



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106918695 B

(45)授权公告日 2018.09.25

(21)申请号 201710094461.3

审查员 舒霏霏

(22)申请日 2017.02.21

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106918695 A

(43)申请公布日 2017.07.04

(73)专利权人 东华大学

地址 201620 上海市松江区松江新城人民
北路2999号

(72)发明人 赵晓祥 吕晏锋 杨莲 张弦

白玉杰

(74)专利代理机构 上海泰能知识产权代理事务

所 31233

代理人 黄志达

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

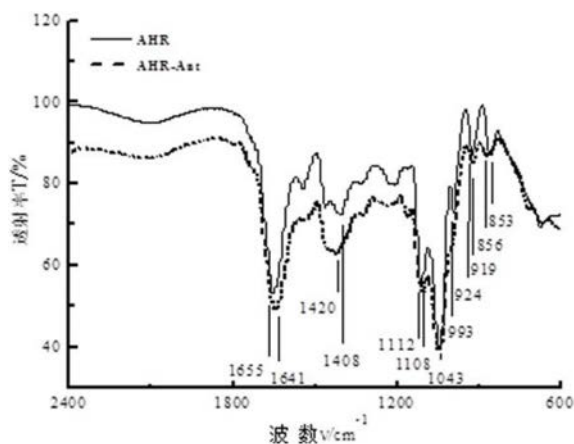
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测
方法

(57)摘要

本发明涉及一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,本发明从鲤鱼肝脏中分离并纯化的芳香烃受体与PAHs结合制备包被抗原吸附在固相载体上,然后加入待测PAHs样品、AhR和相应抗体,固相上的PAHs-AhR和待测PAHs-AhR与抗体进行竞争反应,反应后加入酶标二抗,最后用底物显色加以测定。根据已知PAHs的标准系列和待测样品的OD值计算抑制率,根据抑制率与PAHs浓度之间的对数关系作图即得标准曲线,并推算出待测PAHs的浓度。本发明可以与AhR抗体对水体痕量PAHs进行检测;检测特异性强,操作简便,灵敏度高,样品用量少,可用于现场检测。



1. 一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,包括:

(1) 取喂养于含多环芳烃PAHs水中的鲤鱼的肝脏,清洗后吸干水分,然后加入HEDG缓冲液匀浆,离心取上清,纯化,得到芳香烃受体AhR;

(2) 将AhR溶液中加入PAHs溶液,混匀后静置于4℃条件下放置30min,得到免疫抗原PAHs-AhR;

(3) 向96孔酶标板中每孔加入PAHs-AhR稀释液100μL,4℃包被12h,倒出孔内液体,用洗涤液振荡洗涤,拍干,每孔加封闭液200μL,37℃封闭60min,倒出孔内液体,洗涤,拍干,每孔加入一抗稀释液50μL和不同浓度的PAHs 50μL,同时设置空白对照,于37℃温育60min,重复上述洗涤步骤,拍干待用,每孔加入酶标二抗稀释液100μL于37℃温育60min,重复上述洗涤步骤,拍干待用,每孔加入TMB 100μL底物溶液,室温下显色15min,每孔加入终止液50μL终止反应,采用酶标仪测定OD值;以PAHs浓度的对数为横坐标,抑制率纵坐标,绘制标准曲线;其中一抗为AhR抗体,一抗稀释液:PBS配置的1g·L⁻¹的AhR溶液稀释一抗,得到一抗稀释液。

2. 根据权利要求1所述的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,其特征在于:所述步骤(1)中肝脏和HEDG缓冲液匀浆的比例为1g:4mL;HEDG缓冲液为25mmol·L⁻¹Hepes,1mmol·L⁻¹EDTA,1mmol·L⁻¹DTT,10%甘油,调pH7.5。

3. 根据权利要求1所述的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,其特征在于:所述步骤(1)中纯化为采用离子交换层析法进行纯化。

4. 根据权利要求1所述的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,其特征在于:所述步骤(2)中AhR溶液的溶剂为PBS缓冲液,其中PBS缓冲液为0.01M磷酸盐缓冲液,调pH为7.4;PAHs溶液的溶剂为10%体积的丙酮溶液。

5. 根据权利要求1所述的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,其特征在于:所述步骤(2)中AhR与PAHs混合液中AhR浓度为1mg·mL⁻¹,PAHs浓度为10⁻⁵mg·mL⁻¹。

6. 根据权利要求1所述的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,其特征在于:所述步骤(3)中PAHs-AhR稀释液为(2)中AhR与PAHs混合液稀释2000倍,稀释液的溶剂为0.05M碳酸盐缓冲液;洗涤液为PBS-T,为用PBS配置的体积百分比0.5%的Tween-20;封闭液的配置方法为:称取1g明胶,用PBS定容到100mL;终止液为2M硫酸溶液。

7. 根据权利要求1所述的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,其特征在于:步骤(3)中一抗稀释浓度为0.275μg·mL⁻¹;酶标二抗为辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG,稀释浓度为0.1μg·mL⁻¹。

8. 根据权利要求1所述的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,其特征在于:所述步骤(3)中二抗稀释溶剂为PBS。

9. 根据权利要求1所述的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,其特征在于:所述步骤(3)中不同浓度的PAHs为10ng/ml、20ng/ml、50ng/ml、100ng/ml、200ng/mL、500ng/mL、1000ng/mL、10000ng/mL系列浓度。

10. 根据权利要求1所述的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,其特征在于:所述步骤(3)中TMB底物溶液配置方法为:称取TMB 10mg,加入4mL乙醇溶解,得到TMB储存液;使用时,取TMB储存液0.4mL,底物缓冲液10mL和30%H₂O₂ 10μL,混合均匀;其中底物缓冲液为2.1%的柠檬酸2.43ml和3.04%磷酸氢二钠2.57ml,定容至10ml,调pH至5.0。

一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于检测受体与抗体相互作用领域,特别涉及一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法。

背景技术

[0002] 多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons,PAHs)定义为含有2个或2个以上苯环的一类碳氢化合物,种类繁多。美国环保局(USEPA)把萘(Naphthalene,NAP),芴(Acenaphthene,ANA),芴烯(Acenaphthylene,NY)、芴(Fluorene,FLU)、蒽(Anthracene,ANT)、菲(Phenanthrene,PHE)、荧蒽(Fluoranthene,FLT),芘(Pyrene,PYR)、苯并[a]蒽[Benzo(a)anthracene,BaA]、䓛(Chrysene,CHR)、苯并(a)芘[Benzo(a)pyrene,BaP]、苯并(b)荧蒽[Benzo(b)fluoranthene,BbF]、苯并(k)荧蒽[Benzo(k)fluoranthene,BkF]、苯并(g,hi)芘[Benzo(g,hi)perylene,BPE]、二苯并(a,h)蒽[Dibenzo(a,h)anthracene,DBA]、茚并(1,2,3-cd)芘[Indeno(1,2,3-cd)pyrene,IPY]规定为优先控制的16种多环芳烃。PAHs是一类惰性很强的碳氢化合物,无法轻易被降解,能稳定存在并不断蓄积于各种介质中,对环境造成持久性危害,并且能够通过呼吸作用、饮食(生物富集和食物链)、皮肤接触以及室内取暖等多种渠道进入体内,而PAHs的高脂溶性使其极易在生物体内,尤其是在脂肪中蓄积富集,进而可长期导致生物体产生不良或毒性反应。

[0003] 免疫分析法是基于抗体与抗原或半抗原间的高选择性反应而建立起来的一种生物化学分析法,其中酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)是利用抗原-抗体的特异性与酶催化作用的高效性并将二者相结合,通过酶的催化作用于底物后的显色反应判定结果,是目前应用最为广泛的综合性免疫学检测技术。

发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题是提供一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,本发明中提供了一种芳香烃受体,并建立与其介导的抗体的免疫检测方法,该受体与配体的结合特异性好,可以与AhR抗体对水体痕量PAHs进行检测;检测特异性强,操作简便,灵敏度高,样品用量少,可用于现场检测。

[0005] 本发明的一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法,包括:

[0006] (1)取饲养于含多环芳烃PAHs水中的鲤鱼的肝脏,清洗后吸干水分,然后加入HEDG缓冲液匀浆,离心取上清,得到粗提取的AhR,纯化,得到芳香烃受体AhR;

[0007] (2)将AhR溶液中加入PAHs溶液,混匀后静置于4℃条件下放置30min,得到免疫抗原PAHs-AhR;

[0008] (3)向96孔酶标板中每孔加入PAHs-AhR稀释液100μL,4℃包被12h,倒出孔内液体,用洗涤液振荡洗涤,拍干,每孔加封闭液200μL,37℃封闭60min,倒出孔内液体,洗涤,拍干,每孔加入一抗稀释液50μL和不同浓度的PAHs溶液50μL,同时设置空白对照,于37℃温育60min,重复上述洗涤步骤,拍干待用,每孔加入酶标二抗稀释液100μL于37℃温育60min,重

复上述洗涤步骤,拍干待用,每孔加入TMB 100 μ L底物溶液,室温下显色15min,每孔加入终止液50 μ L终止反应,采用酶标仪测定OD值;以PAHs浓度的对数为横坐标,抑制率为纵坐标,绘制标准曲线。

[0009] 抑制率(%) = $(1-B/B_0) \times 100\%$; (B=OD₄₅₀-OD₆₃₀下同)

[0010] 样品测定:水样用盐酸和氢氧化钠调节pH至6-8,取50 μ L,同上述PAHs溶液进行测定;较为浑浊的水样先稀释后再调pH进行测定。

[0011] 所述步骤(1)中肝脏和HEDG缓冲液匀浆的比例为1g:4mL;HEDG缓冲液为25mmol \cdot L⁻¹Hepes,1mmol \cdot L⁻¹EDTA,1mmol \cdot L⁻¹DTT,10%甘油,调pH7.5。

[0012] 所述步骤(1)中纯化为采用离子交换层析法进行纯化。

[0013] 采用离子交换层析法进行纯化具体为:选取取适量(溶胀后足够填满层析柱)大孔强碱性苯乙烯系树脂,进行预处理:用超纯水冲洗树脂,除去悬浮及机械杂质、细碎树脂,赶尽气泡,同时树脂体积膨胀,不间断冲洗直到流出的水质清晰透明,树脂层之间不存在气泡,然后用10%的食盐水浸泡树脂20h,再漂洗干净,再用1mol/L的盐酸浸泡树脂6h,用清水漂净,此时pH约为6,最后用1mol/L的NaOH溶液浸泡树脂6h,再漂洗至中性;装柱:将玻璃层析柱(长50cm,内径1cm)洗净后垂直安装于支架上,装入A液约50mL,打开下嘴阀使缓冲液缓慢滴出,同时将悬浮于适量洗脱液A中经预处理过的树脂一边搅动一边倒入层析柱中,使其自然沉降到全部加入为止,此过程中需保证柱床不分层,柱面平整,柱中无气泡。待液面高出树脂填料沉降面约1cm时,关闭下嘴阀;平衡:连接梯度混合器,打开恒流泵,用起始缓冲液(洗脱液A)以1.0mL/min的流速平衡柱子,直到流出液pH与起始缓冲液pH相同为止;将步骤(1)中得到的粗提取的AhR用A液平衡过夜后滴加到树脂表面上,滴加完全后再滴加HEDG缓冲液至液面高过树脂1cm,开始进行洗脱:盖紧层析柱上盖,将流速调整为2.0mL/min,然后连接并打开梯度混合器开始洗脱,调节流动相由100%A液变为100%B液,用核酸蛋白检测仪检测A₂₈₀,部分收集器收集流出的组分,收集纯化后的受体并用傅里叶红外光谱进行鉴定;其中A液为20mmol \cdot L⁻¹的TEA;B液为TEA 20mmol \cdot L⁻¹,NaCl 500mmol \cdot L⁻¹。

[0014] 所述步骤(2)中AhR溶液的溶剂为PBS缓冲液,其中PBS缓冲液为0.01M磷酸盐缓冲液,调pH为7.4;PAHs溶液的溶剂为10%体积的丙酮溶液。

[0015] 所述步骤(2)中AhR与PAHs混合液中AhR浓度为1mg \cdot mL⁻¹,PAHs浓度为10⁻⁵mg \cdot mL⁻¹。

[0016] 所述步骤(3)中PAHs-AhR稀释液为(2)中AhR与PAHs混合液稀释2000倍,稀释液的溶剂为0.05M碳酸盐缓冲液;洗涤液为PBS-T,为用PBS配置的体积比0.5%的Tween-20;封闭液的配置方法为:称取1g明胶,用PBS定容到100mL;终止液为2M硫酸溶液。

[0017] 步骤(3)中一抗为AhR抗体,稀释浓度为0.275 μ g \cdot mL⁻¹;酶标二抗为辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG,稀释浓度为0.1 μ g \cdot mL⁻¹。

[0018] 所述步骤(3)中一抗稀释溶剂为PBS配置的1g \cdot L⁻¹的AhR,二抗稀释溶剂为PBS。

[0019] 所述步骤(3)中不同浓度的PAHs为10ng/ml、20ng/ml、50ng/ml、100ng/ml、200ng/ml、500ng/mL、1000ng/mL、10000ng/mL系列浓度(采用10%的丙酮配制)。

[0020] 所述步骤(3)中TMB底物溶液配置方法为:称取TMB 10mg,加入4mL乙醇溶解,得到TMB储存液;使用时,取TMB储存液0.4mL,底物缓冲液(2.1%的柠檬酸2.43ml和3.04%磷酸氢二钠2.57ml,定容至10ml,调pH至5.0,临用现配)10mL和30%H₂O₂ 10 μ L,混合均匀,该试剂

需临用现配。

[0021] 本发明从鲤鱼肝脏中分离并纯化的芳香烃受体与PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 结合制备包被抗原吸附在固相载体(酶标板)上,然后加入待测PAHs样品、AhR和相应抗体,固相上的PAHs-AhR和待测PAHs-AhR与抗体进行竞争反应,反应后加入酶标二抗,最后用底物显色加以测定。根据已知PAHs的标准系列和待测样品的OD值,根据OD值与PAHs浓度之间的对数关系作图即得标准曲线,并推算出待测PAHs的浓度。

[0022] 有益效果

[0023] 本发明提供了一种芳香烃受体,并建立与其介导的抗体的免疫检测方法,该受体与配体的结合特异性好,可以与AhR抗体对水体痕量PAHs进行检测;检测特异性强,操作简便,灵敏度高,样品用量少,可用于现场检测。

附图说明

[0024] 图1为实施例1的芳香烃受体的紫外扫描图谱;

[0025] 图2为实施例1的AhR在280nm下的分离检测图谱;

[0026] 图3为实施例1的芳香烃受体的SDS-PAGE电泳图谱;

[0027] 图4为实施例1的芳香烃受体与葱作用前后的红外光谱图;

[0028] 图5为实施例2的间接竞争ELISA方法的标准曲线。

具体实施方式

[0029] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。此外应理解,在阅读了本发明讲授的内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

[0030] 实施例1

[0031] 一、鲤鱼体内芳香烃受体(AhR)的分离与纯化

[0032] 1. 含AhR的细胞溶质的提取

[0033] 取驯养于含Ant的水中的鲤鱼肝脏,先用生理盐水将肝脏表面血液清洗干净,再将表面水分吸干,称重,再以质量体积比为1g:4ml的比例加入HEDG缓冲液进行研磨,获得肝组织匀浆(以上操作均在冰上进行)。匀浆液于13000rpm,4℃下离心1h,吸取上清,即为含有受体的细胞溶质。可于-80℃保存也可以进行下一步实验。

[0034] 2. AhR的分离纯化

[0035] 使用离子交换层析法纯化蛋白质。将样品用起始缓冲液平衡过夜,用滴管将样品沿管壁小心加到树脂的表面上,打开下嘴阀,待样品液面完全进入树脂表面时,关闭下嘴阀。用同样方法滴加起始缓冲液至在柱面上覆盖一层约1~2cm厚的起始缓冲液,将流速调整为2.0mL/min,然后连接并打开梯度混合器开始洗脱,调节梯度由100%A液变为100%B液,采用核酸蛋白检测仪检测280nm处的光吸收值,并用部分收集器收集流出的组分,即为纯化过的AhR。

[0036] 二、AhR与Ant偶联与鉴定

[0037] 将提纯后的适量受体样品溶于PBS缓冲液中配制AHR溶液,向AHR溶液中加入Ant的

丙酮溶液并作为实验组,以未加入Ant的AHR溶液为对照组,均保持二者溶液中AHR的浓度为1mg/mL,实验组中Ant浓度为 10^{-5} mg/mL,混匀后将溶液静置于4℃条件下放置30min。采用FTIR中的衰减全反射(attenuated total reflection,ATR)光谱技术测量,测量波数范围为4000-600 cm^{-1} 。点样前用酒精棉擦拭载物台,待酒精挥发后再滴加待分析物进行测试。偶联后的样品稀释后可用于下述ELISA方法建立。

[0038] 实施例2

[0039] 一、间接竞争ELISA法标准曲线绘制以及检出限

[0040] 向96孔酶标板中每孔加入100 μL 稀释2000倍的包被抗原,于4℃条件下包被过夜12h。倒出孔内液体,用洗涤液PBS-T振荡洗涤3min,重复3次,拍干待用;每孔加封闭液胶200 μL ,于37℃封闭60min,倒出孔内液体,重复上述洗涤步骤,拍干待用;将一抗稀释至 $0.275\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,每孔加入50 μL ,将Ant用10%体积的丙酮溶液稀释配制为10、20、50、100、200、500、1000、10000ng/mL系列浓度,每孔加入50 μL ,同时设置空白对照,于37℃温育60min。重复上述洗涤步骤,拍干待用;将酶标二抗用稀释至 $0.1\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,每孔加入100 μL ,于37℃温育60min,重复上述洗涤步骤,拍干待用;每孔加入TMB底物溶液100 μL ,室温下显色15min;每孔加入50 μL 终止液终止反应;采用酶标仪于450nm及630nm处测定OD值。以Ant浓度的对数为横坐标,抑制率为纵坐标,绘制标准曲线;求半抑制浓度 IC_{50} ;对最低浓度10ng/mL标准溶液测定11次,11个样品的结果计算检出限和检出下限。

[0041] IC_{50} 为抑制率为50%时对应的PAHs的浓度;

[0042] 抑制率(%) = $(1-B/B_0) \times 100\%$; ($B = \text{OD}_{450} - \text{OD}_{630}$, B_0 为空白)

[0043] 计算求得葱的半抑制浓度为185.95ng/mL,检出限为2.43ng/mL。

[0044] 二、交叉反应率测定

[0045] 将Ant换成萘(Naphthalene, Nap)、菲(Phenanthrene, Phe)和荧葱(Fluoranthene, Flu),按照上述步骤,分别绘制标准曲线并分别求得其半抑制浓度 IC_{50} 。按如下公式计算Ant与上述多环芳烃的交叉反应率(cross reaction, CR%)及抑制率。

[0046] $\text{CR}(\%) = (\text{IC}_{50\text{Ant}} / \text{IC}_{50\text{other PAHs}}) \times 100\%$

[0047] 计算求得萘的半抑制浓度为3262.28ng/mL,交叉反应率为5.7%;菲的半抑制浓度为973.56ng/mL,交叉反应率为19.1%;荧葱的半抑制浓度大于 2×10^5 ng/mL,交叉反应率小于0.1%。

[0048] 三、精密度测试

[0049] 将Ant用丙酮溶液稀释浓度为0ng/ml、10ng/ml、50ng/ml、100ng/ml、1000ng/ml的溶液,按上述建立的间接ELISA法操作步骤,在相同条件下测定同一浓度在同一板内、不同时间的OD值,重复5次,计算其板内变异系数(Coefficient Of Variation, CV),即板内精密度。

[0050] 将Ant用丙酮溶液稀释浓度为0ng/ml、10ng/ml、50ng/ml、100ng/ml、1000ng/ml的溶液,按上述建立的间接ELISA法操作步骤,在相同条件下测定同一浓度在不同板内、相同时间的OD值,重复5次,计算其板间变异系数(Coefficient Of Variation, CV),即板间精密度。

[0051] 变异系数(CV) = (标准偏差SD/平均值Mean) $\times 100\%$

[0052] 表2.1 ic-ELISA标准曲线孔间差异(板内)

[0053]

Ant 浓度(ng/mL)	0	10	50	100	1000
OD 值	1.280	1.109	0.870	0.652	0.501
	1.271	1.135	0.695	0.700	0.476
	1.192	1.080	0.854	0.689	0.420
	1.162	0.995	0.769	0.587	0.496

[0054]

	1.250	0.983	0.852	0.640	0.513
CV (%)	4.19	6.42	9.23	6.85	7.63

[0055] 表2.2 ic-ELISA标准曲线孔间差异(板间)

[0056]

Ant 浓度(ng/mL)	0	10	50	100	1000
OD 值	1.174	1.06	0.831	0.613	0.450
	1.253	1.126	0.752	0.585	0.412
	1.294	0.981	0.761	0.651	0.397
	1.285	1.112	0.688	0.67	0.448
	1.476	1.203	0.650	0.596	0.501
CV (%)	8.56	7.51	9.51	5.82	9.13

[0057] 由表2.1和2.2可知,OD值变异系数(CV)均小于10%,说明本测定方法的差异较小,具有良好的重复性。

[0058] 四、加标回收率测定

[0059] 提取自来水、湖水及河水作为样品,根据上述建立的间接竞争ELISA方法的线性检测范围,以及水样中的葱含量,选择20、50和100ng/mL作为加标浓度,采用ic-ELISA分别对加标前后的样品进行测定分析,每个加标水平重复3次,取平均值,最后用以下公式计算该方法的加标回收率。

[0060] 回收率(%) = (加标后测定值-加标前测定值)/已知加标量×100%。

[0061] 表2.3间接竞争ELISA加标回收率

[0062]

水样	加标浓度	加标前	加标后	回收率(%)	CV(%)
自来水	20	未检出	22.54	112.7	3.85
	50	未检出	53.23	106.46	
	100	未检出	104.83	104.83	
湖水	20	0.23	21.68	107.25	9.13
	50	0.45	47.8	94.7	
	100	0.31	113.88	113.57	
河水	20	0.97	21.85	104.4	9.52
	50	0.65	53.99	106.68	
	100	0.72	89.87	89.15	

[0063] 葱的标准添加回收率范围为89.15%~113.57%，计算的回收率结果较为满意，方法的准确度符合分析的要求。

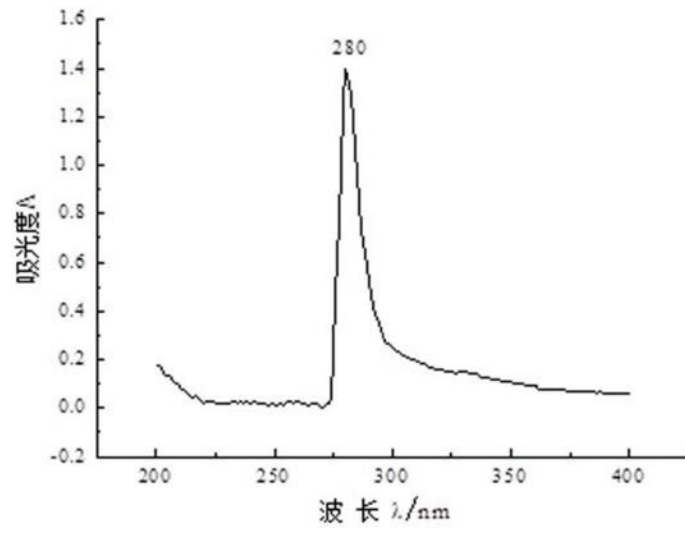


图1

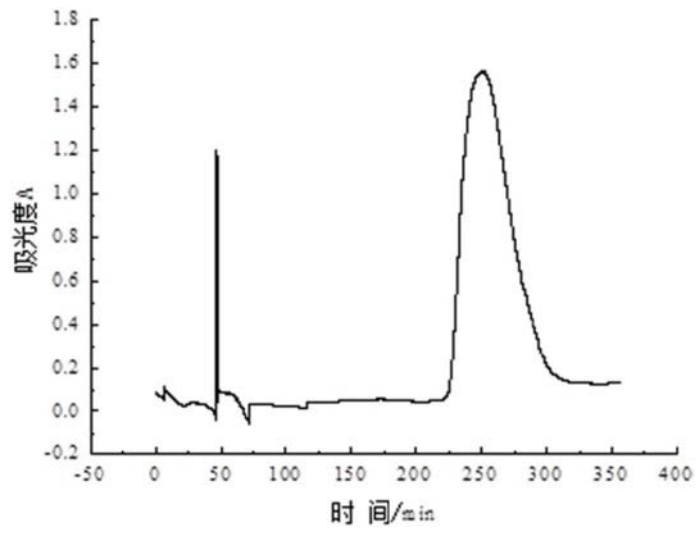


图2

蛋白相对分子质量/kD 受体AhR

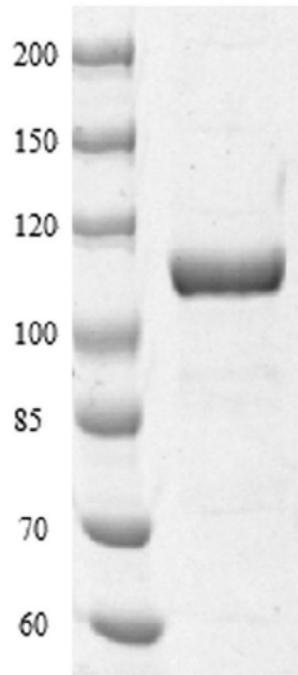


图3

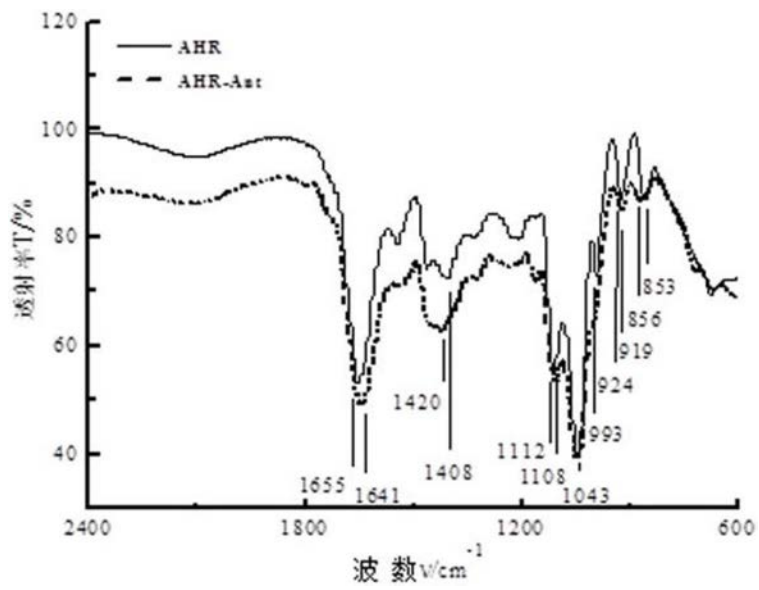


图4

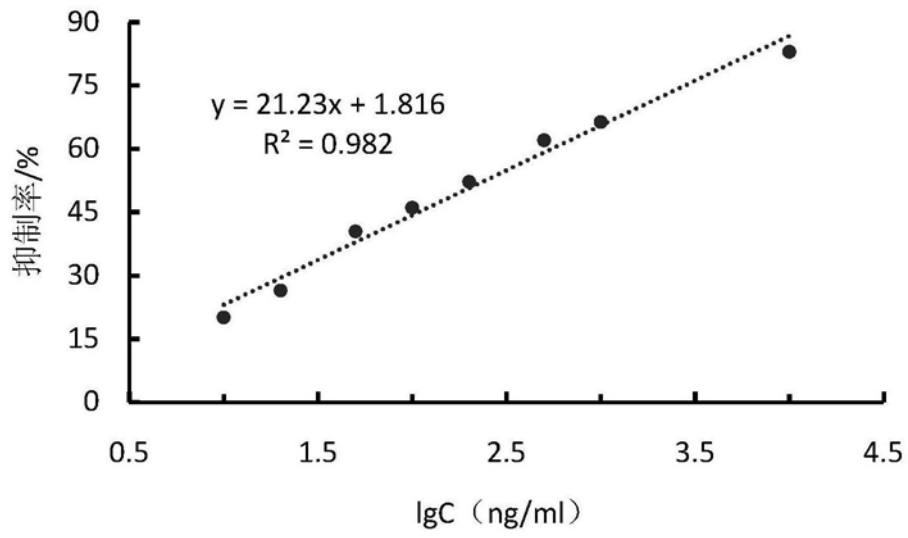


图5

专利名称(译)	一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法		
公开(公告)号	CN106918695B	公开(公告)日	2018-09-25
申请号	CN2017110094461.3	申请日	2017-02-21
[标]申请(专利权)人(译)	东华大学		
申请(专利权)人(译)	东华大学		
当前申请(专利权)人(译)	东华大学		
[标]发明人	赵晓祥 吕晏锋 杨莲 张弦 白玉杰		
发明人	赵晓祥 吕晏锋 杨莲 张弦 白玉杰		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/53		
代理人(译)	黄志达		
其他公开文献	CN106918695A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种芳香烃受体与其介导的抗体的免疫检测方法，本发明从鲤鱼肝脏中分离并纯化的芳香烃受体与PAHs结合制备包被抗原吸附在固相载体上，然后加入待测PAHs样品、AhR和相应抗体，固相上的PAHs-AhR和待测PAHs-AhR与抗体进行竞争反应，反应后加入酶标二抗，最后用底物显色加以测定。根据已知PAHs的标准系列和待测样品的OD值计算抑制率，根据抑制率与PAHs浓度之间的对数关系作图即得标准曲线，并推算出待测PAHs的浓度。本发明可以与AhR抗体对水体痕量PAHs进行检测；检测特异性强，操作简便，灵敏度高，样品用量少，可用于现场检测。

