

AcriGel 29:1 (40%)

Código N°:

13-1303-05: 500 mL

Armazenamento: 2°- 8°C

Descrição:

Solução de acrilamida:bis-acrilamida, pronta para uso. A eletroforese dos ácidos nucleicos é comumente realizada em géis de poli(acrilamida), em concentrações que variam entre 4 a 20%. Os géis de poli(acrilamida) são utilizados como matriz para a separação eletroforética de ácidos nucleicos e de proteínas. A formação desta matriz (gel de poli(acrilamida)) é dependente da co-polimerização dos radicais livres da

acrilamida e ligadores, chamados, *cross-linkers* como a *N,N-methylene-bis-acrylamide* (Bis-acrilamida).

A proporção entre acrilamida e bis-acrilamida determina o tamanho do poro do gel, que se deseja utilizar, o que em última instância, idealmente, separa as moléculas aplicadas (p.e. proteínas são geralmente separadas utilizando proporções entre 29:1 até 37,5:1, sendo que um raio de 19:1 é comumente utilizado para seqüenciamento de DNA ou para separação de proteínas).

Quanto maior o tamanho dos pares de bases a ser separado, maior o tamanho do poro necessário, conseqüentemente menor a porcentagem de Acrilamida a ser utilizada. Para eletroforese de DNA ou RNA fita simples, tradicionalmente o AcriGel 19:1 é utilizado juntamente com porcentagens de uréia nos géis. A solução pronta-para-uso AcriGel 29:1 é utilizada para formular géis nativos, que não contém uréia, para a eletroforese de ácidos nucleicos de fita dupla.

Range de separação efetiva de DNAs e co-migração do corante em géis nativos com AcriGel 19:1

Range de separação efetiva de DNAs e co-migração do corante em géis desnaturantes com AcriGel 29:1

Gel %	Size Range (bp)	Bromophenol Blue (nucleotides)	Xylene Cyanol (nucleotides)
4	>250	30	155
6	60-250	25	110
8	40-120	20	75
10	20-60	10	55
12	10-50	8	45

Gel %	Size Range (bp)	Bromophenol Blue (nucleotides)	Xylene Cyanol (nucleotides)
4	1000-2000	95	450
6	70-450	60	240
8	60-400	45	160
10	50-300	35	120
12	40-200	20	70

Formulações em % de AcriGel comumente utilizadas para 100 mL de géis								
	4,00%	4,25%	4,75%	5,00%	6,00%	8,00%	10,00%	12%
30% AcriGel 19:1 (mL)	13,3	14,1	15,9	16,7	20	26,7	33,3	40
40% AcriGel 19:1 (mL)	10	10,6	11,9	12,5	15	20	25	30
Uréia (g)-para géis desnaturantes	6M	36	36	36	36	36	36	36
	7M	42	42	42	42	42	42	42
	8M	48	48	48	48	48	48	48
10X TBE (mL)	0,6X	6	6	6	6	6	6	6
	1,0X	10	10	10	10	10	10	10
água destilada	q.s.p. 100 mL	q.s.p. 100 mL	q.s.p. 100 mL	q.s.p. 100 mL	q.s.p. 100 mL	q.s.p. 100 mL	q.s.p. 100 mL	q.s.p. 100 mL

Procedimento de preparação de géis de Poli(acrilamida) com a solução AcriGel 29:1 pronta-para-uso

Calcular o volume de AcriGel necessário para fazer o gel (utilizar a tabela a seguir) considerando as fórmulas ao lado. Perfezer o volume final com os tampões de rotina e completar com água ultra pura. Colocar a solução em *Erlenmeyer* tipo *kitasato*, para favorecer a retirada de ar com auxílio de bomba de vácuo. Na maioria dos casos o AcriGel polimerizará mesmo sem retirar o ar, no entanto, para melhores resultados quanto à reprodutibilidade, aconselha-se

retirar o ar durante 5 minutos agitando com auxílio de barra magnética.

Adicionar 1,0 mL APS (Persulfato de amônio) em solução a 10% para cada 100 mL de solução para gel. Misturar os componentes da solução para homogeneizar e, adicionar 20 µL de TEMED para cada 100 mL de solução. Aplicar a mistura nas placas para polimerização (*casting cassette*). Os géis polimerizados poderão ser utilizados em até 48 horas sem detrimento de sua eficiência.

LGC Biotecnologia Ltda.

Rua Pasadena, 235-Parque Empresarial San José / CEP: 06715-864

Fone-Fax: 55 11 46148070 / www.lgcbio.com.br

$$V_{A30} = \frac{(X)(V_t)}{30}$$

OU

$$V_{A40} = \frac{(X)(V_t)}{40}$$

V_{A30} = volume de Acrigel 30%
a ser preparado (mL)

V_{A40} = volume de Acrigel 40%
a ser preparado (mL)

X = % gel desejada
 V_t = volume total de solução (mL)