

[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 200710021073.9

[51] Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)
G01N 27/416 (2006.01)
G01N 27/27 (2006.01)
G01N 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007年8月22日

[11] 公开号 CN 101021529A

[22] 申请日 2007.3.26

[21] 申请号 200710021073.9

[71] 申请人 南京大学

地址 210093 江苏省南京市汉口路22号

[72] 发明人 鞠焯先 吴洁

[74] 专利代理机构 南京苏高专利事务所
代理人 阙如生

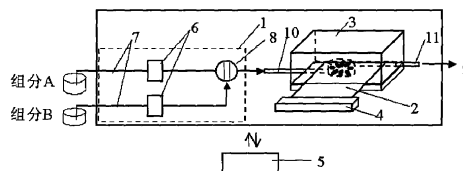
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

[54] 发明名称

多分析物同时检测的高通量检测系统及电化
学免疫分析方法

[57] 摘要

一种多分析物同时检测的高通量检测系统及电
化学免疫分析方法。利用媒介体修饰的功能化壳聚
糖膜固定抗原分子，结合竞争免疫分析方法，电极
表面的抗原分子与样品中的抗原分子竞争温育溶液
中的酶标抗体，使部分酶标抗体连接到电极表面，
催化 H_2O_2 与电极表面共价固定的甲苯胺兰的
反应，通过 H_2O_2 氧化的催化电流大小，间接
获得溶液中待测抗原的含量。电子媒介体在电极
表面的固定避免了由扩散引起的信号交叉，构造
了无干扰免疫传感器阵列。并且通过与流动注
射技术结合，实现了自动化的高通量检测输出。
该传感器阵列制备简单、成本低、分析时间短、
重现性好、灵敏度高、易于微型化和自动化，
对生命分析化学、免疫科学和临床医学的发展
具有重要的意义。



1、一种多分析物同时检测的高通量检测系统,其特征在于该系统由溶液传输部分(1)、多通道免疫传感器阵列(2)、流动检测池(3)、电化学检测器(4)和计算机(5)所构成,其中溶液传输部分(1)由存有载液的组分A和存有 H_2O_2 的组分B的玻璃试管、多通道蠕动泵(6)、连接管(7),注射阀(8)和废液部分(9)组成,连接管(7)一端通入存有载液的组分A和存有 H_2O_2 的组分B的玻璃试管中,另一端分别与多通道蠕动泵(6)、注射阀(8)和废液部分(9)相连接;多通道免疫传感器阵列(2)整合了参比电极c,对电极b和八个工作电极 a_1-a_8 ,银导线d和绝缘膜e,阵列的一端放置在密闭的流动检测池(3)内,另一端与电化学检测器(4)连接,再与计算机(5)相连接;流动检测池(3)由进样口(10)和出样口(11),容积为420 μL ;溶液传输部分(1)、流动检测池(3)和电化学检测器(4)均与由计算机(5)控制。

2、根据权利要求1所述的检测系统,其特征不在于存有载液的组分A的试管内的载液由蠕动泵(6)经连接管(7)通过注射阀(8)从进样口(10)进入流动检测池(3)中的多通道免疫传感器阵列(2)表面; H_2O_2 从组分B的试管端口由蠕动泵(6)经连接管(7)通过注射阀(8)从进样口(10)注射入流动检测池(3)中的多通道免疫传感器阵列(2)表面。

3、根据权利要求1或2所述的检测系统,其特征不在于所述的载液是0.2 mM的磷酸缓冲溶液(PBS),pH 6.5。

4、根据权利要求1所述的检测系统,其特征不在于所述的多通道蠕动泵(6)的转速是通过计算机(5)自动调节的。

5、根据权利要求1所述的检测系统,其特征不在于可通过转动注射阀(8)实现样品的注射,注射阀(8)的转动由计算机(5)控制。

6、根据权利要求1所述的检测系统,其特征不在于所述的多通道免疫传感器阵列(2)整合了一个Ag/AgCl参比电极c、一个碳对电极b和八个修饰过的工作电极 a_1-a_8 、银导线d和绝缘膜e。

7、一种多分析物同时检测的电化学免疫分析方法,其分析步骤如下:

(A)利用丝网印刷技术制备一次性电极阵列,它由八个碳工作电极 a_1 、 a_2 、 a_3 、 a_4 、 a_5 、 a_6 、 a_7 、 a_8 ;一个碳对电极b;一个Ag/AgCl参比电极c;银导线d和绝缘膜e组成;

(B)制备甲苯胺兰-壳聚糖生物相容性膜,其步骤如下:

①将壳聚糖粉末在1%的醋酸溶液中超声溶解配制成1%的壳聚糖溶液,通过0.1 M NaOH把壳聚糖溶液的pH调到5.0;

②调好pH的壳聚糖溶液与过量的戊二醛溶液,其糖单元:戊二醛=1:200,在室温下搅拌反应48小时;

③用1%醋酸溶液作为透析液,透析没有反应的戊二醛,透析三次,每次用透析液1L,透析时间为6h;

④将透析后得到的戊二醛-壳聚糖溶液与过量的甲苯胺兰溶液在室温下搅拌反应 48 小时；

⑤用 1%醋酸溶液作为透析液，透析没有反应的甲苯胺兰，透析三次，每次用透析液 1L，透析时间为 6h；

⑥最后用 2.3 mg/mL NaBH_3CN 做为还原剂还原以上得到的甲苯胺兰-壳聚糖功能化复合物，即生物相容性膜；

(C) 制备多通道免疫传感器阵列，其步骤如下：

①抗原标准溶液与甲苯胺兰-壳聚糖生物相容性膜溶液以 $V:V=1:3$ 混合，并在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 时放置 12 小时；

②各取 1 μL 上述混合液分别滴于 a1~a8 碳工作电极表面，室温下在干燥器中干燥 2~3 小时后待用；

(D) 将制备好的免疫传感器阵列 (2) 表面滴上含有多种抗原和 HRP 标记抗体的混合溶液，在饱和湿度条件下温育反应 40min；

(E) 把温育完后的免疫传感器阵列 (2) 组装入流动检测池 (3) 并与电化学检测器 (4) 相连；

(F) 组分 A 即 pH6.5 载液通过一根连接管 (7) 和多通道蠕动泵 (6) 流经注射阀 (8) 传输入流动检测池 (3)，获得基底电流信号；同时另一根连接管 (7) 和另一个多通道蠕动泵 (6) 传输组分 B 即 10.7 mM H_2O_2 到注射阀 (8)，在基线电流稳定后，转动注射阀 (8) 注射 H_2O_2 入电化学检测池 (3)，得到检测电化学信号，获得检测样品中待测抗原的含量。

多分析物同时检测的高通量检测系统及电化学免疫分析方法

一、技术领域

本发明为多分析物同时检测的高通量检测系统及电化学免疫分析方法，涉及同一样品中多种组分的同时免疫分析方法，电化学免疫分析与流动分析技术的联用，及一定时间内高通量的检测输出。

二、背景技术

免疫分析是利用抗原/抗体之间高特异性的反应实现对抗体、抗原或相关物质进行检测的一种高灵敏度、高选择性的方法，它为血清肿瘤标志物的临床免疫测定提供了有力手段。然而鉴于现有肿瘤标志物的敏感性和特异性不够理想，在实际肿瘤诊断中，经常需要通过多种肿瘤标志物的联合分析来提高诊断的准确性。

目前，多采用多次平行单组分分析来实现复杂样品中多种组分的联合分析，该模式耗费时间长、劳动量大、分析成本高。为了克服这些缺点，近年来出现了一些多组分同时免疫分析方法，主要包括多标记法和阵列法。多标记法是以不同标记物来标记不同组分的免疫试剂，通过检测不同标记物的信号得到各组分的含量。在多标记法中，对于不同组分的不同标记物，往往面临各种标志物分析条件不兼容的问题，使得分析效果大打折扣，而且可用于检测的标志物种类比较少，限制了检测组分的数目。阵列法是一种空间分辨免疫分析，它克服了多标记法检测效率低及检测数目少的缺点，近年来得到人们的广泛关注。目前在这一方面报道比较多的是光免疫传感器阵列，但该阵列利用 CCD 做为阵列检测器，成本过高，价格十分昂贵，因而难以推广 (Anal Chem 2004;76:646-54)。

电化学分析因其检测仪器简单、易于微型化，线性范围宽及灵敏度高的特点，是近年来在高通量多肿瘤标志物检测方面发展快速的分析技术。在电化学免疫传感器阵列制备中首要考虑的是如何避免由电活性物质扩散引起的信号交叉。最近有很多可同时测定多种肿瘤标志物的电化学免疫分析方法的报道 (Anal Chem 2003;75:1116-22, Anal Chem 2006;78:6476-83)。这些方法都是通过扩大电极间距来克服信号干扰，但是这种方法在很大程度上限制了多组分传感器的微型化。发展新的能有效避免信号交叉的方法是电化学免疫阵列发展的热点。

流动分析技术具有重现性好，自动化程度高，分析速度快等优点，是实现高通量分析最有效的手段之一。电化学免疫分析和流动分析技术的联用，为临床免疫分析提供了一种有力的分析工具。

三、发明内容

本发明的目的是：结合流动分析技术，提供一种多分析物同时检测的高通量检测系统；另一个目的是提供一种多分析物同时检测的电化学免疫分析方法，发展了无干扰的微型化电化学传感器阵列。

本发明的目的是通过以下的技术方案来实现：

1) 一种多分析物同时检测的高通量检测系统，如图 1 所示。其特征在于该系统由溶液传输部分 (1)、多通道免疫传感器阵列 (2)、流动检测池 (3)、电化学检测器 (4) 和计算机 (5) 所构成，其中溶液传输部分 (1) 由存有载液的组分 A 和存有 H_2O_2 的组分 B 的玻璃试管、多通道蠕动泵 (6)、连接管 (7)，注射阀 (8) 和废液部分 (9) 组成，连接管 (7) 一端通入存有载液的组分 A 和存有 H_2O_2 的组分 B 的玻璃试管中，另一端分别与多通道蠕动泵 (6)、注射阀 (8) 和废液部分 (9) 相连接，多通道免疫传感器阵列 (2) 整合了参比电极 c，对电极 b 和八个工作电极 a1-a8，银导线 d 和绝缘膜 e，阵列的一端放置在密闭的流动检测池 (3) 内，另一端与电化学检测器 (4) 连接，再与计算机 (5) 相连接；流动检测池 (3) 由进样口 (10) 和出样口 (11)，容积为 420 μL ；溶液传输部分 (1)、流动检测池 (3) 和电化学检测器 (4) 均与由计算机 (5) 控制。

上述检测系统中存有载液的组分 A 的试管内的载液由蠕动泵 (6) 经连接管 (7) 通过注射阀 (8) 从进样口 (10) 进入检测池 (3) 中的多通道免疫传感器阵列 (2) 表面； H_2O_2 从组分 B 的试管端口由蠕动泵 (6) 经连接管 (7) 通过注射阀 (8) 从进样口 (10) 注射入检测池 (3) 中的多通道免疫传感器阵列 (2) 表面。

上述检测系统中载液是 0.2 mM 的磷酸缓冲溶液 (PBS)，pH 6.5。

上述检测系统中多通道蠕动泵 (6) 的转速是可通过计算机 (5) 自动调节的。

上述检测系统中是通过转动注射阀 (8) 实现样品的注射，注射阀的转动由计算机 (5) 控制。

上述检测系统中多通道免疫传感器阵列 (2) 整合了一个 Ag/AgCl 参比电极 c、一个碳对电极 b 和八个修饰过的工作电极 a1~a8、银导线 d 和绝缘膜 e。

2) 一种多分析物同时检测的电化学免疫分析方法，如图 2 所示，其分析步骤如下：

(A) 利用丝网印刷技术制备一次性电极阵列，如图 3 所示，它由八个碳工作电极 a1、a2、a3、a4、a5、a6、a7、a8；一个碳对电极 b；一个 Ag/AgCl 参比电极 c；银导线 d 和绝缘膜 e 组成；

(B) 制备甲苯胺兰-壳聚糖生物相容性膜。其步骤如下：

① 将壳聚糖粉末在 1% 的醋酸溶液中超声溶解配制成 1% 的壳聚糖溶液，通过 0.1 M NaOH 把壳聚糖溶液的 pH 调到 5.0；

② 调好 pH 的壳聚糖溶液与超过量的戊二醛溶液(糖单元:戊二醛=1:200) 在室温下搅拌反应 48 小时；

③ 用 1% 醋酸溶液作为透析液，透析没有反应的戊二醛，透析三次，每次用透析液 1L，透析时间为 6h；

④ 将透析后得到的戊二醛-壳聚糖溶液与过量的甲苯胺兰溶液在室温下搅拌反应 48 小时；

⑤用 1%醋酸溶液作为透析液，透析没有反应的甲苯胺兰，透析三次，每次用透析液 1L，透析时间为 6h；

⑥最后用 2.3 mg/mL NaBH_3CN 做为还原剂还原以上得到的甲苯胺兰—壳聚糖功能化复合物，即生物相容性膜；

(C) 制备免疫传感器阵列。其步骤如下：

①抗原标准溶液与甲苯胺兰—壳聚糖膜溶液以 $V:V=1:3$ 混合，并在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 时放置 12 小时；

②各取 1 μL 上述混合液分别滴于 $a_1\sim a_8$ 碳工作电极表面，室温下在干燥器中干燥 2~3 小时后待用；

(D) 将制备好的免疫传感器阵列 (2) 表面滴上含有多种抗原和 HRP 标记抗体的混合溶液，在饱和湿度条件下温育反应 40min；

(E) 把温育完后的免疫传感器阵列 (2) 组装入流动检测池 (3) 并与电化学检测器 (4) 相连；

(F) 组分 A 即 pH6.5 载液 (PBS) 通过一根连接管 (7) 和多通道蠕动泵 (6) 流经注射阀 (8) 传输入流动检测池 (3)，获得基底电流信号；同时另一根连接管 (7) 和另一个多通道蠕动泵 (6) 传输组分 B 即 10.7 mM H_2O_2 到注射阀 (8)，在基线电流稳定后，转动注射阀 (8) 注射 H_2O_2 入电化学检测池 (3)，得到检测电化学信号，获得检测样品中待测抗原的含量。

该传感器阵列一次最多可同时检测八种肿瘤标志物。温育完后的传感器阵列，从组装到流动检测池到检测完毕总共需要 60s，能实现一小时 60 个样品的高通量检测。

3) 本多分析物同时检测的电化学免疫分析方法工作原理：用一次性印刷电极为基础电极制备多通道免疫传感器阵列，以甲苯胺兰—壳聚糖功能化膜构造生物相容性好的仿生界面，用于抗原分子在电极表面的固定，结合竞争免疫分析原理，利用酶对底物的催化反应产生的电化学活性物质的安培响应，间接获得溶液中待测抗原的含量。

本发明与现有技术相比，具有以下的特点：

本发明利用甲苯胺兰—壳聚糖生物相容性膜来固定抗原分子，通过电化学免疫分析和流动分析技术的结合，提出了多分析物同时检测的电化学免疫分析方法及高通量检测系统。相对于其他多组分免疫分析方法，具有以下特点：

(1) 电化学检测设备简单，成本低廉，易于微型化。

(2) 利用化学修饰和丝网印刷技术制备一次性免疫传感器阵列，制备简单，成本低廉，可批量生产，携带方便，具有很好的精确性、重复性、稳定性及市场竞争力。

(3) 利用甲苯胺兰-壳聚糖生物相容性膜固定抗原分子, 实现了抗原分子和电子媒介体在电极表面的同时固定, 即简化了检测步骤, 又克服了在多通道同时检测中由电活性分子扩散引起的信号交叉, 避免了传统的通过扩大电极间距来消除信号交叉的思想, 有利于多通道免疫传感器阵列的微型化。

(4) 结合电化学免疫分析和流动注射分析, 操作简单, 全分析过程均在流动体系中完成, 手工操作极少, 无需熟练操作人员, 可通过计算机自动化程序实现全程分析控制。

(5) 成功实现多组分免疫分析的高通量输出。此免疫传感器阵列一次最多可同时检测八种肿瘤标志物。温育完后的传感器阵列, 从组装到流动检测池到检测完毕总共需要 60s, 实现了一小时 60 个样品的高通量检测。

四、附图说明

图 1 多分析物同时检测的高通量检测系统的结构示意图: 1—溶液传输部分, 2—多通道免疫传感器阵列, 3—流动检测池, 4—电化学检测器, 5—计算机, 6—多通道蠕动泵, 7—连接管, 8—注射阀, 9—废液, 10—进样口, 11—出样口。

图 2 多分析物同时检测的电化学免疫分析方法原理示意图

图 3 多通道免疫测定阵列示意图: a1、a2、a3、a4、a5、a6、a7、a8—八个碳工作电极, b—碳对电极, c—Ag/AgCl 参比电极, d—银导线和 e—绝缘膜。

五、具体实施方式

实施例 1 结合附图 1 对多分析物同时检测的高通量检测系统作进一步说明: 多分析物同时检测的高通量检测系统由溶液传输部分 (1)、多通道免疫传感器阵列 (2)、流动检测池 (3)、电化学检测器 (4) 和计算机 (5) 构成, 其中溶液传输部分 (1) 由存有载液的组分 A 和存有 H_2O_2 的组分 B 的玻璃试管、多通道蠕动泵 (6)、连接管 (7), 注射阀 (8) 和废液部分 (9) 组成, 连接管 (7) 一端通入存有载液的组分 A 和存有 H_2O_2 的组分 B 的玻璃试管中, 另一端分别与多通道蠕动泵 (6)、注射阀 (8) 和废液部分 (9) 相连接; 多通道免疫传感器阵列 (2) 整合了参比电极 c, 对电极 b 和八个工作电极 a1—a8, 银导线 d 和绝缘膜 e, 阵列的一端置于密闭的流动检测池 (3) 内, 另一端与电化学检测器 (4) 连接, 再与计算机 (5) 相连接; 流动检测池 (3) 由进样口 (10) 和出样口 (11), 容积为 420 μL ; 把温育完的免疫传感器阵列 (2) 组装入流动检测池 (3) 并与电化学检测器 (4) 相连, pH 6.5 的 PBS 溶液做为组分 A 通过一根连接管 (7) 和多通道蠕动泵 (6) 流经注射阀 (8) 传输入流动检测池 (3), 载速为 3.6 mL/min, 获得基底电流信号; 同时另一根连接管 (7) 和另一个多通道蠕动泵 (6) 传输组分 B 即 10.7 mM H_2O_2 到注射阀 (8), 在基线电流稳定后, 转动注射阀 (8) 注射 H_2O_2 入电化学检测池 (3), 得到检测电化学信号, 获得检测样品中待测抗原的含量; 一根连接管 (7) 连在电化学检测池的出口端导出废

液(9);全分析系统皆由计算机进行自动化控制。此多分析物同时检测的高通量检测系统,一次最多可同时检测八种肿瘤标志物。温育完后的传感器阵列,从组装到流动检测池到检测完毕总共需要60s,能实现一小时60个样品的高通量检测。

实施例2 多分析物同时检测的电化学免疫分析方法:

1) 利用丝网印刷技术在PVC薄膜上制备一次性电极阵列,如图3所示,它由八个碳工作电极a₁、a₂、a₃、a₄、a₅、a₆、a₇、a₈;一个碳对电极b;一个Ag/AgCl参比电极c;银导线d和绝缘膜e组成;制作过程如下:先在PVC薄膜上印刷银导电层,然后在工作电极和碳对电极的部位上印刷上碳浆形成碳工作电极和碳对电极,其次在参比电极的部位上印刷上Ag/AgCl浆形成Ag/AgCl参比电极,最后印刷上绿油绝缘膜。相邻工作电极间距为0.5mm。

2) 制备甲苯胺兰-壳聚糖生物相容性膜。将壳聚糖粉末在1%的醋酸溶液中超声溶解配制成1%的壳聚糖溶液,通过0.1 mM NaOH把壳聚糖溶液的pH调到5.0。此调好pH的壳聚糖溶液与过量的戊二醛溶液(糖单元:戊二醛=1:200)在室温下搅拌反应48小时,然后用1%醋酸溶液作为透析液,透析没有反应的戊二醛,透析三次,每次用透析液1L。将透析后得到的戊二醛-壳聚糖溶液与过量的甲苯胺兰溶液在室温下搅拌反应48小时,反应完后同样用1%醋酸溶液作为透析液,透析没有反应的甲苯胺兰,透析三次,每次用透析液1L,最后用2.3 mg/mL NaBH₃CN做为还原剂还原以上得到的甲苯胺兰-壳聚糖功能化复合物,最终得到稳定的功能化壳聚糖复合物。整个透析过程所需时间用紫外监控,用紫外和红外同时对复合物的形成进行了表征。

3) 制备免疫传感器阵列。将一定浓度的标准待测肿瘤标志物(抗原)溶液与上述制备的甲苯胺兰-壳聚糖膜溶液以V:V=1:3混合均匀并在4℃时放置12小时,各吸取1 μL上述混合液分别滴于a₁~a₈碳工作电极表面,获得包含固定不同肿瘤相关抗原分子功能化膜修饰的八个工作电极。

4) 测定肿瘤标志物

4.1 测定原理:基于竞争反应模式,将样品(抗原)和特定浓度的多种酶标抗体溶液的混合液作为温育液,利用免疫芯片上固定的不同抗原和样品抗原竞争反应温育液中相对应的辣根过氧化物酶标记的酶标抗体,从而使辣根过氧化物酶固定在电极表面。流动注射多组分同时电化学检测是利用各个免疫传感器上捕获的HRP,在甲苯胺兰存在下催化注射入的H₂O₂的还原。通过催化电流的大小间接检测待测抗原的含量。

4.2 测定过程

(1) 免疫测定条件的优化,包括检测电位-0.5V、温育时间40min、温育温度室

温、pH 值 6.5、注射的 H_2O_2 浓度 10.7mM 和反应溶液中各酶标抗体的浓度。

(2) 交叉干扰反应实验，包括非特异性免疫交叉反应和信号交叉干扰响应。

(3) 配制一系列含不同浓度的待测抗原标准溶液和固定量酶标记抗体的温育液，在最佳测定条件下，分别测定出标记酶催化 H_2O_2 与电子传递媒介体的反应的催化电流，得到该待测抗原的测定标准曲线。

实施例 3

以癌胚抗原 (CEA)、甲胎蛋白 (AFP)、卵巢癌相关抗原 (CA125) 和人绒毛膜促性腺素 (hCG) 为例说明多分析物同时检测的电化学免疫分析及高通量检测系统的应用。

将 75 ng/mL CEA、500 ng/mL AFP、500 U/mL CA125、400 mIU/mL hCG 标准溶液分别与制备好的甲苯胺兰—壳聚糖溶液以 1:3(V:V) 混合均匀并在 4°C 下放置 12 小时。上述混合溶液各取 1 μL 分别滴涂于八个工作电极表面，室温下干燥 2-3 小时。室温干燥的情况下保存待用。

对四个体系同时进行测定条件的优化，选择最佳检测电位 -0.5V、温育时间 40min、温育温度室温、pH 值 6.5、注射的 H_2O_2 浓度为 10.7 mM、反应溶液中 CEA、AFP、CA125、hCG 酶标抗体的稀释度分别为 1:70、1:70、1:80 和 1:50。

制备一系列标准 CEA、AFP、CA125、hCG 抗原和固定量酶标抗体的温育液，在优化的实验条件下，免疫检测阵列在配制的一系列温育液中进行温育，温育完后测定标记 HRP 催化氧化 H_2O_2 的催化电流，分别获得 CEA、AFP、CA125、hCG 测定的标准曲线。再利用标准曲线法，测定临床血清样品中这四种肿瘤标志物的浓度。血清样品测定时通过取 10 μL 血清样品和 50 μL 混合酶标抗体溶液配制血清样品的温育液。

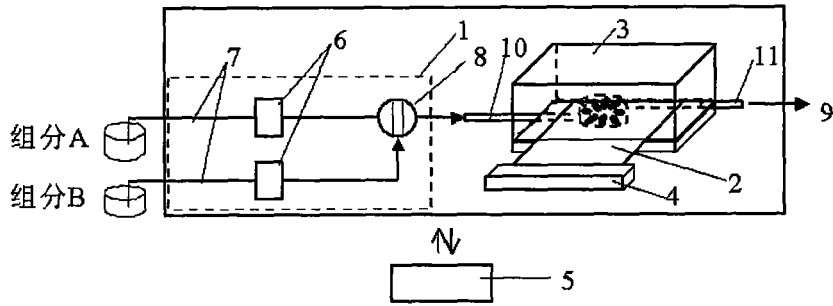


图 1

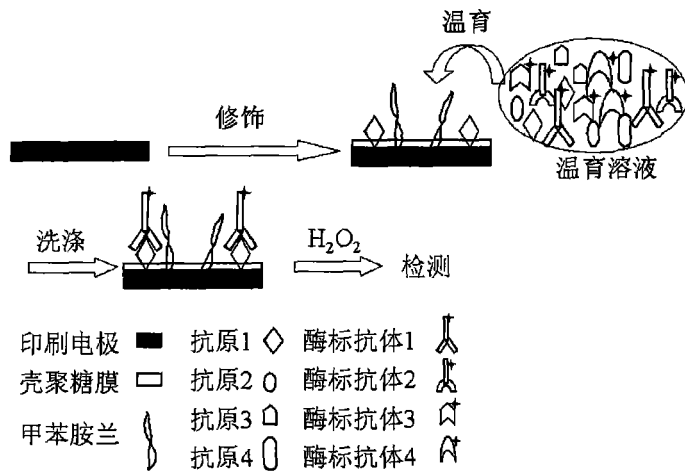


图 2

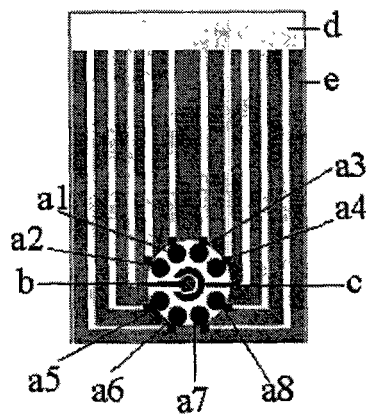


图 3

专利名称(译)	多分析物同时检测的高通量检测系统及电化学免疫分析方法		
公开(公告)号	CN101021529A	公开(公告)日	2007-08-22
申请号	CN200710021073.9	申请日	2007-03-26
[标]申请(专利权)人(译)	南京大学		
申请(专利权)人(译)	南京大学		
当前申请(专利权)人(译)	南京大学		
[标]发明人	鞠焯先 吴洁		
发明人	鞠焯先 吴洁		
IPC分类号	G01N33/53 G01N27/416 G01N27/27 G01N35/00		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种多分析物同时检测的高通量检测系统及电化学免疫分析方法。利用媒介体修饰的功能化壳聚糖膜固定抗原分子，结合竞争免疫分析方法，电极表面的抗原分子与样品中的抗原分子竞争温育溶液中的酶标抗体，使部分酶标抗体连接到电极表面，催化H₂O₂与电极表面共价固定的甲苯胺兰的反应，通过H₂O₂氧化的催化电流大小，间接获得溶液中待测抗原的含量。电子媒介体在电极表面的固定避免了由扩散引起的信号交叉，构造了无干扰免疫传感器阵列。并且通过与流动注射技术结合，实现了自动化的高通量检测输出。该传感器阵列制备简单、成本低、分析时间短、重现性好、灵敏度高、易于微型化和自动化，对生命分析化学、免疫科学和临床医学的发展具有重要的意义。

