

Acrylamide/Bisacrylamide Solution (30%, 37.5 : 1)

Ordering Info

TBR0135. Acrylamide/ Bisacrylamide Solution (30%, 37.5 : 1), 100 mL

TBR0136. Acrylamide/ Bisacrylamide Solution (30%, 37.5 : 1), 500 mL

Description

Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) is probably the most common analytical technique used to separate and characterize proteins. Polyacrylamide gels are chemically crosslinked gels formed by the reaction of acrylamide with a bifunctional crosslinking agent such as N,N'-methylenebisacrylamide (Bis). The concentration of these components can be adjusted to change the pore size of the gel, affecting the resolution of different sizes of molecules.

The pore size is determined by the ratio of acrylamide to bisacrylamide, and by the concentration of acrylamide. A high ratio of bisacrylamide to acrylamide and a high acrylamide concentration cause low electrophoretic mobility.

Polymerization of acrylamide and bisacrylamide monomers is induced by ammonium persulfate (APS), which spontaneously decomposes to form free radicals. TEMED, a free radical stabilizer, is generally included to promote polymerization.

High Purity and ready-to-use **Acrylamide/ Bisacrylamide Solution (30%, 37.5:1)** is prepared from electrophoresis grade acrylamide and bis-acrylamide in ultrapure water.

This Ready-to-use **Acrylamide/Bis-acrylamide Solution** contains 29.22% (w/v) acrylamide and 0.78% (w/v) bis-acrylamide for a monomer to crosslinker ratio of 37.5:1 (2.6% crosslinker).

Features

- Ready-to-use high-purity solution.
- Safer alternative to handling powdered acrylamide and bis-acrylamide.
- Precise composition and high-purity provide uniformity of gel matrices, consistent polymerization, and run-to-run reproducibility.
- Sterile by filtration by 0.2 µm filter.
- Solution prepared with ultrapure water.

Storage

Store at 2-8°C.

Quality Control

- Clear, colourless liquid.

Applications

Polyacrylamide Gel Casting Reagents.

Reference

¹ Laemmli, U.K. (1970) Nature 227, 680-685.

PROTOCOL

In order to obtain the desired gel concentration, the volume of Acrylamide/Bisacrylamide stock solution required (<30%) can be calculated as follows:

$$V = c \times \frac{V_{\text{tot}}}{30\%}$$

Where **V** is the required volume of the 30% Stock Solution, **c** is the desired concentration and **V_{tot}** the total desired volume. In the table below, some values are presented for the most commonly used percentages in the Laemmli system¹.

Electrophoresis systems vary in sizes and comb thickness and one can often run more than one gel at the time. The amounts of the components presented in the table are based on a 10 mL polyacrylamide gel and depending the total volume desired may be adjusted proportionally. Note that the volume of the stacking gel already has been adjusted to a final volume of 4 mL. TEMED and 10% APS should only be added immediately prior to pouring the gel. Before pouring, swift gently to homogenize polymerization.

Components	Stacking Gel		Resolving Gel	
	4 %	10 %	15 %	20 %
30% Acrylamide/Bis	0.53 mL	3.3 mL	5 mL	6.67 mL
0.5M Tris-HCl pH 6.8	1 mL	-	-	-
1.5M Tris-HCl pH 8.8	-	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
Water	2.39 mL	4 mL	2.33 mL	0.66 mL
10% SDS	40 µL	100 µL	100 µL	100 µL
TEMED	4 µL	5 µL	5 µL	5 µL
10% APS	20 µL	50 µL	50 µL	50 µL
Total Volume	4 mL	10 mL	10 mL	10 mL

Acrylamide/Bisacrylamide Solution (30%, 37,5 : 1)

Referencias

TBR0135. Acrylamide/ Bisacrylamide Solution (30%, 37,5 : 1), 100 mL

TBR0136. Acrylamide/ Bisacrylamide Solution (30%, 37,5 : 1), 500 mL

Descripción

La electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) es probablemente la técnica analítica más común utilizada para separar y caracterizar proteínas. Los geles de poliacrilamida son geles químicamente entrecruzados que se forman por la reacción de la acrilamida con un agente de reticulación bifuncional, como el N,N'-metilénbisacrilamida (Bis). La concentración de estos componentes puede ajustarse para cambiar el tamaño de los poros del gel, lo que afecta la resolución en la separación de moléculas de diferentes tamaños.

El tamaño de los poros está determinado por la proporción acrilamida/ bisacrilamida y por la concentración de acrilamida. Una alta proporción de bisacrilamida respecto a la acrilamida y una alta concentración de acrilamida provocan una baja movilidad electroforética.

La polimerización de los monómeros de acrilamida y bisacrilamida se induce mediante persulfato de amonio (APS), que se descompone espontáneamente para formar radicales libres. El TEMED, un estabilizador de radicales libres, se incluye generalmente para promover la polimerización.

Acrylamide/Bisacrylamide Solution es una solución de alta pureza y lista para usar (30%, 37,5 : 1) preparada a partir de acrilamida y bisacrilamida de grado para electroforesis diluidas en agua ultrapura.

Acrylamide/Bisacrylamide Solution es una solución lista para usar contiene 29,22% (p/v) de acrilamida y 0,78% (p/v) de bisacrilamida, lo que da una proporción de monómero / entrecruzante de 37,5 : 1 (2.6% de entrecruzante).

Características

- Solución de alta pureza lista para usar.
- Alternativa más segura al manejo de acrilamida y bisacrilamida en polvo.
- Composición precisa y de alta pureza que proporcionan uniformidad en las matrices de gel, polimerización constante y reproducibilidad de corrida a corrida.
- Estéril mediante filtración con filtro de 0,2 μ m.
- Solución preparada con agua ultrapura.

Aplicaciones

Reactivo para la preparación de geles de poliacrilamida.

Almacenaje

Conservar a 2-8°C.

Control de Calidad

- Líquido claro y transparente.

Referencias

¹ Laemmli, U.K. (1970) Nature 227, 680-685.

PROTOCOLO

Para obtener la concentración de gel deseada, el volumen de **Acrylamide/Bisacrylamide Solution** requerido (<30%) se puede calcular de la siguiente manera:

$$V = c \times \frac{V_{\text{tot}}}{30\%}$$

donde **V** es el volumen requerido de **Acrylamide/Bisacrylamide Solution**, **c** es la concentración deseada y **V_{tot}** es el volumen total que necesitamos preparar. En la tabla a continuación se presentan los valores para los porcentajes más comúnmente utilizados en el sistema de Laemmli ¹.

Los sistemas de electroforesis varían en tamaño y grosor del peine, y a menudo se pueden correr más de un gel al mismo tiempo. Las cantidades de los componentes presentados en la tabla están basadas en un gel de poliacrilamida de 10 mL, y dependiendo del volumen total deseado, pueden ajustarse proporcionalmente. Tenga en cuenta que el volumen del gel apilador ya ha sido ajustado a un volumen final de 4 mL. TEMED y APS al 10% deben añadirse solo inmediatamente antes de verter el gel. Antes de verter, agite suavemente para homogeneizar la polimerización. in the Laemmli system¹.

Componentes	Gel Concentrador		Gel Separador	
	4 %	10 %	15 %	20 %
30% Acrylamide/ Bis	0,53 mL	3,3 mL	5 mL	6,67 mL
0,5M Tris-HCl pH 6,8	1 mL	-	-	-
1,5M Tris-HCl pH 8,8	-	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Agua	2,39 mL	4 mL	2,33 mL	660 µL
10% SDS	40 µL	100 µL	100 µL	100 µL
TEMED	4 µL	5 µL	5 µL	5 µL
10% APS	20 µL	50 µL	50 µL	50 µL
Volumen Total	4 mL	10 mL	10 mL	10 mL