

para separar, identificar
e purificar fragmentos
de DNA.

Eletroforese de DNA

Eletroforese

“Movimento partículas carregadas num fluido ou gel sob a influência de um campo elétrico”

Etapas

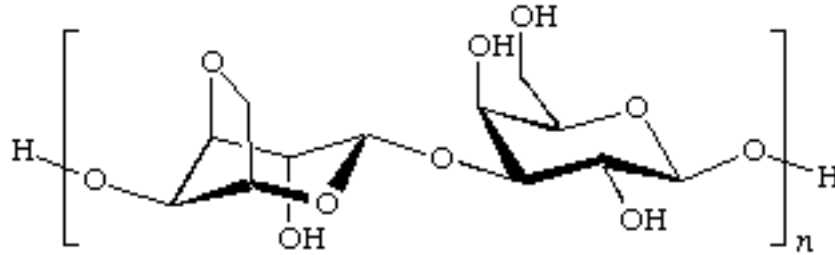
- Preparação do gel
- Adição do *tampão de corrida* na cuba
- Preparação e aplicação das amostras
- Corrida
- Fotodocumentação e Análise

Gel de agarose ou acrilamida?

Gel de poliacrilamida:

- tem maior capacidade de resolução (podem ser separados fragmentos de DNA que diferem por apenas 1 pb).
- é mais efetivo para separar pequenos fragmentos de DNA (5-500 pb – pares de base)
- Mais trabalhoso e a acrilamida é tóxica!

Agarose



- Polímero linear de resíduos alternados de D- e L-galactose
- menor capacidade de resolução comparado ao gel de acrilamida;
- maior extensão de separação: fragmentos de DNA (50-20.000 pb) podem ser separados em géis (com diferentes concentrações);
- A concentração de agarose determina a faixa de separação;

Alguns fatores que influenciam a migração do DNA no gel de agarose

- a) **tamanho da molécula de DNA:** o DNA dupla fita migra numa taxa inversamente proporcional ao \log_{10} do número de pb
- b) **concentração da agarose:** relação linear entre a concentração do gel e o logaritmo da mobilidade eletroforética do DNA
- c) **conformação do DNA :** DNA circular super-hélice, relaxado ou linear migram diferentes taxas;
- d) **a presença de outras moléculas interagindo com o DNA** (ex. corantes, proteínas)
- e) **voltagem aplicada, tipo de agarose e tampão**

Variação da % do gel de agarose para separação

Concentração de Agarose no gel
(% [peso/volume])

Moléculas lineares
de DNA (kb)

0,3

5-60

0,6

1-20

0,7

0,8-10

0,9

0,5-7

1,2

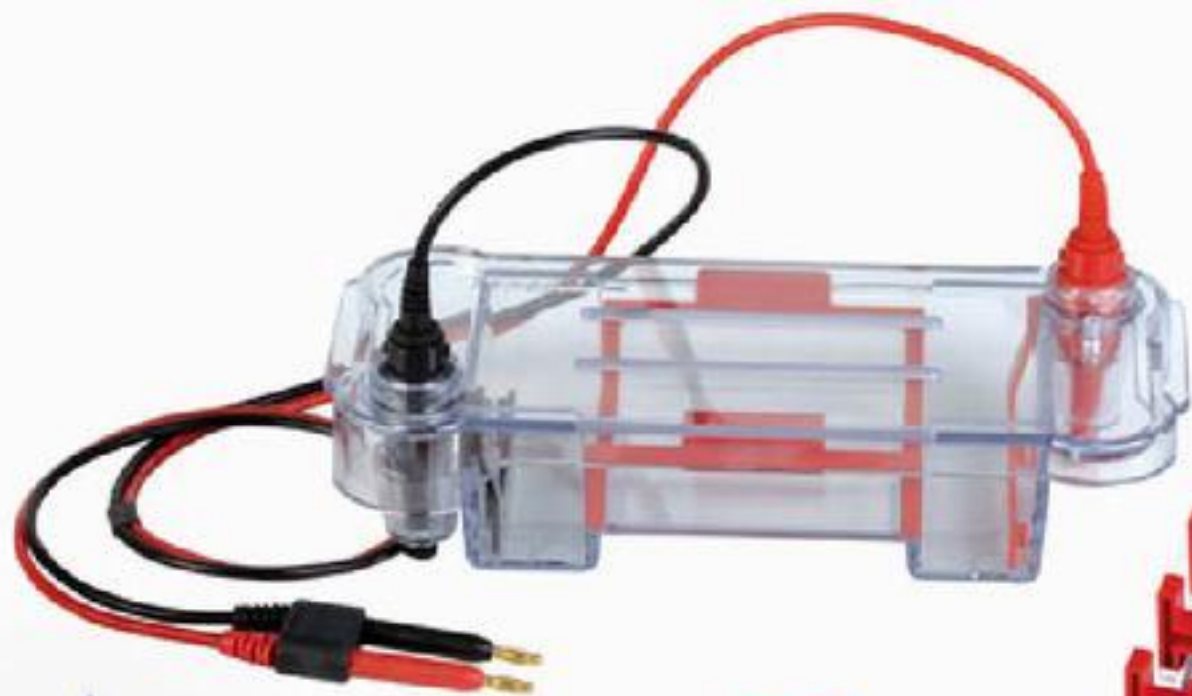
0,4-6

1,5

0,2-3

2,0

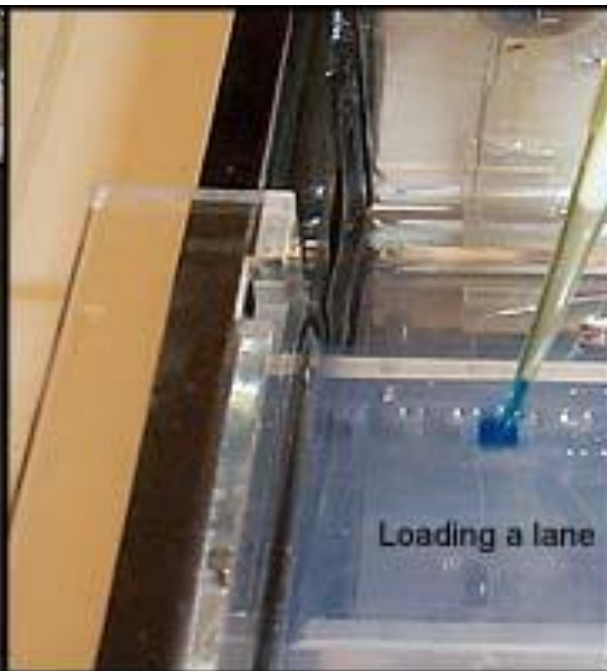
0,1-2



Pouring agarose



Loading a lane



Ready to run

