

Isolamento de ADN de frutos (receita caseira)

Ácidos nucleicos são polímeros constituídos por bases azotadas ligadas a cadeias de açúcares fosfatados. As bases azotadas são as purinas bicíclicas, adenina e guanina, e as pirimidinas monocíclicas, citosina, uracilo e timina. Estas bases estão ligadas às cadeias de açúcar-fosfato através de ligações β -N-glicosídicas, envolvendo as posições N^9 das purinas e N^1 das pirimidinas. Existem dois tipos de ácidos nucleicos: o ácido ribonucleico (ARN) e o ácido desoxirribonucleico (ADN). Enquanto que o ARN possui uma ribose, o ADN é constituído por uma desoxirribose. A base timina no ADN é substituída por um uracilo no ARN.

O ADN contém a informação genética básica de todas as células. Nos procariotas, a actividade genética ocorre no citoplasma, enquanto que nos eucariotas a maioria do ADN encontra-se condensado num compartimento individualizado (com

membrana), o núcleo, associado a proteínas (histonas). A forma compacta de ADN do núcleo é denominada cromatina.

O isolamento de ADN de um organismo, neste caso frutos, envolve essencialmente 3 etapas (ou conceitos). A primeira consiste na disrupção das membranas celulares para facilitar a extracção do ADN. Para tal usam-se detergentes que irão solubilizar os lípidos das membranas. A segunda etapa está relacionada com o facto do ADN se encontrar complexado a proteínas e com a presença de enzimas em solução. É assim necessário adicionar uma fonte de enzimas que irão digerir ou inibir (proteases, nucleases) as proteínas libertando o ADN. Finalmente, é necessário recorrer a um método de extracção que permita separar o ADN dos outros componentes celulares. Neste caso usa-se o etanol como agente precipitante.

Interesse da actividade

Esta actividade destina-se a alunos do ensino secundário, podendo no entanto ser adaptada para alunos do ensino básico usando uma linguagem mais simples.

Tendo em conta que todas as actividades relacionadas com genética são extremamente actuais, nomeadamente a sequenciação do genoma Humano e a produção de clones,

isolar e visualizar o ADN, a molécula em questão, despertará o interesse dos alunos. Tem a vantagem de poder ser realizada num ambiente familiar, pelo facto de todos os "reagentes" e "equipamentos" fazerem parte do nosso quotidiano. No laboratório a experiência poderá ser complementada com a quantificação do ADN, por electroforese em gel de agarose.

Acerca da actividade

Para realizar esta actividade com sucesso terá que ter em conta alguns cuidados: 1) A liquefacção da matéria prima (neste caso os frutos) terá que ser suave e breve (máximo 15 segundos), para que o ADN não seja partido pela força mecânica; 2) Depois da adição de detergente deve-se esperar pelo menos 5 minutos, para garantir a solubilização dos lípidos das

membranas e consequentemente a libertação do conteúdo celular. Se mesmo assim não conseguir ver ADN: 1) Verifique se a "sopa" inicial, depois da liquefacção, não está muito diluída. O problema poderá ser uma questão de quantidade! 2) Use outro detergente; a composição dos detergentes varia de marca para marca e sabe-se que alguns não funcionam.

Resposta às perguntas

- 1) As membranas celulares são constituídas por uma bicamada lipídica à qual estão associadas proteínas. Os lípidos, e também o detergente, são moléculas com uma parte polar (a cabeça) e uma parte apolar (as caudas). Devido ao carácter apolar destas duas substâncias, elas associam-se numa estrutura micelar para que as caudas apolares fiquem protegidas da água.
- 2) O ananás contém um elevado teor de enzimas proteolíticas (enzimas que degradam proteínas, podem ser consi-

deradas as tesouras biológicas) que irão cortar as proteínas (histonas) associadas ao ADN.

- 3) De facto, este procedimento experimental é na realidade um protocolo de extracção de ácidos nucleicos, ADN e ARN. No entanto, a maioria do ARN presente é digerido pelas ribonucleases (enzimas que cortam o ARN) libertadas no passo de degradação das membranas celulares.

Outras experiências e referências

Isolamento de ADN de outras matérias orgânicas. Experimente usar cebolas, batatas. Compare a quantidade de ADN isolada.

- <http://gslc.genetics.utah.edu/>
- <http://biotech.biology.arizona.edu/>
- Nordell (1999). *J. Chem. Ed.* **76** (1999), 400B

O que é o ADN?

ADN é a abreviatura de ácido desoxirribonucleico, uma molécula complexa que contém toda a informação genética para a hereditariedade. Determina a estrutura e a função de todos os constituintes de um organismo vivo, tornando-o assim único.

No ser humano, o ADN encontra-se concentrado no núcleo das células. É um polímero de quatro nucleótidos diferentes, com uma estrutura tridimensional em dupla hélice. Sequências específicas de nucleótidos (genes) codificam para milhares de proteínas que, por sua vez, regulam todas as funções vitais. Os genes são, na realidade, as unidades básicas da hereditariedade. Cada indivíduo recebe metade dos genes da mãe e metade do pai. A combinação única destes genes influencia uma infinidade de aspectos da vida de cada um: o aspecto físico, a saúde e muito provavelmente o tipo de amigos e interesses.

O ADN de um organismo pode conter dezenas, como no caso de um vírus, a dezenas de milhares de genes nos organismos superiores. Por exemplo, os seres humanos

contêm cerca de 80,000 genes.

A estrutura de uma proteína estabelece a sua função, que por sua vez é determinada pela sequência de nucleótidos no gene. Deste modo, o código genético determina as proteínas produzidas por um organismo e que funções irão desempenhar na célula. O código genético é a linguagem usada pelas células na tradução da informação contida no DNA em aminoácidos, as unidades constituintes das proteínas. As “palavras” do código genético são denominadas codões. Cada codão consiste num tripleto de nucleótidos consecutivos no ARN (ácido ribonucleico) mensageiro, a molécula que medeia a conversão de ADN em proteínas. As diferentes combinações dos quatro nucleótidos produzem 64 codões que codificam para apenas 20 aminoácidos. Este excesso de codões (sinónimos), isto é, o facto um aminoácido ser codificado por mais do que um codão, representa a redundância do código genético e permite a ocorrência de mutações num gene sem que afectem a proteína resultante.



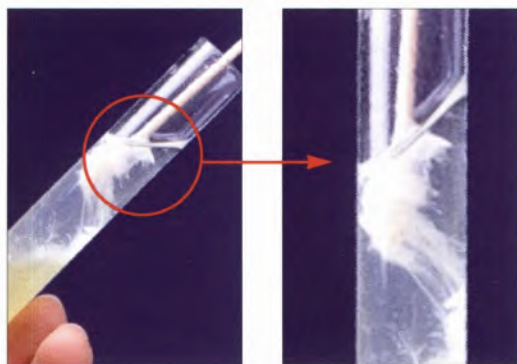
Experimente

Para a realização desta experiência necessita dos seguintes produtos: morangos (ou outro fruto), água fria, sal de cozinha, sumo de ananás fresco (ou solução de limpeza de lentes de contacto), detergente líquido da loiça (nem todas as marcas poderão funcionar, “Fairy” e “Sonasol” são bons), álcool etílico a 96% vol. mantido no congelador.

Os materiais necessários são: copo graduado, varinha mágica ou misturadora, coador, tubos de ensaio (ou recipiente estreito). Tempo necessário para a execução da experiência: 15 a 30 minutos.

Realização da experiência

Liquefazer os morangos (50 ml) durante 15 segundos. Adicionar 100 ml de água fria. Adicionar uma pitada de sal de cozinha e coar cuidadosamente a mistura. Adicionar uma colher de sopa de detergente da loiça e esperar 5 a 10 minutos. Transferir cuidadosamente a mistura para os tubos de ensaio, até cerca de 1/3 do volume do tubo. Adicionar umas gotas de sumo de ananás. Deixar escorrer pelas paredes do tubo de ensaio um volume igual de álcool frio. Veja a “subida” do ADN (de cor branca) para a fase superior. Poderá “pescar” o ADN com um pauzinho para espetadas ou com uma pipeta de Pasteur.



Para responder

- 1) Porque é que para a extracção de ADN usou detergente da loiça? Explique o modo de acção do detergente.
- 2) Explique porque razão adicionou o sumo de ananás?
- 3) Será que o que acabou de isolar não é, na realidade, uma mistura de ADN e ARN?