

Organização: Eliana Maria Beluzzo Dessen e Jorge Oyakawa
Diagramação: Regina de Siqueira Bueno

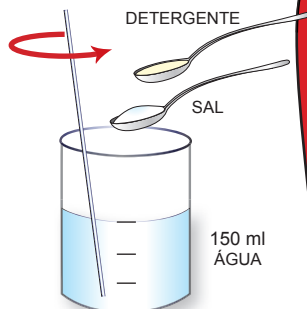
- 1** Selecionar 3 morangos e tirar os seus cabinhos verdes.



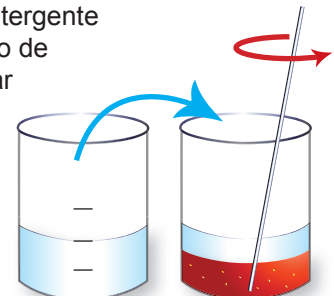
- 2** Colocar os morangos dentro de um saco plástico e macerá-los pressionando os morangos com os dedos até obter uma pasta quase homogênea. Transferir a pasta de morango para um copo.



- 3** Em outro copo misturar 150 ml de água, uma colher (sopa) de detergente e uma colher (chá) de sal de cozinha. Mexer bem com o bastão de vidro, porém devagar para não fazer espuma.



- 4** Colocar cerca de 1/3 da mistura de água, sal e detergente sobre o macerado de morango. Misturar levemente com o bastão de vidro.



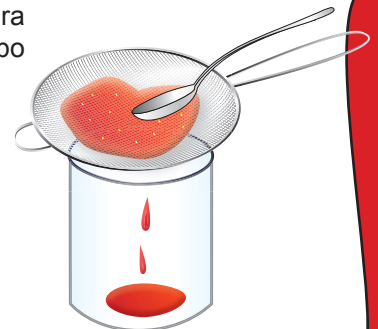
- 5** Incubar em temperatura ambiente por 30 minutos. Mexer de vez em quando com o mesmo bastão.



Incubar por 30 minutos



- 6** Colocar uma peneira sobre um copo limpo e passar a mistura pela peneira para retirar os pedaços de morango que restaram.



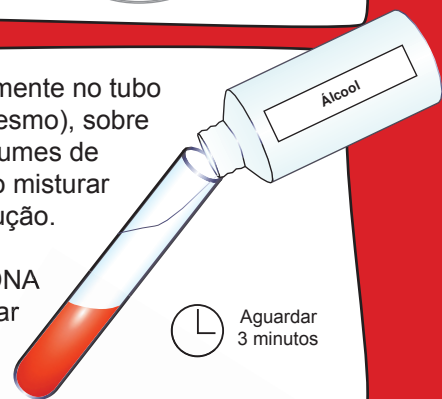
- 7** Colocar metade do líquido peneirado em um tubo de ensaio. Colocar apenas cerca de 3 dedos no fundo do tubo.



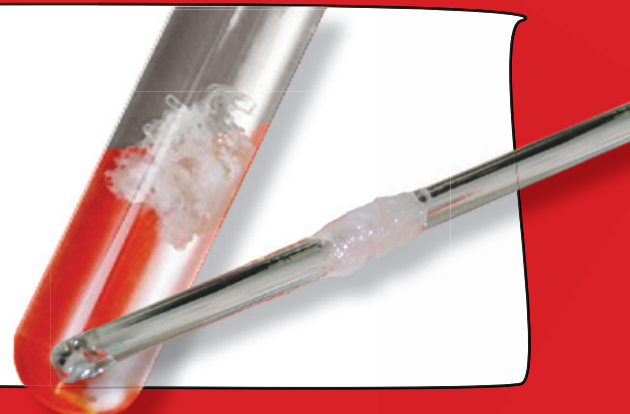
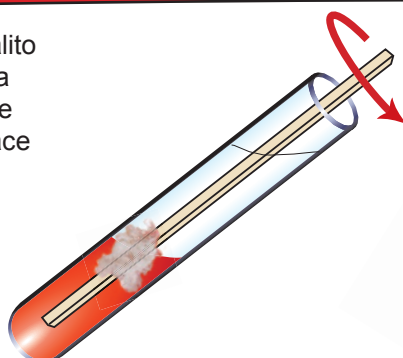
- 8** Despejar delicadamente no tubo (pela parede do mesmo), sobre a solução, dois volumes de álcool comum. Não misturar o álcool com a solução. Aguardar cerca de 3 minutos para o DNA começar a precipitar na interfase.



Aguardar 3 minutos



- 9** Passo opcional. Usar um palito de vidro, plástico ou madeira para enrolar as moléculas de DNA. Gire o palito na interface entre a solução e o álcool.



ETAPAS PREPARATÓRIAS:

Se você é professor e deseja aplicar esse protocolo em sala de aula siga as seguintes etapas preparatórias:

Antes da aula:

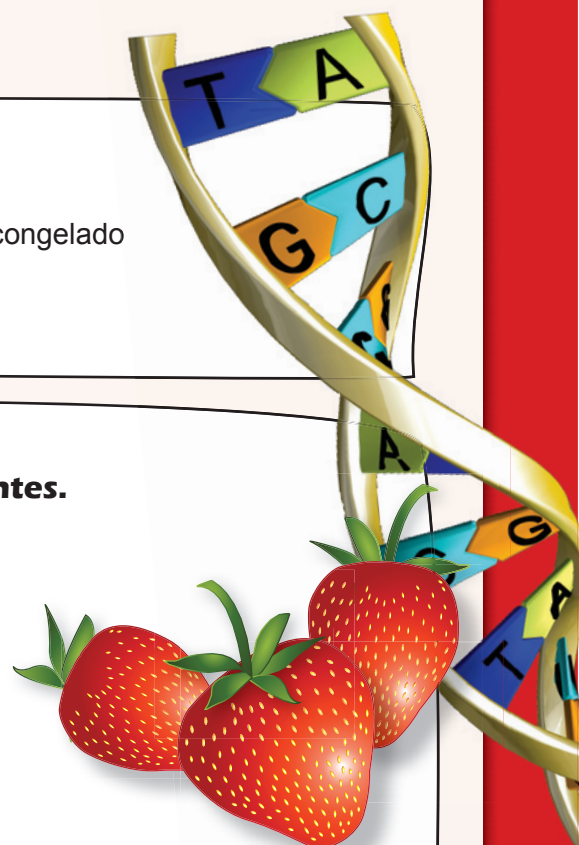
- Providenciar morangos maduros. Polpa de morango congelado também pode ser usada.
- Comprar álcool comercial comum 98% (sem gel).

Material suficiente para 3 grupos de até 10 estudantes.

- Morangos maduros
- 3 sacos plásticos para maceração dos morangos
- 3 colheres de sopa
- 3 colheres de chá
- 9 copos de vidro transparente
- 3 recipientes contendo sal de cozinha
- 3 frasco com detergente (sem cor) de lavar louça.
- 3 frasco com álcool comercial 98%
- 3 provetas ou 3 frasco contendo 150 mL de água
- 3 peneiras ou coadores de chá
- 6 tubos de ensaio grandes
- 3 bastões de vidro, plástico ou madeira
- 3 protocolos com os procedimentos

Observações:

- É aconselhável realizar a prática, antes da aula, para ajustar as quantidades relativas de tecidos a partir dos quais o DNA será extraído e a relação entre os volumes do macerado e do álcool.
- É aconselhável usar água quente na mistura com sal e detergente (cerca de 65°C), uma vez que o tempo de incubação está reduzido.
- Outras frutas podem ser usadas aplicando-se o mesmo protocolo: tomate bem maduro (meio tomate por extração) ou banana (meia banana por extração). Catafilos de cebola sem a casca também apresentam bom resultado. Se usar cebola pique-a em pedaços bem pequenos em vez de macera-la (meia cebola por extração).
- Durante o período da incubação, o professor pode conduzir uma discussão sobre a localização do DNA no núcleo, a composição da membrana plasmática e a ação do detergente sobre a membrana.
- Antes da aula prática é importante que os alunos já tenham os seguintes conceitos:
 - O DNA está no núcleo da célula
 - As membranas celulares são formadas por uma dupla camada lipídica.



ANEXO 1

Sugestão de questões para serem respondidas pelos grupos de estudantes após (ou durante) a realização da extração de DNA.

1. Por que é necessário macerar o morango?
2. Em que etapa do procedimento ocorre o rompimento das membranas das células do morango? Explique.
3. Qual a função do sal de cozinha?
4. Qual o papel do álcool?
5. Por que você não pode ver a dupla hélice do DNA extraído?
6. Considerando os procedimentos da extração do DNA genômico, você espera obtê-lo sem quebras mecânicas e/ou químicas?

Respostas para as questões:

1. O morango precisa ser macerado para que os produtos químicos utilizados para a extração cheguem mais facilmente em todas as suas células.
2. Na etapa 4. Os detergentes são normalmente empregados para dissolver gorduras ou lipídios. Como a membrana celular tem em sua composição química uma grande quantidade de lipídios, sob a ação do detergente, estes se tornam solúveis e são extraídos junto com as proteínas que também fazem parte das membranas.
3. O sal de cozinha ou NaCl (cloreto de sódio) fornece íons que são necessários para a fase de precipitação do DNA (veja complementação na resposta seguinte).
4. O DNA extraído das células do morango encontra-se na fase aquosa da mistura, ou seja, dissolvido na água. Na presença de álcool e de concentrações relativamente altas de Na⁺ (fornecidas pelo sal de cozinha) o DNA sai de solução, isto é, ele é precipitado. O precipitado aparece na superfície da solução, isto é, na interface entre a mistura aquosa e o etanol.
5. A molécula de DNA pode ser extremamente longa, mas seu diâmetro é de apenas 2 nanômetros, visível apenas em microscopia eletrônica. Assim sendo, o que se vê após a precipitação é um emaranhado formado por milhares de moléculas de DNA.
6. O DNA genômico é formado por moléculas muito longas (lembre-se que cada cromossomo é formado por uma única molécula de DNA). Por exemplo, o maior cromossomo humano possui 263 milhões de pares de bases. Assim sendo, é praticamente impossível extrair o DNA sem que inúmeras quebras mecânicas ocorram durante os procedimentos de extração.

Sugestões de atividades correlatas

Durante o período de incubação discutir o protocolo com os estudantes usando uma figura de uma célula vegetal e solicitar a eles que apontem as membranas da célula e do núcleo que estariam sendo rompidas pela ação do detergente. Neste momento, rever a composição química das membranas celulares. Rever o conceito de proteína e no que estas diferem das enzimas capazes de acelerar as reações químicas que ocorrem durante o metabolismo celular.

- Aplicar, com os alunos o jogo “Cara a cara com a célula”, disponível em www.genoma.ib.usp.br/educacao/materiais_didaticos.php. Chamar a atenção dos alunos sobre a localização do DNA nos diferentes tipos de célula.
- Rever, com os alunos os diferentes tratamentos capazes de promover a lise mecânica ou química da célula para a liberação do seu conteúdo. Comentar sobre o tratamento utilizado no procedimento apresentado e compará-lo com tratamentos com enzimas ou mesmo autólise espontânea ou induzida.
- Solicitar aos alunos que tragam para a sala de aula fotos ou figuras de um ambiente qualquer. Na foto pedir que marquem com um X os locais em que o DNA encontra-se contido dentro do núcleo de uma célula. Resgatar alguns dos trabalhos realizados e discutir com toda a classe a correção ou não dos itens assinalados.