



Aluno: _____ n° _____ série: _____

Componentes do grupo: _____

Atividade prática - Extração do DNA da cebola (*Allium cepa*)

OBJETIVOS

Conhecer os princípios básicos da extração do material genético da cebola, a partir dos tecidos do bulbo.

PRÉ-REQUISITOS

O aluno deve conhecer a composição da célula, com relação à sua estrutura química e aos seus componentes.

INTRODUÇÃO

Para a análise do DNA de células eucarióticas, a primeira etapa importante é o seu isolamento. O procedimento a seguir é utilizado para extrair grandes quantidades de DNA a partir de cebola. Protocolos similares são usados nas extrações de DNA de outras fontes, como amostras de sangue, tecidos, etc.

A extração de DNA de células eucariontes consta fundamentalmente de três etapas:

- ruptura (física e química) das membranas celulares para liberação do material genético;
- desmembramento dos cromossomos em seus componentes básicos: DNA e proteínas;
- separação do DNA dos demais componentes celulares.

MATERIAIS

- Álcool isopropílico (Isopropanol)
- Cebola picada
- Solução de lise (quebra): 4 colheres de sopa de detergente incolor (SDS – Dodecil Sulfato de Sódio), 1 colher de chá de cloreto de sódio, 75 mL de água.
- Papel de filtro
- Gelo
- 2 béqueres pequenos de plástico (50 mL) e 1 béquer de 500 ou 1000 mL
- Funil
- Tubos Falcon (tubos cônicos de 50 mL) ou tubos de ensaio com tampa
- Bastão de vidro ou de madeira (para maceração)
- Estilete ou faca de cozinha
- Banho-maria (~60 °C)
- Palitos de sorvete



Atividades de apoio em Biologia Celular e Molecular



PROCEDIMENTOS

- Pique a cebola em pedaços pequenos;
- Coloque no béquer pequeno de plástico (50 ml) 4 colheres de chá de pedaços de cebola;
- Adicione 2 colheres de sopa de solução de lise;
- Macere intensamente com o auxílio do bastão de madeira;
- Complete com a solução de lise até 25 mL no béquer, misturando a solução;
- Coe a solução, com o auxílio do funil e do papel de filtro; coloque o filtrado em um tubo Falcon ou tubo de ensaio com tampa (dica: suspenda o papel de filtro para facilitar o escoamento da solução);
- Depois de filtrar a solução, tampe o tubo e o coloque no banho-maria por 15 minutos;
- Em seguida, coloque o tubo no béquer com gelo e água, durante 5 minutos;
- Decorrido este tempo, adicione um volume igual de isopropanol (gelado) ao do tubo e misture vagarosamente (por inversão). **O que ocorreu?**

1. _____

QUESTÕES

2. Por que a cebola deve ser picada?

3. Por que é usado detergente e qual a importância do aquecimento?

4. Qual a função da adição do álcool isopropílico (isopropanol) ?

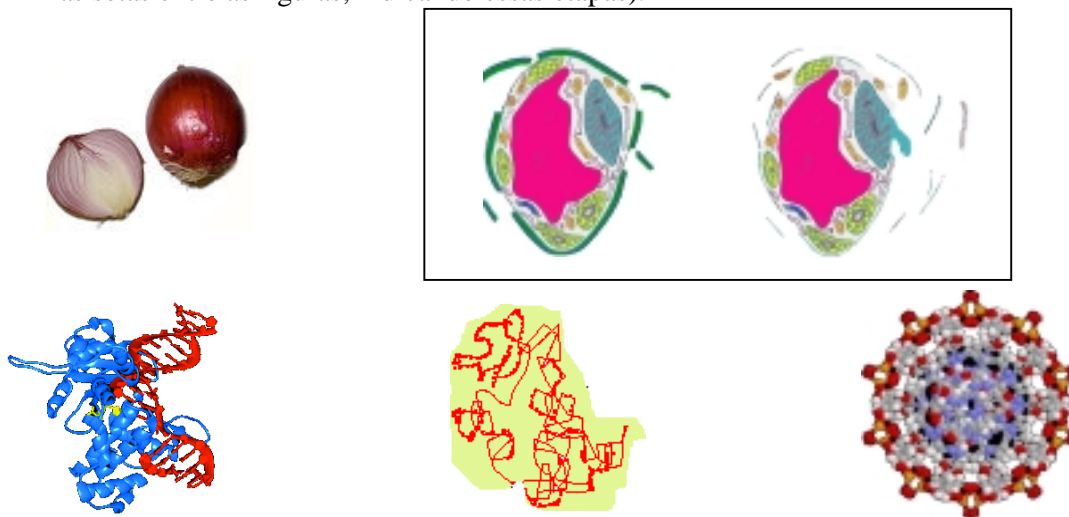
5. Por que você não pode ver a dupla-hélice do DNA?



Atividades de apoio em Biologia Celular e Molecular



6. O esquema abaixo representa as etapas da extração do DNA da cebola que você realizou no laboratório. Que etapas são essas? (serão distribuídas seta com os nomes das etapas; coloque as setas entre as figuras, indicando essas etapas).





PLANO DE AULA: EXTRAÇÃO DO DNA DA CEBOLA

I – OBJETIVOS:

- Conhecer os princípios básicos da extração do material genético da cebola, a partir dos tecidos do bulbo;
- Estudar a estrutura e composição celular;
- Identificar a localização do material genético na célula

II - SUGESTÕES DE PERGUNTAS QUE PODEM SER APLICADAS A CADA ETAPA DO PROCEDIMENTO E PROVÁVEIS REPOSTAS.

1. Por que macerar a cebola?
2. Como quebrar a parede celular?
3. Como poderíamos separar o DNA?
4. Por que aquecer a solução?
5. Por que usar o detergente?
6. Qual a função do álcool?
7. Faça a comparação do tamanho do DNA com o tamanho da célula.
8. Já no final, como é feito em laboratórios especializados? Resp. de maneira mais refinada, mas o princípio é o mesmo.

III - RESPOSTAS DAS QUESTÕES PROPOSTAS

1. Para que haja a ruptura da parede celular, expondo o material genético das células da cebola.
2. As moléculas do detergente desestruturam as moléculas de lipídios presentes nas membranas celulares. O aquecimento favorece a reação e desnatura as moléculas de DNA.
3. DNA é insolúvel em álcool e deste modo se separa da solução. O DNA tem também menor densidade que os outros constituintes celulares, por isso surge na superfície da solução. O álcool desidrata as moléculas de DNA, fazendo com que elas se aglutinem.
4. A estrutura de dupla-hélice só pode ser visualizada de modo indireto e através de aparelhos sofisticados. O que você está observando são milhares de fitas de DNA juntas.
5. Maceração + solução de lise; filtragem; aquecimentos e adição de álcool.
6. Pôde-se observar um aglomerado de moléculas de DNA.

IV – DURAÇÃO

Pode ser aplicado durante 100 minutos de aula.

V –COMENTÁRIOS

Esta atividade contou com a participação de monitores com grupos de, no máximo, 7 alunos. Ela foi conduzida a partir de uma situação-problema: extrair o DNA da cebola, a fim de que fosse possível manipulá-lo. Desta forma, não foi entregue um roteiro explicativo, sendo o monitor (professor) a pessoal responsável por oferecer algumas diretrizes para que fosse possível alcançar os objetivos da atividade, utilizando sempre as concepções prévias dos alunos acerca da situação proposta.