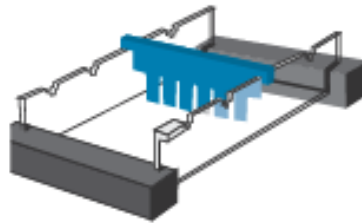
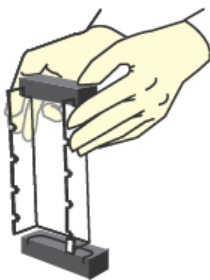


PREPARACION GEL DE AGAROSA

A) Preparación del molde

Coger el molde para hacer los geles y cerrar los extremos con los topes para que no se salga la agarosa. Después colocar el peine para formar los pocillos



B) Preparación del gel de agarosa

1.b) Utilizar un vaso o erlenmeyer de 100 ml para preparar la solución del gel:

TINCIÓN CON DANABLUE + FLASBLUE

2.b) **Para geles de 7 x 7 cm:** Añadir 32 ml de Tampón de electroforesis 1X más 0,30 gr de agarosa (1%) o 0.60 gr (2%) + 80 µl DanaBlue 0,1 %, agitar la mezcla para disolver los grumos de agarosa.

Para geles de 7 x 10 cm: Añadir 42 ml de Tampón de electroforesis 1X más 0,40 gr de agarosa (1%) o 0,80 gr (2%) + 100 µl DanaBlue 0,1 %, agitar la mezcla para disolver los grumos de agarosa.

Asegurarse que se ha añadido los 450 ml de agua destilada al Tampón de electroforesis 10X

3.b) Calentar la mezcla para disolver la agarosa, el método más rápido es la utilización de un microondas, también puede utilizarse un placa calefactora, en ambos casos, para que la agarosa se disuelva se ha de llevar **la solución a punto de ebullición**. La solución final debe aparecer clara sin partículas aparentes.

4.b) **Enfriar** la solución de agarosa más o menos a 55°C (para acelerar el proceso se puede enfriar colocando el envase debajo de un grifo de agua y agitar). Si se produce mucha evaporación del líquido, añadir tampón de electroforesis.

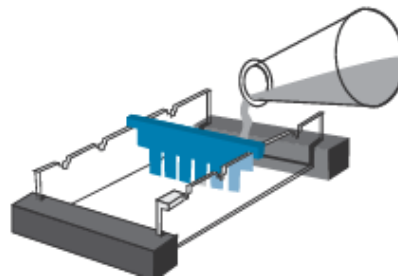
TINCIÓN CON GELSAFE

Para geles de 7 x 7 cm: Añadir 3 μ l de GELSAFE. El GELSAFE se debe añadir a unos 55°C ya que es termosensible antes de añadir al molde. Es importante Agitar para que se distribuya por toda la solución.

Para geles de 7 x 10 cm: Añadir 4,5 μ l de GELSAFE. El GELSAFE se debe añadir a unos 55°C ya que es termosensible antes de añadir al molde. Es importante Agitar para que se distribuya por toda la solución.

Una vez terminada la electroforesis comprobar los resultados debajo de un transiluminador de luz UV.

5.b) Añadir la solución de agarosa al molde.

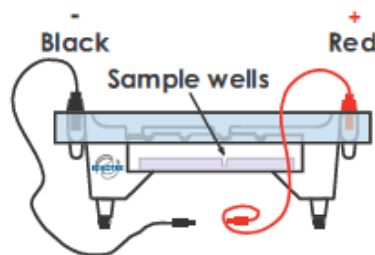


6.b) Permitir que el gel solidifique. Para acelerar el proceso se puede sembrar el gel en una nevera. (si la electroforesis se realizará al día siguiente, conservar el gel a 4°C).

C) Preparación del gel para la electroforesis

1.c) Después que el gel se ha solidificado con mucho cuidado sacar los topes.

2.c) Colocar el gel en la cámara de electroforesis correctamente orientada con los pocillos más cerca del polo negativo (color negro).



3.c) Llenar la cámara de electroforesis con **300 ml de Tampón de electroforesis o la cantidad necesaria para su cubeta. *El tampón de electroforesis se puede utilizar para 2 experimentos de electroforesis, una vez terminada la electroforesis guardar este tampón utilizado en un envase diferente al suministrado para utilizarlo en una nueva electroforesis.***

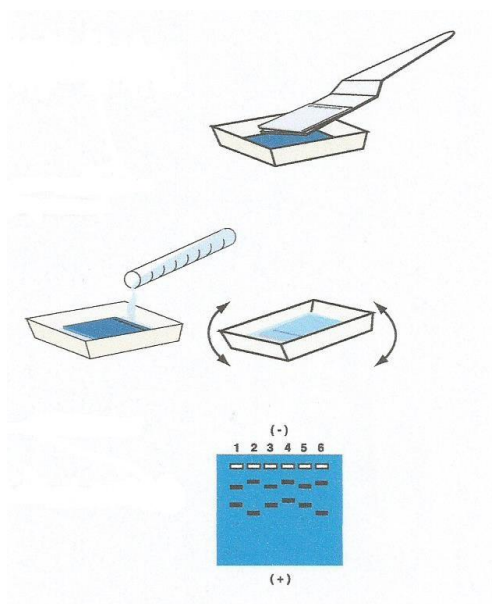
4.c) Asegurarse que el gel está **completamente cubierto de tampón de electroforesis.**

5.c) Sacar el peine que ha formado los pocillos con mucho cuidado de no romper ningún pocillo.

6.c) Proceder a la siembra del gel y llevar a cabo la electroforesis.

TINCIÓN DEL GEL DE AGAROSA

CONTIENE: 400 μ l DanaBlue 0,1 %; 125 ml de FlashBLue 0,75X.



1. No teñir los geles en la cubeta de electroforesis.
2. Colocar el gel en un recipiente con **125 ml de FlashBLue 0,75X**, de forma que quede completamente cubierto.
3. Incubar durante 10 minutos. Aumentar el tiempo de tinción conllevará a un mayor número de lavados con agua.
4. Guardar los 100 ml de FashBlue 0,75X para otras tinciones.
5. Colocar el recipiente con el gel debajo de un grifo de agua y dejar correr el agua hasta que no salga de color azul. Sujetar el gel para no perderlo. Llenar el recipiente con agua.
6. Cuidadosamente sacar el gel del recipiente y examinar el gel en un transiluminador de luz blanca (si no se dispone, puede servir una hoja blanca). En este paso se apreciarán las bandas pero el gel tendrá un color azul muy intenso que no permitirá apreciar bien las bandas.
7. Realizar varios lavados con agua en agitación si es posible. Se observará como cada vez se hacen más visibles las bandas y desciende el color azul de fondo.
8. Si todavía tiene un color muy intenso de fondo, es posible, dejarlo toda la noche en agua y a la mañana siguiente observar el gel.