

PROTOCOL D'ELECTROFORESI EN GEL D'AGAROSA AMB MOSTRES DE **COLORANTS ALIMENTARIS**



PROTOCOL D'ELECTROFORESI EN GEL D'AGAROSA AMB MOSTRES DE **COLORANTS ALIMENTARIS**



- Aquí es troba el protocol complet. Per tal d'adaptar-lo als horaris escolars específics de cada centre, és recomanable preparar alguns passos abans de la classe amb els estudiants (per exemple, els punts 1 i/o 3).
- També es pot dividir la pràctica en diferents sessions per a més comoditat i fer una pausa en els llocs indicats.
- La pràctica completa dura entre 45 min i 1 h 30 min.
- Al protocol següent es descriuen els requisits per a 8 gels (16 alumnes treballant en parelles). Cal ajustar els volums i les quantitats d'acord amb la grandària del grup de treball i el material que té a la seva disposició.

▶ **Les 4 mostres preparades en aquest kit estan etiquetades de la manera següent:**

EC Escena del Crim. S1, S2 i S3, Sospitosos.

Un possible plantejament del problema seria el de comparar l'ADN de l'escena del crim amb l'ADN de tres possibles sospitosos. Però també podríem imaginar que es compara l'ADN d'un pacient que té una mutació en un gen específic i ha desenvolupat leucèmia, amb l'ADN d'altres membres de la família per veure si tenen la mateixa mutació.





PROTOCOL D'ELECTROFORESI EN GEL D'AGAROSA AMB MOSTRES DE **COLORANTS ALIMENTARIS**



Material necessari per a la classe:

- 4 x 1 g d'agarosa
- 10 mL de TAE 50x
- 1 Erlenmeyer de 100 mL
- 1 ampolla/recipient de 100 mL
- 1 regla (no es proporciona amb el kit)
- 1 microones o plat calefactor
- Mocadors de paper o guants (no es proporcionen amb el kit)
- 500 mL d'aigua destil·lada (no es proporcionen amb el kit)

Material necessari per a cada parell d'estudiants:

- 1 cubeta d'electroforesi
- 1 pinta amb almenys 4 pouets
- 2 papers negres conductors d'aprox. 4 x 2 cm
- 2 cables elèctrics: 1 negre, 1 vermell
- 9 piles de 3 V o una font de corrent continu
- 1 micro-xeringa
- 4 puntes de pipeta de 10 µL
- 4 tubs Eppendorf amb mostres
- 1 tros de paper blanc i un de negre (A5 plastificat)
- 1 pipeta Pasteur
- 1 nansa de sembra



PROTOCOL D'ELECTROFORESI EN GEL D'AGAROSA AMB MOSTRES DE **COLORANTS ALIMENTARIS**

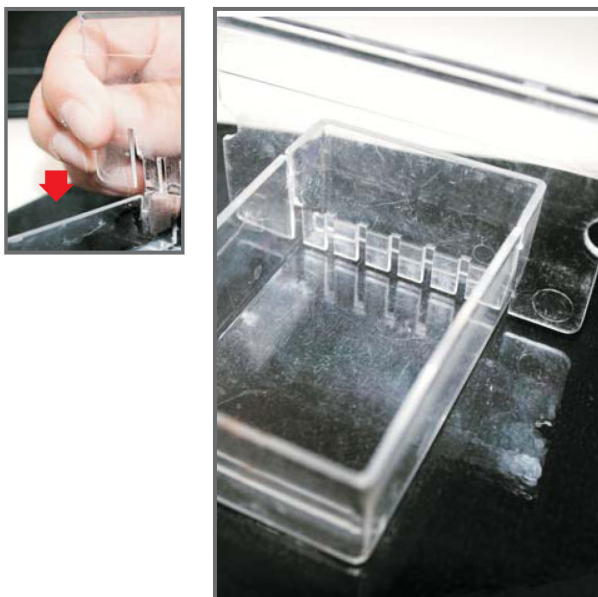
1 Preparar la solució TAE 1x

- Si es prepara la solució per a tota la classe: diluïu 10 mL de TAE (50x) en 490 mL d'aigua destil·lada.
- Si es prepara la solució per a 4 estudiants / 2 gels: diluïu 2 mL de TAE (50x) en 98 mL d'aigua destil·lada.



2 Preparar la cubeta d'electroforesi

- Col·loqueu la cinta amb els 6 pouets a la ranura.
- Col·loqueu la cubeta sobre el paper negre.



3 Preparar el gel d'agarosa a l'1%

- Si es prepara la solució per a 6 gels:
 - Peseu 1 g d'agarosa en pols
 - Barregeu amb 100 mL de TAE (1x)
- Si es prepara la solució per a 4 estudiants / 2 gels:
 - Peseu 0,3 g d'agarosa en pols
 - Barregeu amb 30 mL de TAE (1x)

Escalfeu al microones (± 2 minuts) o en un plat calefactor (± 20 minuts), fins que la solució es torni transparent.

¡COMPTE! LA SOLUCIÓ POT ESTAR MOLT CALENTA,
Feu servir guants especials o mocadors de paper.

- Aboqueu la solució en la cubeta d'electroforesi, fins que arribi a l'alçada de les dues parets petites.
- Espereu uns 5 minuts fins que el gel es torni sòlid i apareixi més opac.

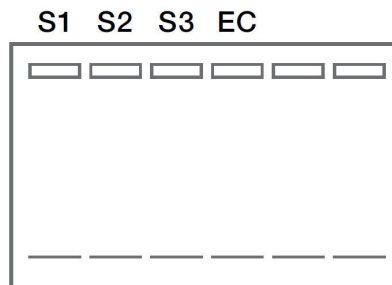


Punt d'aturada: podeu cobrir el gel amb solució TAE i guardar-la durant uns dies a la nevera.

PROTOCOL D'ELECTROFORESI EN GEL D'AGAROSA AMB MOSTRES DE **COLORANTS ALIMENTARIS**

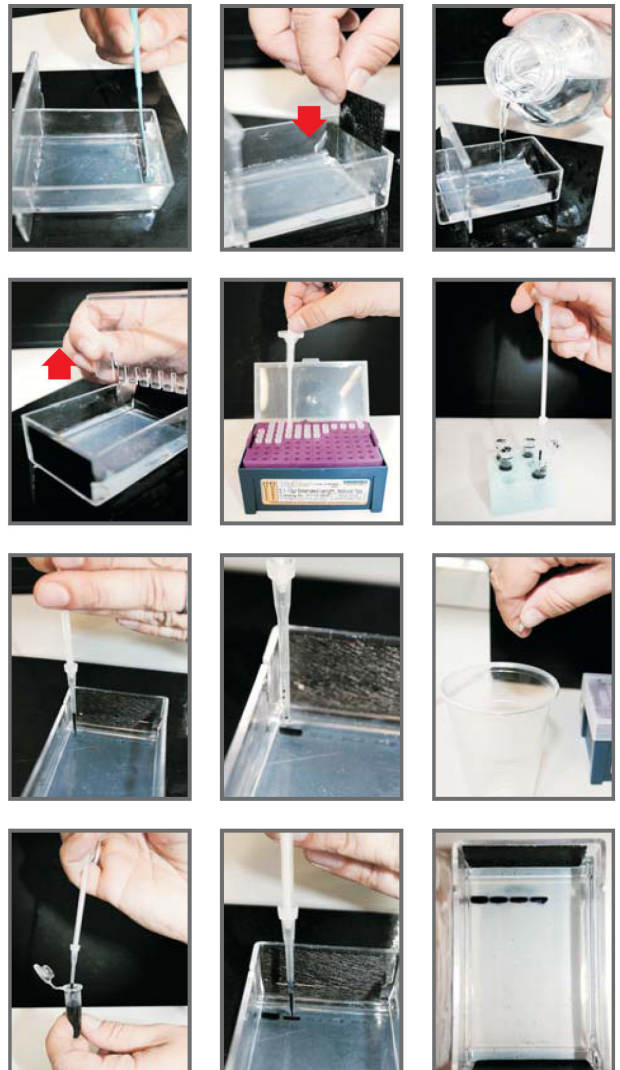
4 Diagrama

- Dibuixeu un diagrama de l'ordre en què es col·loquen les mostres que s'han de fer desplaçar pel gel.



5 Carregar les mostres

- Talleu el gel que ha sobrepassat els límits de les parets laterals fent servir una nansa d'inoculació.
- Col·loqueu un paper negre conductor en cada extrem de la part interna de la cubeta.
- Aboqueu la solució TAE 1x sobre el gel fins a cobrir-lo.
- Retireu la pinta lentament i en posició vertical.
- Agafeu la micro-xeringa i col·loqueu una punta de 10 μ L a l'extrem.
- Agafeu aproximadament uns 10 μ L de la primera mostra (fins a la segona marca de la punta de la pipeta).
- Col·loqueu la mostra en el primer pouet (o a on s'hagi decidit al punt 4). Assegureu-vos de fer-ho amb suavitat.
- Carregueu les altres mostres en la resta de pouets. No oblideu canviar la punta de la pipeta cada cop.



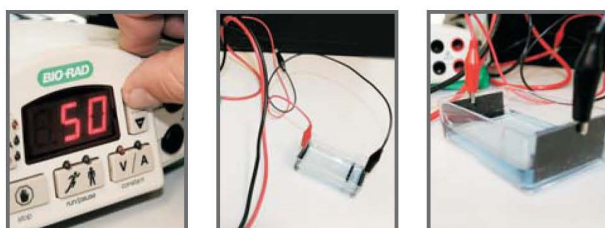


PROTOCOL D'ELECTROFORESI EN GEL D'AGAROSA AMB MOSTRES DE **COLORANTS ALIMENTARIS**

6 Còrrer el gel

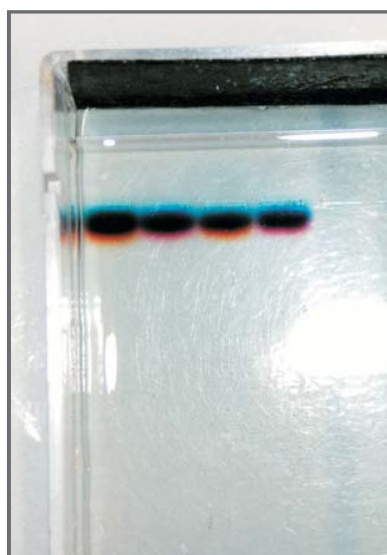
- Col·loqueu la font d'alimentació a 50V.
- Connecteu els cables fent servir el codi de color: **Negre (negatiu)**, al començament de la cubeta, a prop de les mostres.
Vermell (positiu), al final, lluny de les mostres.
- Connecteu el corrent (premeu el botó *Run*).
- Espereu uns 15 minuts, fins que apareguin bandes diferenciades.

¡COMPTE! Premeu *Pause* si heu de connectar una nova cubeta i després torneu a prémer *Run*.



7 Resultats

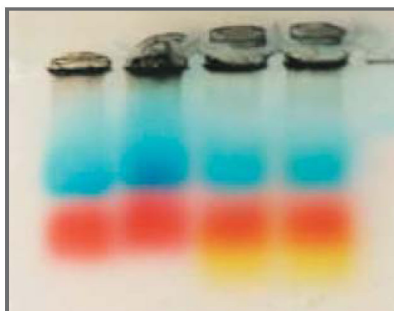
- Col·loqueu la cubeta sobre el paper blanc per poder observar el resultat amb més claredat.



Observacions

Les mostres estaven formades per diferents colors. Cada color s'ha desplaçat sobre el gel a una velocitat específica diferent, atreta pel pol positiu.

S1 S2 S3 EC



Les mostres de la fotografia no es corresponen exactament amb les mostres del kit.

Conclusions

L'electroforesi és una tècnica que ens permet separar components segons la seva mida. Es pot observar que algunes mostres tenen dos components i d'altres tenen tres.

- El component groc és el més petit i/o el que presenta més càrrega negativa, i per això és el que es desplaça més sobre el gel, cap a l'ànode positiu.
- El component blau és el més gran i/o el que té menys càrrega negativa, i per això és el que s'ha mogut menys pel gel.

La mostra ____ té els mateixos components que la mostra de l'Escena del Crim (EC).



PROTOCOL D'ELECTROFORESI EN GEL D'AGAROSA AMB MOSTRES DE **COLORANTS ALIMENTARIS**



Preguntes molt desafiantes:

1. Què és la solució TAE? Quina és la seva composició?
2. Quines són les propietats especials que ha de tenir el gel d'agarosa?
3. Què creus que passaria si es fes servir un gel d'agarosa al 2%? Les mostres es desplaçarien amb més facilitat o no? Per a què creus que podria ser útil?
4. En aquest experiment s'ha simulat l'empremta d'ADN amb colors. Què es l'empremta d'ADN?
5. Com poden els científics extraure el teu ADN? Com poden fer milions de còpies d'ell i tallar-lo en petits fragments?



Preguntes desafiantes:

1. La solució TAE conté aigua destil·lada i sal. Per què fem servir una solució salina? Penseu en les propietats elèctriques de la sal.
2. Fes una llista de tots els components conductors de l'electricitat que s'han fet servir durant aquest experiment.
3. Un investigador està buscant dues grans bandes d'ADN. Prova primer amb un gel d'agarosa a l'1,2% i troba una banda única d'ADN situada al començament del gel. Així que decideix fer córrer la mateixa mostra d'ADN en un gel al 0,7% i ara observa dues bandes separades. Per què es poden veure dues bandes d'ADN en el gel al 0,7% i només una en el gel a l'1,2%?



¡Fes-ho tu mateix!

Si vols muntar la teva pròpia cubeta d'electroforesi pots trobar moltes idees senzilles a la xarxa, o demanar-nos ajut. Pots canviar fàcilment l'agarosa en pols per flocs d'agar dels que es fan servir en la cuina asiàtica. També pots substituir la solució TAE per una solució d'aigua i sal. Les mostres de color es poden preparar amb colorants alimentaris i unes gotes de glicerol i són fàcils de fer a casa.



Referències

- Carolina.com: references 211026: discover electrophoresis kit
- www.learn.genetics.utah.edu

