



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110082520 A

(43)申请公布日 2019.08.02

(21)申请号 201910368869.4

(22)申请日 2019.05.05

(71)申请人 南京砾朴生物科技有限公司

地址 210000 江苏省南京市麒麟高新技术
产业开发区智汇路300号E座301室

(72)发明人 白文霞 黄双 徐明智 严鹏

(74)专利代理机构 北京挺立专利事务所(普通
合伙) 11265

代理人 盛君梅

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

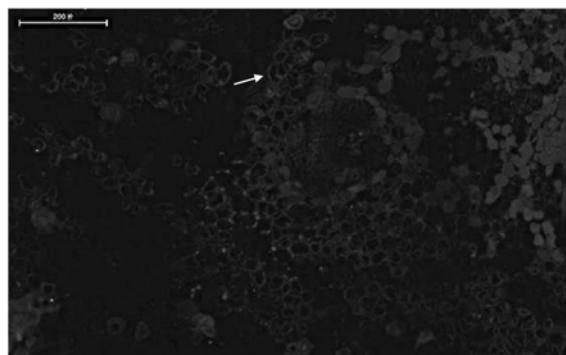
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法

(57)摘要

本发明公开了一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法，属于植物生物技术领域。一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法，包括下列步骤：S1.脱蜡复水；S2.抗原修复；S3.自发荧光淬灭；S4.血清封闭；S5.加一抗体；S6.加二抗体；S7.DAPI复染细胞核；S8.封片；S9.显微镜观察。这种方法简单、快速、安全无毒，有效降低检测成本，用DAPI复染细胞核对组织细胞进行定位，可更好的观察和确定抗原分布的位置；染色后可直接通过荧光显微镜观察赤霉素在植物组织内的分布情况；实验过程最大程度保持植物组织和细胞的原有形态；标记后能保持生物学活性和免疫活性。



1. 一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法,其特征在于,包括下列步骤:

S1. 脱蜡复水:将植物组织制成石蜡切片后,依次放入二甲苯 I 10min,二甲苯II 10min,二甲苯III 10min,无水乙醇I 5min,无水乙醇II 5min,95%乙醇5min,85%乙醇5min,75%乙醇5min,最后用蒸馏水水洗,得脱蜡复水后的组织切片;

S2. 抗原修复:将所述脱蜡复水后的组织切片置于抗原修复缓冲液中,放入微波炉内中高火加热8~10min,中火加热3~5min后取出自然冷却至室温,再置于PBS缓冲液中并在脱色摇床上洗涤3次,得抗原修复后的组织切片;

S3. 自发荧光淬灭:将所得抗原修复后的组织切片甩干后,用组化笔在切片上的组织周围画圈,在圈内加入自发荧光淬灭剂使其覆盖全部组织,静置5min后用流水冲洗10min;

S4. 血清封闭:在所述圈内滴加BSA血清孵育25~35min,得血清封闭切片;

S5. 加一抗体:将所述血清封闭切片上的BSA血清甩去后,在所述圈内滴加一抗体并于4℃孵育过夜,得一抗体孵育切片;

S6. 加二抗体:将所述一抗体孵育切片置于室温复温13~15min后,置于PBS缓冲液中并在脱色摇床洗涤3次,每次5min,将洗涤后的一抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加二抗体覆盖组织,避光、室温下孵育1h,得二抗体孵育切片;

S7. DAPI复染细胞核:将二抗体孵育切片置于PBS缓冲液中并在脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后将洗涤后的二抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加DAPI染液,避光、室温下孵育35~40min,得复染切片;

S8. 封片:将复染切片置于PBS缓冲液中并置于脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后取出、甩干,然后用抗荧光淬灭封片剂进行封片,得免疫荧光染色切片;

S9. 荧光显微镜观察:将所述植物封片放于荧光显微镜下进行观察。

2. 如权利要求1所述的检测植物赤霉素的免疫荧光方法,其特征在于,所述S1中所述二甲苯I、二甲苯II和二甲苯III均为浓度为99%的1,3-二甲苯。

3. 如权利要求1所述的检测植物赤霉素的免疫荧光方法,其特征在于,所述S2中所述抗原修复缓冲液为:pH为6.0的1.8mM/L的一水合柠檬酸和0.2mM/L的二水合柠檬酸三钠的混合液。

4. 如权利要求1所述的检测植物赤霉素的免疫荧光方法,其特征在于,所述S5中所述一抗体为北京博奥森公司生产的Rabbit Anti-Gibberellins antibody (bs-4606R)。

5. 如权利要求1所述的检测植物赤霉素的免疫荧光方法,其特征在于,所述S6中所述二抗体为武汉赛维尔生物公司生产的Alexa Fluor® 488标记的山羊抗兔IgG (H+L) (GB25303)。

6. 如权利要求1所述的检测植物赤霉素的免疫荧光方法,其特征在于,所述一抗体是经过PBS缓冲液稀释的,稀释比例为1:100。

7. 如权利要求1~6中任一项所述的检测植物赤霉素的免疫荧光方法,其特征在于,所述PBS缓冲液为pH为6.8~7.0的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液。

一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法

技术领域

[0001] 本发明属于植物生物技术领域,涉及一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法。

背景技术

[0002] 赤霉素,是广泛存在的一种植物激素,化学结构属于二萜类酸,由四环骨架衍生而得。赤霉素在植物生长方面具有重要生理效应,最突出的生理效应是促进茎的伸长和诱导长日植物在短日条件下抽薹开花,遗传上矮生的植物如矮生的玉米和豌豆经赤霉素处理后株型与非矮生的相似;非矮生植物则只有轻微的反应。

[0003] 赤霉素在种子发芽中起调节作用,许多禾谷类植物如大麦的种子中的淀粉,在发芽时迅速水解;如果把胚去掉,淀粉就不水解,用赤霉素处理无胚的种子,淀粉就又能水解,证明了赤霉素可以代替胚引起淀粉水解。

[0004] 赤霉素能代替红光促进光敏感植物莴苣种子的发芽和代替胡萝卜开花所需要的春化作用;赤霉素还能引起某些植物单性果实的形成。对某些植物,特别是无籽葡萄品种,在开花时用赤霉素处理,可促进无籽果实的发育。但对某些生理现象有时有抑制作用。

[0005] 因此了解植物体内赤霉素的分布情况对了解植物的生理生化指标具有重要意义,目前赤霉素检测主要通过ELISA、HPLC、GC-MS等检测方法,仪器贵重操作繁琐、成本较高,并且无法在组织或细胞上进行赤霉素原位定位。

发明内容

[0006] 针对上述存在的问题,本发明提供一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法,这种方法简单、成本低且可以进行赤霉素原位定位。

[0007] 本发明采用的技术方案如下:

一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法,包括下列步骤:

S1. 脱蜡复水:将植物组织制成石蜡切片后,依次放入二甲苯 I 10min,二甲苯II 10min,二甲苯III 10min,无水乙醇I 5min,无水乙醇II 5min,95%乙醇5min,85%乙醇5min,75%乙醇5min,最后用蒸馏水水洗,得脱蜡复水后的组织切片;

S2. 抗原修复:将所述脱蜡复水后的组织切片置于抗原修复缓冲液中,放入微波炉内中高火加热8~10min,中火加热3~5min后取出自然冷却至室温,再置于PBS缓冲液中并在脱色摇床上洗涤3次,得抗原修复后的组织切片;

S3. 自发荧光淬灭:将所得抗原修复后的组织切片甩干后,用组化笔在切片上的组织周围画圈,在圈内加入自发荧光淬灭剂使其覆盖全部组织,静置5min后用流水冲洗10min;

S4. 血清封闭:在所述圈内滴加BSA血清孵育25~35min,得血清封闭切片;

S5. 加一抗体:将所述血清封闭切片上的BSA血清甩去后,在所述圈内滴加一抗体并于4°C孵育过夜,得一抗体孵育切片;

S6. 加二抗体:将所述一抗体孵育切片置于室温复温13~15min后,置于PBS缓冲液中并在脱色摇床洗涤3次,每次5min,将洗涤后的一抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加二抗

体覆盖组织,避光、室温下孵育1h,得二抗体孵育切片;

S7. DAPI复染细胞核:将二抗体孵育切片置于PBS缓冲液中并在脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后将洗涤后的二抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加DAPI染液,避光、室温下孵育35~40min,得复染切片;

S8. 封片:将复染切片置于PBS缓冲液中并置于脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后取出、甩干,然后用抗荧光淬灭封片剂进行封片,得免疫荧光染色切片;

S9. 荧光显微镜观察:将所述植物封片放于荧光显微镜下进行观察。

[0008] 具体地,所述无水乙醇I和无水乙醇II是指两份相同的无水乙醇,只是顺序的一个标号,目的是为了进一步浸染石蜡切片。

[0009] 进一步地,所述S1中所述二甲苯I、二甲苯II和二甲苯III均为浓度为99%的1,3-二甲苯。

[0010] 具体地,用三道二甲苯脱蜡是一个渐进的过程,第一道脱蜡后其内会含有不同程度的溶解石蜡,所以用第二道和第三道二甲苯再把从第一道二甲苯里带出来的石蜡溶解一下,力争做到残留在切片上的石蜡越少越好。

[0011] 进一步地,所述S2中所述抗原修复缓冲液为:pH为6.0的1.8mM/L的一水合柠檬酸和0.2mM/L的二水合柠檬酸三钠的混合液。

[0012] 进一步地,所述S5中所述一抗体为北京博奥森公司生产的Rabbit Anti-Gibberellins antibody(bs-4606R)。

[0013] 进一步地,所述S6中所述二抗体为武汉赛维尔生物公司生产的Alexa Fluor® 488标记的山羊抗兔IgG(H+L)(GB25303)。

[0014] 进一步地,所述一抗体是经过PBS缓冲液稀释的,稀释比例为1:100。

[0015] 进一步地,所述PBS缓冲液为pH为6.8~7.0的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液。

[0016] 本发明的有益效果是:DAPI复染细胞核对组织细胞进行定位,可更好的观察和确定抗原分布的位置;染色后可直接通过荧光显微镜观察赤霉素在植物组织内的分布情况;实验过程最大程度保持植物组织和细胞的原有形态;标记后能保持生物学活性和免疫活性;标记方法简单、快速、安全无毒,有效降低检测成本。

附图说明

[0017] 图1梨组织石细胞赤霉素免疫荧光染色;

图2 梨的中果皮组织赤霉素免疫荧光染色;

图3梨的外果皮组织赤霉素免疫荧光染色;

图4梨的内果皮组织赤霉素免疫荧光染色。

具体实施方式

[0018] 本发明所述的实施例可以在上述技术方案的基础上,通过具体范围的不同替换,可以得到无数个实施例,因此,以下所述的几个实施例,仅仅只是无数个实施例中的较优实施例,任何在上述技术方案所做的技术替换,均属于本发明的保护范围。

[0019] 实施例1

一种用于检测植物赤霉素的免疫荧光方法,包括下列步骤:

S1. 脱蜡复水:将植物组织制成石蜡切片后,依次放入浓度为≥99%的1,3-二甲苯10min,浓度为≥99%的1,3-二甲苯10min,浓度为≥99%的1,3-二甲苯 10min,无水乙醇I 5min,无水乙醇II 5min,95%乙醇5min,85%乙醇5min,75%乙醇5min,最后用蒸馏水水洗,得脱蜡复水后的组织切片;

S2. 抗原修复:将所述脱蜡复水后的组织切片置于pH为6.0的1.8mM/L的一水合柠檬酸和0.2mM/L的二水合柠檬酸三钠的混合液中,放入微波炉内中高火加热10min,中火加热5min后取出自然冷却至室温,再置于pH6.8的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床上洗涤3次,得抗原修复后的组织切片;

S3. 自发荧光淬灭:将所得抗原修复后的组织切片甩干后,用组化笔在切片上的组织周围画圈,在圈内加入自发荧光淬灭剂使其覆盖全部组织,静置5min后用流水冲洗10min;

S4. 血清封闭:在所述圈内滴加BSA血清孵育30min,得血清封闭切片;

S5. 加一抗体:将所述血清封闭切片上的BSA血清甩去后,在所述圈内滴加Rabbit Anti-Gibberellins antibody (bs-4606R) 并于4℃孵育过夜,得一抗体孵育切片;

S6. 加二抗体:将所述一抗体孵育切片置于室温复温15min后,置于pH6.8的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床洗涤3次,每次5min,将洗涤后的一抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加Alexa Fluor ® 488标记的山羊抗兔IgG (H+L) (GB25303) 覆盖组织,避光、室温下孵育1h,得二抗体孵育切片;

S7. DAPI复染细胞核:将二抗体孵育切片置于pH6.8的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后将洗涤后的二抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加DAPI染液,避光、室温下孵育40min,得复染切片;

S8. 封片:将复染切片置于pH6.8的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并置于脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后取出、甩干,然后用抗荧光淬灭封片剂进行封片,得免疫荧光染色切片;

S9. 荧光显微镜观察:将所述植物封片放于荧光显微镜下进行观察。

[0020] 进一步地,所述一抗体是经过pH6.8的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液稀释的,稀释比例为1:100。

[0021] 实施例2

一种用于检测植物赤霉素的免疫荧光方法,包括下列步骤:

S1. 脱蜡复水:将植物组织制成石蜡切片后,依次放入浓度为≥99%的1,3-二甲苯10min,浓度为≥99%的1,3-二甲苯10min,浓度为≥99%的1,3-二甲苯 10min,无水乙醇I 5min,无水乙醇II 5min,95%乙醇5min,85%乙醇5min,75%乙醇5min,最后用蒸馏水水洗,得脱蜡复水后的组织切片;

S2. 抗原修复:将所述脱蜡复水后的组织切片置于pH为6.0的1.8mM/L的一水合柠檬酸和0.2mM/L的二水合柠檬酸三钠的混合液中,放入微波炉内中高火加热8min,中火加热3min后取出自然冷却至室温,再置于pH7.0的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二

氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床上洗涤3次，得抗原修复后的组织切片；

S3. 自发荧光淬灭：将所得抗原修复后的组织切片甩干后，用组化笔在切片上的组织周围画圈，在圈内加入自发荧光淬灭剂使其覆盖全部组织，静置5min后用流水冲洗10min；

S4. 血清封闭：在所述圈内滴加BSA血清孵育25min，得血清封闭切片；

S5. 加一抗体：将所述血清封闭切片上的BSA血清甩去后，在所述圈内滴加Rabbit Anti-Gibberellins antibody (bs-4606R) 并于4℃孵育过夜，得一抗体孵育切片；

S6. 加二抗体：将所述一抗体孵育切片置于室温复温14min后，置于pH7.0的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠，0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床洗涤3次，每次5min，将洗涤后的一抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加Alexa Fluor ® 488标记的山羊抗兔IgG (H+L) (GB25303) 覆盖组织，避光、室温下孵育1h，得二抗体孵育切片；

S7. DAPI复染细胞核：将二抗体孵育切片置于pH7.0的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠，0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床洗涤3次，每次5min，随后将洗涤后的二抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加DAPI染液，避光、室温下孵育38min，得复染切片；

S8. 封片：将复染切片置于pH7.0的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠，0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并置于脱色摇床洗涤3次，每次5min，随后取出、甩干，然后用抗荧光淬灭封片剂进行封片，得免疫荧光染色切片；

S9. 荧光显微镜观察：将所述植物封片放于荧光显微镜下进行观察。

[0022] 进一步地，所述一抗体是经过pH7.0的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠，0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液稀释的，稀释比例为1:100。

[0023] 实施例3

一种用于检测植物赤霉素的免疫荧光方法，包括下列步骤：

S1. 脱蜡复水：将植物组织制成石蜡切片后，依次放入浓度为≥99%的1,3-二甲苯10min，浓度为≥99%的1,3-二甲苯10min，浓度为≥99%的1,3-二甲苯 10min，无水乙醇I 5min，无水乙醇II 5min，95%乙醇5min，85%乙醇5min，75%乙醇5min，最后用蒸馏水水洗，得脱蜡复水后的组织切片；

S2. 抗原修复：将所述脱蜡复水后的组织切片置于pH为6.0的1.8mM/L的一水合柠檬酸和0.2mM/L的二水合柠檬酸三钠的混合液中，放入微波炉内中高火加热9min，中火加热4min后取出自然冷却至室温，再置于pH6.9的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠，0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床上洗涤3次，得抗原修复后的组织切片；

S3. 自发荧光淬灭：将所得抗原修复后的组织切片甩干后，用组化笔在切片上的组织周围画圈，在圈内加入自发荧光淬灭剂使其覆盖全部组织，静置5min后用流水冲洗10min；

S4. 血清封闭：在所述圈内滴加BSA血清孵育35min，得血清封闭切片；

S5. 加一抗体：将所述血清封闭切片上的BSA血清甩去后，在所述圈内滴加Rabbit Anti-Gibberellins antibody (bs-4606R) 并于4℃孵育过夜，得一抗体孵育切片；

S6. 加二抗体：将所述一抗体孵育切片置于室温复温13min后，置于pH6.9的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠，0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床洗涤3次，每次5min，将洗涤后的一抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加Alexa Fluor ® 488标记的山羊抗兔IgG (H+L) (GB25303) 覆盖组织，避光、室温下孵育1h，得二抗体孵育切片；

488标记的山羊抗兔IgG(H+L)(GB25303)覆盖组织,避光、室温下孵育1h,得二抗体孵育切片;

S7. DAPI复染细胞核:将二抗体孵育切片置于pH6.9的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后将洗涤后的二抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加DAPI染液,避光、室温下孵育35min,得复染切片;

S8. 封片:将复染切片置于pH6.9的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并置于脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后取出、甩干,然后用抗荧光淬灭封片剂进行封片,得免疫荧光染色切片;

S9. 荧光显微镜观察:将所述植物封片放于荧光显微镜下进行观察。

[0024] 进一步地,所述一抗体是经过pH6.9的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液稀释的,稀释比例为1:100。

[0025] 实施例4

一种用于检测植物赤霉素的免疫荧光方法,包括下列步骤:

S1. 脱蜡复水:将植物组织制成石蜡切片后,依次放入浓度为≥99%的1,3-二甲苯10min,浓度为≥99%的1,3-二甲苯10min,浓度为≥99%的1,3-二甲苯10min,无水乙醇I5min,无水乙醇II5min,95%乙醇5min,85%乙醇5min,75%乙醇5min,最后用蒸馏水水洗,得脱蜡复水后的组织切片;

S2. 抗原修复:将所述脱蜡复水后的组织切片置于pH为6.0的1.8mM/L的一水合柠檬酸和0.2mM/L的二水合柠檬酸三钠的混合液中,放入微波炉内中高火加热8min,中火加热4min后取出自然冷却至室温,再置于pH6.8的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床上洗涤3次,得抗原修复后的组织切片;

S3. 自发荧光淬灭:将所得抗原修复后的组织切片甩干后,用组化笔在切片上的组织周围画圈,在圈内加入自发荧光淬灭剂使其覆盖全部组织,静置5min后用流水冲洗10min;

S4. 血清封闭:在所述圈内滴加BSA血清孵育28min,得血清封闭切片;

S5. 加一抗体:将所述血清封闭切片上的BSA血清甩去后,在所述圈内滴加Rabbit Anti-Gibberellins antibody(bs-4606R)并于4℃孵育过夜,得一抗体孵育切片;

S6. 加二抗体:将所述一抗体孵育切片置于室温复温13min后,置于pH6.9的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床洗涤3次,每次5min,将洗涤后的一抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加Alexa Fluor®488标记的山羊抗兔IgG(H+L)(GB25303)覆盖组织,避光、室温下孵育1h,得二抗体孵育切片;

S7. DAPI复染细胞核:将二抗体孵育切片置于pH7.0的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并在脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后将洗涤后的二抗体孵育切片甩干后在所述圈内滴加DAPI染液,避光、室温下孵育38min,得复染切片;

S8. 封片:将复染切片置于pH7.0的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液中并置于脱色摇床洗涤3次,每次5min,随后取出、甩干,然后用抗荧光淬灭封片剂进行封片,得免疫荧光染色切片;

S9. 荧光显微镜观察:将所述植物封片放于荧光显微镜下进行观察。

[0026] 进一步地,所述一抗体是经过pH6.9的0.05mM/L十二水磷酸氢二钠,0.95mM/L二水磷酸二氢钠和0.725mM/L氯化钠的混合液稀释的,稀释比例为1:100。

[0027] 以梨子为例按本发明的方法所得的梨子石细胞、中果皮组织、外果皮组织和内果皮组织赤霉素阳性反应荧光显微镜下情况。图1中白色箭头标示的为石细胞,可自发强烈的蓝色荧光;图2中白色箭头表示中果皮部分区域见赤霉素阳性反应;图3中白色箭头表示外果皮可见明显赤霉素阳性反应;图4中白色箭头表示内果皮内见明显的赤霉素阳性反应。

[0028] 本发明并不局限于前述的具体实施方式。本发明扩展到任何在本说明书中披露的新特征或任何新的组合,以及披露的任一新的方法或过程的步骤或任何新的组合。

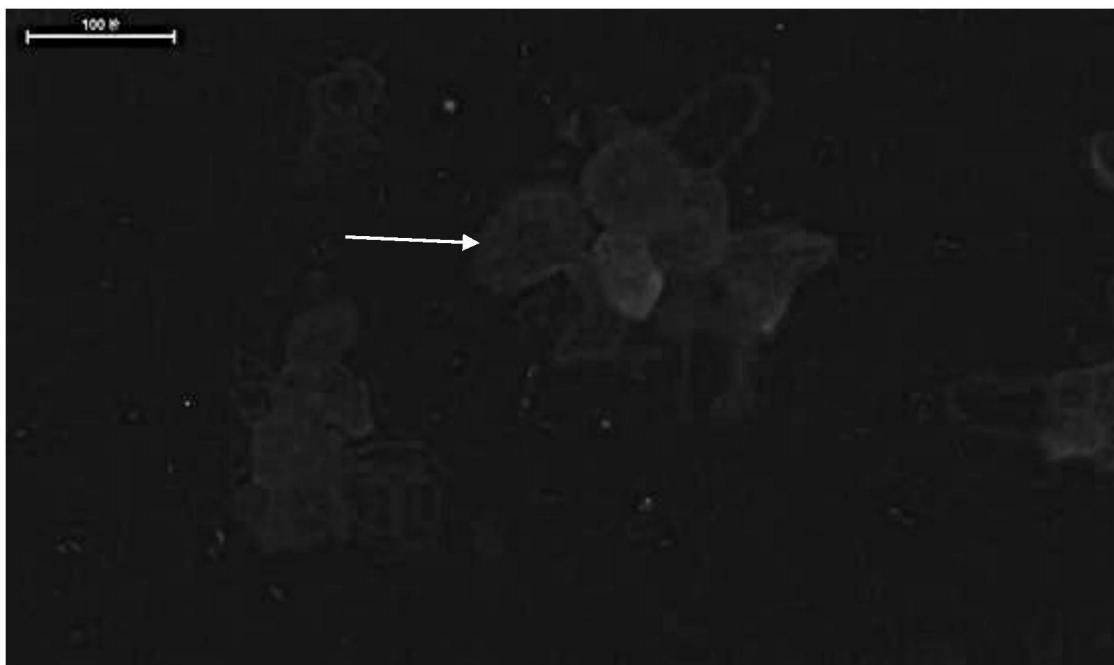


图1

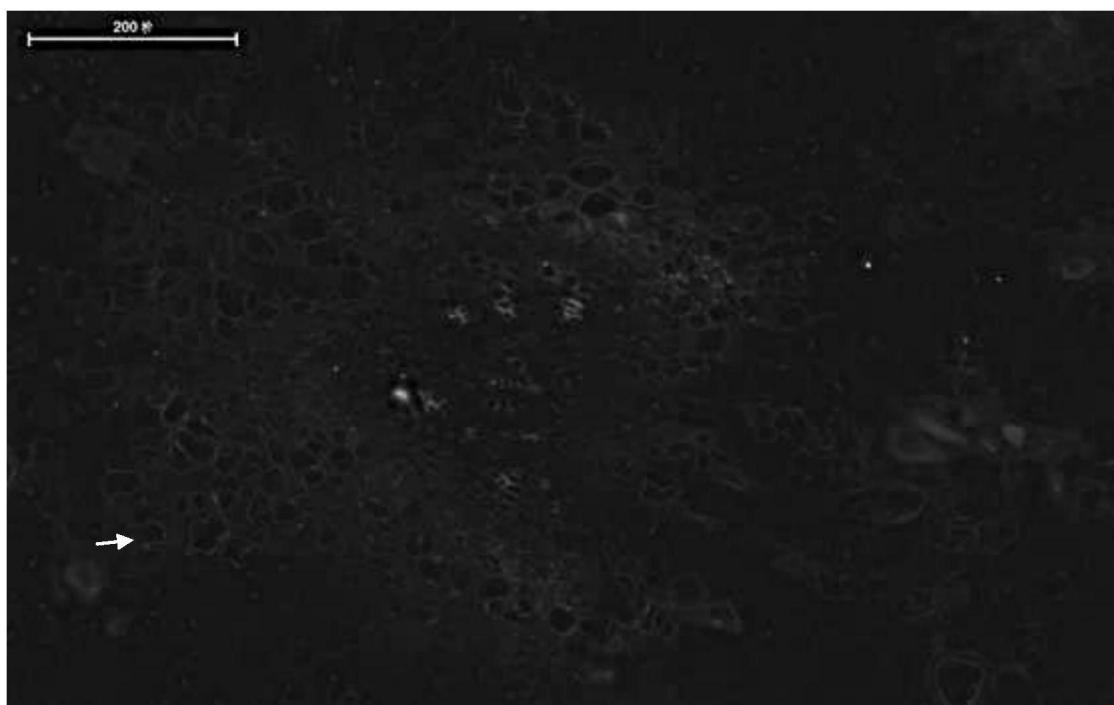


图2

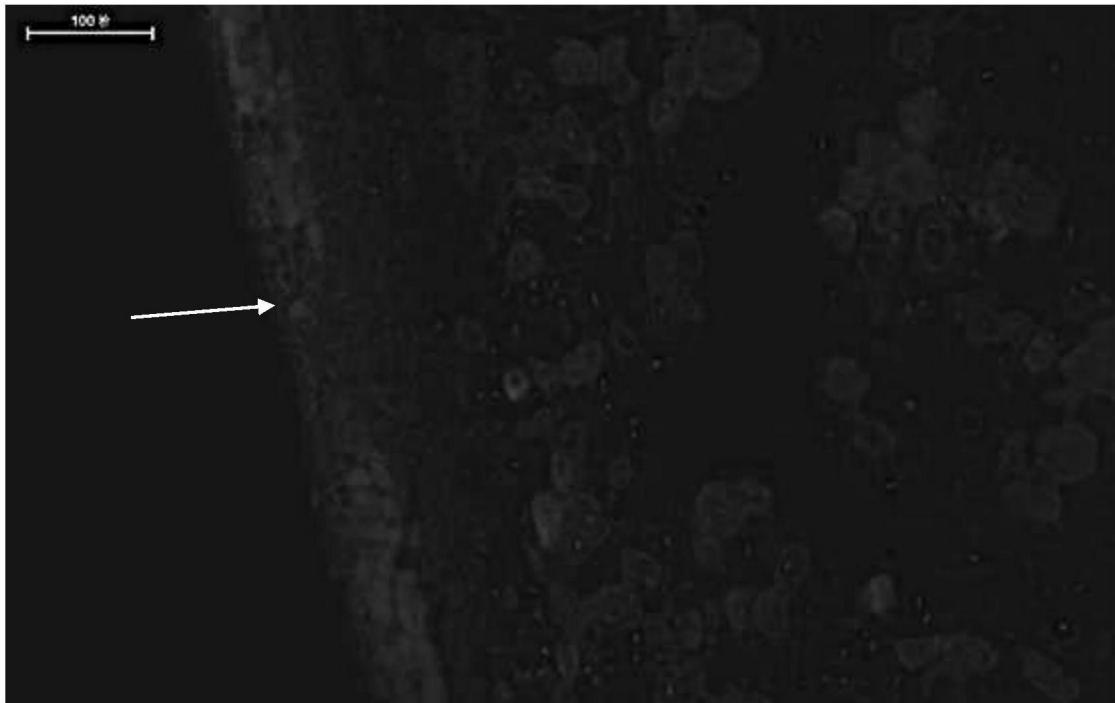


图3

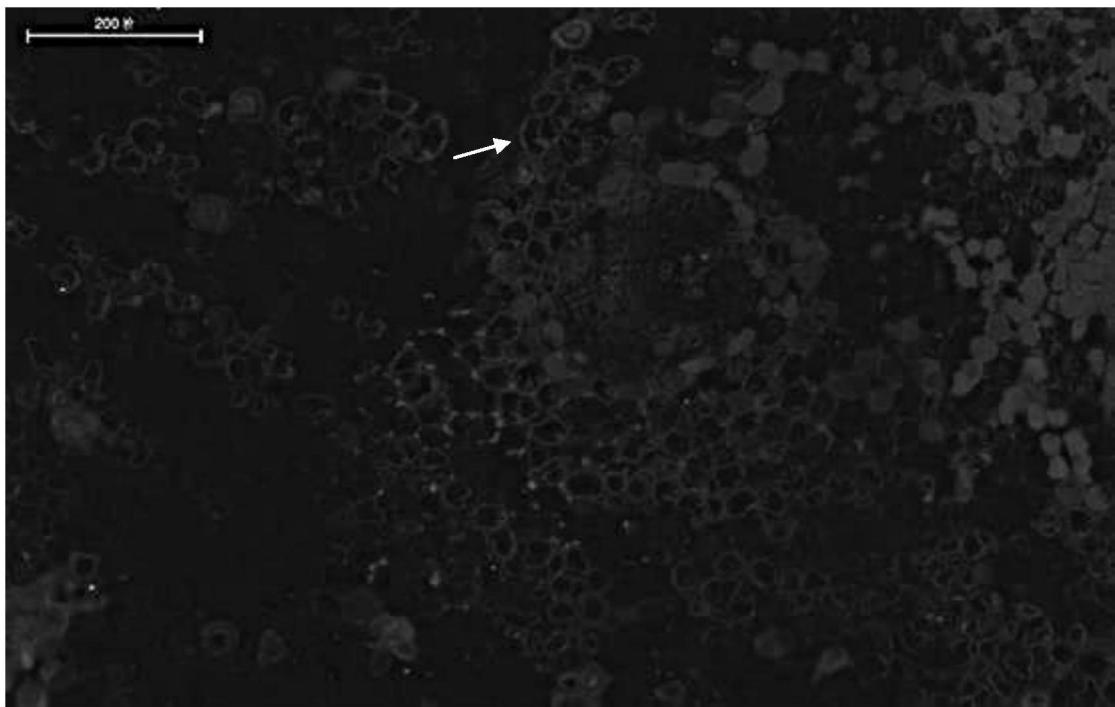


图4

专利名称(译)	一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法		
公开(公告)号	CN110082520A	公开(公告)日	2019-08-02
申请号	CN201910368869.4	申请日	2019-05-05
[标]发明人	黄双 徐明智 严鹏		
发明人	白文霞 黄双 徐明智 严鹏		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/53 G01N33/531		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明公开了一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法，属于植物生物技术领域。一种检测植物赤霉素的免疫荧光方法，包括下列步骤：S1.脱蜡复水；S2.抗原修复；S3.自发荧光淬灭；S4.血清封闭；S5.加一抗体；S6.加二抗体；S7.DAPI复染细胞核；S8.封片；S9.显微镜观察。这种方法简单、快速、安全无毒，有效降低检测成本，用DAPI复染细胞核对组织细胞进行定位，可更好的观察和确定抗原分布的位置；染色后可直接通过荧光显微镜观察赤霉素在植物组织内的分布情况；实验过程最大程度保持植物组织和细胞的原有形态；标记后能保持生物学活性和免疫活性。

