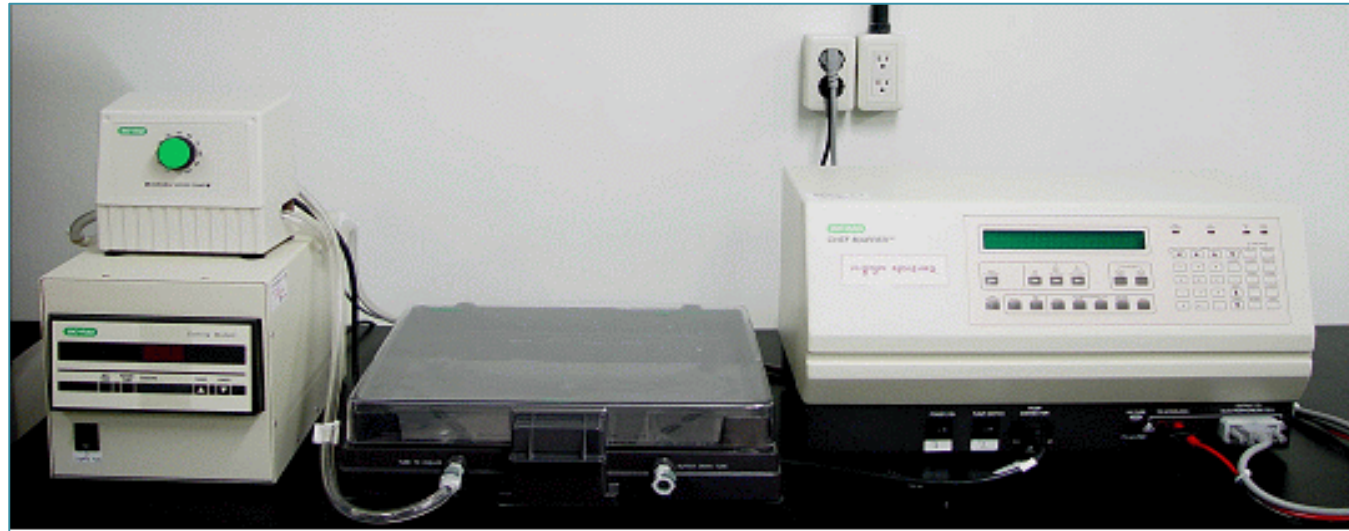


Electroforesis en Gel de Campo Pulsado *Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE)*



PROYECTO 14506: INFRAESTRUCTURA DGA

Contrato Programa Equipamiento de 2017

I.P: Rafael Pagán

Laboratorio Biología Molecular

Área Nutrición y Bromatología. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos
Facultad Veterinaria. Universidad de Zaragoza

Carmina Rota /Pilar Conchello

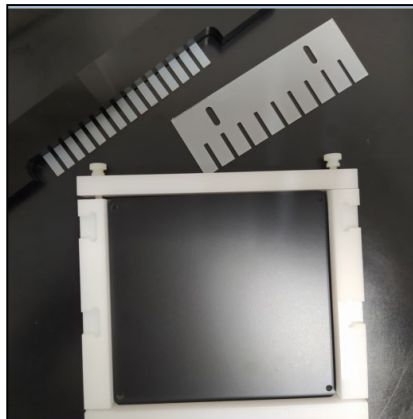
Equipo PFGE-CHEF: módulos

4. Bomba peristáltica

1. Power module

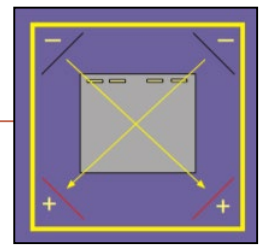
2. Cubeta electroforesis

3. Refrigerador



5. Molde /peines

Características técnica PFGE



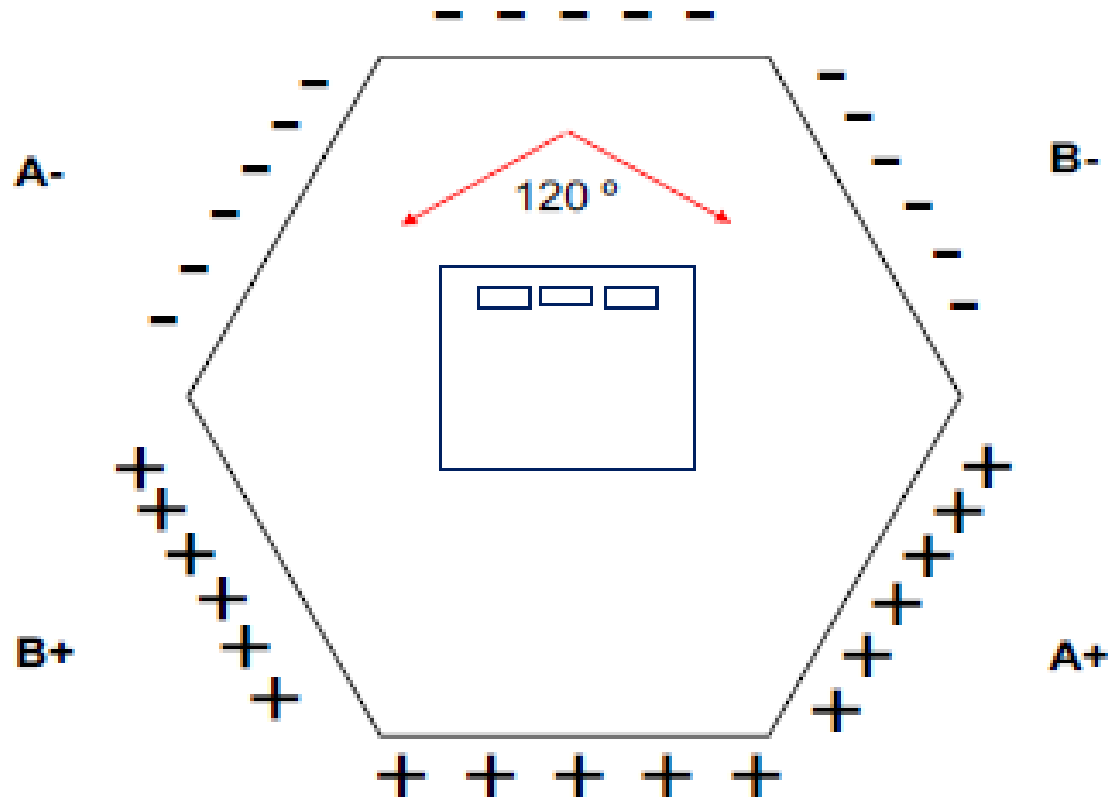
- ❖ **Subtipificación molecular: bacterias, mohos, levaduras**
- ❖ **Separar fragmentos de DNA (10Kb- 11Mb)**
- ❖ **Dos campos eléctricos alternantes con diferente orientación**
 - ✓ **Cambio periódico de la dirección del campo eléctrico: pulso**
 - ✓ **Moléculas grandes ADN más tiempo alineación que las pequeñas**
 - ✓ **Campo eléctrico misma intensidad y voltaje: DNA línea recta**

Características técnica PFGE

❖ **Variantes PFGE:** modificación del campo eléctrico, velocidad de migración y resolución de las bandas

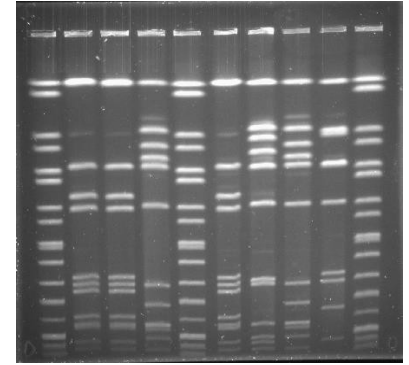
- OFAGE (*Orthogonal Field Alternating Gel Electrophoresis*)
- FIGE (*Field Inversion Gel Electrophoresis*)
- TAFE (*Transverse Alternating Field Electrophoresis*)
- **CHEF (*Contour-Clamped Homogeneous Electric Field*)**
- PACE (*Programmable Autonomously Controlled Electrodes*)
- RGE (*Rotating Gel Electrophoresis*)
- CFGE (*Continuous Field Gel Electrophoresis*)
- ZIFE (*Zero-Integrated Field Electrophoresis*; Birren & Lai 1993) y
- ST/RIDE (*Simultaneous Tangential/Rectangular Inversion Decussate Electrophoresis*)

PFGE- CHEF: *Contour-clamped Homogeneous Electric Field*



Esquema de distribución de electrodos en sistema
CHEF en la **técnica PFGE**

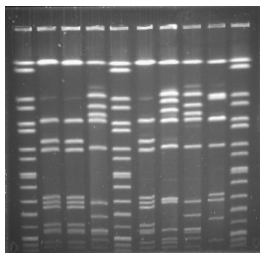
Ventajas



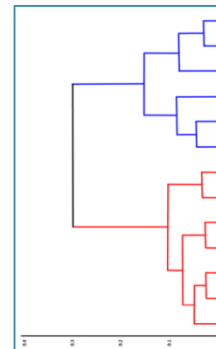
- ❖ **Facilidad de uso**
- ❖ **Mayor poder de separación: < 50 Kb - 2 Mb**
- ❖ **Carriles** electroforéticos **rectilíneos**
- ❖ El **patrón de separación** es **independiente** de la **posición** del gel
- ❖ **Número** de muestras
- ❖ **Poder** de **discriminación/reproducibilidad**

Etapas

1. **Extracción** del **DNA** genómico: bloques agarosa
2. **Digestión** del **DNA**: enzimas de restricción
3. **Preparación gel de agarosa** (*Gold Agarose -SeaKem* ®): muestras
4. **Separación** de los **fragmentos de DNA** mediante **PFGE**
5. **Tinción del gel/digitalización** (DCODE™ -BIO-RAD)
6. **Análisis** del **patrón de bandas** mediante un software informático.



UPGMA
Coeficiente de Dice



Dendrograma
Pulsotipos = cepas

❖ **Epidemiología**

❖ **Industria alimentaria**

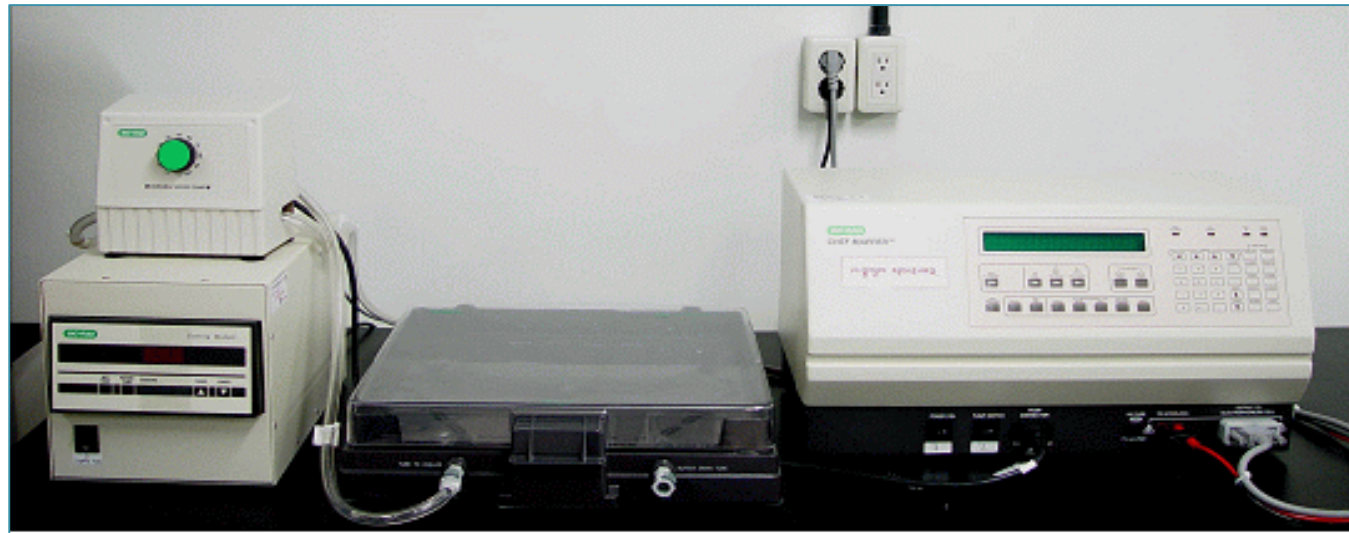


PFGE-CHEF: Método de referencia

***Centers for Disease Control and Prevention
(CDC)***

Red PulseNet: patógenos alimentarios

GRACIAS POR LA ATENCION



Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE)