

## NBT 染色液(0.5mg/mL,pH7.8)

### 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。超氧阴离子是活性氧的一种, 属于一种含氧自由基, 能将 NBT (氮蓝四唑) 还原成不溶于水的蓝色甲瓩化合物, 从而定位组织中的超氧阴离子。

NBT 染色液 (0.5mg/mL,pH7.8)由 NBT 和磷酸盐组成, 用于植物活组织中的超氧阴离子染色。一般应用于较嫩的根尖、叶片等的整体染色, 染色后有超氧阴离子聚集的部位呈蓝色至深蓝色。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	ADS053DP0	Storage
试剂(A): NBT	50mg	4°C避光
试剂(B): 磷酸缓冲液(pH7.8)	100mL	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、NBT 染色样本保存液(可选)

### 操作步骤(仅供参考):

1、试剂准备: 将 50 mg NBT 加入到 100mL 磷酸缓冲液(pH 7.8) 中充分溶解, 即得 NBT染色工作液, 4°C避光保存, 一月内有效。注: 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) 的采集植物幼苗或根尖, 自来水稍洗净, 置于滤纸上吸干多余水分。

3、染色: 将植物幼苗或根尖浸入 NBT 染色工作液中, 常温避光浸染 2~6 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。(根据植物幼嫩程度。显色程度调整染色时间)

4、脱色: 用镊子将植物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或者淡蓝色背景，处理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 NBT 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、NBT 染色工作液配制好以后需 4℃避光保存，一月内使用。存放时间过久，会影响显色。
- 2、因任何外在因素都可能刺激植物应激产生超氧阴离子，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、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。
- 5、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。