

Electroforesis en gel de agarosa



Programa Amgen TransferCiencia 2019-2020



Enrique Navas

Erica Hurtado

Electroforesis en hielo de agarosa

La **electroforesis** es el movimiento de moléculas cargadas eléctricamente bajo la influencia de un campo eléctrico en un medio conductor. Este medio normalmente es un tampón acuoso llamado electrólito o *running buffer*. La electroforesis se utiliza normalmente para separar moléculas de ADN o ARN según su medida.

Aplicaciones

- Bioquímica
- Química clínica, forense, de alimentos
- Toxicología
- Farmacia, farmacología
- Enzimología, inmunología
- Microbiología,
- Botánica, citología,
- Biología molecular, etc.

Electroforesis en gel de agarosa

Principal aplicación: Separación de ácidos nucleicos

1. Extracción de ácidos nucleicos
2. Cuantificación de ácidos nucleicos y determinación de la pureza
3. Amplificación de un fragmento de ADN por PCR
4. Separación y análisis de fragmentos por electroforesis en gel de agarosa

La separación se consigue por el movimiento de las moléculas de ácidos nucleicos cargadas negativamente a través de la matriz de agarosa en un campo eléctrico. Las moléculas más pequeñas se mueven más rápido hacia el polo positivo y migran a una distancia más larga que las moléculas más grandes.

Electroforesis en hielo de agarosa

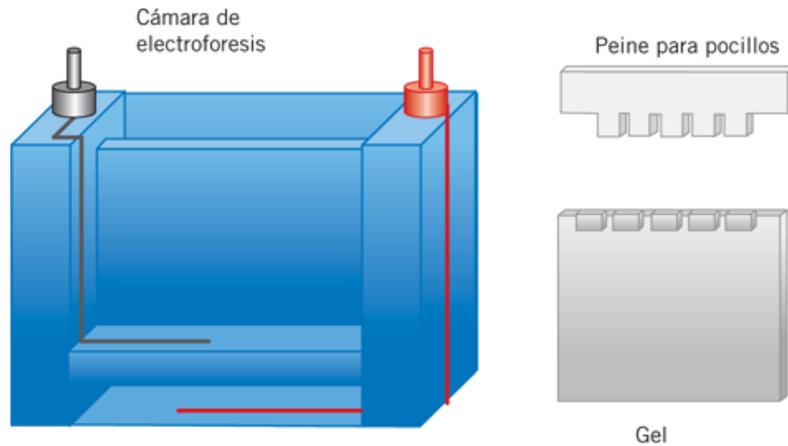
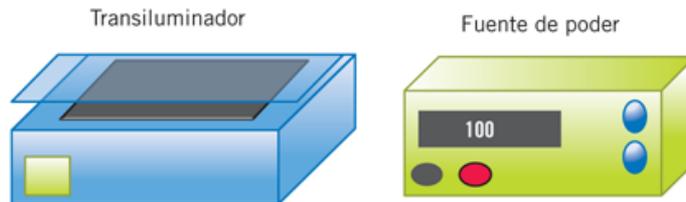


Tabla 1. Concentraciones de agarosa según la longitud de los fragmentos a separar.

Concentración del gel de agarosa (% p/v)	Longitud del fragmento (pb)
0.5	25,000 - 2,000
0.7	10,000 - 800
1.0	8,000 - 500
1.2	5,000 - 400
1.5	3,000 - 200
2.0	2,000 - 100

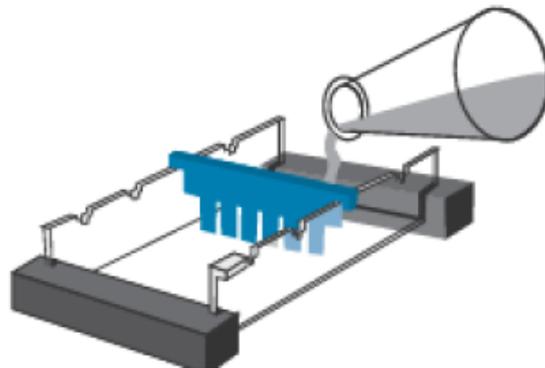


Electroforesis en gel de agarosa

1. Preparación del gel de agarosa al porcentaje correspondiente.

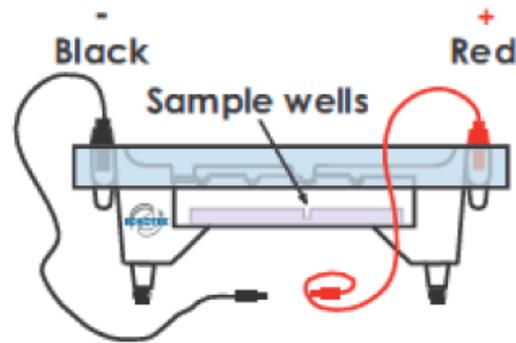
-Para visualizar el DNA en el gel se utilizan agentes colorantes fluorescentes que se intercalan entre las bases del DNA y los cuales aumentan notablemente su emisión cuando se unen a la doble hélice. Bromuro de etidio o *SYBR Safe*.

2. Añadimos la agarosa al molde y añadimos los peines para formar los carriles en los que introduciremos la muestra.

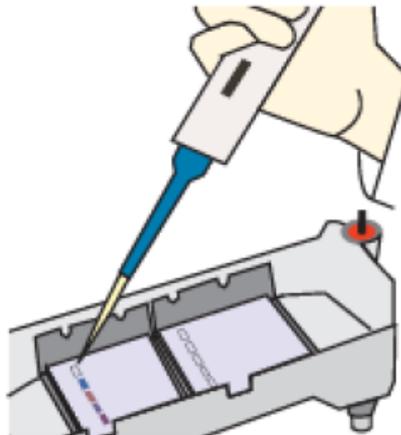


Electroforesis en gel de agarosa

- Colocamos el gel en la cámara de electroforesis correctamente orientada lo añadimos al tampón de electroforesis.

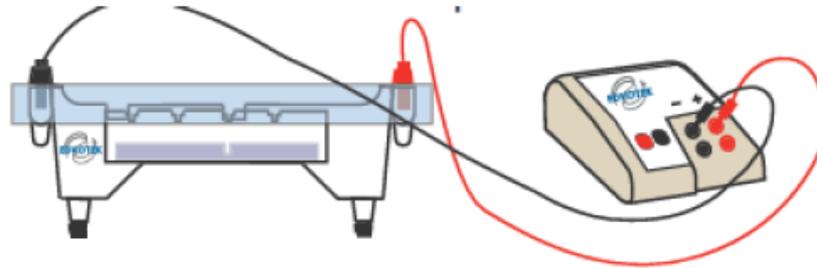


- Preparamos y cargamos las muestras (y marcador de peso molecular) en el gel.

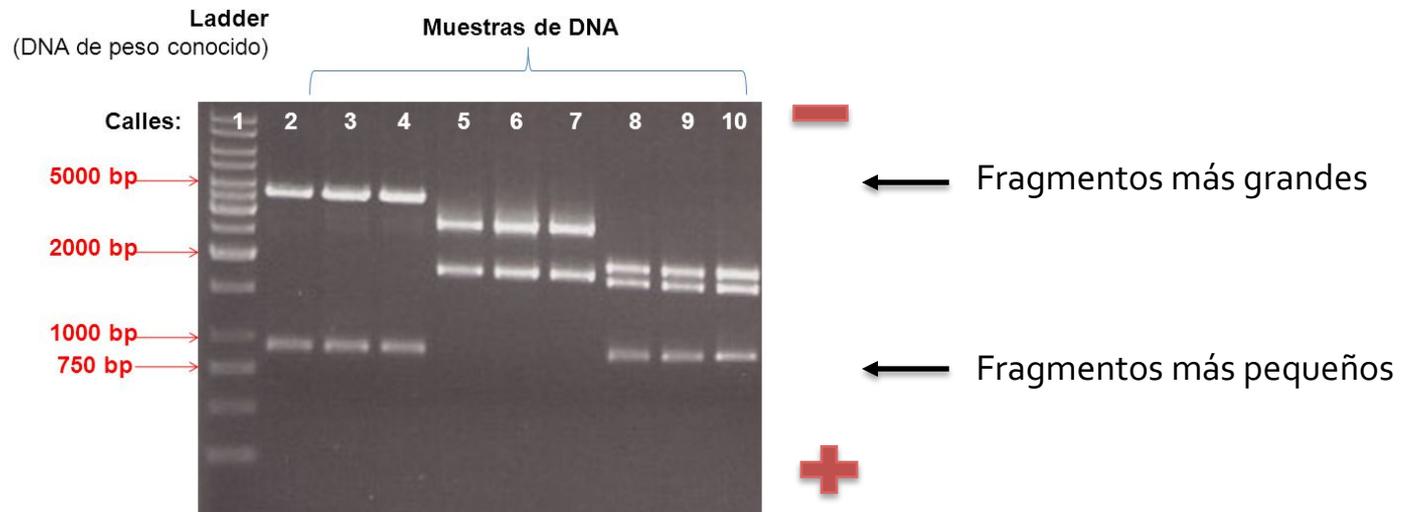


Electroforesis en gel de agarosa

5. Conectamos la cubeta a la fuente de electroforesis y configuramos el voltaje, el amperaje y el tiempo.



6. Visualización del gel de agarosa en un transiluminador UV y análisis de los resultados.





¡Analizamos los resultados!