



Disciplina Biologia - LOT 2045

Roteiro da Aula Prática

Extração de DNA da banana: isolando DNA na cozinha

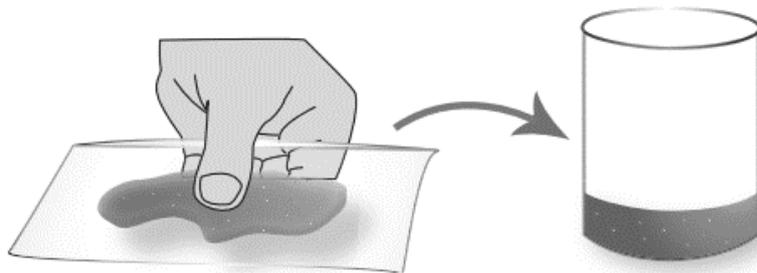
A extração de ácidos nucleicos (DNA e/ou RNA) geralmente é a primeira de várias etapas para o estudo da biologia molecular de qualquer organismo. Nesta aula, serão utilizados produtos de uso doméstico (detergente para lavar louça, sal de cozinha e álcool) para a extração de DNA da banana (*Musa sp.*). Procedimentos para extração de ácidos nucleicos são simples e podem ser executados mesmo em laboratórios sem infraestrutura específica para este fim.

MATERIAL

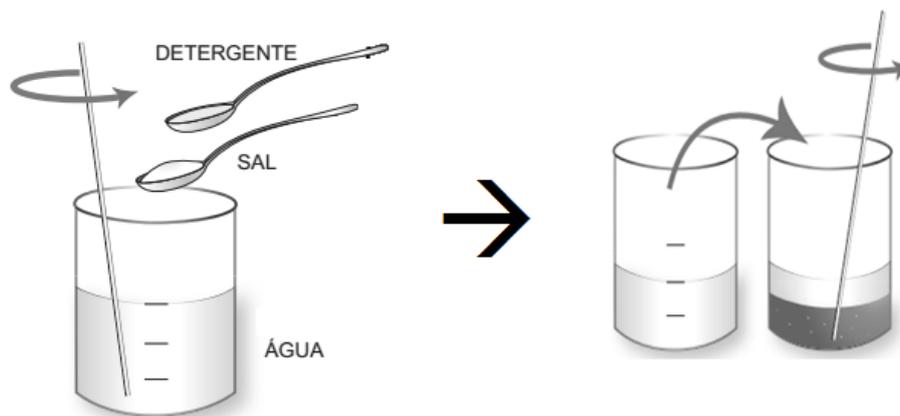
- Uma banana
- Saco plástico
- Sal de cozinha (NaCl)
- Detergente para lavar louça (líquido ou gel)
- Água quente (65°C a 80°C)
- Papel-filtro ou filtro de café
- Funil ou suporte para filtro de café
- Gelo
- Álcool 96°GL gelado
- Dois frascos de vidro (~200ml)
- Bastão ou pipeta de vidro
- Recipiente (plástico ou isopor) para o banho de gelo

PROCEDIMENTO:

1. Amasse a banana dentro do plástico e coloque o material amassado em um frasco.



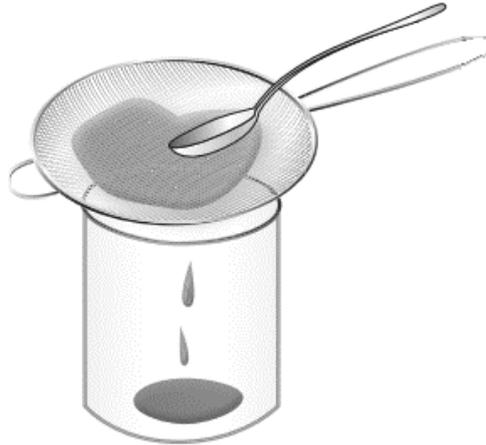
2. Prepare uma solução contendo 80 ml de água quente, 20 ml de detergente e uma colher de sopa de sal (NaCl). Misture com cuidado para não fazer espumar. Adicione a solução a banana amassada e aguarde aproximadamente 15 min.



3. Coloque o frasco com a mistura em um banho de gelo (recipiente com um pouco de água e gelo). À medida que a suspensão onde está a banana amassada esfriar, deverá ser possível observar que o líquido parece estar “talhando” (formando grumos).



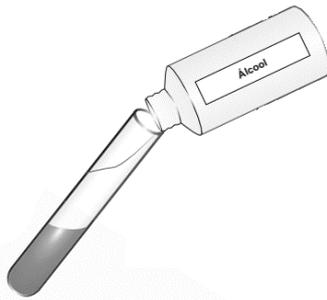
4. Quando a suspensão estiver fria, filtre-a e colete o líquido filtrado em um frasco limpo.



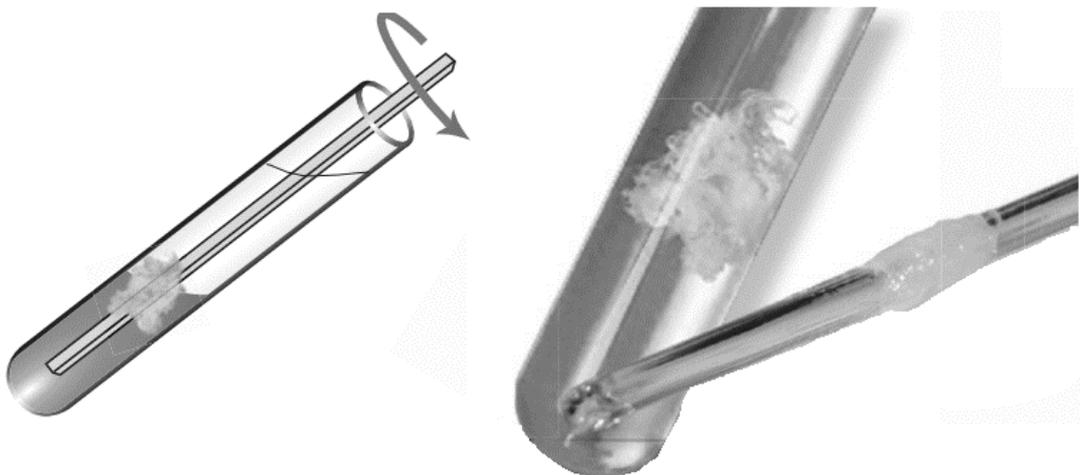
5. Em um tubo de ensaio, colocar um volume de apenas cerca de 3 dedos no fundo do tubo.



6. Incline o tubo de vidro com o líquido filtrado (ângulo de 30° a 40°) e derrame vagarosamente, pela parede lateral, o álcool gelado. Você verá que o álcool não se mistura prontamente com a solução filtrada, havendo a formação de duas fases (na superior fica o álcool). Entre as duas fases é possível observar a formação de um precipitado com aspecto de “fiapos” esbranquiçados, que são os ácidos nucleicos.



7. Com a ajuda do bastão ou da pipeta de vidro, é possível enrolar os ácidos nucleicos que estão precipitando, ou seja, você pode “pescar” o DNA.



8. Uma vez enrolados no bastão, os ácidos nucleicos devem secar por alguns minutos ao ar para a evaporação do etanol; depois o material deve ser transferido da extremidade do bastão para um tubo com 0,5 ml de água destilada. Assim, a amostra será reidratada rapidamente e o DNA em solução poderá posteriormente ser analisado por eletroforese em gel de agarose.

REFERÊNCIA:

Loreto, E. L. S. & Sepel, L. M. N. *Atividades experimentais e didáticas de Biologia Molecular e Celular*. São Paulo, Editora da Sociedade Brasileira de Genética, 2002.



QUESTÕES:

1. Em que etapa do procedimento ocorre o rompimento das membranas das células da banana. Explique.
2. Qual a função do sal de cozinha?
3. Qual o papel do álcool?
4. Por que você não pode ver a dupla hélice do DNA extraído?
5. Considerando os procedimentos da extração do DNA genômico, você espera obtê-lo sem quebras mecânicas e/ou químicas?