

Oficina de Formação

# Utilização e Organização dos Laboratórios Escolares



**Formador:** Professor Vítor Duarte Teodoro

**Formanda:** Ana Paula Parreira

OFICINA DE FORMAÇÃO

UTILIZAÇÃO E ORGANIZAÇÃO DOS LABORATÓRIOS ESCOLARES

# ACTIVIDADE LABORATORIAL

## - EXTRACÇÃO DO DNA -

BIOLOGIA E GEOLOGIA – 11.º ANO

LEIRIA, 2010

# INTRODUÇÃO

A célula é a unidade básica funcional e estrutural de todos os seres vivos, ou seja, é no seu interior que ocorrem os processos vitais do metabolismo celular.

Todas as células provêm de células pré-existentes, sendo que a célula é a unidade de reprodução, de desenvolvimento e de hereditariedade dos seres vivos.

Existem dois tipos de células: as procarióticas e as eucarióticas. Estas últimas podem ser animais ou vegetais.

Nas células eucarióticas é no núcleo que se localiza o material genético, o DNA, que tem na sua estrutura proteínas específicas, as histonas (que lhe conferem estabilidade), formando a cromatina. Quando as células entram em divisão celular, a cromatina condensa-se formando os cromossomas.

O termo DNA ou ADN significa **ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO**.

O DNA é o suporte universal da informação genética que define as características de cada organismo vivo.

A unidade fundamental do DNA é o **nucleótido** (Figura 1) que resulta da ligação entre:

- uma **base azotada** - A-adenina, G-guanina, C-citosina, T-timina;
- uma **pentose** (desoxirribose);
- um **grupo fosfato**.

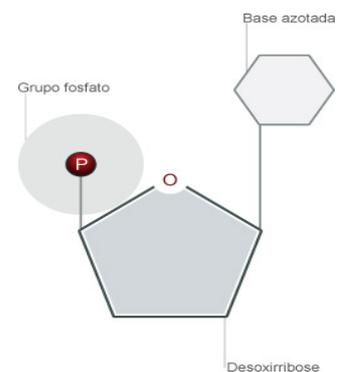


Figura 1

As quatro bases presentes nos nucleótidos de DNA podem ser de anel duplo, denominadas **bases púricas** ou **purinas** (A e G) e de anel simples, denominadas **bases pirimídicas** ou **pirimidinas** (T e C).

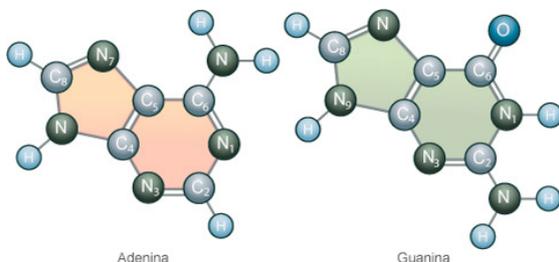


Figura 2 - Bases púricas

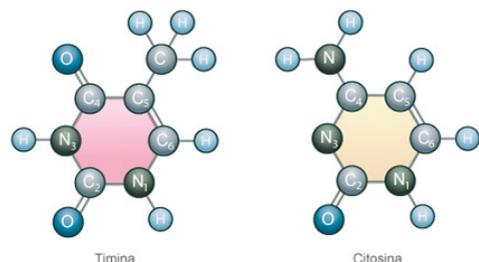


Figura 3 - Bases pirimídicas

A designação dada ao nucleótido encontra-se relacionada com a respectiva base azotada que o compõe.

O DNA é um **ácido nucleico** e apresenta duas cadeias de nucleótidos complementares, de acordo com o emparelhamento/ligações por pontes de hidrogénio, pelas bases constituintes dos nucleótidos que compõem o DNA: A-T e C-G (Figura 4).

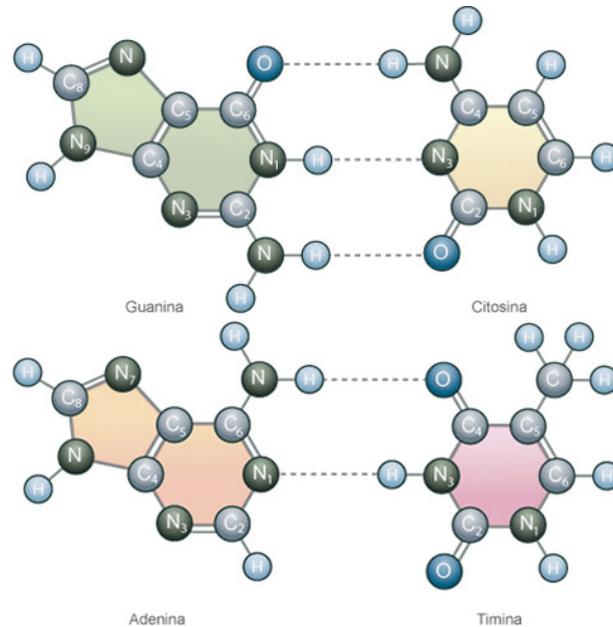


Figura 4

Os nucleótidos de uma cadeia simples de DNA estão ligados entre si através de uma ligação fosfodiéster entre o carbono 3' do nucleótido anterior e o carbono 5' do nucleótido posterior. Deste modo, a cadeia de DNA apresenta uma extremidade livre, a 3' com um **grupo hidroxilo** e uma extremidade 5' livre com um **grupo fosfato**.

O DNA apresenta uma estrutura secundária sob a forma de “dupla-hélice” (Watson e Crick, 1953), formada por duas cadeias complementares antiparalelas (com sentidos opostos, designando-se uma por 3'-5' e a outra por 5'-3'), ligadas pelo estabelecimento de pontes de hidrogénio entre as bases azotadas complementares das duas cadeias.

## OBJECTIVOS

- Separar o material necessário para a actividade;
- Extrair e observar DNA de células eucarióticas vegetais, nomeadamente de frutos - ex. kiwi;
- Pesquisar o significado de conceitos importantes e palavras-chave:

CONCEITO/ /PALAVRA-CHAVE	SIGNIFICADO
DNA	O ADN (ou DNA, iniciais da designação em inglês <i>DesoxyriboNucleic Acid</i> ) é um dos ácidos nucleicos que são polímeros de nucleótidos unidos por um radical fosfato, que por um lado se liga com o carbono 3 da pentose e por outro lado se liga ao carbono 5 da pentose de outro nucleótido. Na formação de nucleótidos intervêm três tipos de substâncias: fosfato, uma pentose e uma base azotada.
Célula eucariótica vegetal	Célula que apresenta núcleo individualizado por uma membrana nuclear e vários organelos. As células eucarióticas vegetais têm uma parede celular rígida, externamente à membrana plasmática.
Membrana nuclear (invólucro nuclear)	Dupla membrana que envolve o núcleo das células eucarióticas. No invólucro nuclear, estão presentes os chamados poros nucleares, que facilitam e regulam a troca de material (como proteínas e RNAm) entre o núcleo e o citoplasma da célula.
Insolubilidade	Incapacidade de uma substância de se dissolver; que não é solúvel.
Precipitação	A precipitação é a formação de um sólido durante a reação química. O sólido formado na reação química é chamado de precipitado.
Filtração	A filtração é uma operação unitária que consiste na separação de uma fase sólida de uma fase fluida (líquida ou gasosa), passando esta última através de um meio permeável e poroso. Ao meio poroso e permeável dá-se o nome de <i>filtro</i> . Este retém o resíduo sólido. O fluido que passa através do filtro designa-se <i>filtrado</i> .

## EXTRACÇÃO DO DNA E SUA OBSERVAÇÃO



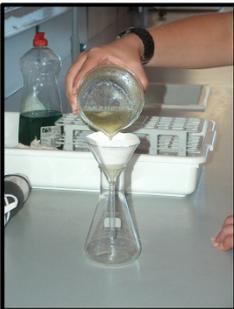
1. Colocar 100ml de água num gobelé de 600ml e de seguida descascar um kiwi e cortá-lo em pequenos pedaços para o interior do gobelé.



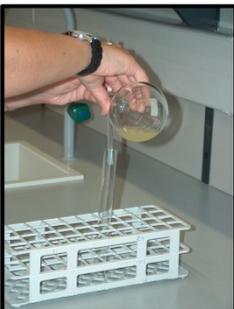
2. Com o auxílio de uma varinha mágica, triturar o kiwi aproximadamente 10 segundos.



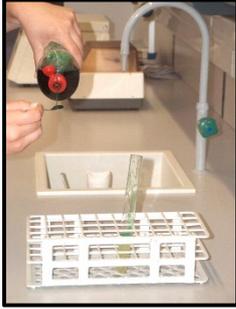
3. Adicionar à mistura uma colher de chá de sal e misturar.



4. Colocar um disco de papel de filtro num funil e filtrar a mistura para um Erlenmeyer de 250ml.



5. Transferir o filtrado para um tubo de ensaio de 22mm de Ø, com o auxílio de uma vareta de vidro.



6. Adicionar três colheres de chá de detergente da loiça e misturar lentamente para não fazer bolhas.



7. Verter álcool etílico a 95%, previamente colocado no congelador a -20°C, em igual volume ao do filtrado, fazendo-o escorrer pelas paredes do tubo de ensaio. Não misturar o álcool com o filtrado.

8. Aguardar 5 minutos.



9. Observar o tubo de ensaio, com filamentos de cor branca – DNA e proteínas, precipitados no limite da camada de álcool.

10. Registrar as observações.

**(Esquematizar: filtrado, álcool etílico e DNA+proteínas)**



## LISTA DE MATERIAL



NOME	QUANTIDADE
Água	100ml
Gobelé de 600ml	1
Faca	1
Kiwi	1
Varinha mágica	1
Colher de chá	1
Sal (NaCl)	1 c. chá
Papel de filtro	1
Funil	1
Erlenmeyer de 250ml	1
Tubo de ensaio de 22mm Ø	1
Suporte de tubos de ensaio	1
Vareta de vidro	1
Detergente da loiça	3 c. chá
Álcool etílico a 95%	Volume igual ao filtrado

## DISCUSSÃO

### 1. Quais são as estruturas celulares e qual a sua composição?

As membranas celular e nuclear são compostas principalmente por lípidos, estando as proteínas inseridas, intrínseca ou extrinsecamente, na bicamada fosfolipídica.

Os organitos celulares são compostos por proteínas, ácidos nucleicos (DNA e RNA), envolvidos por uma membrana.

As paredes celulares das células vegetais são compostas essencialmente por polissacarídeos.

### 2. Onde se encontra o DNA na célula?

Cerca de 99% do DNA encontra-se no núcleo da célula. O restante DNA encontra-se em locais específicos, como por exemplo organitos. Nomeadamente, as mitocôndrias e os cloroplastos possuem o seu próprio DNA.

### 3. Qual o objectivo da utilização dos seguintes materiais na experiência:

#### 3.1. Sal?

A adição do sal (NaCl) no início da experiência proporciona ao DNA um ambiente favorável. O sal contribui com iões positivos que neutralizam a carga negativa do DNA, estabilizando-o. Numerosas moléculas de DNA podem coexistir nessa solução.

### **3.2. Detergente?**

O detergente afecta as membranas porque elas são constituídas por lípidos. Ao promover a ruptura das membranas possibilita que o conteúdo celular, incluindo as proteínas e o DNA, fiquem dispersos na solução.

### **3.3. Álcool etílico?**

O álcool etílico cria um meio apolar menos denso do que a água, no qual o DNA não se dissolve e pode ser observado. Dado que o DNA não se dissolve no álcool, aparece precipitado na superfície da solução.

### **3.4. Varinha mágica?**

Promove a ruptura mecânica das paredes e membranas celulares, fazendo com que o DNA e as proteínas se misturem na solução.

## **4. Por que motivo não se pode ver a dupla hélice que constitui a molécula de DNA?**

A dupla hélice de cada molécula de DNA é demasiado pequena para se observar. Apesar do DNA ser a maior molécula da célula, só se consegue observar ao microscópio electrónico. A razão pela qual podemos observar o DNA nesta experiência deve-se ao facto de termos milhões de cadeias de DNA e RNA aglomerados, para além de imensas proteínas.