植物过氧化氢染色液(DAB 法)

Plant Hydrogen Peroxide Staining Solution(DAB)

使 用 说 明 书

货号及规格：

目录编号	包装规格
M365-01	**100 mL*3**

产品组成：

组分货号	组分名称	规格	储存温度
M365-1	DAB	100 mg	2-8℃
M365-2	磷酸缓冲液（pH 3.8）	100 mL	RT
M365-3	DAB样本保存液	100 mL*2	RT

储存条件：冰袋运输；2-8℃避光保存，有效期 12 个月，收到后请按照各组分储存温度进行保存。

产品概述：

植物组织在胁迫环境条件下会产生多种活性氧（ROS），ROS 活性非常大且极其不稳定，因此 ROS 的检测通常因其最终产物而定。过氧化氢是活性氧的一种。在过氧化氢酶的催化下，过氧化氢能与 DAB（3,3-二氨基联苯胺四盐酸盐）迅速反应生成棕红色化合物，从而定位组织中的过氧化氢，根据基本原理也称其为 DAB 法。本产品就是基于以上原理，用于植物活组织中的过氧化氢染色。一般应用于较嫩的根尖、叶片等的整体染色，染色后有过氧化氢聚集的部位呈棕色至深棕色。

操作步骤：

1. 试剂准备：将 100 mg DAB 以磷酸缓冲液 100 mL 充分溶解，得到 DAB 染色工作液，避光 4℃保存，一周内有效。**注：DAB 对光敏感，溶解过程需要避光，如果较难溶解，可通过超声、磁力搅拌等方法促进溶解**。
2. 采集经胁迫（例如重金属）的植物幼苗或根尖，纯水稍洗净，置于滤纸上吸干多余的水分。将植物幼苗或根尖浸没在 DAB 染色工作染液中，常温避光染色 2-6 h，至阳性部位出现深棕色，其余部位近无色或者呈植物本身的颜色即可。（根据植物幼嫩程度、显色程度调整染色时间）
3. 用镊子将植株幼苗或者叶片小心取出，浸入纯水中来回漂洗 3-5 次，置于滤纸上吸干多余水分后，浸入 95% 乙醇中 40℃处理 3-16 h，目的是脱去植株幼苗或者叶片本身的叶绿素，脱色期间可多次更换新鲜的 95% 乙醇。
4. 用镊子取出植株幼苗或者叶片，浸入纯水中来回漂洗 3-5 次，置于滤纸上吸干多余水分后，将样本转入适量 DAB 样本保存液中浸泡 30 min，随后可取出拍照。样本可置于该保存液中常温保存一周。

注意事项：

1. DAB 染色工作液配制好以后需 4℃避光保存，一周内使用。存放时间过久，会影响显色。
2. 因过氧化氢容易分解，且任何外在因素都可能刺激植物应激产生过氧化氢，因此植物样本需要新鲜采集，并尽快完成染色。建议做阴性及阳性空白对照组。
3. 样本染色完成后尽快拍照保存结果。
4. 为了您的健康和安全，操作时请穿好实验服、戴好手套。
5. 本产品仅供科研使用，不得用于临床和诊断。

==========

扫码关注我们