



VII ENALIC

VII ENCONTRO NACIONAL DAS LICENCIATURAS
VI SEMINÁRIO DO PIBID
I SEMINÁRIO DO RESIDÊNCIA PEDAGÓGICA

05 a 07/12/18
FORTALEZA - CE

EXTRAÇÃO DE MATERIAL GENÉTICO COM MÉTODOS ALTERNATIVOS: UMA EXPERIÊNCIA VIABILIZADA PELO PROGRAMA RESIDÊNCIA PEDAGÓGICA

Vladileia Tochetto Gonçalves Ferreira, [Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, leiagftochetto@gmail.com](mailto:leiagftochetto@gmail.com).

Luciana Boemer Cesar Pereira, [Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, lucianaboemer@gmail.com](mailto:lucianaboemer@gmail.com).

Shana Caleffi Denardi, [Colégio Estadual do Campo São Francisco do Bandeira – Câmpus Dois Vizinhos, profeshana@gmail.com](mailto:profeshana@gmail.com).

Roberto Gonçalves Ferreira, [Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, robertoferreira@alunos.utfpr.edu.br](mailto:robertoferreira@alunos.utfpr.edu.br).

Rafael de Campos Eleuterio, [Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, raffaeleuterio@gmail.com](mailto:raffaeleuterio@gmail.com).

Fabiana da Costa, [Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, fabianafc13@hotmail.com](mailto:fabianafc13@hotmail.com).

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos.

EXTRACTION OF GENETIC MATERIAL WITH ALTERNATIVE METHODS: AN EXPERIENCE MADE POSSIBLE BY THE PEDAGOGICAL RESIDENCY PROGRAM

Resumo

Esta atividade teve como objetivo, extrair o DNA das células do mamão, da banana e da cebolinha no intuito de visualizar seus respectivos materiais genéticos, promovendo assim, a descoberta da localização dos mesmos. Além da aplicação de conhecimentos sobre estrutura da membrana celular. A atividade foi desenvolvida com o terceiro ano do Ensino Médio do Colégio Estadual do Campo São Francisco do Bandeira, localizado no interior de Dois Vizinhos - PR. Sua proposta surgiu pela professora regente da turma e foi aplicada por alguns acadêmicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, participantes do Programa Residência Pedagógica. A atividade prática possibilitou a extração de DNA do mamão, da banana e da cebolinha, utilizando materiais de fácil acesso, sendo do cotidiano. Os procedimentos realizados para as extrações foram todos caseiros e os materiais utilizados são de fácil acesso. Em resumo, para obter o DNA fez-se necessário ter acesso à estrutura nuclear da célula, romper paredes celulares, membrana lipoproteica e minimizar as forças de interação entre as proteínas que envolvem o DNA. A atividade teve grande valia aos estudantes que conseguiram observar na prática os conteúdos já trabalhados. Não foi possível visualizar as moléculas de DNA a olho nu, pois são microscópicas, o que foi observado é um aglomerado com milhares de moléculas de DNA.

Palavras-chave: DNA, moléculas, membrana plasmática, células.

Abstract

This activity aimed to extract the DNA of the cells of papaya, banana and scallions in order to visualize their respective genetic materials, thus promoting the discovery of their location. In addition to the application of knowledge about cell membrane structure. The activity was developed with the third year of high School of the State College of the São Francisco do Bandeira field, located in the interior of Dois Vizinhos-PR. His proposal arose by the class's Regent teacher and was applied by some academics from Federal Technological University of Paraná-Câmpus Dois Vizinhos, participants of the pedagogical residency program. The practical activity allowed the



extraction of DNA from papaya, banana and scallions, using easily accessible materials, being of daily life. The procedures performed for the extractions were all homemade and the materials used are easy to access. In summary, to obtain the DNA it was necessary to have access to the cell's nuclear structure, break down cell walls, lipoprotein membrane and minimize the forces of interaction between the proteins that involve the DNA. The activity was valuable to the students who were able to observe in practice the contents already worked. It was not possible to visualize the DNA molecules with the naked eye, because they are microscopic, what was observed is a cluster with thousands of DNA molecules.

Keywords: DNA, molecules, plasmatic membrane, cells.

INTRODUÇÃO

O DNA (Ácido Desoxirribonucleico), é uma molécula que foi descoberta por volta de 1969, por Johann Friedrich Miescher (GOUVEIA; REGITANO, 2007). O DNA tem papel fundamental na formação dos seres vivos. É responsável por todas as informações genéticas necessárias que compõe um organismo, controlando assim, todas as atividades celulares, pelas quais são transmitidas de geração em geração. “Sempre que um organismo se reproduz, uma parte de seu DNA é passada para seus descendentes. Ele codifica informações diversas, chamadas de fenótipos”. (FREITAS, 2015)

Atualmente são inúmeros os estudos com a finalidade de compreender e aperfeiçoar estas moléculas, pois suas aplicações se tornaram muito importantes para a humanidade. Tal importância é enfatizada por Menezes; Langendorf; Mattoso (2014, p. 1), quando afirma que

nos cromossomos está gravada a nossa identidade, que pode ser lida através das sequências de bases do DNA, como um código, o código genético. Quando a primeira célula iniciar seu processo de divisão celular, a informação contida no código genético, herdada de cada um nossos pais, será transmitida para todas as novas células formadas. Isto significa que o DNA existente no núcleo de cada uma dessas novas células é sempre igual.

Um dos ramos que esses estudos favorecem é o da agricultura, devido as alterações genéticas realizadas em legumes, frutas e verduras, nas quais busca-se o melhoramento contra pragas ou na busca em torná-las mais saborosas e resistentes. Isso não ocorre apenas em plantas, pois esses melhoramentos também têm sido desenvolvidos em animais para o consumo ou para criação em residências (HEPP; NONOHAY, 2017).

Outra importante aplicação, dos estudos sobre o DNA, é a investigação de paternidades e crimes, uma vez que, em todas as células dos organismos vivos pode ser encontrado DNA ou



fragmentos, que possibilitam a descoberta de crimes, através da decodificação de tais moléculas. Além disso são aplicados na medicina, para o tratamento, prevenção e cura de doenças. Os procedimentos de extração de DNA, na maioria das vezes, são procedimentos simples e, na falta de um microscópio, podem ser visualizados em forma de filamentos brancos (SILVEIRA, 2006).

O DNA é caracterizado por uma dupla hélice unida por pontes de hidrogênio, sendo composta por nucleotídeos, constituídos por uma pentose, uma base nitrogenada e um grupo fosfato que se encontram compactados por proteínas denominadas de histonas. O DNA compactado fica protegido, assim diminui sua superfície de contato. O DNA das células eucarióticas está localizado no núcleo envolto por uma membrana nuclear, a carioteca, localizada no interior da célula, que por sua vez, é delimitada pela membrana plasmática. Tais membranas são compostas por fosfolípidios e proteínas (SILVEIRA, 2006).

O DNA é uma macromolécula orgânica (ácido desoxirribonucleico), que contém material genético, também denominado código genético. Esse aglomerado de moléculas tem a capacidade de se replicar, de modo que sejam transmitidas de células para célula e de pais para filhos, tais informações são responsáveis em fabricar as proteínas, orientar as atividades celulares, guiar e modificar o desenvolvimento dos organismos vivos (com exceção do RNA-vírus). Além disso, as características presentes no DNA são determinantes para o bom funcionamento dos seres vivos e da formação das características físicas (FERNANDES, 2014).

O DNA é formado por bases nitrogenadas, uma pentose e um grupo fosfato. Está disposto no núcleo celular dos eucariotos, sua formação é essencial, pois qualquer informação alterada pode causar mudanças e mutações genéticas nos seres vivos. Os ácidos nucleicos podem ser encontrados tanto dentro quanto fora do núcleo celular e são responsáveis pela herança biológica (SNUSTAD; SIMMONS, 2013).

O processo da extração de ácidos nucleicos do núcleo permite que ocorra o rompimento da membrana plasmática e do envoltório nuclear, dessa forma conseqüentemente, o material genético extravasa, esse processo permite a extração das moléculas de DNA através de centrifugação do composto em presença de solventes orgânicos (SNUSTAD; SIMMONS, 2013).

Para estudar sobre o DNA de qualquer organismo vivo é preciso isolá-lo da célula. Este isolamento requer um laboratório com equipamentos adequados e dependendo do organismo que se quer estudar nem sempre é um procedimento fácil de realizar, pois, o DNA está localizado no núcleo da célula e este está envolvido por membranas celulares constituídas por uma dupla camada lipídica (MAGALI, 2014).



Realizar a extração do DNA nem sempre é uma tarefa fácil, pois é preciso quebrar a camada lipídica e promover a liberação do material contido no núcleo das células. Mas quando se trata de DNA de células vegetais este processo pode ser simulado através de procedimentos caseiros que não requerem nenhum tipo de equipamento especial ou produto químico de laboratório e que, portanto, pode ser feito utilizando produtos que costumamos ter em casa, como será mostrado a seguir a partir da extração do DNA de células do mamão, da banana e da cebolinha verde de horta.

Esta atividade teve como objetivo, extrair o DNA das células do mamão, da banana e da cebolinha no intuito de visualizar seus respectivos materiais genéticos, promovendo assim, a descoberta da localização dos mesmos. Além da aplicação de conhecimentos sobre estrutura da membrana celular. A atividade foi desenvolvida com o primeiro ano do Ensino Médio do Colégio Estadual do Campo São Francisco do Bandeira, localizado no interior de Dois Vizinhos - PR. Sua proposta surgiu pela professora regente da turma e foi aplicada por alguns acadêmicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, participantes do Programa Residência Pedagógica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Nas células eucarióticas, a extração de DNA possui fundamentalmente três etapas: 1º Ruptura (física e química) das membranas celulares, nessa etapa ocorre a liberação do material genético; 2º Desmembramento dos cromossomos em seus componentes básicos: DNA e proteínas; 3º Separação do DNA dos demais componentes celulares. O DNA está localizado no núcleo da célula, o qual está envolto por membranas celulares constituídas por uma dupla camada lipídica (MORAIS, 2015).

A extração do DNA ocorre quando essas camadas lipídicas são rompidas, ocorrendo a liberação do material contido no núcleo das células (MORAIS, 2015). Baseando-se nos conceitos apresentados, a atividade prática possibilitou a extração de DNA do mamão, da banana e da cebolinha-verde, utilizando materiais de fácil acesso, sendo do cotidiano. Para a prática, os estudantes foram divididos em três grupos, onde cada grupo ficou responsável por uma das extrações, assim, para facilitar o trabalho dos grupos, receberam um protocolo com suas respectivas atividades.

O grupo 1 extraiu o DNA do mamão, o grupo 2, da banana e o 3, da cebolinha. No geral, foram utilizados os seguintes materiais: 3 vasilhas transparentes (copo/taça); 3 pratos; 3 utensílios



cortantes (faca); 3 garfos; 3 colheres de (café); 3 filtros de pano ou papel; 3 tábuas de cortar alimentos; 6 palitos, 90 ml de água, $\frac{1}{4}$ de mamão pequeno, 1 banana, 50g de cebolinha verde e reagentes (Sal, Detergente neutro, Álcool gelado).

Os procedimentos realizados para as extrações foram todos caseiros e os materiais utilizados são de fácil acesso, portanto estes experimentos dispensam o uso de laboratórios e de equipamentos especiais. Os processos foram os mesmos para as três extrações, assim foi necessário cortar uma porção do material (mamão, banana e cebolinha) e espremê-lo, cada um em um prato; adicionar um pouco de detergente neutro e uma colher de café de sal, mexer bem; passar o conteúdo do prato para o copo e adicionar a água; utilizando o coador de pano (pode ser também um filtro de papel) coar a mistura em um recipiente transparente; acrescentar o álcool bem gelado; com auxílio de palitos ou outro objeto disponível, mexer levemente a solução e aguardar por aprox. 4 min.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Em alguns segundos as moléculas de DNA já começaram a aparecer formando uma camada branca na superfície do recipiente. A cebolinha e o mamão apresentaram em seu DNA uma coloração mais intensa devido a sua pigmentação.

Para a análise do DNA de células eucarióticas, a primeira etapa importante é o seu isolamento.

Portanto, o procedimento de maceração dos vegetais se faz necessário para que ocorra o rompimento da parede celular, a homogeneização do tecido vegetal e aumento da superfície de contato. Ou seja, material precisa ser macerado (amassado ou parcialmente triturado) desta forma os produtos químicos utilizados para a extração chegam mais facilmente em todas as suas células, pois encontra maior acesso.

Quando adicionado o detergente na solução ocorre a desestruturação das bicamadas lipídicas, rompendo-se a membrana plasmática das células. Usamos detergente para dissolver gorduras que no caso das células são os lipídios, pois a membrana na sua composição química apresenta uma grande quantidade de lipídios, o detergente as torna solúveis e são retiradas junto com as proteínas.

O acréscimo do Cloreto de Sódio atua na neutralização dos grupos fosfato no DNA, através dos cátions Na^+ , os ânions Cl^- neutralizam a carga positiva das histonas, favorecendo a aglutinação do DNA. A solução salina influencia na liberação dos ácidos nucleicos e das proteínas.



Os íons liberados auxiliam na a fase de precipitação do DNA extraído, estando eles na fase aquosa da solução.

O etanol gelado impede a dissolução do DNA na solução. A adição de álcool gelado faz com que o DNA seja precipitado, formando uma camada na superfície da solução, pois o etanol é menos denso que a solução aquosa. O DNA é solúvel em álcool, mas quando adicionado sal (NaCl) na solução, torna-se insolúvel pelo fato de que o sódio neutraliza a carga negativa dos grupos fosfato.

O DNA não se dissolve no álcool na concentração e na temperatura que foi usada neste procedimento, pelo fato do DNA ser menos denso que a água e a mistura aquosa dos restos celulares se localizar na interface da fase alcoólica e aquosa.

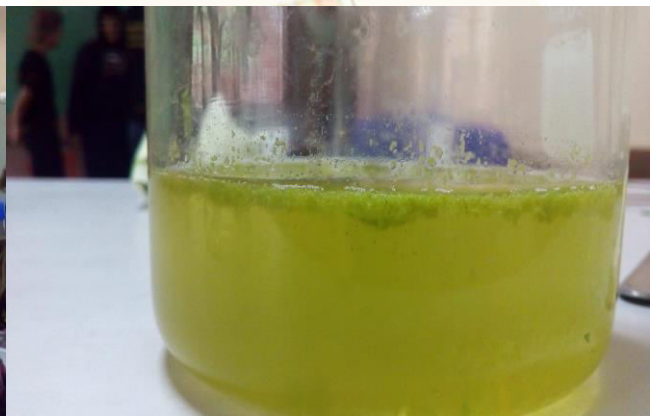
Após misturar o álcool percebe-se a formação de pequenos aglomerados. Os pequenos aglomerados gelatinosos, geralmente aparecem com uma coloração esbranquiçada, mas no caso do experimento da cebolinha eles se apresentaram inicialmente na cor branca e logo assumiram a cor verde por conta da quantidade de pigmento liberado.

Ao final do processo o objetivo foi atingido, os DNAs foram analisados, no entanto o que observamos são DNAs altamente impuros (PEREIRA; JÚNIOR; BONETTI, 2010).

Imagem 1: Prática de extração de DNA



Fonte: Própria



Fonte: Própria

Imagem 2: Resultado da prática de extração



Fonte: Própria



Fonte: Própria

Devemos levar em consideração que a molécula de DNA pode ser extremamente longa, mas seu diâmetro é de apenas dois nanômetros, o que a torna visível apenas em microscopia eletrônica. Então na verdade no experimento o que se vê após a precipitação é um emaranhado formado por milhares de moléculas de DNA bases.

CONCLUSÃO

Em resumo, para obter o DNA fez-se necessário ter acesso à estrutura nuclear da célula, romper paredes celulares, membrana lipoproteica e minimizar as forças de interação entre as proteínas que envolvem o DNA. Não conseguimos ver as moléculas de DNA a olho nu, apenas com o auxílio de um microscópio, pois elas são muito pequenas, o que conseguimos observar é um aglomerado com milhares de moléculas de DNA.

REFERÊNCIAS

FERNANDES, M. G. P. **Extração de DNA Vegetal.** Disponível em: <<https://www.trabalhosgratuitos.com/Biol/C3/B3gicas/Medicina/Extra/C3/A7ao-De-Dna-331053.html>>. Londrina, 2014. Acesso dia 20 set. 2018.



VII ENALIC

VII ENCONTRO NACIONAL DAS LICENCIATURAS
VI SEMINÁRIO DO PIBID
I SEMINÁRIO DO RESIDÊNCIA PEDAGÓGICA

05 a 07/12/18
FORTALEZA - CE

FREITAS, C. L. **Extração de DNA Vegetal**. Plano de intervenção, 2015. Disponível em: <<http://porteiros.s.unipampa.edu.br/pibid/files/2015/07/Extra%C3%A7%C3%A3o-de-DNA-Vegetal-C1%C3%A1udia-Lucher-de-Freitas.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2018.

GOUVEIA, J. J. S.; REGITANO, L. C. A. **Extração de DNA**. 2007. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/48302/4/PROCILCAR2007.00415.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2018.

HEPP, D; NONOHAY, J. S. A importância das técnicas e análises de DNA. **ScientiaTec**, 2017. Disponível em: <<https://periodicos.ifrs.edu.br/index.php/ScientiaTec/article/view/1592>>. Acesso em: 25 nov. 2018.

MAGALI, G. P. F. **Extração de DNA Vegetal**. Londrina, 2014. Disponível em: <<https://www.trabalhosgratuitos.com/Biol/C3/B3gicas/Medicina/Extra/C3/A7ao-De-Dna-331053.html>>. Acesso em: 12 set. 2018.

MENEZES, A.; LANGENDORF, C.; MATTOSO, L. M. S. **Extração do DNA da fruta banana**. Plano de intervenção. 2014. Disponível em: <<http://porteiros.s.unipampa.edu.br/pibid2014/files/2014/11/aula-pratica-extracao-do-dna.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2018.

MORAIS S. C. V. **Ensino de biologia. Sequências didáticas com o uso de Atividades experimentais**. Programa de pós-graduação em ensino de ciências e matemática-mestrado profissional-Universidade Federal de Uberlândia, 2015. p. 25.

PEREIRA, B. B.; JÚNIOR, E.O.; BONETTI, A. M. **Extração de DNA por meio de uma abordagem experimental investigativa**. *Genética na escola*, Ribeirão Preto, v. 2, n. 5, p. 20-22, 2010.

SILVEIRA, E. M. S. Z. S. F. Odontologia legal: a importância do DNA para as perícias e peritos. **Saúde, Ética & Justiça**. 2006;11 (1/2) :12-8. Disponível em: <<http://www.journals.usp.br/sej/article/view/43832/47453>>. Acesso em: 25 nov. 2018.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos de Genética**. Editora Guanabara Koogan, 6ª edição. Rio de Janeiro, 2013.

