

## DAB 染色液(2mg/mL,pH3.8)

### 产品简介：

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。

DAB 染色液(2mg/mL,pH3.8)由 DAB 和磷酸盐组成，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。该产品仅用于科研领域，不用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成：

| 名称                   | 编号     | Storage |
|----------------------|--------|---------|
| 试剂(A): DAB           | 100mL  | 4°C避光   |
| 试剂(B): 磷酸缓冲液(pH 3.8) | 100 mL | RT      |
| 使用说明书                | 一份     |         |

### 自备材料：

- 1、新鲜的植物叶片或根、自来水、蒸馏水、95%乙醇
- 2、超声波、磁力搅拌器、电子天平、量筒、滤纸、照相机
- 3、DAB 染色样本保存液(可选)

### 操作步骤(仅供参考)：

- 1、试剂准备：将 200 mg DAB 加入到 100 mL 磷酸缓冲液中充分溶解，即得 DAB 染色工作液，4°C避光保存，一周内有效；-20°C保存，可适当延长保质期。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、磁力搅拌等方法促溶。
- 2、样本准备：采集经胁迫（例如重金属）的植物幼苗或根尖，自来水稍洗净，置于滤纸上吸干多余的水分。
- 3、染色：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。(根据植物幼嫩程度和显程度调整染色时间)

- 4、脱色：用镊子将植株幼苗或者叶片小心取出，浸入蒸馏水中来回漂洗 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。
- 5、观察：用镊子取出植株幼苗或者叶片，浸入蒸馏水中来回漂洗 3~5 次，置于滤纸上吸干多余水分后，拍照。(吸干水分后可将样本转入 DAB 染色样本保存液中浸泡 30 min，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、DAB 可能具致癌性，请小心操作，避免直接接触。
- 5、染色和脱色步骤也可参考如下建议操作：组织放入染液中，抽真空，-0.1MPa 保持负压 20~30min，再于室温下静置染色 60min，弃染色液；加入 95%乙醇，于 70~80℃水浴锅脱色，每隔 10min 换一次 95%乙醇，待样品绿色全部褪去后可停止脱色。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12 个月。低温运输，4℃保存。