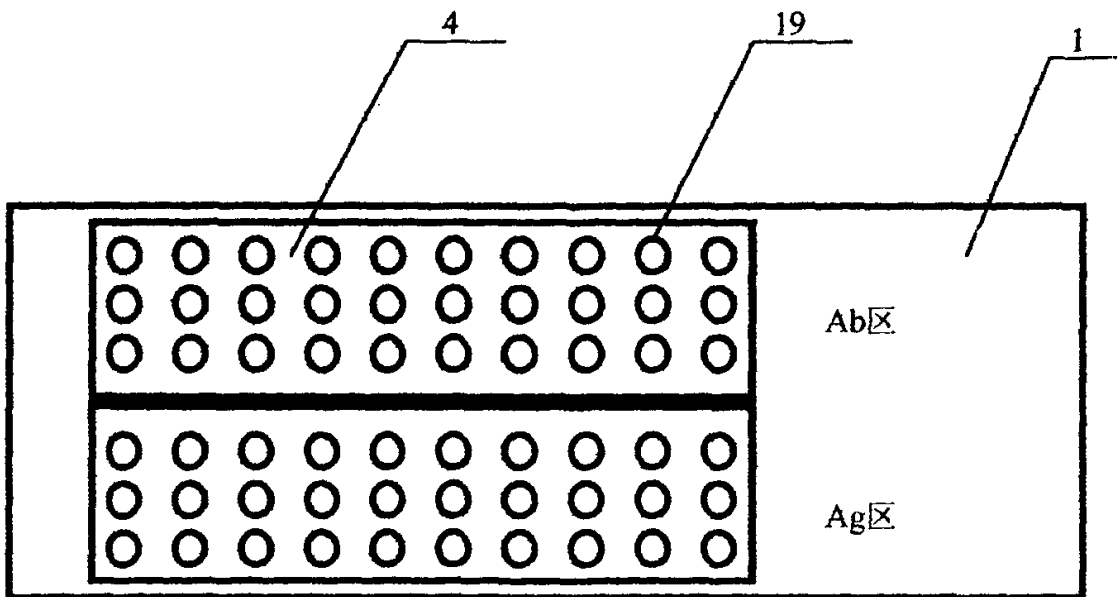


图4

说明书附图

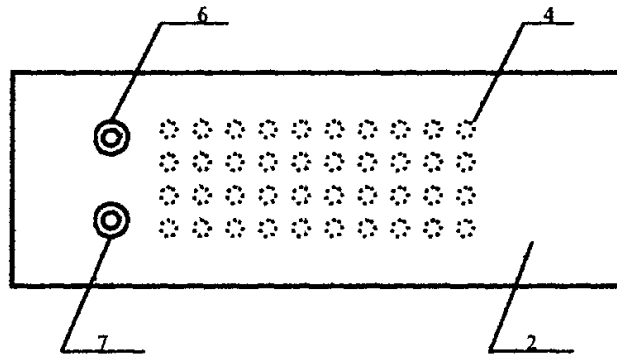


图2

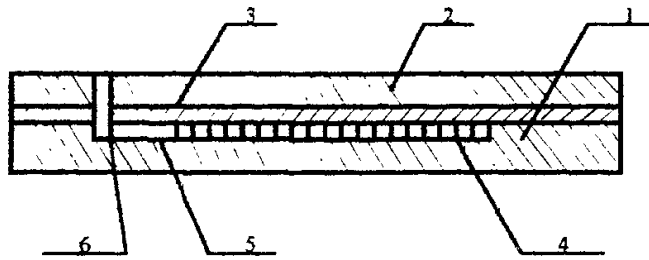


图3

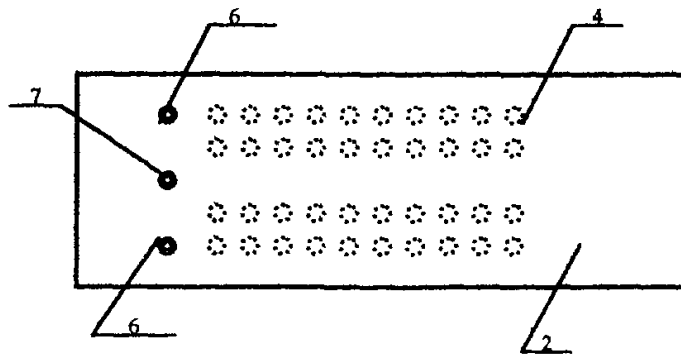


图6

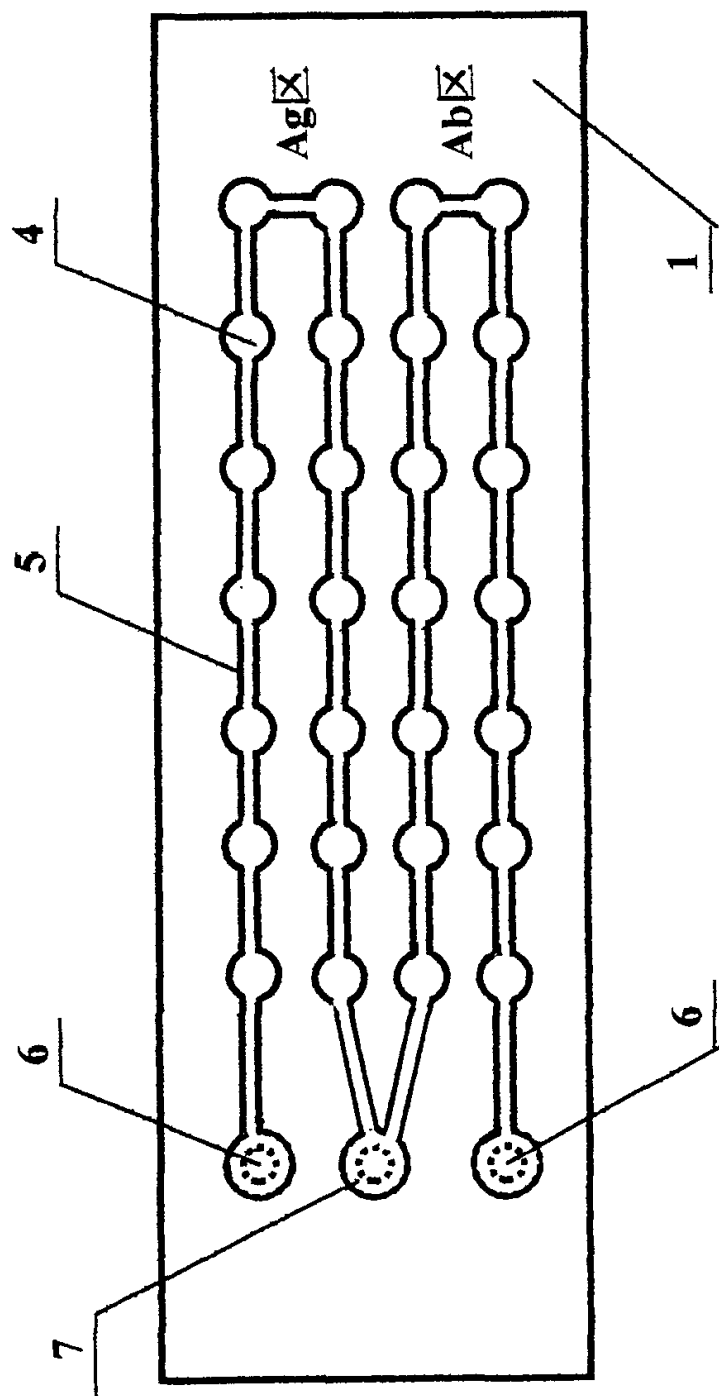


图5

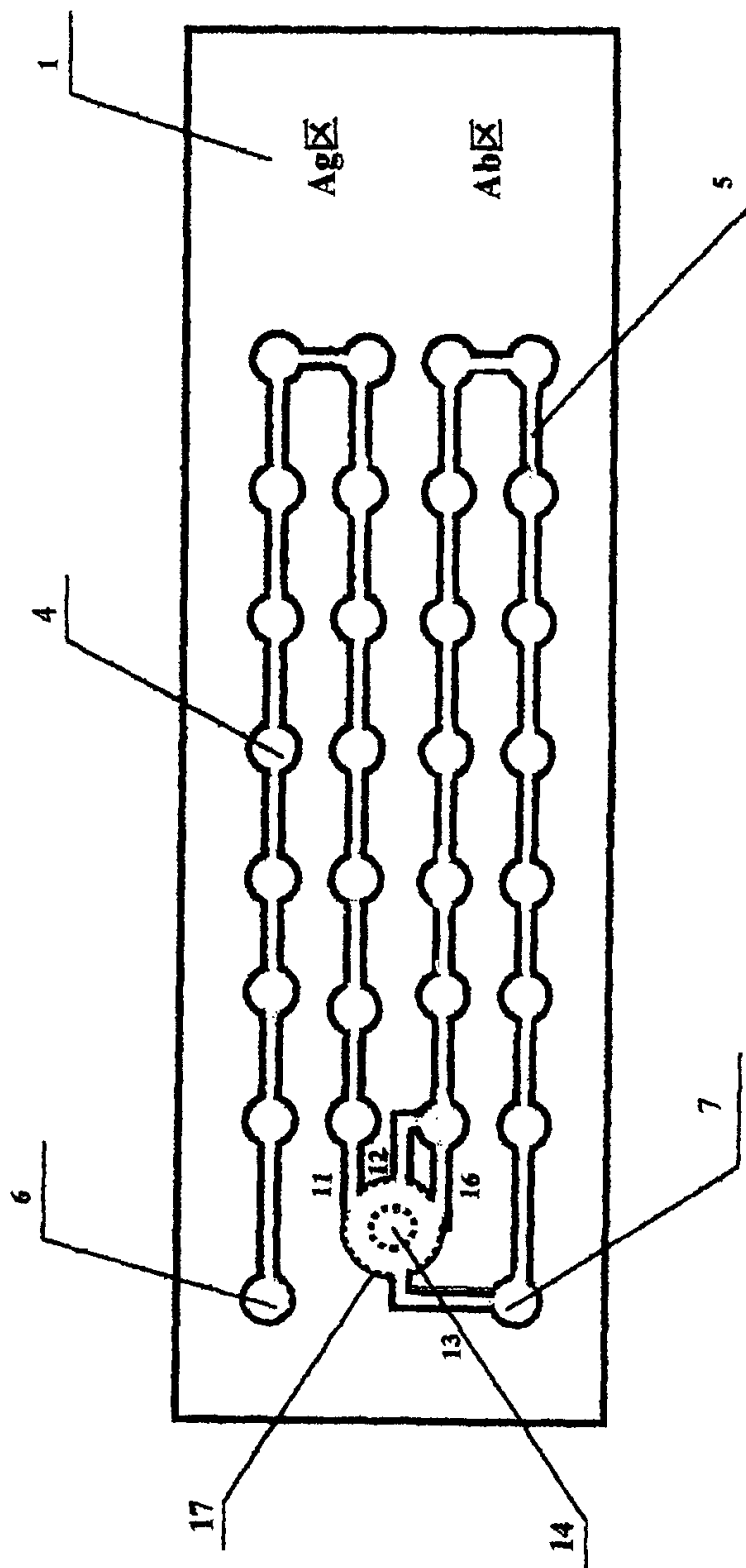


图7

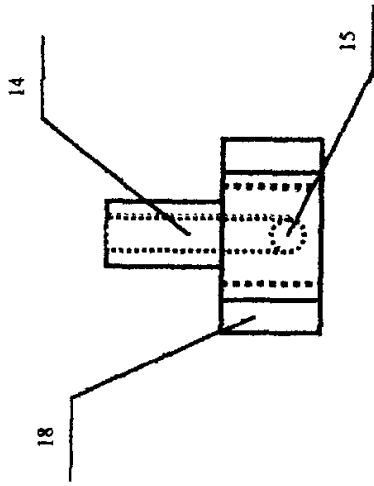


图12

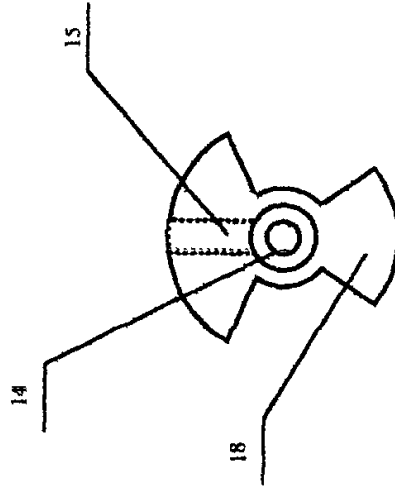


图13

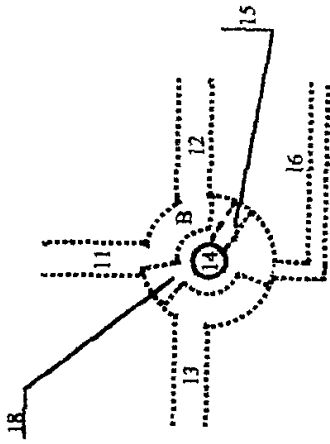


图9

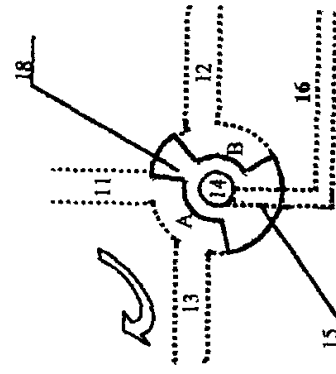


图11

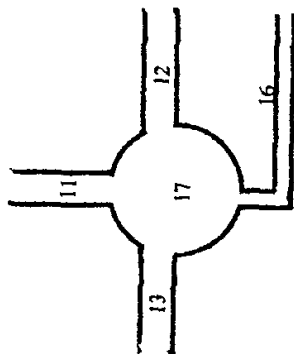


图8

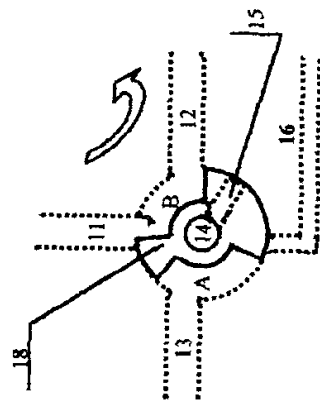


图10

说 明 书 附 图

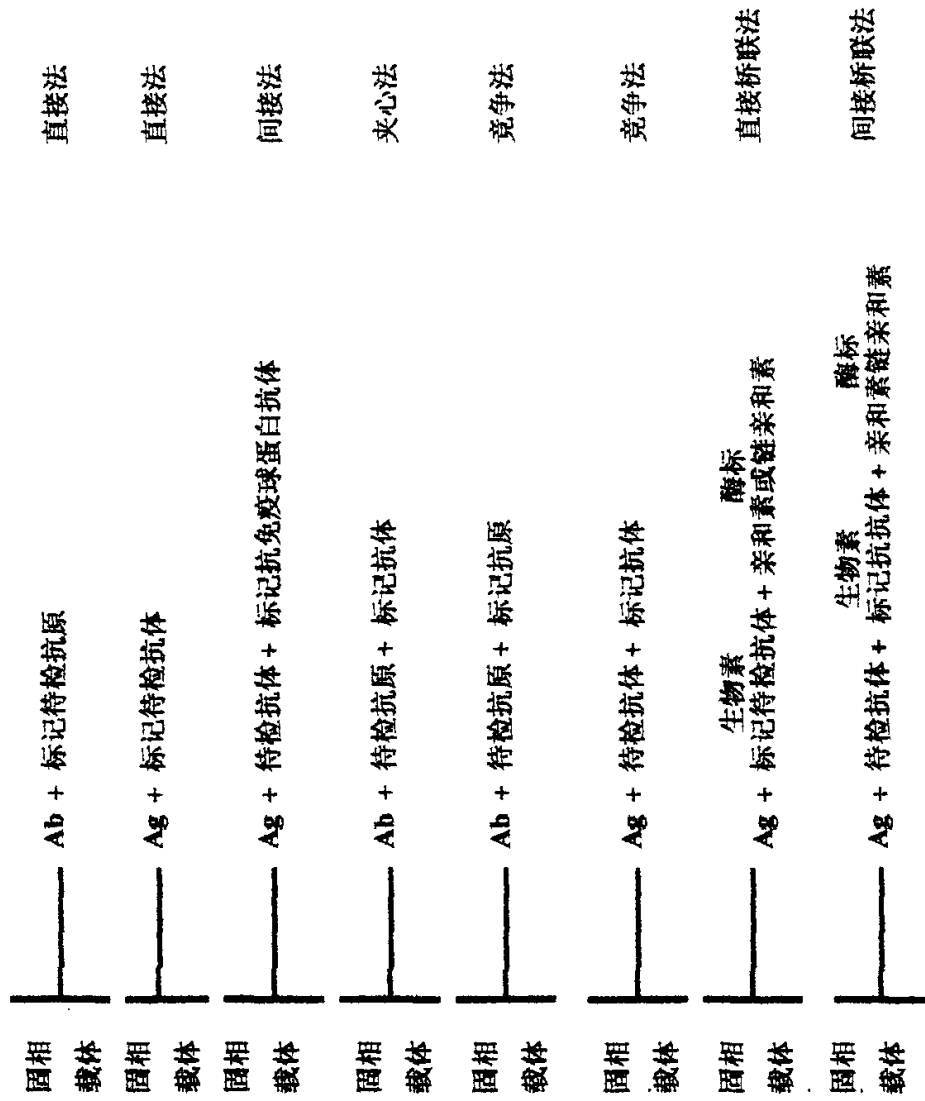


图14

专利名称(译)	一种高信息量免疫检测方法及其专用检测板		
公开(公告)号	CN1320820A	公开(公告)日	2001-11-07
申请号	CN00120798.9	申请日	2000-07-14
[标]申请(专利权)人(译)	赵翀		
申请(专利权)人(译)	赵翀		
当前申请(专利权)人(译)	赵翀		
[标]发明人	赵翀		
发明人	赵翀		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/532 G01N33/536 G01N33/551		
代理人(译)	刘芳		
优先权	00209973.X 2000-04-27 CN		
其他公开文献	CN1138981C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种新型的抗体或抗原的免疫检测方法及其专用检测板。这是一种简捷灵敏、快速及时、可一次同时检测多种不同的抗原或抗体的检测方法。技术方案的特征在于,将两种或两种以上的不同特异性抗体和/或抗原,按照一定顺序和孔的排列格式,加入并固相化在同一块微孔板上,获得免疫微孔板,然后将待检患者的标本加入该微孔板中进行反应、分析。本方法通过一次免疫微孔板检测,可获得被检标本的多种信息。解决了一种疾病多致病因素时,需做多次检测诊断,延误治疗的问题。

