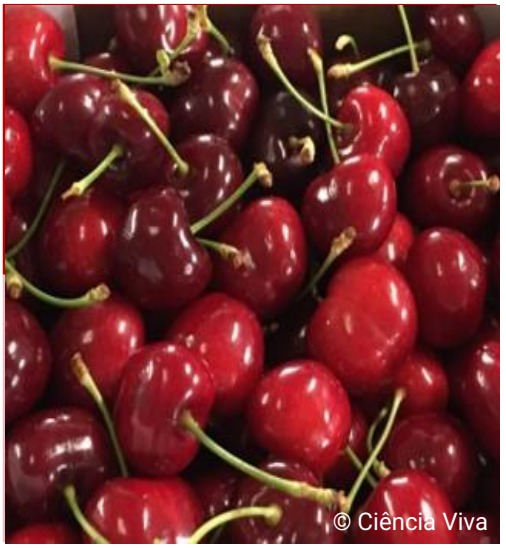
CSI: Cerejas Sob Investigação



Protocolo experimental

11.º e 12.º anos de escolaridade

Biologia

Biologia | ADN

A investigação criminal encontrou no ADN (ácido desoxirribonucleico) um recurso poderoso no combate ao crime, principalmente na área forense de identificação criminal. Isto acontece porque este é único em cada indivíduo e permite, de forma fiável e inequívoca, a identificação de uma pessoa em particular.

Porém, o ADN não é exclusivo dos seres humanos. É uma molécula presente em quase todas as células de todos os organismos vivos, sejam eles fungos, bactérias, plantas ou animais e… com a mesma estrutura química.

Será possível extrair ADN de uma cereja? Qual será o aspeto do ADN de uma cereja?

Nesta atividade, através de um protocolo experimental análogo ao usado nos laboratórios é possível extrair ADN, mas utilizando reagentes e materiais de fácil obtenção.

Este recurso educativo foi desenvolvido no âmbito do projeto "Quinta experimental de ciência: cooperação e inovação na produção agrícola local" – financiado pelo Programa PROMOVE | Regiões fronteiriças - Concurso 2019 – como documento de apoio às atividades dinamizadas na Quinta Ciência Viva das Ideias e das Cerejas - Fundão.

Materiais (Para 4 grupos)

- 16 cerejas
- 100 ml de detergente para a loiça
- 100 ml de álcool isopropílico refrigerado (colocar no congelador 2 horas antes da atividade)
- 100 ml de água
- 8 colheres de chá de sal
- 4 filtros de papel para café
- 4 palitos ou paus de espetada
- 4 funis

	• 4 pedaços de cartolina preta • 8 recipientes de vidro (transparente) • 4 jarros de um litro, com água • 4 tigelas grandes de vidro • 4 colheres de sobremesa • 4 provetas

ENQUADRAMENTO TEÓRICO

Com exceção das bactérias e das arqueobactérias, é principalmente no núcleo das células que é possível encontrar o ADN (ácido desoxirribonucleico) distribuído na forma de estruturas compactas, os cromossomas. Cada cromossoma representa uma única molécula de ADN, estando unido e enrolado em proteínas, as histonas.

Geralmente o ADN não pode ser visto à vista desarmada e nem mesmo com a ajuda de um microscópio ótico será possível ver a clássica forma de hélice dupla, contudo nesta atividade os alunos terão a oportunidade de ver um conjunto de filamentos de ADN libertados das células de uma cereja.

A descoberta do ADN possibilitou a compreensão de como as células regulam o seu metabolismo e como as características hereditárias são transmitidas entre gerações. Para além das implicações diretas no conhecimento da biologia das células, as conclusões dos estudos sobre o ADN têm permitido grandes avanços na compreensão da genética. Todas as células de um organismo têm a mesma composição genética. E, em cada tipo celular, é a ativação (a transcrição) de uns genes, em prejuízo de outros, que vai demarcar a identidade da célula.

Cumulativamente, a descoberta do ADN possibilitou o aparecimento de inovadoras práticas biotecnológicas com impacto relevante, não só em procedimentos de investigação básica como aplicada, como é o caso da Biotecnologia.

Isolar e purificar ADN de células animais ou vegetais, de fungos ou bactérias é uma tarefa que faz parte do quotidiano dos investigadores, tanto na área da Biologia Molecular, como para aqueles que investigam a origem de certas doenças ou que procuram melhorar a produtividade de determinada planta. Através do isolamento do ADN, é possível obter e estudar genes que, de outro modo, seriam difíceis de aceder, devido às restrições impostas pela própria constituição química e biológica das células.

A técnica de extração de ADN prova que as barreiras impostas pela célula, e que impossibilitavam o acesso ao ADN, foram ultrapassadas pela ciência. O desenvolvimento de novas e melhores técnicas de Biologia Molecular e Biotecnologia permitiram a manipulação, modificação, clonagem e/ou multiplicação de genes, contribuído para o surgimento de uma nova área científica, a Engenharia Genética.

QUESTIONAR

- Como se pode extrair ADN de cerejas?
- Será possível vê-lo?
- Como será o seu aspeto?

EXPLORAR

1. Dividir a turma em quatro grupos e distribuir o material.
2. Preparar a "solução de extração", colocando 2 colheres de chá com sal num recipiente com capacidade superior a 1 litro.
3. Adicionar 50 ml de detergente da loiça e água até perfazer 1 litro.
4. Mexer bem até à dissolução total do sal.
5. Cada grupo, deve lavar quatro cerejas e retirar os caroços e os pés.
6. Colocar o restante das cerejas num dos recipientes e esmagá-las até conseguir desfazer completamente a polpa.
7. Retirar apenas a polpa das cerejas, com uma colher e colocá-la num recipiente.
8. Adicionar 10 ml da "solução da extração" ao conteúdo do recipiente e misturar muito lentamente. Se formar algumas bolhas e/ou espuma, remover com a ajuda da colher e descartar.
9. Colocar este recipiente em "banho-maria", na tigela grande, cheia de água quente até metade, durante 12 minutos, mexendo ocasionalmente.
10. Colocar um filtro de café no funil e passar a mistura, através deste, para um novo recipiente, de forma obter uma solução líquida.
11. Retirar o álcool isopropílico do congelador e adicionar lentamente à mistura, até perfazer metade do volume.
12. Ao assentar por cima da mistura, observar a formação de uma camada branca gelatinosa (parecida com uma teia), entre a solução líquida e o álcool.
13. Com a ajuda de um palito ou um pau de espetada, retirar uma amostra de ADN e colocá-la no pedaço de cartolina preta.
14. Deixar o álcool evaporar e observar.

EXPLICAR

As plantas são uma fonte importante de ADN: existem em diversos locais, em grandes quantidades e têm uma enorme variedade. É no núcleo das suas células que se encontra a molécula de ADN, ligada e envolvida em proteínas. De organismo para organismo, o número total de cromossomas por célula varia. Nos humanos (à exceção dos gâmetas) encontramos duas cópias (células diploides); nas batatas, por exemplo, existem 4 cópias de cada cromossoma por célula - tetraploides e ainda existem outros com oito cópias – octaploides, como por exemplo, o morango. As espécies de cereja mais comuns em Portugal, são diploides (2n=2x=16) como é caso da *Prunus avium* L. (doce) ou tetraploides (2n=4x=32), como no cado da *Prunus cerasus* L. (ácida).

Na **extração do ADN** da cereja, todos os procedimentos têm um objetivo específico. A **filtração** serve para eliminar os restantes constituintes celulares da solução, cuja presença é dispensável ao objetivo da atividade. Este procedimento permitirá que se obtenha uma solução com um nível de pureza maior, contendo ADN e outras moléculas, que não interferem com o sucesso da extração, como é o caso de algumas proteínas.

A **adição de sal** ajuda a quebrar as cadeias proteicas que libertam os fios de ADN, sendo a **temperatura** um agente facilitador deste processo. O sal, também é importante para impedir que o ADN libertado do núcleo da célula se dissolva totalmente na solução e fique invisível à vista desarmada. Isto porque o ADN é solúvel em água devido aos iões fosfato (molécula hidrofílica).

No entanto, sendo a fórmula química do sal NaCl, quando está em solução, divide-se em iões de Na^+ e Cl^-. Os iões Na^+, têm carga positiva e vão interagir com o fosfato das moléculas de ADN, com a carga negativa, tornando-as neutras e estabilizadas, e permitindo a sua agregação. Deste modo, as muitas moléculas de ADN das células aglomeram-se e tornam-se visíveis.

O **detergente** ajuda a dissolver as membranas celulares, isto porque, as membranas das células são constituídas por lípidos, ou seja, gorduras (tal como quando se usa um detergente para eliminar a gordura da loiça). O detergente atua na membrana das células e no revestimento do núcleo através da emulsão das gorduras e destruição das membranas. O detergente não só "rebenta" as células como faz com que os organelos fiquem suspensos na solução (de água, sal e detergente) e isso também permite que o ADN se liberte do núcleo.

O **álcool** utiliza-se para desidratar as moléculas de ADN. Este não é solúvel em álcool isopropílico e muito menos quando encontra a baixa temperatura. O álcool afasta a água que se encontra à volta das células de ADN e retira-as da solução (precipitação do ADN).

Por último, o precipitado final de ADN torna-se visível, como um conjunto de filamentos esbranquiçados. Estes correspondem a milhares de moléculas de ADN (ainda que com muitas outras moléculas associadas, porque a preparação obtida ainda tem um elevado grau de impureza).

SABER MAIS

Não é possível observar a estrutura da molécula de ADN em dupla-hélice à vista desarmada. Mesmo com o auxílio de microscópios mais potentes, não se consegue obter uma imagem nítida e clara dessa estrutura. Rosalind Franklin utilizou uma técnica de cristalografia por difração de raios-X, através da qual foi possível visualizar a estrutura da clássica forma de hélice dupla ou torção. A utilização dessa técnica permitiu que apresentasse uma fotografia de um cristal de ADN à comunidade científica. Foi, aliás, a partir dessa imagem que Watson e Crick construíram o modelo teórico da dupla hélice.

Como complemento a esta atividade, os alunos podem ser desafiados a:

- utilizar este protocolo com outras frutas e ver de quais se consegue extrair maior quantidade de ADN;
- recorrer a uma balança de precisão e determinar a quantidade de ADN obtido. *Nota: uma forma fácil de o fazer é pesando o palito ou o pau de espetada, antes de recolher o ADN, e voltar a pesá-lo depois de o usar na recolha do ADN; ao subtrair a massa inicial à massa final, obtem-se a quantidade de ADN extraído*;
- introduzir outras variáveis e verificar como estas influenciam os resultados: usar, por exemplo, diferentes quantidades de cerejas, diferentes quantidades de detergente, sal ou álcool. Comparar os resultados e perceber em que condições se consegue obter maior quantidade de ADN.

Para aprofundar os conhecimentos sobre ADN, Genética e Engenharia Genética, aconselha-se a consulta da página *web* da Sociedade Portuguesa de Genética Humana, assim como a visualização e consulta dos seguintes recursos educativos:

A engenharia genética mudará tudo... para sempre

https://academia.cienciaviva.pt/recursos/recurso.php?id_recurso=501

ADN que se come

https://academia.cienciaviva.pt/recursos/recurso.php?id_recurso=785