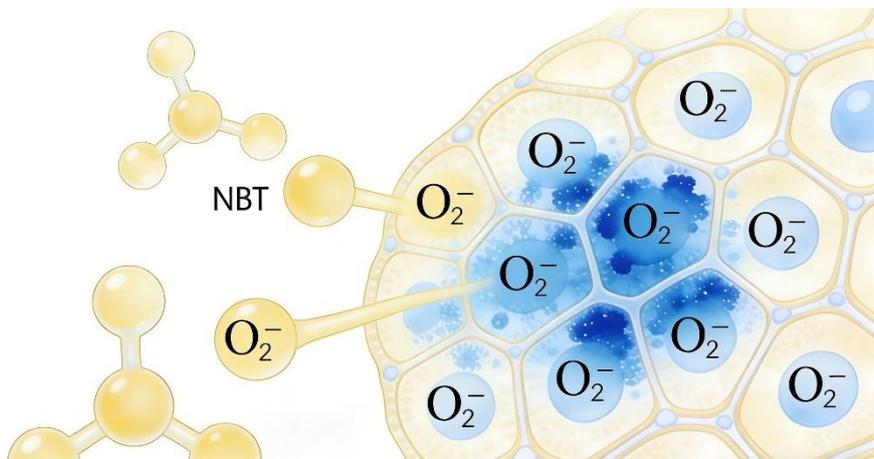




植物组织活性氧检测试剂盒（NBT 法）

Plant Tissue Reactive Oxygen Species Assay Kit (NBT Method)



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



植物组织活性氧检测试剂盒（NBT 法）

Plant Tissue Reactive Oxygen Species Assay Kit (NBT Method)

一、产品描述

在生长发育、响应逆境胁迫或衰老过程中，植物体内会产生活性氧（ROS）。超氧阴离子（ O_2^- ）作为其中关键的信号分子与毒性物质，其积累水平直接指示了植物的氧化应激状态与细胞损伤程度。因此，准确检测超氧阴离子对于研究植物抗逆机制、病理过程、激素信号传导及抗氧化能力至关重要。

植物组织活性氧检测试剂盒采用经典的氮蓝四唑（NBT）组织化学染色法，其核心原理是具有组织渗透性的淡黄色 NBT，可被植物组织中的超氧阴离子（ O_2^- ）选择性还原，生成不溶性的蓝色甲臞沉淀并原位沉积。通过分析蓝色沉淀的深浅与分布，即可对超氧阴离子在不同组织或细胞结构中的积累与动态进行直观的定性评估。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
NBT 染色液 (NBT Staining Solution)	液体 100 mL×1 瓶	4°C避光保存
组织脱色液 (Tissue Decoloring Solution)	液体 100 mL×1 瓶	常温避光保存
组织保存液 (Tissue Preservation Solution)	液体 100 mL×1 瓶	常温保存

三、产品使用说明

操作过程中所需要的仪器和试剂：恒温水浴/培养箱、滤纸、蒸馏水。

1. 染色步骤

①**组织准备**：采集经处理的植物组织（如叶片、根尖或幼嫩茎段），使用蒸馏水轻柔冲洗表面杂质，置于滤纸上吸干多余水分；

②**组织染色**：将实验样本完全浸入 NBT 染色液中，确保液体全覆盖，室温（通常 25-28°C）避光孵育 5-10 h，至阳性部位出现深蓝色，其余部位为淡蓝色或近无色或呈植物本身的颜色即可；

注：**染色增强处理**：对于结构致密、较厚或整体样本，为确保染色液充分渗透，建议在加入 NBT 染色液后进行负压辅助渗透（将容器置于真空装置中，缓慢抽真空至 -0.1 MPa，维持 20-30 min），再进行后续孵育步骤。

③**组织脱色**：孵育结束后，使用镊子小心取出实验样本，蒸馏水漂洗 3-5 次，洗去表面浮色，置于滤纸上吸干多余水分，浸入**组织脱色液**中，置于 70-80℃处理 20-40 min，直至组织背景颜色完全被洗脱，组织背景变为近白色或淡黄色；

注：脱色步骤需彻底，可酌情更换新鲜的组织脱色液并延长加热时间，以获得最佳观察背景。

④**结果保存与观察**：将脱色后的样本冷至室温后，浸入蒸馏水漂洗 3-5 次，置于滤纸上吸干水分，将样本转入适量**组织保存液**中浸泡 10-30 min，随后取出拍照记录。样本可置于该溶液中常温保存 1 个月。

2. 染色结果判定

ROS 阳性部位	蓝色或蓝紫色
组织背景（脱色后）	基本无色或淡黄色

3. 染色实验实例

样本处理	典型染色特征	结果解读与意义	图示
正常生长叶片	脱色后组织呈均匀的乳白色或极淡的蓝色，无显著深色斑点。	表明在正常生理状态下，植物体内的活性氧产生与清除系统处于动态平衡，无明显的氧化应激发生。可作为实验的 阴性参照	
逆境胁迫叶片	在胁迫部位（如叶缘、叶尖、病斑周围）出现清晰的深蓝色至蓝紫色斑点、晕圈或弥漫性着色。	深蓝色的甲臞沉淀特异性地指示了超氧阴离子 (O_2^-) 的爆发位点与积累水平。着色越深、范围越广，表明局部氧化应激与损伤越严重。直观证实胁迫引发了活性氧爆发。	

四、注意事项

- ①超氧阴离子易分解，尽可能保持植物样本的新鲜，离体后应尽快处理；
- ②整个染色与孵育过程需严格避光，以防止 NBT 分解；
- ③任何外在刺激因素都可能刺激植物应激产生 O_2^- ，应尽量完整取材避免人为损伤造成假阳性；
- ④通常建议脱色时脱色液体积是样本体积的 5-10 倍，可循环使用但颜色太深时建议弃用；
- ⑤染色后的样本建议及时观察记录，长期保存可能导致颜色减退；
- ⑥操作时请穿戴实验服和一次性手套，避免直接接触试剂；
- ⑦为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

