

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
CURSO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
Disciplina RCB-0110 - Metodologia Básica para Biociências

Princípios de eletroforese

Objetivos da aula:

Os alunos serão apresentados a conceitos básicos da eletroforese. Durante a aula, eles serão capazes de verificar como a carga elétrica e o tamanho das partículas afetam processos de separação e identificação. Nessa aula utilizaremos eletroforese em gel de agarose para determinar a composição de misturas de corantes alimentares.

Materiais e reagentes

- 5x TBE (pH 8.0)
- Agarose
- Corantes alimentares: verde, vermelho, amarelo, azul
- Glicerol 100%
- Água destilada

Equipamentos

- Micropipetas e ponteiras
- Tubos de microcentrífuga
- Cubas de eletroforese
- Banho maria para manter a agarose líquida

Procedimentos experimentais

Cada estação de laboratório terá:

- 100 uL de cada amostra de corante alimentar em tubos de microcentrífuga rotulados.
- Micropipetas e ponteiras
- Unidades de eletroforese e fonte de alimentação
- Banho maria a 60°C-70°C para conter manter frascos pequenos, cada um contendo 80 mL de 0,8% de agarose. A alta temperatura mantém a agarose liquefeita.

Protocolos:

- Montar as cubas de eletroforese com dois pentes para cada gel. Com o auxílio de uma fita crepe, fechar as extremidades da bandeja que recebe o gel.
- Verter a agarose 0.8% liquefeita nas bandejas com os pentes.
- Preparar tampão 1X TBE:
 - 100 mL 5X TBE
 - 400 mL água destilada

- Preparar glicerol 20% para carregar as amostras:
 - 200 uL glicerol
 - 800 uL água

OBS.: As soluções de corantes alimentares são diluídas em água com glicerol para serem carregadas em um gel de agarose. O glicerol aumenta a densidade da amostra para que ela afunde no fundo do poço.

- Rotular tubos que receberão a mistura glicerol + corante.
- Misturar a amostra com o glicerol 20% na proporção 1:1
 - 100 uL glicerol 20%
 - 100 uL corante
- Aplicar 10uL de cada corante em poços individuais do gel solidificado.
- Adicionar tampão 1X TBE na cuba e iniciar a corrida.