

## iBIO STEM Kits: Electroforesis

### ¡iBIO STEM Kits le da la bienvenida a un VIAJE CIENTÍFICO!

Hoy haremos una investigación utilizando la electroforesis, una técnica de laboratorio utilizada para separar moléculas utilizando su tamaño y carga eléctrica. El propósito de esta investigación es explorar cómo construir una cámara de electroforesis para crear un circuito completo a través de un gel de electroforesis. Añadirás tres muestras de colorante al gel para separar las moléculas utilizando la electricidad de la fuente de alimentación. Te retamos a explorar esta investigación como lo haría un científico. ¿Qué significa esto?

La exploración científica es diferente de un simple juego porque te pide que pienses en CÓMO investigas. Esto significa que tienes que hacer tu investigación observando lo que ocurre cuando cambias una variable que has elegido cuidadosamente. Esto te ayuda a entender POR QUÉ sucede algo. La exploración científica también implica que registres QUÉ ves o mides y que registres POR QUÉ crees que ocurre. El Diario del Joven Científico que tienes en tus manos te ayudará a guiar tu investigación y te dará un lugar para anotar tus observaciones, mediciones y conclusiones.

Tenemos un vídeo de orientación para su investigación en este sitio web: [www.ibio.org/STEMKITS](http://www.ibio.org/STEMKITS)

Hay muchos recursos que puedes utilizar en este sitio web. Este tipo de investigación está relacionado con algunas carreras muy interesantes. ¡Esperamos que explores estos recursos mientras realizas tu investigación!

### ¡Empecemos!

**PRIMERO**, tendrás que preparar tu espacio de trabajo. Esta puede ser una investigación desordenada, así que asegúrate de utilizar un espacio que no se dañe fácilmente. Una mesa de cocina funcionará bien. Para facilitar la limpieza, debes proteger la superficie colocando papel de periódico usado o abriendo una bolsa de papel del supermercado.

**SEGUNDO**, debes desempaquetar tus materiales. Utiliza la siguiente lista para identificar los materiales que se utilizan en cada parte y organízalos en tu espacio de trabajo. Hay algunos materiales adicionales que tendrás que proporcionar desde tu casa.

#### Materiales para la Parte A:

- Recipiente cuadrado pequeño Ziploc de una prensa
- 2 clips de papel de acero inoxidable jumbo
- Cuadrado de gomaespuma de 3"x3"
- Patrón de peine de papel
- Regla de 15 cm
- Un bolígrafo

#### Suministrado desde casa:

- Papel para cubrir tu espacio de trabajo
- Tijeras

#### Materiales para la Parte B:

- Cinco pilas de 9 voltios

#### Materiales para la Parte C:

- El tubo de plástico vacío de la Parte B
- 1/8 cucharadita de bicarbonato de sodio
- 30 ml de agua
- Cuchillo de plástico
- 3 pipetas

#### Materiales para las Partes D y E:

- Dos cables de prueba con pinza de cocodrilo
- Bolsa de plástico para sándwiches

#### Suministrado desde casa:

- Lápices de colores o crayones

**POR ÚLTIMO**, tienes que estar preparado para experimentar con seguridad. Calentarás el gel antes de verterlo en tu cámara. Es posible que quieras que un adulto te ayude a manejar el recipiente caliente con seguridad. También utilizarás una fuente de energía para crear un circuito en tu cámara de electroforesis. Una vez que el circuito esté en su lugar, no debes tocar ninguna pieza de metal en tu cámara.

## iBIO STEM Kits: Electroforesis

La **electroforesis en gel** es una técnica que se utiliza para separar mezclas de moléculas (como el ADN y las proteínas) para poder ver de qué está hecha la mezcla. La palabra electroforesis viene de **–electro**, porque se utiliza un campo eléctrico, y **–foresis**, que significa movimiento. La electroforesis en gel utiliza una carga eléctrica para mover las moléculas a través de un gel (como la gelatina).

La cámara de electroforesis que vas a construir es un gran circuito. Un **circuito** es un camino por el que se mueve la electricidad. Es algo así como un gran bucle. Cuando la electricidad se mueve, o fluye, la electricidad puede encender una bombilla, hacer girar un ventilador o, en nuestro caso, moverá las moléculas de la mezcla. Las moléculas de la mezcla se separarán al moverse porque están cargadas positiva o negativamente. Las moléculas también se separarán porque tienen diferentes tamaños.

El primer componente (pieza) para la electroforesis es la cámara de electroforesis. En esta investigación, construiremos nuestra propia cámara de electroforesis. Utilizaremos un contenedor de plástico como cámara de gel. Doblaremos clips de acero inoxidable para que puedan actuar como electrodos. Utilizaremos pilas de 9 voltios para crear la energía del campo eléctrico del sistema. Por último, cortaremos un trozo de espuma para hacer aberturas en el gel, llamadas pozos. Aquí es donde pondremos las mezclas que vamos a separar.

**!!!Empecemos!!!**

### Parte A: INGENIERO - Construye la cámara de electroforesis

#### Esto es lo que necesitarás de tu kit:

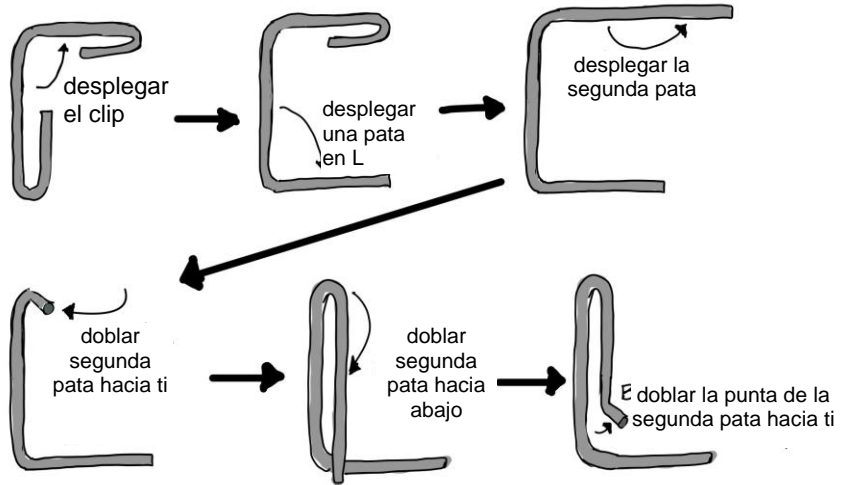
- Recipiente cuadrado pequeño Ziploc de una prensa
- 2 clips de papel de acero inoxidable jumbo
- Cuadrado de gomaespuma de 3"x3"
- Patrón de peine de papel
- Regla de 15 cm
- Un bolígrafo

#### Esto es lo que necesitarás de casa:

- Tijeras

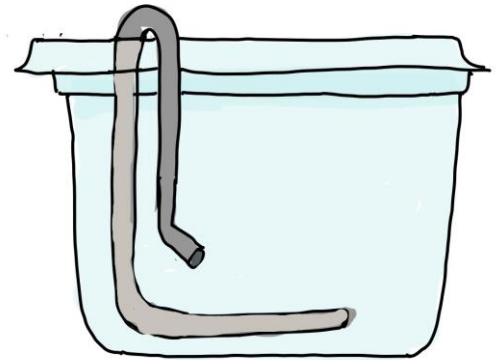
#### Instrucciones para hacer la Cámara de Electroforesis:

1. Utilizarás un recipiente de plástico ziplock para hacer la cámara. Quita la parte superior y ponla a un lado. La parte superior no se utilizará en nuestra cámara de electroforesis.

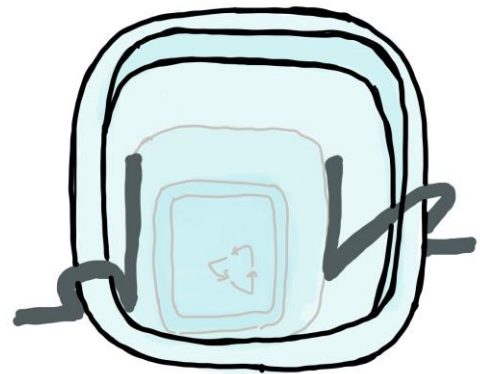


2. Sigue las instrucciones del diagrama (y del vídeo) de abajo para desplegar y manipular el clip. Repite esto con el segundo clip.

4. Engancha un sujetapapeles doblado sobre uno de los lados del recipiente de plástico de forma que la "L" inferior recorra el ancho del recipiente. Este clip será el electrodo negativo. Es posible que tu electrodo no se asiente bien en la caja. Es posible que tengas que sacarlo y manipularlo más para que encaje mejor en tu recipiente. Aprieta los dos lados para que el clip no se mueva.



5. Engancha el otro clip doblado en el lado opuesto de tu recipiente de la misma manera. Éste será tu electrodo positivo. Es posible que tu electrodo no se asiente bien en la caja. Es posible que tengas que doblarlo más para que encaje mejor en tu recipiente. Aprieta los dos lados para que el clip no se mueva.

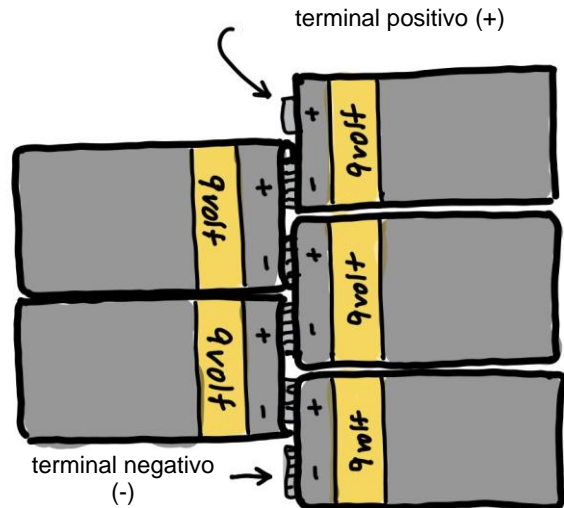


6. Con unas tijeras, recorta el patrón de papel para el peine. Con un bolígrafo negro, traza el patrón en el trozo de gomaespuma. Ahora corta la forma del peine en la gomaespuma. Tendrás que recortar el peine para que entre fácilmente en la cámara y cuelgue sin tocar los lados de la cámara. La parte inferior del peine NO debe tocar el fondo del recipiente de plástico. El peine se colocará verticalmente en la caja de plástico y debe mantenerse erguido, por lo que su forma es más ancha en la parte superior para que el peine pueda apoyarse en los bordes del recipiente de plástico.

El segundo componente de nuestra cámara de electroforesis es la **fuentes de alimentación**. La fuente de alimentación es lo que empuja la electricidad a través del circuito. Vamos a construir nuestra fuente de alimentación con pilas de 9 voltios.

### Instrucciones para montar la fuente de alimentación de pilas:

7. Conecta las cinco pilas de 9 voltios en serie encajando el terminal positivo (+) de una en el terminal negativo (-) de otra hasta que hayas formado un paquete de pilas con las cinco. Debe quedar un terminal positivo y otro negativo expuestos.



## Parte B: Verter el gel

### Esto es lo que necesitarás de tu kit:

- El tubo de plástico con 30 ml de gel de electroforesis
- Tres micropipetas
- Tres tubos de microcentrífuga (A, B, C) que contengan las muestras

### Esto es lo que necesitarás de tu casa:

- Un microondas y un vaso para beber
- Una estufa, una cacerola pequeña y un vaso para beber.

### PRECAUCIÓN: ES POSIBLE QUE NECESITES QUE UN ADULTO TE AYUDE CON ESTE PASO.

Vas a calentar el tubo de plástico para derretir el gel. El tubo y el gel calientes pueden quemarte.

Otro componente es la **carga**. Es lo que se alimenta de la electricidad en un circuito. En nuestra cámara de electroforesis, la carga es el gel. El gel que utilizamos es una malla de proteínas que tiene muchos agujeros y pasillos pequeños. Las moléculas de las mezclas de muestras se moverán a través de los pasillos del gel. Como cada molécula se mueve a una velocidad diferente, esto nos ayudará a ver las diferentes moléculas de la mezcla.

Para que esto funcione, tendremos que introducir la mezcla en el gel. ¿Y cómo lo hacemos?

**¡Muy fácil!** Cuando el gel se derrita hasta convertirse en un líquido, podemos verterlo en la cámara y adoptará la forma de ésta. Si introducimos un peine en el gel cuando aún es líquido, se crearán pequeños agujeros, llamados pozos. Podemos poner nuestra mezcla en los pozos de manera que las moléculas estén justo al lado de los pasillos del gel.

### 1. PRECAUCIÓN: ES POSIBLE QUE NECESITES QUE UN ADULTO TE AYUDE CON ESTE PASO.

En primer lugar, tienes que fundir el gel. Hay dos maneras de fundir el gel en el tubo de plástico.

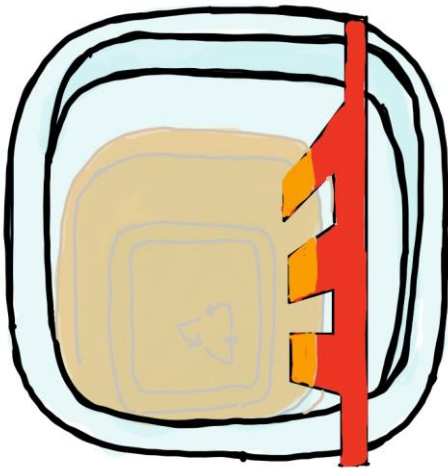
La primera forma es en el **microondas**.

- a. Desenrosca la parte superior del tubo de plástico. Coloca la tapa en la parte superior del tubo para que quede cubierto, pero NO enrosques la tapa en el tubo.

- b. Coloca el tubo de plástico (con el tapón suelto) en un vaso para mantenerlo en posición vertical.
- c. Coloca el vaso (con el tubo dentro) en el microondas.
- d. Calienta el tubo durante 30 segundos. Es posible que el vapor haga saltar la tapa del tubo. No te alarmes.
- e. Deja que el tubo repose durante un minuto en el microondas. Una vez que el gel esté completamente derretido, coloca el tubo en el vaso para que se mantenga en posición vertical mientras preparas tu cámara de electroforesis.

La segunda forma es utilizando la **estufa**.

- a. Llena una cacerola pequeña con agua hasta la mitad. Lleva el agua a ebullición.
  - b. Asegúrate de que el tapón está bien apretado en el tubo de plástico.
  - c. Introduce el tubo de plástico cerrado en el agua hirviendo.
  - d. Hierve el tubo durante 10 minutos. Utiliza una cuchara para sacar el tubo del agua. Verifica si el gel está completamente derretido. Si no lo está, devuélvelo al agua hirviendo. El gel puede tardar hasta 15 minutos en derretirse por completo.
  - e. Una vez que el gel esté completamente derretido, coloca el tubo en el vaso para que se mantenga de pie mientras preparas tu cámara de electroforesis.
2. Asegúrate de que tu cámara de electroforesis está en una superficie plana. Retira los electrodos con clip y ponlos a un lado.
  3. Vierte el gel derretido en el recipiente de plástico de la cámara de electroforesis. Retira el tapón del tubo de plástico del gel. El tubo estará caliente, por lo que tendrás que utilizar un guante de cocina o una toalla para sujetar el tubo.



4. Vierte con cuidado el gel líquido en el recipiente de plástico de tu cámara de electroforesis. Utilizarás el tubo de plástico para hacer tu solución buffer en la parte C, así que **NO LO TIRES**. Enjuaga y seca el tubo de plástico y el tapón para poder utilizarlo en la Parte C.

5. Ahora introduce el peine que cortaste en la Parte A en el recipiente de plástico cerca de uno de los lados. Tendrás que dejar que el gel se asiente tranquilamente para que pueda solidificarse en un gel sólido. Esto llevará entre 20 y 30 minutos. *Consejo:* Cuando el gel se haya solidificado, debe ser firme al tacto y agitarse como una gelatina sólida.



## Parte C: Añadir el buffer y la muestra

Ahora deberías tener una cámara de electroforesis con un gel sólido y una fuente de energía formada por pilas de 9 voltios.

Recuerda que, en nuestra cámara de electroforesis, la carga es el gel. El gel rompe el circuito. Necesitamos algo que lleve la electricidad y mueva las moléculas a través del gel. ¡Por eso utilizamos un buffer!

Un buffer es una solución líquida que tiene iones que transportan la electricidad. Cuando se introduce en la cámara de electroforesis, el circuito se completa porque el buffer transporta la electricidad a través del gel. La electricidad proporciona la fuerza para mover las diferentes moléculas de nuestras muestras.

**Esto es lo que necesitas para hacer el buffer:**

**Materiales:**

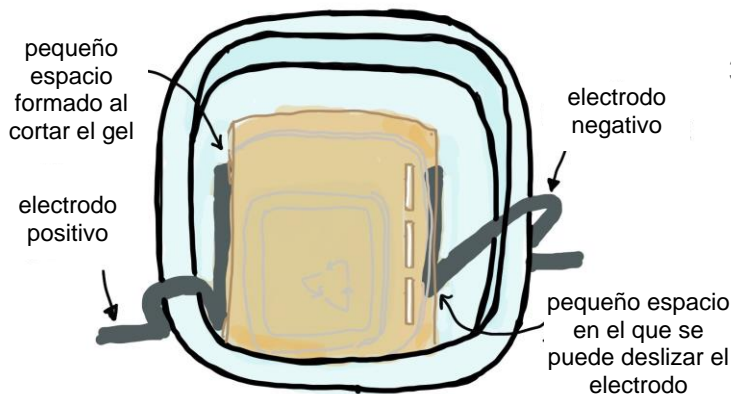
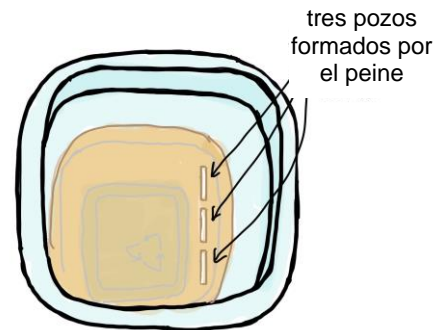
- El tubo de plástico vacío de la Parte B
- 1/8 cucharadita de bicarbonato de sodio
- 30 ml de agua

**Instrucciones:**

1. Mide 30 ml de agua en el tubo de plástico.
2. Añade 1/8 de cucharadita de bicarbonato de sodio en el tubo de plástico.
3. Pon el tapón en el tubo y asegúrate de que está cerrado. Agita bien para disolver el bicarbonato.
4. ¡Ahora el buffer está listo para ser utilizado!

### Instrucciones para preparar la cámara:

1. El gel debe ser sólido. Vierte la solución buffer (que hiciste en el tubo de plástico) sobre el gel sólido. El gel debe estar debajo del buffer líquido.
2. Extrae suavemente el peine del gel. Esto dejará pequeños agujeros en el gel, llamados pozos. Los pozos serán la ubicación de las muestras.



3. **PRECAUCIÓN: PUEDE SER NECESARIO QUE UN ADULTO TE AYUDE EN ESTE PASO.**

Usando el cuchillo de plástico, corta cuidadosamente una rebanada delgada del gel desde la parte superior (por los pozos) y el lado opuesto para hacer espacio para los electrodos. Ten cuidado de no cortar en los pozos. Esto dejará un pequeño espacio entre el plástico y el gel para que los electrodos de clip se deslicen.

NOTA: Cuando cortes los extremos del gel, debes asegurarte de no cortar los pozos.

Si cortas los pozos por error, tendrás que volver a fundir el gel. Vierte el buffer en un vaso y saca el gel. Rompe el gel en trozos y ponlos de nuevo en el tubo de plástico. Sigue las instrucciones de la Parte B para volver a fundir y verter el gel.

4. Vuelve a colocar los electrodos con clip en las cámaras de electroforesis de forma que los electrodos queden en el pequeño hueco que se acaba de hacer al cortar el gel.

#### Añadir las muestras:

5. Las muestras están en tubos de microcentrífuga. Debe haber tres tubos de microcentrífuga y tres pequeñas pipetas de plástico para cada equipo de dos campistas.

Muestra A, Muestra B, Muestra C

6. Abre la tapa del tubo de microcentrífuga con la muestra A.  
¡Ten cuidado! ¡La muestra a veces sale volando del recipiente y las muestras pueden manchar tu ropa!
7. Aprieta la parte superior de una pequeña pipeta de plástico. Mientras sigues apretando, introduce la punta de la pipeta en la muestra del tubo de microcentrífuga. A continuación, deja de apretar para recoger parte de la muestra en la pipeta.
8. Coloca la punta del cuentagotas con cuidado en el pozo de la izquierda y pon una gota de la muestra en el pozo. Si el pozo no parece estar lleno, coloca la punta del cuentagotas en el pozo de nuevo y pon otra gota de la muestra en el pozo. No es conveniente que la muestra se salga del gel.
9. Con una pipeta nueva, pasa a la muestra B. Toma un poco de la muestra en un pequeño cuentagotas de plástico. Coloca la punta del cuentagotas con cuidado en el pozo del centro y pon una gota de la muestra en el pozo.
10. Con una pipeta nueva, pasa a la muestra C. Recoge un poco de la muestra en un pequeño cuentagotas de plástico. Coloca la punta del cuentagotas con cuidado en el pozo de la derecha y pon una gota de la muestra en el pozo.



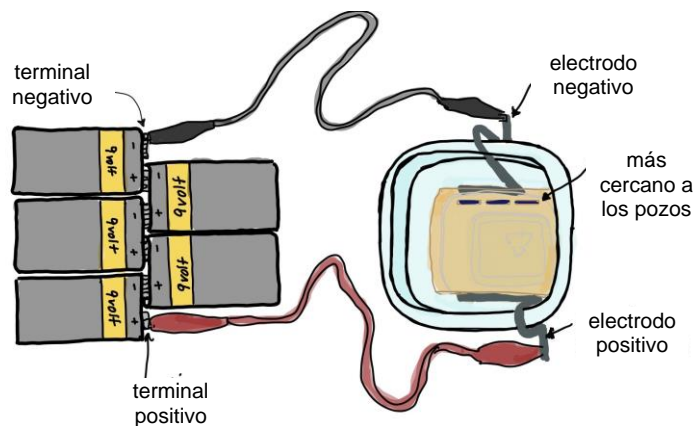
## Parte D: Encender la energía y "dejar correr el gel"

### Esto es lo que necesitarás de tu kit:

- Dos cables de prueba con pinzas de cocodrilo

**Precaución:** Al configurar la fuente de alimentación, ten cuidado al completar el circuito con las pinzas de cocodrilo. Asegúrate de que sólo estás tocando las partes que están cubiertas de plástico para no recibir una descarga eléctrica.

1. Ahora que tu gel está preparado con tus tres muestras, tendrás que conectar la alimentación. Con una pinza de cocodrilo, conecta el terminal negativo (acanalado) del paquete de baterías al electrodo más cercano a los pozos.
2. Con la segunda pinza de cocodrilo, completa el circuito conectando el terminal positivo (liso) de la batería al electrodo más alejado de los pocillos. En cuanto hagas esto, deberías ver cómo se forman burbujas alrededor de los electrodos en el buffer a medida que la corriente pasa por ellos. Si no ves burbujas, vuelve a verificar las conexiones eléctricas. Asegúrate de que las baterías están bien colocadas en *serie* y que las baterías están frescas y completamente cargadas.



3. Tus muestras empezarán a moverse. Como son tan pequeñas, se moverán lentamente, por lo que tendrás que ser paciente y darles algo de tiempo para que funcionen. Pero debes verificar el progreso de los geles cada 10 minutos para poder ver lo que está ocurriendo.

*¿Qué ves que hace la cámara de electroforesis? ¿Qué están haciendo las muestras?  
¿Siguen las muestras en los pocillos? ¿Qué aspecto tienen las muestras en este momento? ¿Todas las muestras tienen el mismo aspecto?*

4. Deja correr el gel hasta que veas una buena migración y separación de los colorantes alimentarios. Deberás esperar unos 30 minutos.

### **Entonces... ¿Qué ocurre en la cámara de electroforesis?**

La **electroforesis en gel** es una técnica utilizada para separar mezclas como el ADN y las proteínas. La separación se basa en la carga positiva o negativa de una molécula y en su tamaño. La electroforesis en gel utiliza un gel (como la gelatina) y se introduce un campo eléctrico a través del gel.



La palabra electroforesis viene de **-electro**, porque se utiliza un campo eléctrico, y **-foresis**, que significa movimiento.

Nuestra cámara de electroforesis es un gran circuito. Un **circuito** es un camino por el que se mueve la electricidad. Es algo así como un gran bucle. Cuando la electricidad se mueve, o fluye, la electricidad puede encender una bombilla, hacer girar un ventilador, o en nuestro caso, moverá moléculas. Echemos un vistazo a las partes del circuito de nuestra cámara de electroforesis para entender mejor cómo funciona.

Todos los circuitos tienen algunos componentes básicos. Uno de ellos es la **fuentes de alimentación**, también llamada fuente de **tensión**. La fuente de energía es lo que empuja la electricidad a través del circuito. Se trata del paquete de baterías que hemos construido.

A continuación, los circuitos necesitan **conectores**. Los conectores conectan todas las partes del circuito y crean el camino o bucle por el que viaja la electricidad. Los conectores suelen estar hechos de alambre u otro metal. Tenemos dos conjuntos de conectores en nuestra cámara de electroforesis. En primer lugar, tenemos nuestros conectores de clip. Se extienden dentro de nuestra cámara de plástico, se enganchan en los bordes y se extienden hacia fuera. Nuestros segundos conectores son los cables de pinza de cocodrilo. Enganchamos la primera pinza de cocodrilo al clip en un extremo y conectamos el otro lado al terminal negativo de la fuente de alimentación. Engancha la segunda pinza de cocodrilo al terminal positivo de la fuente de alimentación y conecta el otro extremo al clip del otro lado de la cámara. ¿Puedes ver el círculo por el que puede fluir la electricidad?

El tercer componente es la **carga**. Es lo que se alimenta de la electricidad en un circuito. En nuestra cámara de electroforesis, la carga es el gel. El gel rompe el circuito. Necesitamos algo que lleve la electricidad y mueva las moléculas a través del gel. ¡Por eso utilizamos el buffer!

Cuando ponemos un buffer en la cámara, el circuito se completa porque el buffer puede transportar la electricidad. Esto es lo que moverá las moléculas de nuestras muestras.

En este experimento, las moléculas de la muestra cargadas negativamente se cargan en el gel. Cuando se pasa una corriente a través del gel, las moléculas migran hacia el terminal positivo, y las moléculas más pequeñas se mueven más rápido que las más grandes. Esto separa las moléculas de distinto color.

Si una molécula grande tiene una carga grande, su atracción hacia la carga opuesta también es grande. Pero, como la molécula es grande, tendrá dificultades para moverse a través del gel grueso. En la electroforesis en gel, las moléculas grandes se moverán más lentamente.

Una molécula pequeña cargada se moverá más fácilmente a través del gel. Las moléculas más cortas se mueven más rápido y llegan más lejos que las más largas porque las moléculas más cortas atraviesan los poros del gel con más facilidad. Este fenómeno se llama cribado.

Si la molécula no tiene carga, no se moverá.”

## Parte E: Compara las bandas de moléculas

### Esto es lo que necesitará cada campista:

- Una bolsa de plástico para sándwiches

### Esto es lo que necesitarás de tu casa:

- Juego de lápices de colores o crayones

### Instrucciones:

1. Una vez que los colores se hayan separado, debes desconectar las pinzas de cocodrilo de los electrodos. Esto "apagará" la cámara de electroforesis.
2. Retira con cuidado los electrodos de clip de la cámara.
3. Te será más fácil ver todos los colores si sacas el gel del recipiente de plástico. El gel estará un poco blando porque el campo eléctrico genera algo de calor.
4. Con tus dedos, debes deslizar el gel fuera del recipiente de plástico. Deja que la solución buffer gotee del gel y luego desliza el gel en la bolsa de plástico. Desde la bolsa de plástico, deberías poder ver claramente los resultados.
5. Los geles no se "conservarán" porque con el tiempo, los colores seguirán moviéndose al difundirse en el gel y ya no serán resultados fiables. Tendrás que registrar tus resultados dibujando las bandas que veas, en color, en el gel de este paquete de la página 11.
6. ¡Ahora haz un análisis!
  - a. ¿Cómo se comparan las bandas de la muestra A con las de las muestras B y C? ¿Tienen alguna banda que sea igual?
  - b. ¿Cómo se comparan las bandas de la muestra B con las de la muestra C?
  - c. ¿Qué muestra tiene moléculas más grandes?
  - d. ¿Qué muestra tiene moléculas más pequeñas?
7. Limpia y enjuaga las cámaras de electroforesis.

**Sugerencia:** Si quieres volver a hacer funcionar tu cámara de electroforesis con otros productos químicos (como Kool-aid o Soda o cualquier líquido que tenga colorante) puedes hacer nuevos geles preparando Gelatina Original sin sabor Knox. Sigue las instrucciones del envase y utiliza 30 ml de la gelatina para hacer un nuevo gel.

Si vuelves a poner en marcha la cámara, eventualmente necesitarás pilas nuevas. Las cinco pilas que vienen con tu kit te servirán para hacer funcionar la cámara 2 o 3 veces antes de tener que cambiarlas.

## Resultados de la electroforesis

Colorea las bandas que veas en tu gel en la imagen de abajo.

### NUESTRO GEL

pozos

