



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108196046 A

(43)申请公布日 2018.06.22

(21)申请号 201611119464.X

(22)申请日 2016.12.08

(71)申请人 丹阳亿太生物科技发展有限公司  
地址 212009 江苏省镇江市丹阳市开发区  
八纬路留学生创业园

(72)发明人 杜霞 洪霞 刘静

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

权利要求书2页 说明书5页 附图2页

### (54)发明名称

一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法

### (57)摘要

本发明涉及一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法,所述酶联免疫检测方法包括以下步骤:  
①合成赤霉素半抗原;②合成赤霉素完全抗原,赤霉素完全抗原包括赤霉素免疫抗原和赤霉素包被抗原;③制备赤霉素多克隆抗体;④酶标抗原的制备;⑤用赤霉素包被抗原包被酶标板;⑥相关溶液的配制;⑦检测。该赤霉素的酶联免疫检测方法能够现场大量快速检测土壤、水、农产品等样品中残留的赤霉素,该方法灵敏度、准确度和精密度高,该酶联免疫检测方法用包被抗原预包被酶标板,节约了赤霉素抗体的用量,而且克服了直接包被抗体不利于试剂盒长期保存的问题。

1. 一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:所述酶联免疫检测方法包括以下步骤:

①合成赤霉素半抗原,包括赤霉素半抗原前体的合成和赤霉素半抗原的合成;

②并用步骤①中所述的赤霉素半抗原合成赤霉素完全抗原,所述赤霉素完全抗原包括赤霉素免疫抗原和赤霉素包被抗原;所述赤霉素免疫抗原是用N,N'-二环己基碳二亚胺法将所述赤霉素半抗原与牛血清白蛋白共价偶联所得,所述赤霉素包被抗原是用N,N'-二环己基碳二亚胺法将所述赤霉素半抗原与鸡卵清白蛋白共价偶联所得;

③制备赤霉素多克隆抗体:a.将步骤②中所述的赤霉素免疫抗原与弗氏佐剂充分混合,形成油包水的结构为止;b.将步骤a中形成油包水的结构后立即对免疫动物进行免疫注射,免疫注射的次数为4~7次;c.测定血清中抗赤霉素抗体效价;d.用辛酸-硫酸铵法进行纯化,得到对赤霉素具有特异性反应的所述赤霉素多克隆抗体;

④酶标抗原的制备:采用混合酸酐法将羊抗兔或羊抗鼠与辣根过氧化物酶共价偶联制得所述酶标抗原;

⑤用步骤②中所述的赤霉素包被抗原包被酶标板,洗涤去除游离物并封闭,所述酶标板96孔或48孔的聚苯乙烯微孔板;所述封闭采用封闭液进行进行封闭,所述封闭液为非牛源血清白蛋白的磷酸盐缓冲液溶液;

⑥准备洗涤液、底物显色液、反应终止液、磷酸盐缓冲液、碳酸盐缓冲液以及封闭液;

⑦在步骤⑤中所述的酶标板的微孔条中加入赤霉素标样或待测样品和所述的赤霉素多克隆抗体,反应60~70分钟后,倒出微孔条中的液体,用所述洗涤液进行洗涤;再加入步骤③所述的酶标抗原,反应60~70分钟后,倒出微孔条中的液体,用所述洗涤液进行洗涤;加入所述的底物显色液,反应30min,再加入所述的反应终止液,测定OD值。

2. 根据权利要求1所述的赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:所述赤霉素免疫抗原和赤霉素包被抗原通过紫外吸收光谱法进行鉴定。

3. 根据权利要求1所述的赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:所述赤霉素半抗原前体的合成方法为:①在反应瓶中加入11.1g P<sub>5</sub>S<sub>2</sub>,逐滴滴入无水乙醇9.66g,在75~85℃下,搅拌,溶液呈淡黄色后,停止反应,得到硫化物;②反应瓶中加入步骤①中所得的硫化物,在室温条件下,滴加10g 30%甲醛水溶液,磁力搅拌20min后,加入7.9g 2-巯基乙醇在60℃反应5h,柱色谱层析,得到所述赤霉素半抗原前体。

4. 根据权利要求1所述的赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:所述赤霉素半抗原的合成方法为:在反应瓶中加入所述赤霉素半抗原前体与丁二酸酐,以4-二甲氨基吡啶作为催化剂进行反应,得所述赤霉素半抗原,该赤霉素半抗原上的羧基能够与蛋白质共价偶联。

5. 根据权利要求1所述的赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:步骤②中所述免疫动物为兔、羊、狗或鼠。

6. 根据权利要求5所述的赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:所述免疫动物为雄性新西兰大白兔。

7. 根据权利要求1所述的赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:所述赤霉素多克隆抗体能够用赤霉素单克隆抗体或赤霉素基因工程抗体中的一种代替。

8. 根据权利要求7所述的赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:所述赤霉素单

克隆抗体的制备方法:a.用所述赤霉素免疫抗原免疫小鼠,得血液里含有赤霉素的鼠的细胞;b.将鼠的细胞与骨髓瘤细胞融合,筛选阳性孔,并对所述阳性孔进行克隆化,得到单克隆抗体的杂交瘤细胞株;c.采用体内诱生法,得到所述的赤霉素单克隆抗体。

9.根据权利要求7所述的赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:所述赤霉素基因工程抗体是将赤霉素免疫抗原免疫小鼠,提取小鼠脾细胞RNA,以逆转录得到的cDNA为模板,PCR扩增抗体,将抗体中的轻链、重链连接成ScFv酶切经PCR扩增的ScFv片段,并与噬菌体载体连接,转化入大肠杆菌进行表达,纯化,得到所述赤霉素基因工程抗体。

10.根据权利要求1所述的赤霉素残留的酶联免疫检测方法,其特征在于:步骤⑥中所述的操作过程是在37℃下进行反应的。

## 一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及药物领域中一种诊断方法,具体涉及一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法。

### 背景技术

[0002] 赤霉素,是广泛存在的一类植物激素。其化学结构属于二萜类酸,由四环骨架衍生而得。可刺激叶和芽的生长。已知的赤霉素类至少有38种。赤霉素应用于农业生产,在某些方面有较好效果。例如提高无籽葡萄产量,打破马铃薯休眠;在酿造啤酒时,用GA3来促进制备麦芽糖用的大麦种子的萌发;当晚稻遇阴雨低温而抽穗迟缓时,用赤霉素处理能促进抽穗;或在杂交水稻制种中调节花期以使父母本花期相遇等。

[0003] 赤霉素是农业生产中用途广泛、用量很大的一种植物生长调节剂,使用一定浓度的赤霉素能起到提高产量、改善品质的重要作用,但赤霉素已经严重过量使用,不仅降低农作物品质也可能使赤霉素残留超标,危害人们的健康。因此,发明一种快速检准确检测赤霉素的方法尤为重要。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法,该方法能够现场大量快速检测土壤、水、农产品等样品中残留的赤霉素,该方法灵敏度、准确度和精密度高,该酶联免疫检测方法用包被抗原预包被酶标板,节约了赤霉素抗体的用量,而且克服了直接包被抗体不利于试剂盒长期保存的问题。

[0005] 本发明的目的是通过以下技术方案来实现:

一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法,所述酶联免疫检测方法包括以下步骤:

①合成赤霉素半抗原,包括赤霉素半抗原前体的合成和赤霉素半抗原的合成;

②并用步骤①中所述的赤霉素半抗原合成赤霉素完全抗原,所述赤霉素完全抗原包括赤霉素免疫抗原和赤霉素包被抗原;所述赤霉素免疫抗原是用N,N'-二环己基碳二亚胺法将所述赤霉素半抗原与牛血清白蛋白(BSA)共价偶联所得,所述赤霉素包被抗原是用N,N'-二环己基碳二亚胺法将所述赤霉素半抗原与鸡卵清白蛋白(OVA)共价偶联所得;

③制备赤霉素多克隆抗体:a.将步骤②中所述的赤霉素免疫抗原与弗氏佐剂充分混合,形成油包水的结构为止;b.将步骤a中形成油包水的结构后立即对免疫动物进行免疫注射,免疫注射的次数为4~7次;c.测定血清中抗赤霉素抗体效价;d.用辛酸-硫酸铵法进行纯化,得到对赤霉素具有特异性反应的所述赤霉素多克隆抗体;

④酶标抗原的制备:采用混合酸酐法将羊抗兔或羊抗鼠与辣根过氧化物酶共价偶联制得所述酶标抗原;

⑤用步骤②中所述的赤霉素包被抗原包被酶标板,洗涤去除游离物并封闭,所述酶标板96孔或48孔的聚苯乙烯微孔板;所述封闭采用封闭液进行进行封闭,所述封闭液为非牛源血清白蛋白的磷酸盐缓冲液溶液;

⑥准备洗涤液、底物显色液、反应终止液、磷酸盐缓冲液、碳酸盐缓冲液以及封闭液；

⑦在步骤⑤中所述的酶标板的微孔条中加入赤霉素标样或待测样品和所述的赤霉素多克隆抗体，反应60~70分钟后，倒出微孔条中的液体，用所述洗涤液进行洗涤；再加入步骤③所述的酶标抗原，反应60~70分钟后，倒出微孔条中的液体，用所述洗涤液进行洗涤；加入所述的底物显色液，反应30min，再加入所述的反应终止液，测定OD值。

[0006] 进一步地，所述赤霉素免疫抗原和赤霉素包被抗原通过紫外吸收光谱法进行鉴定。

[0007] 进一步地，所述赤霉素半抗原前体的合成方法为：①在反应瓶中加11.1gP<sub>5</sub>S<sub>2</sub>，逐滴滴入无水乙醇9.66g，在75~85℃下，搅拌，溶液呈淡黄色后，停止反应，得到硫化物；②反应瓶中加入步骤①中所得的硫化物，在室温条件下，滴加10g 30%甲醛水溶液，磁力搅拌20min后，加入7.9g 2-巯基乙醇在60℃反应5h，柱色谱层析，得到所述赤霉素半抗原前体。

[0008] 进一步地，所述赤霉素半抗原的合成方法为：在反应瓶中加入所述赤霉素半抗原前体与丁二酸酐，以4-二甲氨基吡啶(DMAP)作为催化剂进行反应，得所述赤霉素半抗原，在反应过程中将所述赤霉素半抗原前体上的特征基团羟基衍生为羧基，该赤霉素半抗原上的羧基能够与后续反应中的蛋白质共价偶联。

[0009] 进一步地，所述酶标抗原是采用混合酸酐法将半抗原与辣根过氧化物酶共价偶联而成。

[0010] 进一步地，步骤⑥中所述的操作过程是在37℃下进行反应的。

[0011] 进一步地，所述免疫动物为雄性新西兰大白兔。

[0012] 进一步地，所述赤霉素多克隆抗体能够用赤霉素单克隆抗体或赤霉素基因工程抗体中的一种代替。

[0013] 进一步地，所述赤霉素单克隆抗体的制备方法：a.用所述赤霉素免疫抗原免疫小鼠，得血液里含有赤霉素的鼠的细胞；b.将鼠的细胞与骨髓瘤细胞融合，筛选阳性孔，并对所述阳性孔进行克隆化，得到单克隆抗体的杂交瘤细胞株；c.采用体内诱生法，得到所述的赤霉素单克隆抗体。

[0014] 进一步地，所述赤霉素基因工程抗体是将赤霉素免疫抗原免疫小鼠，提取小鼠脾细胞RNA，以逆转录得到的cDNA为模板，PCR扩增抗体，将抗体中的轻链、重链连接成ScFv(single-chain variable fragment)酶切经PCR扩增的ScFv片段，并与噬菌体载体连接，转化入大肠杆菌进行表达，纯化，得到所述赤霉素基因工程抗体。

[0015] 本发明提供了一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法，该酶联免疫检测方法主要的有益效果包括以下步骤：

1.本发明采用包被抗原预包被酶标板，节约了赤霉素抗体的用量，而且克服了直接包被抗体不利于试剂盒长期保存的问题。

[0016] 2.本发明采用了高特异性，高亲和力的赤霉素抗体，提高了检测的灵敏度，准确度和精密度。

[0017] 3.本发明用于土壤，水，农产品等样品中赤霉素的的残留检测，操作简单，快速，能同时检测大批量样品，成本远低于传统赤霉素检测方法，适用于农药赤霉素现场监控的痕量分析，具有重要的现实意义。

## 附图说明

[0018] 下面根据附图对本发明作进一步详细说明：

图1是本发明实施例所述的赤霉素半抗原的紫外吸收图谱。

[0019] 图2是本发明实施例所述的牛血清白蛋白 (BSA) 的紫外吸收图谱。

[0020] 图3是本发明实施例所述的赤霉素免疫抗原的紫外吸收图谱。

[0021] 图4是本发明实施例所述的鸡卵清白蛋白 (OVA) 的紫外吸收图谱。

[0022] 图5是本发明实施例所述的赤霉素包被抗原的紫外吸收图谱。

## 具体实施方式

[0023] 本发明实施例所述的一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法,该检测赤霉素的酶联免疫方法是:首先将包被抗原吸附于固相载体上,然后加入待测样本(即待测农药)和人工制备的赤霉素抗体(包括多克隆抗体、单克隆抗体或基因工程抗体),再加入酶标抗原,酶标抗原与待测农药竞争赤霉素抗体,若待测农药含量高,则与赤霉素抗体结合的酶标抗原就少,反之结合的酶标抗原就多,反应后加入底物显色液加以测定,当赤霉素抗体量一定时,加入待测农药越多,与赤霉素抗体结合的酶标抗原就越少,发色反应减弱,抑制率增高,反之,则发色反应增强,抑制率减弱,因而根据已知量的赤霉素标准曲线和待测样本的抑制率,再根据抑制率与赤霉素浓度之间的半对数关系得到标准曲线,从而推算出待测物的浓度。

[0024] 下面以具体实验案例为例来说明具体实施方式,应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

### [0025] 实施例1

几种溶液的配制:

(1) 0.01mol/L磷酸盐缓冲液 (PBS, PH7.4) : $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0.20g;

(2) 洗涤液 (PBST) :0.05%吐温-20的PBS;

(3) 0.05mol/L碳酸盐缓冲液 (CBS, PH9.6) : $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 1.59g; $\text{NaHCO}_3$ 2.93g,用双蒸水定容至1L;

(4) 封闭液:取5mL非牛源血清蛋白加入到100mL的0.01mol/L磷酸盐缓冲液 (PBS, PH7.4) 中定容;

(5) 反应终止液 (2mol/L $\text{H}_2\text{SO}_4$ 溶液):取50mL浓 $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,缓慢加入到410mL双蒸水中,不断搅拌使之均匀散热,防止爆沸。

[0026] (6) 取96孔酶标板,以0.05mol/L PH9.6碳酸盐缓冲溶液稀释的赤霉素包被抗原,于4℃包被16h,每孔100 $\mu\text{L}$ ,经洗涤液 (PBST) 洗涤后,以2.5%非牛源血清蛋白在37℃下封闭0.5h,每孔100 $\mu\text{L}$ ,PBST洗涤(3次),拍干,保存备用。

### [0027] 实施例2

#### 1、碳二亚胺法合成赤霉素免疫抗原

称取42mg赤霉素半抗原溶于1mLN,N-二甲基甲酰胺中,记为溶液A,另取40mg N,N'-二环己基碳二亚胺溶于1mLN,N-二甲基甲酰胺,记为溶液B,然后将溶液B缓慢加入到溶液A中,室温下磁力搅拌反应过夜;然后将上述反应液加入到0.2mol/L PH9.0的硼酸盐缓冲溶液

8mL (溶解80mg BSA) 中,磁力搅拌下反应5h。待反应完成后,装入透析袋,用PH7.4的磷酸缓冲溶液透析,每天更换缓冲液4次,透析3天。冷冻干燥后,即得赤霉素免疫抗原(D-BSA), $-20^{\circ}\text{C}$ 保存。

#### [0028] 2、碳二亚胺法合成赤霉素包被抗原

称取42mg赤霉素半抗原溶于1mLN,N-二甲基甲酰胺中,记为溶液A,另取40mg N,N'-二环己基碳二亚胺溶于1mL N,N-二甲基甲酰胺,记为溶液B;然后将溶液B缓慢加入到溶液A中,室温下磁力搅拌反应过夜;将上述反应液加入到0.2mol/L PH9.0的硼酸盐缓冲溶液9mL (溶解135mgOVA) 中,磁力搅拌下反应5h;待反应完成后,装入透析袋,用PH7.4的磷酸缓冲溶液透析,每天更换缓冲液4次,透析3天;冷冻干燥后,即得免疫抗原(D-OVA), $-20^{\circ}\text{C}$ 保存。

#### [0029] 实施例3

本发明采用了赤霉素半抗原与蛋白质的偶联的方法合成赤霉素完全抗原,紫外分光光度计扫描图象,如图1~5所示。赤霉素半抗原与载体蛋白偶联后,偶联物的紫外吸收光谱兼具载体蛋白和赤霉素半抗原的特征,因此可知赤霉素半抗原已经与载体蛋白质偶联成功。具体分析如下:

N,N'-二环己基碳二亚胺法将赤霉素半抗原与BSA偶联为赤霉素免疫抗原同BSA和赤霉素半抗原的紫外吸收光谱明显不同。赤霉素半抗在310.00nm处有一个吸收峰,如图1所述。BSA在209.00nm处有吸收峰,如图2所述。而偶联后的化合物在230.00nm,280.00nm处有吸收峰,如图3所述,230.00nm处的吸收峰具有BSA的特征,并发生了红移,在280.00nm的吸收峰保留了赤霉素半抗原衍生物的吸收峰的特征,而且吸收峰发生了蓝移。由此可以推断偶联后的化合物依然保留着蛋白质的性质,但是它的某些基团已经被修饰,说明赤霉素半抗原衍生物已经偶联在BSA上。按公式计算偶联物的结合比,经计算,半抗原衍生物与BSA的结合比为12:1。

[0030] 赤霉素半抗原与OVA偶联为赤霉素包被抗原的紫外吸收光谱也明显不同于赤霉素半抗原、OVA的吸收光谱。赤霉素半抗原在310.00nm处有吸收峰,如图1所述;OVA在220.00nm有吸收峰,如图4所述。而偶联后的化合物在235.00nm、279nm处有吸收峰,如图5所述,偶联后的光谱保持了OVA的特征吸收峰并发生了红移,而赤霉素半抗原衍生物的吸收峰发生了蓝移,说明赤霉素半抗原衍生物已经成功偶联在OVA上。按公式计算偶联物的结合比,经计算,半抗原与OVA的结合比为10:1。

#### [0031] 实施例4

①赤霉素多克隆抗体的制备:a.将所述的赤霉素免疫抗原与弗氏佐剂充分混合,形成油包水的结构为止,形成油包水的状态才能顺利将赤霉素免疫抗原在弗氏佐剂的辅助下刺激免疫动物的免疫系统,快速的产生效价较高的抗赤霉素抗体;b.将步骤a中形成油包水的结构后立即对免疫动物,即4只雄性新西兰大白兔进行免疫注射,如间隔时间太长,在佐剂的作用下,稠度增强,造成免疫失败;免疫注射的次数为4~7次;c.注射后,测定血清中抗赤霉素抗体效价,有2只雄性新西兰大白兔的抗血清的效价较高,另2只抗血清的效价较低,这说明动物间个体差异可以影响赤霉素多克隆抗体效价;经过6次免疫后效价达到了32000倍;d.赤霉素多克隆抗体的纯度对检测有很大影响,必须对抗体进行纯化,用辛酸-硫酸铵法对其进行纯化,得到对赤霉素具有特异性反应的所述赤霉素多克隆抗体,该赤霉素多克隆抗体的效价提高到50000倍。

[0032] ②赤霉素单克隆抗体的制备:a.用所述赤霉素免疫抗原免疫小鼠,可得血液里含有赤霉素的脾细胞;b.将鼠的脾细胞与骨髓瘤细胞融合,用间接酶联免疫方法测定细胞上清液,筛选阳性孔,并对所述阳性孔进行克隆化,得到单克隆抗体的杂交瘤细胞株;c.取处于对数生长期的杂交瘤细胞,并将其制成细胞悬浮液,再在液氮中进行长期保存;d.使用时,将冷冻保存的杂交瘤细胞取出,放置在30~40℃下片刻,然后离心去除冷冻液后,培养;e采用体内诱生法,得到所述的赤霉素单克隆抗体。

[0033] ③赤霉素基因工程抗体的制备:将赤霉素免疫抗原免疫小鼠,提取小鼠脾细胞RNA,以逆转录得到的cDNA为模板,PCR扩增抗体,将抗体中的轻链、重链连接成ScFv (single-chain variable fragment)酶切经PCR扩增的ScFv片段,并与噬菌体载体连接,转化入大肠杆菌进行表达,纯化,得到所述赤霉素基因工程抗体。

#### [0034] 实施例5

赤霉素试剂盒的操作方法:取出一块包被有赤霉素包被抗原且封闭好的酶标板,恢复到室温后备用;加入50μL标样或处理好的样品到各自孔中,标样和样品各做3个重复;加入赤霉素多克隆抗体,每孔50μL,37℃孵育1h;倒出孔中的液体,将酶标板倒置在吸水纸上拍打,以保证完全除去孔中的液体,用100μL稀释好的PBST洗3次,拍干;然后加入50μL稀释的酶标二抗,37℃孵育1h;倒出孔中的液体,将酶标板倒置在吸水纸上拍打,以保证完全除去孔中的液体,用100μL稀释好的PBST洗3次,拍干;加入100μL显色液在37℃下避光显色30min;加入50μL反应终止液,混合好后测定OD<sub>490nm</sub>。

[0035] 标准曲线的建立:配制1、10、50、100、200、500、1000、2000、5000μg/L的赤霉素溶液,在加入一抗前分别添加到酶标板中,每个浓度重复3次,分别以空白和不加赤霉素溶液为对照,采用间接竞争ELISA法进行检测。以赤霉素溶液浓度的对数为横坐标,抑制率为纵坐标,即得其标准曲线,由图即可得其灵敏度。

[0036] 本发明不局限于上述最佳实施方式,任何人在本发明的启示下所作的有关本发明的任何修饰或变更,凡是具有与本发明相同或相近似的技术方案,均落在本发明的保护范围之内。

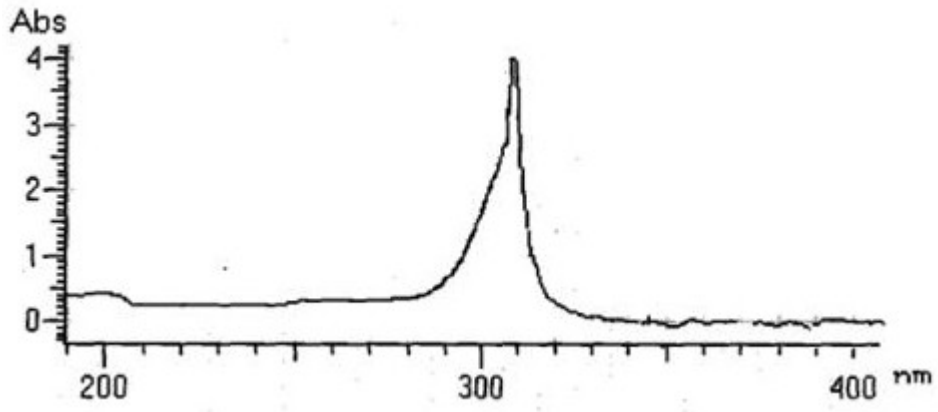


图1

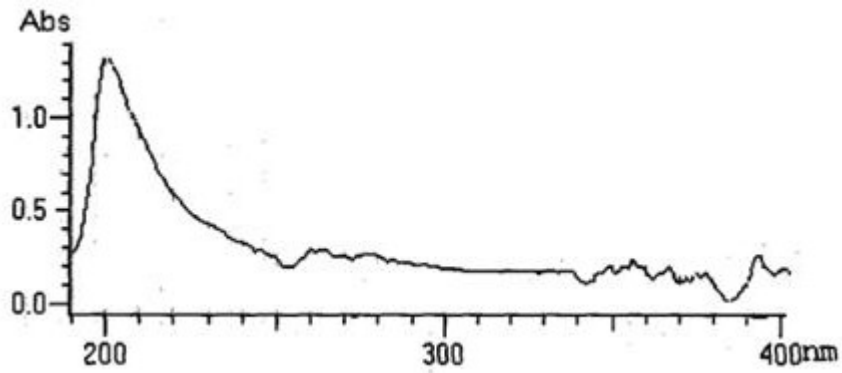


图2

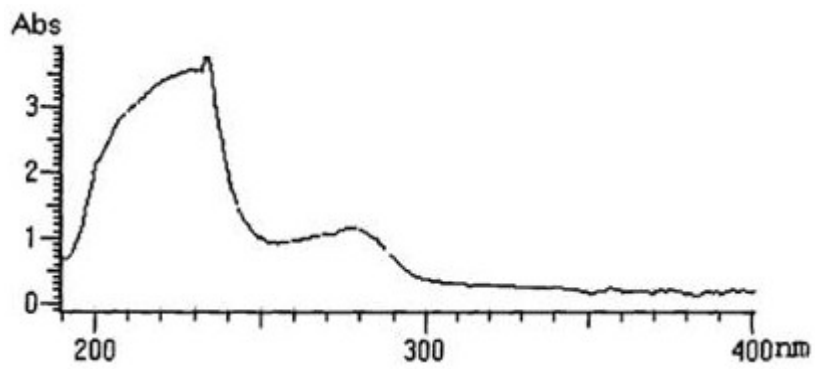


图3

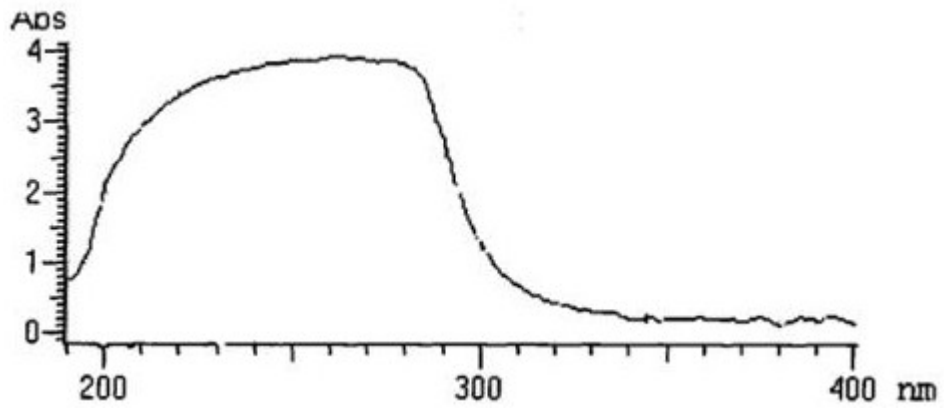


图4

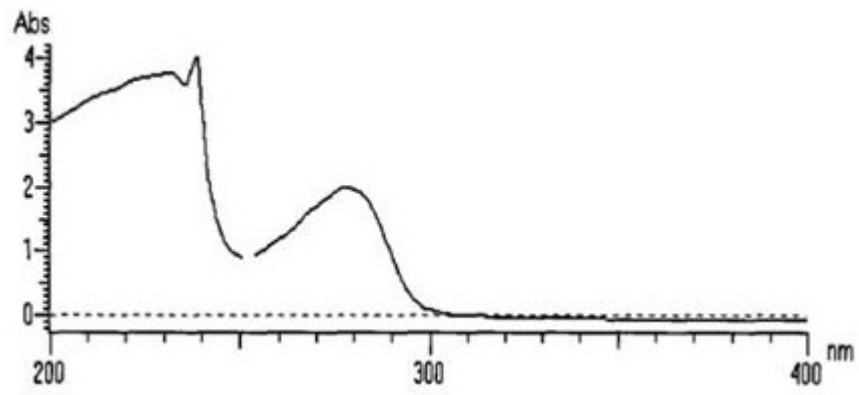


图5

专利名称(译)	一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN108196046A</a>	公开(公告)日	2018-06-22
申请号	CN201611119464.X	申请日	2016-12-08
[标]申请(专利权)人(译)	丹阳亿太生物科技发展有限公司		
申请(专利权)人(译)	丹阳亿太生物科技发展有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	丹阳亿太生物科技发展有限公司		
[标]发明人	杜霞 洪霞 刘静		
发明人	杜霞 洪霞 刘静		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/543 G01N33/531 G01N33/535		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种赤霉素残留的酶联免疫检测方法，所述酶联免疫检测方法包括以下步骤：①合成赤霉素半抗原；②合成赤霉素完全抗原，赤霉素完全抗原包括赤霉素免疫抗原和赤霉素包被抗原；③制备赤霉素多克隆抗体；④酶标抗原的制备；⑤用赤霉素包被抗原包被酶标板；⑥相关溶液的配制；⑦检测。该赤霉素的酶联免疫检测方法能够现场大量快速检测土壤、水、农产品等样品中残留的赤霉素，该方法灵敏度、准确度和精密度高，该酶联免疫检测方法用包被抗原预包被酶标板，节约了赤霉素抗体的用量，而且克服了直接包被抗体不利于试剂盒长期保存的问题。

