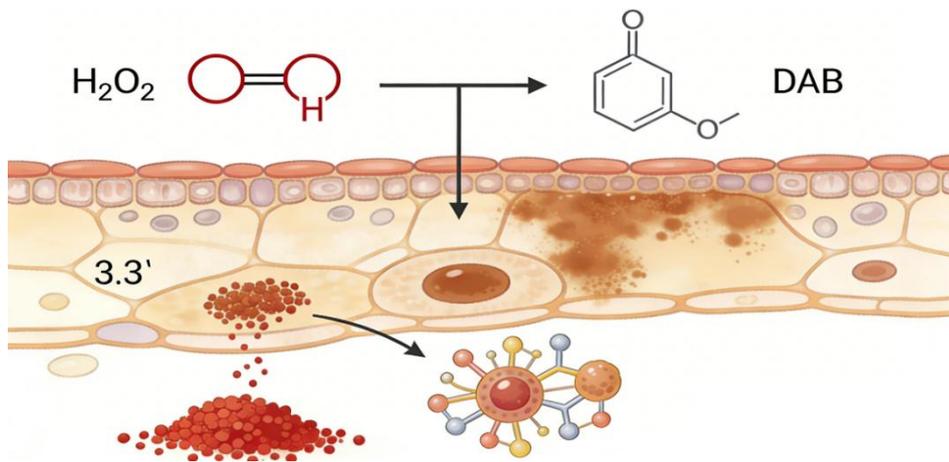




植物组织活性氧检测试剂盒（DAB 法）

Plant Tissue Reactive Oxygen Species Assay Kit (DAB 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（DAB 法）

Plant Tissue Reactive Oxygen Species Assay Kit (DAB Method)

一、产品描述

植物遭受生物或非生物胁迫时，体内会爆发性积累活性氧（ROS）。过氧化氢（H₂O₂）作为其中关键的信号分子与毒性物质，其原位积累水平是反映植物氧化应激与防御响应强度的直接指标。因此，直观地检测 H₂O₂ 的分布在解析植物逆境生理机制、抗病性鉴定以及抗逆育种等研究具有重要价值。

植物组织活性氧检测试剂盒采用经典的 DAB 染色法，其核心原理是过氧化氢（H₂O₂）在过氧化物酶的催化下，将无色的 DAB（3,3'-二氨基联苯胺）氧化为不溶于水的棕红色聚合产物（二氨基联苯胺的氧化形式），并原位稳定沉积。通过分析该棕色沉淀的分布范围与染色深度，即可实现对 H₂O₂ 积累位点的直接定位与半定量分析，从而表征氧化应激发生的具体位点与相对强度。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
DAB 染色液 (DAB Staining Solution)	液体 10 mL×1 瓶	4°C避光保存
DAB 稀释液 (DAB Diluent)	液体 90 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、镊子和蒸馏水。

1. 染色步骤

①DAB 染色工作液的配制：使用前按 DAB 染色液：DAB 稀释液=1:9 的体积比配制，现用现配；

②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；

③**组织染色**：将实验样本完全浸入 **DAB 染色工作液**中，确保液体全覆盖，室温（通常 25-28°C）避光孵育 5-10 h，至阳性部位出现深棕色，其余部位为淡黄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 DAB 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。

④**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°C 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。

⑤**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	棕色至红棕色
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	经脱色后，组织整体呈均匀的乳白色或极淡的黄色，仅叶脉等结构处可能有极浅的背景着色，无特异性棕色斑点。	表明在正常生理状态下，植物体内的过氧化氢（ H_2O_2 ）水平维持在较低且平衡的状态，其产生与清除系统运作良好，未发生明显的氧化应激。此样本可作为实验的 阴性对照 。	
逆境胁迫叶片 (辣椒)	在胁迫敏感部位(如叶缘、叶尖、病斑周围及萎蔫区域)出现清晰的棕色至深棕色斑点、晕圈或弥漫性着色，与周围组织界限分明。	此特异性棕色沉淀是由 DAB 被过氧化氢（ H_2O_2 ）氧化所形成，直接指示了 H_2O_2 的原位爆发与积累位点。着色越深、范围越广，表明该部位的氧化应激反应越剧烈，细胞损伤风险越高。	

四、注意事项

- ①过氧化物易分解，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 DAB 分解；
- ③任何外在刺激都可能刺激植物应激产生过氧化物，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.

