

ATIVIDADE LABORATORIAL

TEMA

Extração de ADN do morango

OBJETIVOS

- Recordar conhecimentos sobre ADN;
- Adquirir práticas de laboratório;
- Compreender e descrever as transformações físicas e químicas que ocorrem em cada passo da extração de ADN;
- Ordenar a sequência de passos que constituem o processo de extração de ADN.

PROBLEMA

Como se pode visualizar macroscopicamente o ADN das células do morango?

DADOS

- O ADN é uma molécula que se encontra em todos os seres vivos e é idêntica do ponto de vista químico do Homem às Bactérias.
- O ADN das células eucarióticas está associado a proteínas e 99% encontra-se no núcleo.
- O detergente remove os lípidos.
- O ADN é insolúvel em álcool etílico a 96%.

CONCEITOS CHAVE

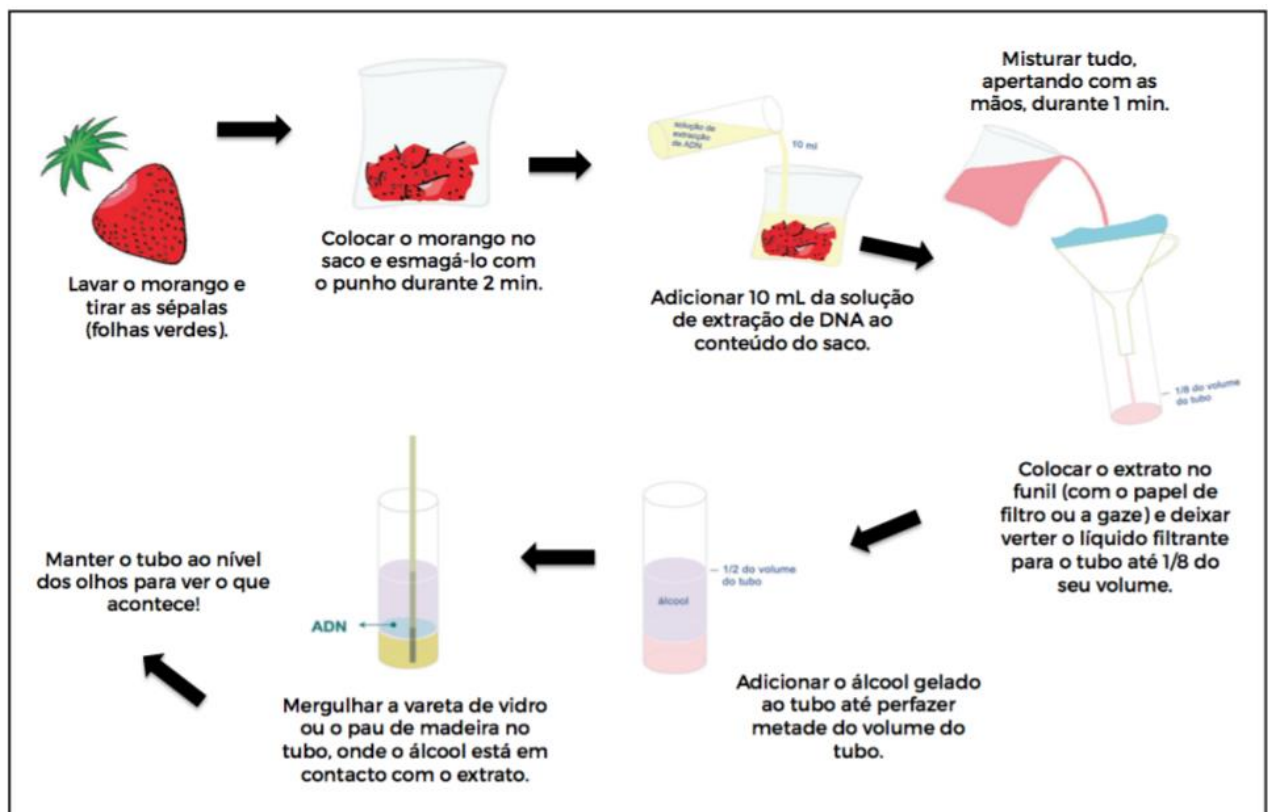
- Organização celular eucariótica
- ADN

MATERIAL

- solução de Extração de ADN (detergente da loiça, sal e água);
- 1 morango fresco;
- 1 saco de plástico (de congelar ou de sandes);
- álcool etílico (pelo menos a 90%) gelado;
- 1 filtro de café ou papel de filtro
- vareta de vidro;
- tubo de ensaio;
- suporte de tubos de ensaio



PROCEDIMENTO



1. Preparar a solução de extração de ADN (100 ml de detergente, 15g de sal e perfazer com água até 1L)
2. Lavar o morango e tirar as sêpalas (folhas verdes).
3. Colocar o morango no saco e esmagá-lo com o punho durante 2 minutos.
4. Adicionar 10 ml da solução de extração do ADN ao conteúdo do saco.
5. Misturar tudo, apertando com as mãos, durante 1 minuto.
6. Colocar o extrato no funil (com papel de filtro) e deixar verter o líquido filtrante para o tubo até 1/8 do seu volume.
7. Adicionar o álcool, previamente gelado, ao tubo até perfazer metade do volume do tubo.
8. Esperar alguns minutos cerca de 10 minutos até observar a formação de um precipitado de ADN.
9. Mergulhar a vareta de vidro, onde o álcool está em contacto com o precipitado de ADN.
10. Retirar uma amostra de ADN precipitado e observar a sua textura viscosa e pegajosa.

TÓPICOS DE DISCUSSÃO

1. Por que razão se utilizaram morangos?
2. Indica qual é o papel do detergente e do sal no processo de extração do ADN das células.
3. Indica a função do álcool no processo efetuado.
4. Que alteração introduzirias no procedimento experimental para obter um extrato de DNA puro tendo em conta que o ADN, isolado por esse método, se encontra associado a proteínas?
5. A que corresponde o aglomerado esbranquiçado, com aspeto filamentoso, que aparece na parte superior do tubo de ensaio?
6. Explica a importância de se realizar o passo 3 do procedimento.
7. Indica duas áreas de aplicação do ADN, baseadas no facto da molécula ser única em cada indivíduo (“impressão digital genética”).
8. É possível visualizar estrutura em dupla-hélice da molécula de ADN? Justifica.

Referência:

Guia do Professor, “Extração de DNA” do Instituto Gulbenkian de Ciência, disponível em <http://ce3.igc.gulbenkian.pt/wp-content/uploads/2017/02/Extracao-ADN-secundario-ce3.pdf>

PROPOSTAS DE RESOLUÇÃO

TÓPICOS DE DISCUSSÃO

1. As plantas são excelentes fontes de ADN: a maioria das plantas possui oito cópias de cada cromossoma por cada célula (octaplóides), o que significa que possui muito ADN. Os morangos maduros, para além de possuírem muito ADN, produzem pectinases e celulases, enzimas que ajudam a degradar a parede celular.

2. O detergente promove a desorganização nuclear/celular por remoção dos lípidos das membranas biológicas e consequentemente a dispersão do ADN e proteínas pela solução aquosa.

O sal torna a molécula de ADN neutra (sem carga) impossibilitando a sua dissolução na água. O ião fosfato da molécula de ADN com carga negativa interage com o ião Na^+ do sal (NaCl), as moléculas de ADN tornam-se neutras e estabilizadas, permitindo a sua agregação. A agregação de muitas moléculas de ADN é essencial para a sua visualização a olho-nu.

3. O álcool etílico a 96% promove a precipitação do ADN e permite evidenciar a sua presença na fração alcoólica. Este desidrata as moléculas de ADN, ou seja, afasta a água à sua volta retirando-as da solução (precipitação do ADN).

T1- Referência à adição de NaCl promover a aglomeração das moléculas de DNA (polianióes) por intervenção de iões Na^+ .

T2- Relação entre a aglomeração das moléculas de DNA existentes na fração aquosa e sua visualização macroscópica.

4. Introdução de proteases para degradação das proteínas permitindo a obtenção de um extrato puro de ADN.

5. O aglomerado esbranquiçado corresponde a milhares de moléculas de ADN, com muitas outras moléculas associadas.

6. Introdução da etapa da maceração dos morangos (do tecido vegetal) permite a dissociação das células e rutura da parede celular.

7. Investigação Forense. Determinação da paternidade.

8. Não é possível visualizar a estrutura em dupla-hélice da molécula de ADN a olho-nu e nem mesmo ao microscópio mais potente. Só através de uma técnica de cristalografia por difração de raios-x é possível obter imagens que revelem a sua estrutura.