



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105137061 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 09

(21) 申请号 201510452807. 3

(22) 申请日 2015. 07. 28

(71) 申请人 环境保护部南京环境科学研究所
地址 210042 江苏省南京市玄武区蒋王庙 8 号

(72) 发明人 方志翔 刘标 沈文静 李衍亮

(74) 专利代理机构 南京苏高专利商标事务所
(普通合伙) 32204

代理人 王艳

(51) Int. Cl.

G01N 33/535(2006. 01)

权利要求书2页 说明书5页

(54) 发明名称

一种土壤中残留 bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种土壤中残留 Bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法,包括以下步骤:1) 去除待测土样中的动植物残体,充分研磨,通过 50-60 目筛子使得土壤粒径在 0.2mm 以下;2) 将研磨后的土样在高压湿热条件下灭菌 15-20 分钟;3) 称取灭菌后的土样 1-2g,放入 10ml 离心管中进行清洗去除土壤杂质;4) 对去除过杂质的土壤土样表面进行封闭;5) 对封闭后的土壤土样进行抗体结合检测;本发明为监测 Bt 蛋白在土壤中的残留及其对土壤生态系统的影响提供了一条新的途径,而且本方法不仅仅可以用于土壤 bt 蛋白的检测,在更换不同的抗体后更可以用于检测各种土壤中的残留蛋白含量。

1. 一种土壤中残留 Bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

1) 去除待测土样中的动植物残体, 充分研磨, 通过 50-60 目筛子使得土壤粒径在 0.2mm 以下;

2) 将研磨后的土样在高压湿热条件下灭菌 15-20 分钟;

3) 称取灭菌后的土样 1-2g, 放入 10ml 离心管中进行清洗去除土壤杂质;

4) 对去除过杂质的土壤土样表面进行封闭;

5) 对封闭后的土壤土样进行抗体结合检测:

5.1) 向封闭后的土样中加入 3ml 反应液 I, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 50rpm/min, 孵育 2h, 期间每隔 20min 颠倒离心管数次, 之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

5.2) 加入洗涤液 II, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 100rpm/min, 震荡 5min; 之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

5.3) 重复步骤 5.2) 三到五次;

5.4) 加入 3ml 反应液 II, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 50rpm/min, 孵育 1h, 期间每隔 20min 颠倒离心管数次, 之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

5.5) 加入洗涤液 II, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 100rpm/min, 震荡 5min; 之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

5.6) 重复步骤 5.5 三到五次;

5.7) 加入新鲜配置的 3ml TMB 显色液, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 100rpm/min, 孵育 30min, 期间每隔 10min 颠倒离心管数次, 孵育结束后加入 2M 硫酸 1ml 终止反应, 之后 10000rpm/min 离心 5min, 取上清液于酶标仪 450nm 进行检测。

2. 根据权利要求 1 所述的一种土壤中残留 Bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法, 其特征在于, 所述步骤 3) 中去除土壤杂质步骤如下:

3.1) 加入洗涤液 I 3ml, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 200rpm/min, 震荡 10min, 之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

3.2) 重复步骤 3.1) 一次;

3.3) 加入洗涤液 II 3ml, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 37℃, 200rpm/min, 震荡 5min, 之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

3.4) 重复步骤 3.3), 直到上清液不再有泡沫。

3. 根据权利要求 1 所述的一种土壤中残留 Bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法, 其特征在于, 所述步骤 4) 中土样表面进行封闭步骤如下:

4.1) 向洗涤后的土样中加入 3ml 封闭液, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 50rpm/min, 孵育 1h, 期间每隔 10min 颠倒离心管数次, 之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

4.2) 加入洗涤液 II, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 100rpm/min, 震荡 5min; 之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

4.3) 重复步骤 4.2) 三到五次即可。

4. 根据权利要求 2 所述的一种土壤中残留 Bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法, 其特征在于, 所述洗涤液 I 配方为: NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na₂HPO₄ 10mmol/L, KH₂PO₄ 2mmol/L, 2% (m/v) SDS, 0.2mmol/L EDTA。

5. 根据权利要求2所述的一种土壤中残留Bt蛋白的原位酶联免疫定量检测方法,其特征在于,所述洗涤液II配方为:NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na₂HPO₄ 10mmol/L, KH₂PO₄ 2mmol/L。

6. 根据权利要求3所述的一种土壤中残留Bt蛋白的原位酶联免疫定量检测方法,其特征在于,所述封闭液配方为:NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na₂HPO₄ 10mmol/L, KH₂PO₄ 2mmol/L, 8%*m/v*BSA, 0.5%*v/v*Tween-20。

7. 根据权利要求3所述的一种土壤中残留Bt蛋白的原位酶联免疫定量检测方法,其特征在于,所述反应液I配方:NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na₂HPO₄ 10mmol/L, KH₂PO₄ 2mmol/L, 5%*m/v*BSA, 0.5%*v/v*Tween-20, 0.5%*v/v*Bt蛋白抗体。

8. 根据权利要求1所述的一种土壤中残留Bt蛋白的原位酶联免疫定量检测方法,其特征在于,所述反应液II配方:NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na₂HPO₄ 10mmol/L, KH₂PO₄ 2mmol/L, 5%*m/v*BSA, 0.5%*v/v*Tween-20, 0.05%*v/v*HRP标记二抗。

9. 根据权利要求1所述的一种土壤中残留Bt蛋白的原位酶联免疫定量检测方法,其特征在于,所述TMB显色液的配制方法为:称取TMB 20mg,用无水乙醇10ml溶解,充分振荡后加双蒸水定容到100 ml,此为底物A;取一水柠檬酸2.1g,无水Na₂HPO₄ 2.82g,0.75%的过氧化氢尿素0.64ml,双蒸水定容至100ml,此为底物B;使用时A:B各取1.5ml混匀。

一种土壤中残留 bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及蛋白检测技术领域,具体涉及一种土壤中残留 Bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法。

背景技术

[0002] 近年来,随着转 Bt 作物种植面积的不断扩大,其对生态环境的潜在风险也日益成为国内外专家和学者研究的热点。转 Bt 作物在种植以后,在其整个生长期,会通过根系分泌物、花粉、植物残茬向土壤释放 Bt 毒素,这些分泌的 Bt 毒素会被土壤中的粘土矿物和腐殖质等表面活性颗粒吸附,且该结合态毒素仍具有较强的杀虫活性,在土壤环境中可长时间存留。土壤是生态系统中物质循环和能量转化的重要场所,土壤中的动物和微生物种群对于土壤生态系统的物质降解和能量转换起着非常重要的作用。这些残留的毒素可能会对土壤中无脊椎动物、微生物种群产生潜在的毒性,影响土壤动物及微生物种群的多样性结构,从而破坏土壤的物质循环和能量转换。因此,研究转 Bt 基因植物毒蛋白在土壤中的残留和降解动态对于保护生态环境安全具有十分重要的意义。

[0003] 目前,对于土壤中残留 Bt 蛋白的检测方法,主要通过提取液从土壤中提取 Bt 蛋白后进行 ELISA 法检测。目前提取土壤中残留 Bt 蛋白的方法主要有 SDS 法,碳酸盐法、人造蠕虫肠道蛋白提取液法、PBST 试剂盒法等方法。上述这些方法在土壤残留 Bt 蛋白检测中发挥了一定的作用,但是也都存在一定的缺陷。现有的这些检测土壤 bt 蛋白的方法,均为先用提取液提取 bt 蛋白后,再进行检测,该方法操作简单,但是用于土壤这种吸附力很强的介质的时候,往往效果不会很理想,一些牢固吸附在土壤颗粒表面的 bt 蛋白很难被洗脱下来,因此不能反映土壤中 Bt 蛋白的真实残留含量。

发明内容

[0004] 发明目的:本发明针对目前现有土壤 Bt 蛋白检测方法的弊端,研发出了一种新的直接在土壤颗粒表面进行原位酶联免疫定量检测 bt 蛋白的方法,该方法可以不经提取直接精确检测出吸附于土壤颗粒表面的难提取 bt 蛋白,真实反映出土壤中 Bt 蛋白的残留情况。同时,结合现有的检测提取液中 bt 蛋白的方法,两者的数据相加,可以完整的得到土壤中 bt 蛋白的真实含量。本发明为监测 Bt 蛋白在土壤中的残留及其对土壤生态系统的影响提供了一条新的途径,而且本方法不仅仅可以用于土壤 bt 蛋白的检测,在更换不同的抗体后更可以用于检测各种土壤中的残留蛋白含量。

[0005] 技术方案:为了解决上述技术问题,本发明提供了一种土壤中残留 Bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法,包括以下步骤:

[0006] 1) 去除待测土样中的动植物残体,充分研磨,通过 50-60 目筛子使得土壤粒径在 0.2mm 以下;

[0007] 2) 将研磨后的土样在高压湿热条件下灭菌 15-20 分钟;

[0008] 3) 称取灭菌后的土样 1-2g,放入 10ml 离心管中进行清洗去除土壤杂质;

- [0009] 4) 对去除过杂质的土壤土样表面进行封闭；
- [0010] 5) 对封闭后的土壤土样进行抗体结合检测：
- [0011] 5.1) 向封闭后的土样中加入 3ml 反应液 I，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，50rpm/min，孵育 2h，期间每隔 20min 颠倒离心管数次，之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；
- [0012] 5.2) 加入洗涤液 II，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，100rpm/min，震荡 5min；之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；
- [0013] 5.3) 重复步骤 5.2) 三到五次；
- [0014] 5.4) 加入 3ml 反应液 II，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，50rpm/min，孵育 1h，期间每隔 20min 颠倒离心管数次，之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；
- [0015] 5.5) 加入洗涤液 II，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，100rpm/min，震荡 5min；之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；
- [0016] 5.6) 重复步骤 5.5 三到五次；
- [0017] 5.7) 加入新鲜配置的 3ml TMB 显色液，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，100rpm/min，孵育 30min，期间每隔 10min 颠倒离心管数次，孵育结束后加入 2M 硫酸 1ml 终止反应，之后 10000rpm/min 离心 5min，取上清液于酶标仪 450nm 进行检测。
- [0018] 其中，上述步骤 3) 中去除土壤杂质步骤如下：
- [0019] 3.1) 加入洗涤液 I 3ml，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，200rpm/min，震荡 10min，之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；
- [0020] 3.2) 重复步骤 3.1) 一次；
- [0021] 3.3) 加入洗涤液 II 3ml，充分摇匀后，水平置于摇床，37℃，200rpm/min，震荡 5min，之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；
- [0022] 3.4) 重复步骤 3.3)，直到上清液不再有泡沫。
- [0023] 其中，上述步骤 4) 中土样表面进行封闭步骤如下：
- [0024] 4.1) 向洗涤后的土样中加入 3ml 封闭液，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，50rpm/min，孵育 1h，期间每隔 10min 颠倒离心管数次，之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；
- [0025] 4.2) 加入洗涤液 II，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，100rpm/min，震荡 5min；之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；
- [0026] 4.3) 重复步骤 4.2) 三到五次即可。
- [0027] 其中，上述洗涤液 I 配方为：NaCl 137mmol/L，KCl 2.7mmol/L，Na₂HPO₄10mmol/L，KH₂PO₄2mmol/L，2% (m/v) SDS，0.2mmol/L EDTA。
- [0028] 其中，上述洗涤液 II 配方为：NaCl 137mmol/L，KCl 2.7mmol/L，Na₂HPO₄10mmol/L，KH₂PO₄2mmol/L。
- [0029] 其中，上述封闭液配方为：NaCl 137mmol/L，KCl 2.7mmol/L，Na₂HPO₄10mmol/L，KH₂PO₄2mmol/L，8% m/vBSA，0.5% v/vTween-20。
- [0030] 其中，上述反应液 I 配方：NaCl 137mmol/L，KCl 2.7mmol/L，Na₂HPO₄10mmol/L，KH₂PO₄2mmol/L，5% m/vBSA，0.5% v/vTween-20，0.5% v/vBt 蛋白抗体。
- [0031] 其中，上述反应液 II 配方：NaCl 137mmol/L，KCl 2.7mmol/L，Na₂HPO₄10mmol/L，

KH_2PO_4 2mmol/L, 5% m/vBSA, 0.5% v/vTween-20, 0.05% v/vHRP 标记二抗。

[0032] 其中, 上述 TMB(3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺) 显色液的配制方法为: 称取 TMB(3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺) 20mg, 用无水乙醇 10ml 溶解, 充分振荡后加双蒸水定容到 100ml, 此为底物 A; 取一水柠檬酸 2.1g, 无水 Na_2HPO_4 2.82g, 0.75% 的过氧化氢尿素 0.64ml, 双蒸水定容至 100ml, 此为底物 B; 使用时 A:B 各取 1.5ml 混匀。

[0033] 有益效果: 本发明为监测 Bt 蛋白在土壤中的残留及其对土壤生态系统的影响提供了一条新的途径, 而且本方法不仅仅可以用于土壤 bt 蛋白的检测, 在更换不同的抗体后更可以用于检测各种土壤中的残留蛋白含量。

具体实施方式

[0034] 下面对本发明技术方案进行详细说明, 但是本发明的保护范围不局限于所述实施例。

[0035] 实施例 1

[0036] 本方案中所采用的土壤样品分别取自南京地区连续一年, 两年和五年种植转 Bt 棉花和常规棉的棉田, 采样地点为南京六合。

[0037] 在棉花的花期, 转 Bt 棉田与常规棉田随机采集土样, 采用 5 点采样法, 每块棉田设置 5 个采样点。每个取样点相距 30 ~ 50m, 在每个采样点周围随机选取 5 株棉花, 在每株棉花的根际周围 (距主根 5cm 内, 距地表 5 ~ 20cm) 共取 500g 左右土壤, 装入密封袋, 作为一个试验样品。采集的样品带回实验室, -20°C 冰箱保存待测。

[0038] 取 1-2g 土壤, 按如下步骤进行:

[0039] 1. 去除待测土样中的动植物残体, 充分研磨, 使得土壤粒径在 0.2mm 以下 (可通过 50-60 目筛子);

[0040] 2. 土样在高压湿热条件下 (103.4 千帕蒸汽压, 121.3°C) 灭菌 15-20 分钟;

[0041] 3. 取灭菌后的土样放入 10ml 离心管中, 按下述步骤去除土壤杂质:

[0042] 3.1 加入洗涤液 I (洗涤液 I 配方: NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na_2HPO_4 10mmol/L, KH_2PO_4 2mmol/L, 2% (m/v) SDS, 0.2mmol/L EDTA) 3ml, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 200rpm/min, 震荡 10min。之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

[0043] 3.2 重复步骤 3.1 一次;

[0044] 3.3 加入洗涤液 II (洗涤液 II 配方: NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na_2HPO_4 10mmol/L, KH_2PO_4 2mmol/L) 3ml, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 37°C , 200rpm/min, 震荡 5min。之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

[0045] 3.4 重复步骤 3.3, 直到上清液不再有泡沫。

[0046] 4. 按下述步骤对土样表面进行封闭:

[0047] 4.1 向洗涤后的土样中加入 3ml 封闭液 (封闭液配方: NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na_2HPO_4 10mmol/L, KH_2PO_4 2mmol/L, 8% (m/v) BSA, 0.5% (v/v) Tween-20), 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 50rpm/min, 孵育 1h, 期间每隔 10min 颠倒离心管数次。之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

[0048] 4.2 加入洗涤液 II, 充分摇匀后, 水平置于摇床, 室温, 100rpm/min, 震荡 5min; 之后 10000rpm/min 离心 5min, 弃上清液;

[0049] 4.3 重复步骤 4.2 三到五次。

[0050] 5. 按下述步骤进行抗体结合检测：

[0051] 5.1 向封闭后的土样中加入 3ml 反应液 I（反应液 I 配方：NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na_2HPO_4 10mmol/L, KH_2PO_4 2mmol/L, 5% (m/v) BSA, 0.5% (v/v) Tween-20, 0.5% (v/v) Bt 蛋白抗体），充分摇匀后，水平置于摇床，室温，50rpm/min，孵育 2h，期间每隔 20min 颠倒离心管数次。之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；

[0052] 5.2 加入洗涤液 II，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，100rpm/min，震荡 5min；之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；

[0053] 5.3 重复步骤 5.2 三到五次；

[0054] 5.4 加入 3ml 反应液 II（反应液 II 配方：NaCl 137mmol/L, KCl 2.7mmol/L, Na_2HPO_4 10mmol/L, KH_2PO_4 2mmol/L, 5% (m/v) BSA, 0.5% (v/v) Tween-20, 0.05% (v/v) HRP 标记二抗），充分摇匀后，水平置于摇床，室温，50rpm/min，孵育 1h，期间每隔 20min 颠倒离心管数次。之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；

[0055] 5.5 加入洗涤液 II，充分摇匀后，水平置于摇床，室温，100rpm/min，震荡 5min；之后 10000rpm/min 离心 5min，弃上清液；

[0056] 5.6 重复步骤 5.5 三到五次；

[0057] 5.7 加入新鲜配置的 3ml TMB 显色液（TMB 显色液配方：称取 TMB 20mg，用无水乙醇 10ml 溶解，充分振荡后加双蒸水定容到 100ml，此为底物 A；底物 B，取一水柠檬酸 2.1g，无水 Na_2HPO_4 2.82g，0.75% 的过氧化氢尿素 0.64ml，双蒸水定容至 100ml。使用时 A：B 各取 1.5ml 混匀），充分摇匀后，水平置于摇床，室温，100rpm/min，孵育 30min，期间每隔 10min 颠倒离心管数次。孵育结束后加入 2M 硫酸 1ml 终止反应。之后 10000rpm/min 离心 5min，取上清液于酶标仪 450nm 进行检测；

[0058] 对比例 1

[0059] 取 1-2g 土壤（土壤样本与实施例 1 一样），采取 SDS 法 [ZL201010137168.9] 进行 Bt 蛋白提取检测，按如下步骤：

[0060] 1. 取 100g 土壤样品，采用孔径为 $48\mu\text{m}$ 的网筛过筛去除植物根系残体等杂质，称取 5g 过筛后的土壤样品置于研钵中，研磨 1min 使土壤颗粒细小均匀；

[0061] 2. 将 0.5g 研磨后的土壤样品置于 2mL 离心管中，加入 1.5mL SDS 提取液，置于涡旋混合仪上振荡 1min，使其充分混合均匀；

[0062] 3. 将上述土壤悬浮液置于可控温摇床中， 50°C 下 $200\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡 4~16h；

[0063] 4. 将振荡后的离心管取出，迅速置于离心机中， $12000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 1~2min；

[0064] 5. 离心结束后，用微量移液器小心吸取离心管中的上清液，转入新的离心管中，该上清液即为含有 Bt 蛋白的溶液；

[0065] 6. 采用 ELISA 试剂盒对含有 Bt 蛋白的溶液进行定量。

[0066] 实验结果：

[0067] 本发明的土壤中残留 Bt 蛋白的原位酶联免疫定量检测方法与 SDS 法 [ZL201010137168.9] 提取土壤 Bt 蛋白的含量比较结果

[0068] 表 1 两种方法提取棉田土壤 Bt 蛋白结果：

[0069]

检测方法	Bt 蛋白含量/(ng·g ⁻¹)			
	常规	转 Bt 一年	转 Bt 两年	转 Bt 五年
SDS 法	0.58±0.10	8.35±1.73	8.98±1.69	7.99±2.30
本发明的原位酶联免疫法	0.72±0.16	965.72±98.11	896.15±121.36	901.39±132.70

[0070] 由上表可见,采用 SDS 法洗脱下来的土壤 Bt 蛋白只占土壤总 Bt 蛋白的百分之一左右,说明土壤中的 Bt 蛋白大部分是以吸附结合方式存在于土壤中,很难被洗脱下来,而采用本发明可以检测出这部分与土壤颗粒紧密结合的 Bt 蛋白,从而精确的测定出土壤中 Bt 蛋白真实的含量。

[0071] 另外,通过检测种植不同年限的转 Bt 棉花棉田土壤后我们发现,土壤吸附的 Bt 蛋白含量并未随着种植年限的增长而增加,可能说明土壤对 Bt 蛋白的吸附及保护作用有一定的饱和量,Bt 蛋白不会累积。

专利名称(译)	一种土壤中残留bt蛋白的原位酶联免疫定量检测方法		
公开(公告)号	CN105137061A	公开(公告)日	2015-12-09
申请号	CN201510452807.3	申请日	2015-07-28
[标]申请(专利权)人(译)	环境保护部南京环境科学研究所		
申请(专利权)人(译)	环境保护部南京环境科学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	环境保护部南京环境科学研究所		
[标]发明人	方志翔 刘标 沈文静 李衍亮		
发明人	方志翔 刘标 沈文静 李衍亮		
IPC分类号	G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/535		
代理人(译)	王艳		
其他公开文献	CN105137061B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种土壤中残留Bt蛋白的原位酶联免疫定量检测方法，包括以下步骤：1) 去除待测土样中的动植物残体，充分研磨，通过50-60目筛子使得土壤粒径在0.2mm以下；2) 将研磨后的土样在高压湿热条件下灭菌15-20分钟；3) 称取灭菌后的土样1-2g，放入10ml离心管中进行清洗去除土壤杂质；4) 对去除过杂质的土壤土样表面进行封闭；5) 对封闭后的土壤土样进行抗体结合检测；本发明为监测Bt蛋白在土壤中的残留及其对土壤生态系统的影响提供了一条新的途径，而且本方法不仅仅可以用于土壤bt蛋白的检测，在更换不同的抗体后更可以用于检测各种土壤中的残留蛋白含量。

检测方法	Bt 蛋白含量/(ng·g ⁻¹)			
	常规	转 Bt 一年	转 Bt 两年	转 Bt 五年
SDS 法	0.58±0.10	8.35±1.73	8.98±1.69	7.99±2.30
本发明的原位酶联免疫法	0.72±0.16	965.72±98.11	896.15±121.36	901.39±132.70