

磷钨酸负染色液（2%）使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ED-8030	Phosphotungstic Acid (PTA) Negative Stain, 2%	100mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

室温避光储存，有效期 12 个月

【概述】

负染色（Negative Staining）技术是电子显微镜观察生物大分子、病毒及纳米颗粒的标准方法。

原理：利用磷钨酸等高电子密度的重金属盐包绕样品。在电子束照射下，背景因含有重金属而呈现高电子密度（暗色），而生物样品由于电子散射能力低且不被染色剂穿透，在暗色背景中呈现出明亮的轮廓和细微结构。

应用：适用于观察病毒颗粒、细菌鞭毛、外泌体（Exosomes）、蛋白质复合物、脂质体及各类纳米材料。

特点：本产品为 2% 水溶液，经精密调配，具有良好的铺展性和反差效果。

【自备材料】

离心机、载网、显微镜

【使用建议（仅供参考）】

方法一：滴染法（适合浓度较低的样品）

- 1. 样品准备：**样品需分散均匀。若浓度过低，建议低速离心（如 $2,000 \times g$ ，10 min）富集。
- 2. 上样：**将载网（膜面朝上）置于干净的蜡膜或封口膜上，滴加 10–20 μL 样品悬浮液，静置 3–5 min 使样品吸附。
- 3. 清洗（可选）：**若样品含有高盐或缓冲液成分，可用一滴去离子水清洗载网表面。
- 4. 染色：**吸去多余液体后，立即滴加 1 滴（约 10 μL ）2% 磷钨酸负染色液，静置 1–2 min。
- 5. 干燥：**用滤纸条从载网边缘轻轻吸干多余染液，自然晾干后即可进行透射电镜（TEM）观察。

方法二：漂浮法（适合批量操作）

1. **样品制备：**样品低速离心（ $2,000 \times g$ ，10 min）或用其他方法浓缩，制成均匀的悬浮液。
2. **吸附：**将带有支持膜的载网置于样品液滴上漂浮以沾取样品。
3. **染色：**载网转移至负染色液液滴上漂浮 1-2 min。
4. **干燥：**吸去多余染色液，自然干燥后进行透射电镜 (TEM) 观察。

【染色结果】

项目	显微镜下表现
目的样品	电子透明（明亮轮廓），内部结构清晰
背景	电子致密（深黑色或深灰色）

【注意事项】

1. **样本：**目的样品尽量新鲜。样品应分散均匀，其纯度与浓度应适宜。高浓度的盐离子或杂质蛋白会干扰负染色液的铺展与反差，导致背景杂乱或结构模糊。
2. **pH 值敏感性：**磷钨酸的染色效果受 pH 值影响较大（通常调至 pH 6.0 - 7.0 效果最佳）。若样品对酸碱极其敏感，请先进行小试。
3. **背景干扰：**样品悬浮液中若含有高浓度的磷酸盐或糖类，可能产生背景晶体干扰。
4. **安全防护：**磷钨酸具有一定腐蚀性和重金属毒性。操作时请严格穿戴实验服、口罩及一次性手套。