

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:81104-1000  
常温运输和保存

**TIANDZ**

# 超快核酸银染试剂盒

Rapid Silver Stain for Nucleic Acid

使用手册 V1.2

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>核酸银染的原理是银离子(Ag<sup>+</sup>) 可与核酸形成稳定的复合物，然后用还原剂如甲醛在碱性环境下使 Ag<sup>+</sup>还原成银颗粒，可把核酸电泳带染成黑褐色。它主要用于聚丙烯酰胺凝胶电泳染色，也用于琼脂糖凝胶染色，其灵敏度比 EB 高 200 倍，常用于检测 SSR 标记、SNP 标记。但常规的银染方法由固定、氧化、染色、显影、终止等步骤组成，操作十分繁琐，尤其不适用于大批量实验。为解决此问题，本公司推出本产品，其特点如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 超快，整个过程只需要 20 分钟。</li> <li>2. 操作简单，只有染色和显影两步。</li> <li>3. 灵敏度跟常规方法相当，EB 高 200 倍，能检测到 10 ng 的 DNA 条带。</li> <li>4. 两个成分都是现用现配，可重复性好。</li> </ol>																							
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1" data-bbox="544 819 1361 1261"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>大纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>溶液 A 组分一（干粉）</td> <td>81104a1</td> <td>2 克（10 mL 棕色瓶）</td> </tr> <tr> <td>溶液 A 组分二，10×</td> <td>81104a2</td> <td>100 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 A 组分三，10×</td> <td>81104a3</td> <td>100 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 B 组分一，10×</td> <td>81104b1</td> <td>100 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 B 组分二</td> <td>81104b2</td> <td>5 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>81104sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> <p>注：1000 mL 规格指可配制的溶液 A（染色液）的体积，实际使用次数根据 PAGE 胶大小不同而不同。</p>			成份	编号	大纸盒包装	溶液 A 组分一（干粉）	81104a1	2 克（10 mL 棕色瓶）	溶液 A 组分二，10×	81104a2	100 mL	溶液 A 组分三，10×	81104a3	100 mL	溶液 B 组分一，10×	81104b1	100 mL	溶液 B 组分二	81104b2	5 mL	使用手册	81104sc	1 份
成份	编号	大纸盒包装																						
溶液 A 组分一（干粉）	81104a1	2 克（10 mL 棕色瓶）																						
溶液 A 组分二，10×	81104a2	100 mL																						
溶液 A 组分三，10×	81104a3	100 mL																						
溶液 B 组分一，10×	81104b1	100 mL																						
溶液 B 组分二	81104b2	5 mL																						
使用手册	81104sc	1 份																						
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>常温运输和保存，有效期一年。</p>																							
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>去离子水。</p>																							
<p><b>使用方法</b></p>	<p><b>一：配制溶液 A 100 mL</b></p> <p>需要配制的溶液 A（染色液）的体积完全跟 PAGE 胶的大小相关，一般的 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。在一干净烧杯中加入下列成分搅拌混匀即可。溶液 A 需要新鲜配制。</p> <table border="1" data-bbox="767 1868 1136 2116"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>用量</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>去离子水</td> <td>80 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 A 成分一</td> <td>0.2 g</td> </tr> <tr> <td>溶液 A 成分二</td> <td>10 mL</td> </tr> </tbody> </table>			成分	用量	去离子水	80 mL	溶液 A 成分一	0.2 g	溶液 A 成分二	10 mL													
成分	用量																							
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	10 mL
----------	-------

## 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 mini-PAGE 胶需要 20-30mL。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。在一干净烧杯中加入下列成分搅拌均匀即可。溶液 B 需要新鲜配制。

成分	用量
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

1. 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。
2. 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。
3. 倒掉溶液 A，用去离子水快速漂洗 2 次，每次半分钟。
4. 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。
5. 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。考染过程中的乙酸会干扰银染，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. 染色过程中，缓慢的振荡是必要的，一般选择 40-60 rpm.
5. 凝胶表面的裂纹多是由于压力、手印及表面干燥所致，所以全程操作中都应带手套。
6. PAGE 凝胶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 1  $\mu$ S 的去离子水。

7. 如果染色后有呈灰尘或烟雾状灰色或棕色的沉淀出现在凝胶表面，可能是在几步漂洗过程中洗得不够彻底，或是染色过程时温度太低。
8. 较深的银染背景多是丙烯酰胺中的杂质所致。
9. PAGE 胶中的甘油、尿素、甘氨酸、Triton X-100 和两性电解质这些物质会干扰银染，固定的目的就是去除这些物质。
10. 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。
11. 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。
12. 凭借戊二醛预处理可以使各种蛋白质的染色提高 40 倍。
13. 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。
14. 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。
15. 影响硝酸银染色效果的因素很多，其使用容器的材质也是一个非常重要的因素。通常使用的容器材质有玻璃、密胺塑料、搪瓷等。通过本实验发现，SDS-PAGE 硝酸银染色使用不同材质的容器其效果有明显区别。对比发现，玻璃平皿是最理想的银染容器，相同条件下显色快，染色敏感度和条带灰度值高，明显优于使用医用搪瓷盘和密胺塑料盘。
16. 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(CAT#:100602)