

胼胝质 (callose) 含量测定试剂盒说明书

荧光法 100 管/96 样

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

胼胝质 (callose) 是围绕每个筛孔的边缘积累的碳水化合物，是一种以 β -1,3 键结合的葡聚糖，在植物的筛管代谢、配子体发育等生命活动中发挥着重要的调节作用，其合成、分解直接关系植物正常的生长代谢过程。

测定原理：

胼胝质与苯胺蓝染料反应，产生荧光物质，在激发波长 400nm，发射波长 500nm 下荧光强度。

自备仪器和用品：

研钵、冰、低温离心机、荧光酶标仪、黑色 96 孔板、可调式移液器、乙醇和蒸馏水。

试剂组成和配制：

提取液：液体 110mL×1 瓶，4°C 保存。

试剂一：粉剂×1 瓶，4°C 避光保存；临用前加入 10mL 蒸馏水充分溶解待用。

试剂二：液体 6mL×1 瓶，4°C 保存。

试剂三：液体 15mL×1 瓶，4°C 保存。

标准品：粉剂×1 管，4°C 保存。

样品中胼胝质提取：

切取约 0.1g 样本于 EP 管（不要研磨），用 98% 的乙醇浸泡过夜。然后弃掉乙醇，加入 1mL 提取液，充分匀浆，80°C 水浴 20min，10000g 25°C 离心 10min，取上清待测。

测定操作：

标准品溶液配制

在标准品中加入 1mL 提取液，充分溶解，得到浓度为 10mg/mL 的胼胝质标准溶液。按以下比例配制不同浓度的标准品。

标准品浓度 (mg/mL)	10	8	6	4	2
标准品 (μ L)	200	160	120	80	40
提取液 (μ L)	0	40	80	120	160

样本测定

在 EP 管中依次加入如下试剂

试剂名称 (μ L)	测定管
样本上清或标准品溶液	40
试剂一	80
试剂二	40
充分震荡混匀	
试剂三	120

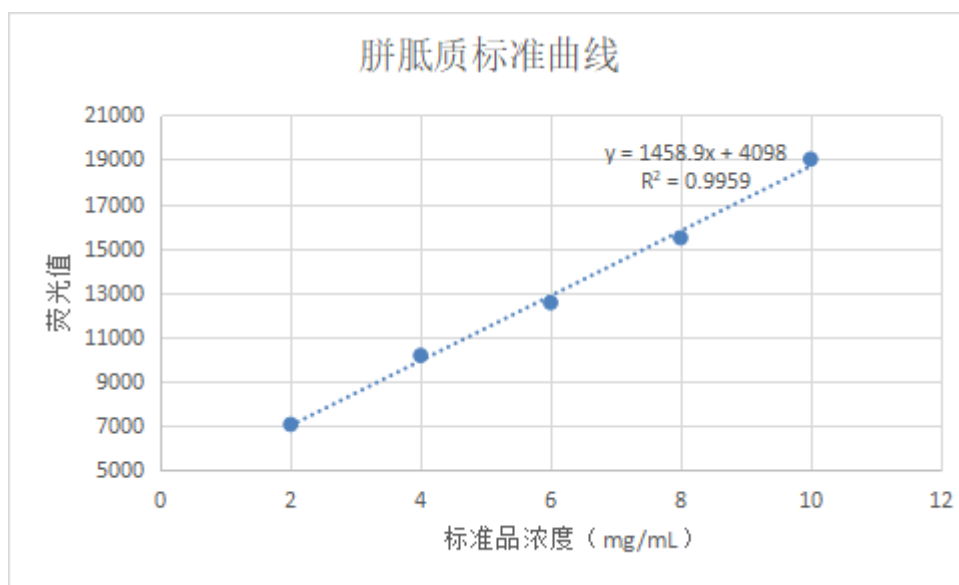
充分混匀，50°C 水浴 30min，然后室温放置 1h，直至溶液蓝色褪去。如果蓝色仍未褪去，可以继续 50°C 水浴直至蓝色消失。

取 200 μ L 于黑色 96 孔板，激发波长 400nm，发射波长 500nm，测定荧光强度，记作 A。

胍胍质含量计算:

1. 标准曲线

以标准品浓度 mg/mL 为横坐标，荧光强度为纵坐标，制作标准曲线。



本试剂盒胍胍质标准曲线参考

2. 胍胍质含量计算

根据标准曲线得到样本上清中胍胍质的浓度 (mg/mL)

样品中胍胍质含量 (mg/g 鲜重) = 样本上清中胍胍质的浓度 (mg/mL) ÷ (样本质量(g) ÷ 提取液体积 (mL)) = 样本上清中胍胍质的浓度 (mg/mL) ÷ 0.1