

Kit de Tinción con Plata para Ácidos Nucleicos

El kit de tinción con plata permite la detección y cuantificación de ácidos nucleicos, tanto DNA como RNA, en geles de poliacrilamida, con una sensibilidad de 1 picogramo. Además, posibilita diferenciar el ácido nucleico de simple y doble hebra por la coloración de la banda, rojiza la del de simple hebra, y café oscuro la del de doble hebra.

El kit provee la cantidad de reactivos suficientes para teñir 100 geles de 8x10 cm o 50 geles de 20x20 cm.

Contenido:

Solución A de fijación 10 x	500 mL Solución D de revelado 10 x	500 mL
Solución B de tinción 50 x	50 mL Solución E de detención 10 x	50 mL
Solución C de revelado 50 x	50 mL Instrucciones de uso	1

El procedimiento a realizar, una vez concluida la corrida electroforética, consta de cuatro pasos: *Fijación, Tinción, Revelado y Detención*, detallados a continuación:

Fijación:

- 1- Preparar una dilución 1:10 de la **Solución A de Fijación 10x** en agua destilada.
- 2- Sumergir el gel en esta solución diluida e incubar durante 30 min. con agitación leve.

Tinción:

- 1- Preparar una dilución 1:50 de la **Solución B de Tinción 50x** en agua destilada.
- 2- Sumergir el gel en esta solución diluida e incubar durante 30 min. con agitación leve.
- 3- Realizar dos lavados muy breves del gel con agua destilada.

Revelado:

- 1- Preparar la Solución de Revelado por mezcla y dilución simultánea, 1:50 de la Solución C de Revelado 50x, y 1:10 de la Solución D de Revelado 10x, en agua destilada.
- 2- Sumergir el gel en esta solución e incubarlo, con agitación leve, durante 30 min. o hasta la aparición de las bandas teñidas.

Detención:

- 1- Preparar una dilución 1:10 de la **Solución E de Detención 10x**.
- 2- Detener el revelado sumergiendo el gel en esta solución diluida.



Notas:

- El volumen de solución requerido en cada paso depende del tamaño del gel y del recipiente. Normalmente son suficientes 50 ml para un gel de 8x10 cm, y 100 ml para un gel de 20x20 cm.
- Todos estos pasos pueden realizarse en un mismo recipiente, teniendo la precaución de lavarlo exhaustivamente una vez concluida la técnica. También puede usarse un recipiente exclusivamente para la tinción.
- El gel puede conservarse en la solución diluida de fijación por 24 horas.
- El gel no debe ser tocado, ni con guantes, porque se mancha. En caso de requerir su manipulación, hacerlo con Parafilm.
- No es recomendable teñir el gel por más de 30 min., y una vez teñido, debe revelarse inmediatamente.
- El gel puede conservarse en la solución diluida de detención, en un envase sellado.
- Para una conservación prolongada, secar el gel una vez concluida la técnica.

Problemas más frecuentes y recomendaciones para solucionarlos:

Problema técnico	Probable causa	Recomendaciones
Gel blanco	Agua con iones, principalmente cloruro	Usar agua destilada o desionizada de mejor calidad Lavar bien el recipiente que se está usando
Gel sin bandas a) Si no se ven las bandas del marcador:		r I
	Muy poca cantidad de DNA/RNA (<1pg)	Aplicar mayor cantidad de DNA/RNA en las muestras
	b) Si se ven las bandas del marcador:	
	Solución de Tinción y/o Revelado mal	
	preparadas	Revisar la dilución de las soluciones B y C
	Lavado muy extenso del gel después de teñirlo	Los lavados deben ser breves y no más de dos
	Solución de Revelado fría	Calentar la solución a 25°C aproximadamente
Gel sobreteñido	Solución de Tinción y/o Revelado mal preparadas	Revisar la dilución de las soluciones B y C
	Exceso de plata en el recipiente	Lavar bien el recipiente que se está usando Aumentar a tres los lavados entre Tinción y Revelado