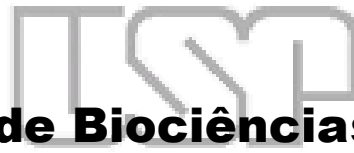




Instituto de Biociências



DNA VEGETAL NA SALA DE AULA

AUTORES

Cristiane Del Nero Rodrigues (babetecris@yahoo.com.br)

Ana Carolina de Almeida (anacarolusp@yahoo.com.br)

Cláudia Maria Furlan (furlancm@yahoo.com.br)

Daniel Gouveia Tanigushi (danieltanigushi@yahoo.com.br)

Déborah Yara A. C. dos Santos (dyacsan@ib.usp.com)

Fungyi Chow (fchow@ib.usp.br)

Lucimar Barbosa Motta (luggall@yahoo.com.br)

2008

Ficha Catalográfica

D629 DNA vegetal na sala de aula / Cristiane Del Nero Rodrigues...[et al.] – São Paulo: Departamento de Botânica – IBUSP. São Paulo, 2008.

8 p.: il. – (Ensino de Botânica)

ISBN: 978-85-85658-22-9

1. Botânica – Estudo e ensino 2. Extração de DNA.
I. Almeida, Ana Carolina de II. Furlan, Cláudia Maria III. Tanigushi, Daniel Gouveia IV. Santos, Déborah Yara A.C. dos V. Chow, Fungyi VI. Motta, Lucimar Barbosa VII. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica VII. Série.

LC: QK 51



DNA VEGETAL NA SALA DE AULA

Atualmente, o termo DNA ganhou tamanha abrangência que atrai os noticiários. Portanto, a proposta de levar a extração de DNA para a sala de aula pode ser uma experiência reveladora, despertando assim a curiosidade dos alunos.

Este texto é um material de apoio para aula prática sobre extração de DNA. Ele pode ser aplicado em sala de aula, tanto no Ensino Médio quanto no Ensino Fundamental, e pode auxiliar o professor na abordagem de conceitos como constituição, organização e função celular dos seres vivos.

O objetivo deste material é contribuir para a identificação do DNA extraído a partir de material vegetal.

Material necessário:

- material biológico (flor, cebola, folhas, repolho, morango, banana);
- faca ou tesoura;
- banho-maria;
- bacia;
- gelo;
- filme plástico;
- termômetro;
- algodão;
- álcool de limpeza gelado (92%).

Para a extração de cada material é necessário:

- dois copos de vidro;
- uma colher de sopa de detergente líquido neutro;
- uma colher de chá de sal de cozinha;
- um funil de plástico (garrafa PET cortada pela metade com tampa perfurada).



PROCEDIMENTO PARA EXTRAÇÃO DE DNA:

ETAPA 1 – Coloque água até $\frac{3}{4}$ do volume do copo. Acrescente o detergente líquido e o sal de cozinha e misture vagarosamente com uma colher (solução de lise).



Rodrigues et al. 2008

A solução de lise é assim denominada devido a sua função de rompimento da membrana plasmática e outras membranas.

O detergente permite a desestruturação das moléculas de lipídios das membranas biológicas.

O sal proporciona o ambiente favorável para a extração de DNA, neutralizando a carga negativa dos grupos fosfatos dessa molécula.



ETAPA 2 – Pique o material vegetal em pequenos pedaços, coloque-o dentro do copo com a solução de lise e misture vagorosamente com uma colher. Cubra o copo com filme plástico.

Quanto mais picado estiver o material, maior será sua superfície de contato com a solução de lise e melhor a ação da solução sobre as células. Isto permitirá a liberação de uma maior quantidade de moléculas de DNA e, portanto, um bom rendimento.

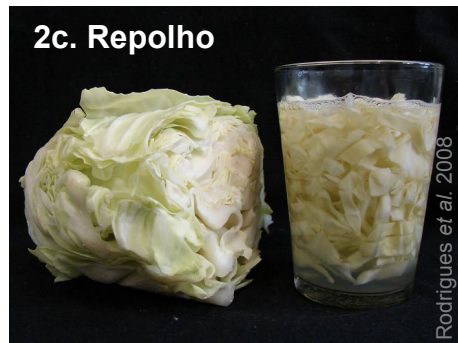
2a. Flor



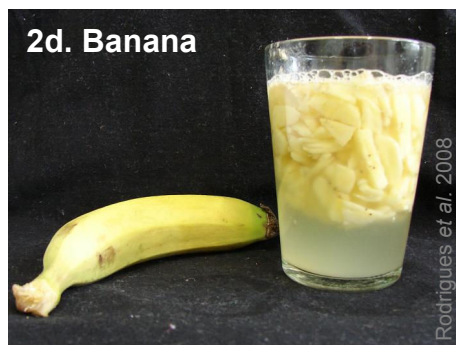
2b. Folha



2c. Repolho



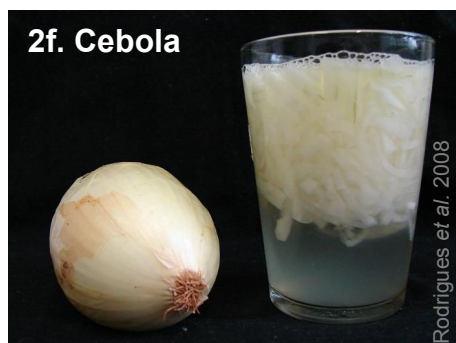
2d. Banana



2e. Casca de banana



2f. Cebola



2g. Morango





ETAPA 3 – Incube o copo em banho-maria a 70°C por 20 min.

A temperatura elevada promove agitação das moléculas, facilitando a ação do detergente em desestabilizar as membranas lipídicas. A alta temperatura também ajuda a inativar enzimas que podem degradar o DNA.



Alternativamente ao banho-maria, pode ser utilizado:

- caixa de isopor contendo água fervente ou
- banho-maria em fogão, com fogo brando.



Rodrigues et al. 2008

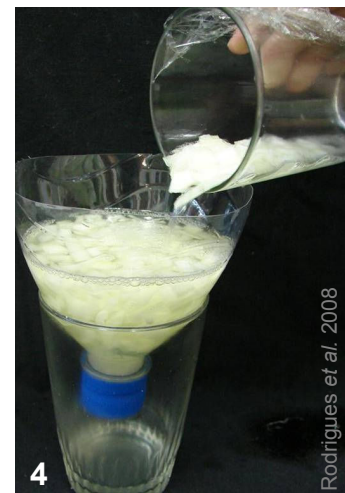


Rodrigues et al. 2008

Temperaturas menores que 70°C requerem maior tempo de incubação.

ETAPA 4 – Retire o copo do banho-maria, filtre o material utilizando o funil com algodão e recolha o filtrado em outro copo.

Alternativamente ao funil feito com garrafa PET, pode ser utilizado funil para coar café com algodão ou com filtro de papel.



Rodrigues et al. 2008



ETAPA 5 – Coloque o copo com o material filtrado em um banho de gelo e deixe esfriar por 5 min.



O resfriamento do filtrado no gelo permitirá a precipitação do DNA.

ETAPA 6 – Retire o copo do gelo e adicione o álcool gelado escorrendo vagorosamente pela parede do copo. O volume de álcool deve ser aproximadamente equivalente ao do material filtrado.

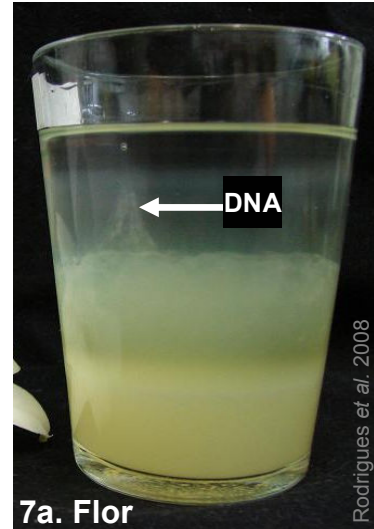


O álcool gelado diminui a solubilidade do DNA com a ajuda do sal adicionado inicialmente. O DNA, menos solúvel em álcool, formará um aglomerado que precipitará junto com outras moléculas. Adicionar o álcool gelado em velocidade lenta auxilia na eficiência de precipitação do DNA.

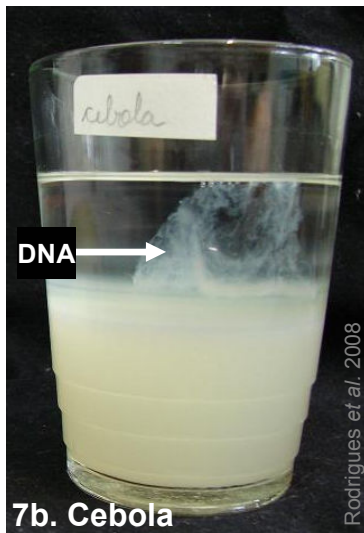


ETAPA 7 – Observe o DNA precipitado como uma nuvem esbranquiçada no fundo da fase alcoólica. A pectina ficará no topo da fase alcoólica.

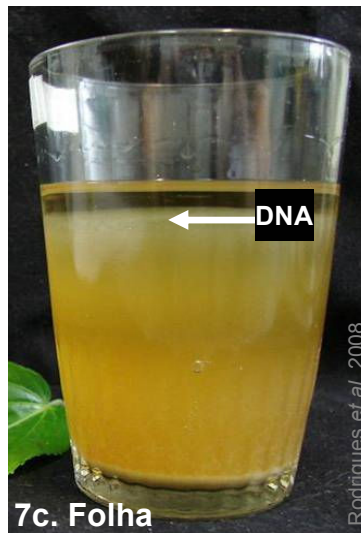
Materiais com altas quantidades de pectina (ex. morango e banana) dificultam a correta identificação do DNA. Um dos melhores materiais recomendados para esta experiência em sala de aula é a cebola, uma vez que permite a obtenção de um DNA mais limpo e apresenta menor quantidade de pectina.



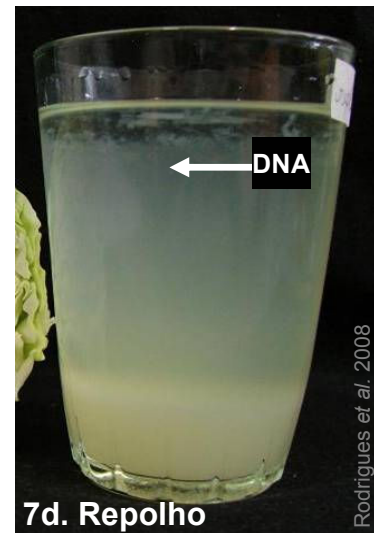
7a. Flor



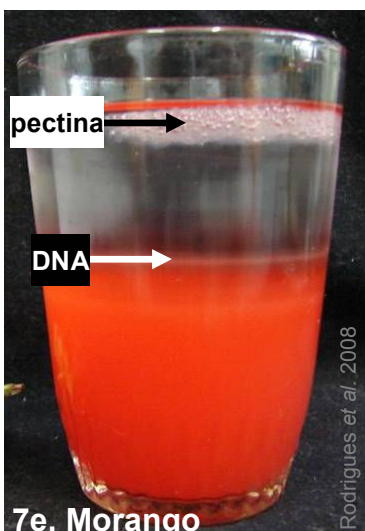
7b. Cebola



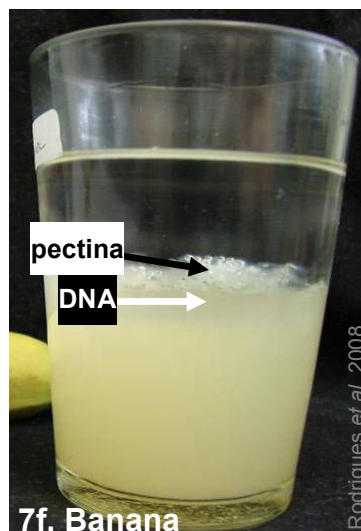
7c. Folha



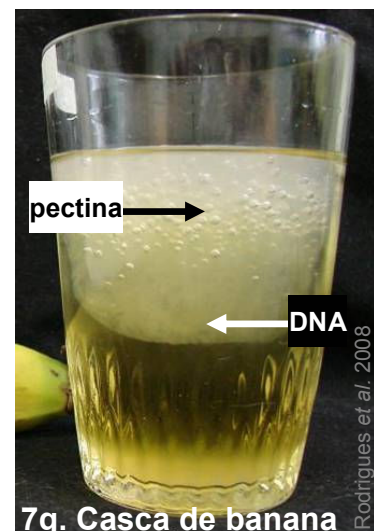
7d. Repolho



7e. Morango



7f. Banana



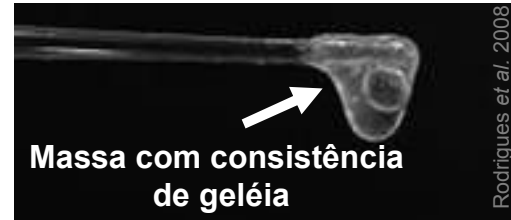
7g. Casca de banana



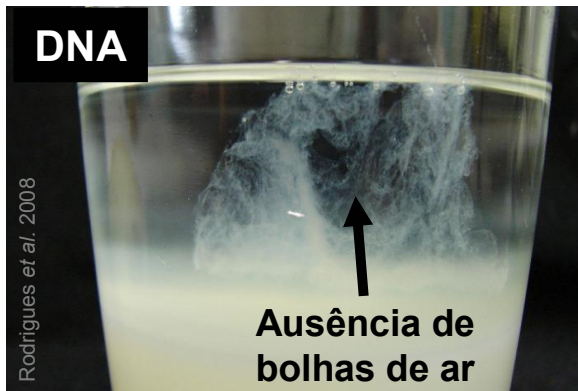
DIFERENCIANDO PECTINA DE DNA



Pode-se observar bolhas na camada de pectina. Além disso, a pectina apresenta consistência de geléia quando retirada com um bastão de vidro, pipeta Pasteur ou palito de dente.



O DNA forma filamentos muito finos, semelhantes a fios de algodão.



Para comprovar a presença de pectinas:

- colete material da região das bolhas;
- centrifugue a fim de concentrá-lo no fundo do tubo;
- o tubo 1 será o controle sem pectinase;
- no tubo 2 adicione pectinase (enzima que degrada pectina).

