天净沙系列

CAT#:981104-1000

常温运输和保存

BINGENE

核酸 PAGE 胶银染试剂盒

Silver Stain for Nucleic Acid PAGE

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址：www.bingene.com；电话：400-6605850；电邮：order@bingene.com

产品及特点

核酸银染的原理是银离子(Ag+）可与核酸（DNA 和 RNA）形成稳定的复合物，然后用还原剂如甲醛在碱性环境下使 Ag+还原成银颗粒，可把核酸电泳带染成黑褐色。本产品就是根据此原理开发，它具有下列特点：

1. 既可用于聚丙烯酰胺凝胶电泳的核酸染色，也用于琼脂糖凝胶染色。
2. 既可检测 DNA，也可以检测 RNA。既可检测单链也可以检测双链。最短可以 10 几个碱基。
3. 其灵敏度比 EB 高 200 倍，能检测到 10ng 的 DNA 条带。
4. 可用于检测 SSR 标记、SNP 标记。
5. 比常规的银染方法快捷，只有染色和显影两步，只需要 20 分钟。
6. 本产品足够配制 1000mL 的工作液，足够 10 次银染。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒（无垫）包装

成份	编号	规格	包装材料
溶液 A 成分一（干粉）	981104a1	2 克	10 mL 棕色塑料瓶
溶液 A 成分二，10×	981104a2	100 mL	125 mL 本色瓶
溶液 A 成分三，10×	981104a3	100 mL	125 mL 本色瓶
溶液 B 成分一，10×	981104b1	100 mL	125 mL 本色瓶
溶液 B 成分二	981104b2	5 mL	5 mL 本色瓶
使用手册	981104sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，保存期限为一年。

自备试剂

去离子水。

使用方法

一、配制溶液 A（即染色液）100 mL

注意：溶液 A 需要新鲜配制，不能存放。所需溶液 A（染色液）的体积跟 PAGE 胶的面积大小相关，一般的 10cm×10cm 的 mini-PAGE 胶需要 20-30mL。下面的用量是针对配制 100mL 溶液 A。如果配制的溶液 A 的体积不是 100mL，则需按比例改变各成分用量。

1. 在一干净烧杯中加入下列成分，充分搅拌混匀即可。

成分	用量
自备去离子水	80 mL
溶 液 A成分一	0.2 g
溶 液 A成分二	10 mL

溶液A组分三	10mL

二：配制溶液 B 100 mL

需要配制的溶液 B(显色液)的体积完全跟 PAGE 胶的大小相关,一般的 10cm×10cm 的 mini-PAGE 胶需要 20-30mL 溶液 B。下面的用量是针对配制 100mL 溶液 B。如果配制的溶液 B 的体积不是 100mL，则需按比例改变各成分用量。

2. 在一干净烧杯中加入下列成分搅拌混匀即可。溶液 B 需要新鲜配制。

成分	用量
自备去离子水	89.5 mL
溶液B成分一	10 mL
溶液B组分二	0.5 mL

三：染色

3. PAGE 电泳结束后，将 PAGE 胶转移到装有去离子水的瓷盘中，漂洗 2 次，每次 2 分钟。
4. 将 PAGE 胶转移到适当体积的溶液 A，使溶液 A 在轻柔摇晃过程中能够淹没 PAGE 胶。室温染色时间 10 分钟。
5. 倒掉溶液 A，用去离子水快速漂洗 2 次，每次半分钟。
6. 将PAGE胶转移到适当体积的溶液B,使溶液B在轻柔摇晃过程中能够淹没PAGE胶。室温摇晃直到颜色显现，一般需要 10 分钟左右。
7. 将 PAGE 胶置于适当背景下照相。

技术资料

核酸和蛋白质银染注意事项

1. 银染主要出现在 PAGE 胶的表面，故用薄胶（0.5-0.75mm）可以提高灵敏度。
2. 对于已经用考马斯亮蓝染色的 SDS-PAGE 胶，可用甲醇将胶漂洗后，继续进行银染。考马斯亮蓝染色中使用的乙酸会干扰银染，因此要确保将 PAGE 凝胶中残留的乙酸彻底洗净。
3. 不同蛋白质对银染的反应是不一样的，尤其是碱性蛋白染色效果差。因此，不宜用银染测定不同蛋白的比例。
4. PAGE 凝胶银染后背景呈均一的黑色多是水中的杂质引起的，所以溶液的配制应使用电导率小于 1μS 的去离子水。
5. 如果染色后有烟雾状灰色或烟雾状棕色沉淀出现在凝胶表面，可能是在漂洗不彻底，或是染色过程时温度太低。
6. 较深的银染背景多是丙烯酰胺中的杂质所致。

	7. PAGE 胶中的甘油、尿素、甘氨酸、Triton X-100 和两性电解质这些物质都会干扰银染，需要增加固定步骤，固定的目的就是去除这些物质。 8. 室温操作时，温度的波动往往会干扰银染的效果，恒温水浴可以解决这个问题。 9. SDS-PAGE 凝胶中的巯基乙醇会导致在 60 KDa 或 67 KDa 处出现两条带。减少巯基乙醇的用量即可避免。 10. 凭借戊二醛预处理可以使各种蛋白质的染色提高 40 倍。 11. 染色使用的玻璃器皿必须非常干净，用酸浸泡可以满足要求。 12. 银染应尽快照相，随着时间延长，蛋白条带会变浅，而背景会加深。 13. 银染器皿也非常重要。最好是玻璃平皿，因为其化学性质极其稳定，几乎不与银染试剂中的任何成分发生反应，且不具有吸附染料的特性。其次是医用搪瓷盘，瓷釉为无机玻璃质材料，能耐各种浓度的无机酸(包括强氧化性酸)、有机酸、弱碱和强有机溶剂，但不耐酸、碱介质交替使用，而常规银染法就是酸碱介质交替使用，因此搪瓷盘银染效果不如玻璃平皿。塑料种类较多，如果塑料是由含氨基官能团的有机物（脲、三聚氰胺或苯代三聚氰胺）与醛类（主要是甲醛）化合物经缩聚反应而得，则这种塑料会在碱性溶液中与有强还原作用的甲醛发生反应，进而使甲醛消耗，减弱银离子与蛋白的结合，降低显色敏感度和显色速度。
关联产品	蛋白质银染试剂盒