

ELETROFORESE: FAÇA VOCÊ MESMO!

Thales Assaf de Almeida¹
Felix do Rego Barros²
Cátia Lacerda Sodré³

INTRODUÇÃO

O ensino dos conteúdos ministrados em sala de aula, quando vinculado a atividades práticas, apresenta-se como potencial facilitador para o processo de aprendizagem dos discentes. Nesse sentido, o laboratório de bioquímica e as experiências possibilitadas por ele são de suma importância para a construção do saber profissional e do pensamento crítico. É dessa premissa basilar que o projeto “Eletroforese: faça você mesmo!” se constitui. A partir dele, alunos são convidados a refletir sobre tópicos apresentados durante as aulas teóricas em uma experiência prática, que vincula esses dois modelos de aprendizagem. A eletroforese é técnica indispensável em diversos experimentos laboratoriais e apresenta inúmeras aplicações no mundo científico e na indústria alimentícia (SOUZA *et al.*, 2000; EGITO *et al.*, 2006; LEITE & NICOLAU, 2006; DAGUER *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2015); contribuiu para grandes avanços no campo da genética, da bioquímica e da biologia molecular, além de ser utilizada na rotina laboratorial, pois é capaz de fornecer informações em relação ao estado geral de um paciente, bem como auxiliar no prognóstico e diagnóstico de diversas patologias (MCPHERSON, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2015). Entretanto, um potencial impeditivo para o procedimento de corridas eletroforéticas em laboratórios didáticos de universidades é, inegavelmente, a falta de recursos financeiros para a aquisição de aparelhos necessários à realização do experimento. Assim, o presente projeto também se propõe a minimizar tal empecilho. Os discentes são instigados a construir o experimento com materiais alternativos e acessíveis. Tal modelo pedagógico busca, deste modo, desmistificar o saber científico ao aproximar a realidade do desenvolvimento de pesquisa biotecnológica ao cotidiano do aluno. Portanto, o objetivo principal deste projeto é inspirar, por meio de uma abordagem pedagógica teórica e prática, o interesse e a participação ativa de discentes na construção de um modelo experimental alternativo. Nesse âmbito, ressalta-se a primazia de despertar a possibilidade de reflexão sobre novas perspectivas a respeito da aplicabilidade da biotecnologia para além dos grandes laboratórios relacionados à pesquisa da biologia molecular. Por meio do projeto, os estudantes também podem desenvolver uma relação mais íntima e menos complexa com os instrumentos e substâncias presentes nos laboratórios. Com isso, busca-se caminhar em direção à modelos pedagógicos integrativos e democráticos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados foram:

¹Graduando do Curso de Medicina – Universidade Federal Fluminense – UFF, thalesa2011@hotmail.com;

²Mestre em Engenharia Mecânica pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro; Professor de Informática do Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca – Campus Maria da Graça, felixregobarros@gmail.com;

³Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ; Professora de Bioquímica do Departamento de Biologia Celular e Molecular do Instituto de Biologia da Universidade Federal Fluminense – UFF, catia.sodre@gmail.com;

- vasilhas retangulares de acrílico (15 cm de comprimento - 10 cm de largura - 5 cm de altura), usadas como cuba para suporte do gel;
- gelatina incolor para a matriz do gel;
- 2 fios de metal - eletrodos positivo e negativo;
- 2 fios com ponta em jacaré para conectar os eletrodos às baterias;
- 5 baterias de 9 volts recarregáveis- conectadas em paralelo, totalizando 45 volts;
- solução de bicarbonato de sódio 0,2% - tampão de corrida;
- pentes feitos de palitos de madeira, cuja função é formar orifícios (*slots*) onde serão aplicadas as amostras, após a solidificação do gel;
- Pipetas/micropipetas;
- amostras previamente selecionadas para a corrida eletroforética;
- lâmina cortante, como estiletes, para seccionar o gel.

1. Preparação do gel:

Hidratou-se 15 gramas de gelatina incolor em 50 mL de água quente; posteriormente, 100 mL de água fria foram adicionados a solução homogênea de gelatina. Verteu-se a solução na cuba e, sequencialmente, foi colocado o pente de madeira, à distância de 2 a 3 cm de uma das bordas menores da cuba. Levou-se à geladeira até a solidificação completa da gelatina; processo cuja duração foi de aproximadamente 20-25 minutos.

2. Preparação da fonte elétrica:

Conectou-se as 5 baterias de 9 volts, formando uma fonte de 45 volts. Prendeu-se uma das pontas em jacaré dos dois fios a cada extremidade da bateria (+ e -).

3. Preparação da cuba:

Depois da solidificação do gel, com a lâmina cortante, seccionou-se duas fatias do gel à distância de um centímetro das bordas menores da cuba, onde foram posicionados os eletrodos.

4. Adição do tampão de corrida e da amostra –início da corrida eletroforética:

Adicionou-se à cuba, lentamente, a solução tampão até cobrir a superfície do gel. Retirou-se cuidadosamente o pente, para que não se formassem rachaduras nos orifícios. Posteriormente, pipetou-se as mostras (aproximadamente 5 μ L) nos diferentes orifícios (*slots*) no gel. O início da corrida deu-se com a conexão das outras duas pontas em jacaré dos dois fios aos eletrodos.

DESENVOLVIMENTO

Desenvolvida no século XX pelo químico Arne Tiselius (1930) para o estudo de proteínas em soro, trabalho ganhador do prêmio Nobel em 1948, a técnica de eletroforese foi

aprimorada desde então e tem contribuído para grandes avanços no campo científico-acadêmico. Essa técnica é utilizada para separação de moléculas carregadas, como DNA, RNA, proteínas e outras macromoléculas, de acordo com sua carga líquida e seu peso molecular. Essa separação é mediada pela aplicação de um campo elétrico ao meio que contém as partículas que serão submetidas à corrida eletroforética.

Vale lembrar que a unidade básica das proteínas são os aminoácidos e esses podem adquirir carga positiva, quando protonados, ou negativa, após a desprotonação. Assim, a carga líquida de uma sequência peptídica é o somatório do estágio de ionização de cada unidade que a constitui.

Tendo como base o ponto isoelétrico da molécula a ser utilizada no experimento, o pH da solução deve ser ajustado para que ela esteja positivamente ou negativamente carregada, ou seja, adquira mobilidade eletroforética. Também é essencial manter o pH do meio durante o experimento, para evitar alterações da carga líquida da molécula. A ausência desse cuidado poderia provocar mudança nos padrões de corrida. Para isso, usam-se soluções tampão, que são de dupla importância para o correto procedimento da prática: além de estarem associados à manutenção do pH, elas permitem a condução dos íons e elétrons no meio aquoso. Para a formação do campo elétrico que guiará a migração das partículas, são necessários dois eletrodos, que funcionarão como um polo positivo e um negativo, após a aplicação da voltagem especificada previamente. Cada um estará localizado de um lado da cuba eletroforética, imersos na solução tampão. Com isso, a eletrólise, que ocorre durante o experimento, após a aplicação da voltagem nos eletrodos, cria uma corrente elétrica que se faz responsável pela movimentação dos íons e das macromoléculas na cuba. A separação das moléculas ionizáveis em uma eletroforese dá-se, então, pela carga líquida e pelo peso molecular de cada uma. Aquelas que apresentam carga negativa migram em direção ao polo positivo e as positivamente carregadas, em direção ao negativo. O peso molecular também é um determinante da corrida, pois moléculas grandes migram mais lentamente quando comparadas às de menor tamanho e peso.

As características do meio em que ocorre a corrida também resulta em interferências sobre ela. Suportes de fracionamento porosos e viscosos, por exemplo, aumentam o atrito das moléculas durante o movimento, aumentando seu tempo de corrida. A temperatura, o pH e o tipo do sistema tampão utilizado é, também, um fator determinante da migração. A temperatura mais elevada, por exemplo, pode facilitar a corrida à medida em que aumenta a energia cinética do meio, mas é necessário lembrar do seu potencial desnaturante. A voltagem e a intensidade da corrente são outros fatores que devem ser levados em consideração no momento da montagem do experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prática foi realizada nos laboratórios de aulas práticas, na Universidade Federal Fluminense, com 31 alunos do primeiro período do curso de Medicina, divididos em dois laboratórios. Para cada grupo de 5 alunos, foram fornecidos os materiais alternativos previamente selecionados, conforme descrito em Materiais e Métodos, e seus apêndices para a montagem do experimento e posterior execução do mesmo. Além disso, os alunos receberam o protocolo da prática que ao final, continha perguntas para discussão em grupo. Vale ressaltar que os materiais utilizados nesta prática foram encontrados facilmente em lojas de utensílios domésticos, supermercados e farmácias. Após a realização da prática, foi distribuído um questionário com perguntas objetivas para a avaliação individual da atividade. A análise dos questionários mostrou que: 100% dos alunos gostaram da proposta de uma prática com materiais alternativos; 95% dos alunos acharam que o uso dos materiais alternativos não interferiu no processo ensino-aprendizagem; 100% disseram que a atividade prática foi

importante para a sedimentação do conteúdo trabalhado em sala de aula; 80% classificaram seu interesse na atividade como máximo e 87% acharam que o assunto abordado na prática é muito relevante para sua futura profissão.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi notório observar o entusiasmo e curiosidade dos estudantes no decorrer da atividade, bem como a potencialidade de discussão interdisciplinar proporcionada pelo experimento. Alguns, salientaram a importância educativa da realização de um experimento com materiais de baixo custo capaz de ser reproduzido em qualquer ambiente. Diante disto, pode-se dizer que o uso de *kits* alternativos para realização da técnica de eletroforese em laboratórios de aulas práticas constitui, portanto, uma excelente ferramenta didática, com um grande potencial educacional a ser explorado, capaz de proporcionar um maior engajamento dos discentes na disciplina Bioquímica.

Palavras-chave: Eletroforese, aula prática de bioquímica, materiais alternativos.

REFERÊNCIAS

DAGUER, H.; STEPHAN, M. P.; BERSOT, L. D. S. Perfil eletroforético de lombo suíno adicionado de proteínas não cárneas. **Cienc Rural**. v.40, p.404-10, 2010.

EGITO, A. S.; ROSINHA, G. M. S.; LAGUNA, L. E.; MICLO, L.; GIRARDET, J. M.; GAILLARD, J. L. Método eletroforético rápido para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino. **Arq Bras Med Vet Zootec**. v.58, p.932-9, 2006.

LEITE, T. A.; NICOLAU, E. S. **Ocorrência de soro em amostras de leite cru refrigerado submetidas a diferentes tempos de armazenamento**. In: Congresso de Pesquisa, Ensino E Extensão Da UFG - CONPEEX, Goiânia. Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica. Goiânia: Universidade Federal de Goiás (UFG), 2006.

MCPHERSON, R. A. **Specific Proteins**. In: MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22. ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Saunders. p. 259- 272, 2011.

OLIVEIRA, E.; TRENTIN, T.C.; CAMARGO, F.; PINTO, Y.D.P.; MARTINS, D.B. Eletroforese: Conceitos e Aplicações. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; 2015.

SOUZA, E. M. T.; ARRUDA, S. F.; BRANDÃO, P. O.; SIQUEIRA, E. M. A. Electrophoretic analysis to detect and quantify additional whey in milk and dairy beverages. **Food Sci Technol**. v. 20, p.314-317, 2000.

TISELIUS, A. **The Moving-Boundary Method of Studying the Electrophoresis of Proteins**. 1930. Tese de Doutorado - University of Uppsala, Suécia.