Biologia Molecular – BEG 7013

Professor: André de Avila Ramos

Protocolo Aula Prática – Eletroforese de DNA Genômico

Material

- Cuba de Eletroforese
- Fonte 220V
- Micropipeta P20
- GelRED
- Parafilm
- Gel de Agarose
- Solução Tampão (TBE 0,5x)
- Transiluminador

Confecciona-se o gel de agarose de 1% (ao invés de 3%) de forma padrão.

Em um pedaço de parafilm, com o auxílio de uma micropipeta aplicam-se 2uL de gelRED. Mistura-se à solução a amostra de 7uL de DNA Genômico, diluído em 500uL de NaOH 8mM em aula anterior. Aplica-se esta mistura em cada pocinho do gel de agarose, totalizando 10 poços por turma.

Regular a fonte em 300V, 270mA, 100W, e 20 minutos *. Após terminar o tempo da corrida, desconectar a cuba da fonte, retirar da cuba a plataforma com o gel e esperar que este esfrie (o vapor pode atrapalhar na visualização do gel). Posicionar o gel com a bandeja sobre um transiluminador (luz UV) para observar o resultado.

* O tempo de corrida pode variar de acordo com o tamanho dos fragmentos a serem visualizados e com a diferença no número de pares de base entre eles.