

Actividade para os alunos: Extraíndo o teu próprio DNA

Traduzido por Maria João Fonseca

Materiais

- Micropipetas ou pipetas graduadas
Se não tiver micropipetas, pode usar pipetas calibradas/ graduadas descartáveis. Nestas pipetas, o ‘tubo’ é graduado, permitindo a transferência de volumes inferiores a 1 ml com rigor suficiente para esta experiência.
- Ansas de repicagem descartáveis ou zaragatoas
- Tubo Falcon pequeno ou tubo de ensaio com tampa
Os tubos Falcon são tubos calibrados com tampas de enroscar. Se não estiverem disponíveis, poderá utilizar tubos de ensaio normais.
- Banho-maria a 40°C (opcional)
- Solução desinfetante
- Solução de lise
- Solução de proteinase K
- Solução de acetate de sódio
- Etanol frio ou álcool isopropílico (manter no frigorífico até ser necessário)

Método

1. Transferir 1 ml de solução de lise para o tubo Falcon ou tubo de ensaio.
2. Com uma ansa ou zaragatoa, raspar vigorosamente o interior das bochechas e a superfície da língua.
3. Introduzir a ansa ou a zaragatoa no tampão de lise, agitando-a de forma a libertar as células recolhidas.
4. Colocar a ansa ou a zaragatoa no desinfetante Colocar a ansa ou a zaragatoa no desinfetante.
5. Repetir os passos mais 2-4 duas vezes, para assegurar a recolha muitas células.
Utilizar uma ansa ou zaragatoa nova de cada vez.
6. Adicionar 20 µl (ou uma gota, se se estiver a utilizar pipetas) de proteinase K ao tubo.
7. Fechar o tubo e inverter algumas vezes para homogeneizar o conteúdo.
8. Incubar a mistura em água-maria ou à temperatura ambiente durante 10 min.
9. Adicionar 100 µl de acetato de sódio.
10. Fechar o tubo e agitar bem, para homogeneizar.
11. Adicionar 3 ml de etanol frio.
12. Fechar o tubo e inverter muito lentamente para homogeneizar.

Material de apoio a:

McLusky S, Malagrida R, Valverde L (2013) A genética da obesidade: uma actividade laboratorial. *Science in School* 26.

www.scienceinschool.org/2013/issue26/obesity/portuguese

13. O DNA deve aparecer sob a forma de um precipitado filamentosso esbranquiçado.

Nota de segurança:

As soluções podem ser irritantes para os olhos e para a pele, por isso deve ser usada uma bata, óculos de protecção e luvas. Algumas doenças podem ser transmitidas através da saliva; cada um deve manipular apenas as suas próprias ansas ou zaragatoas e colocar os materiais utilizados no desinfectante.

Eliminação: os líquidos podem ser despejados na banca com bastante água. As ansas ou zaragatoas usadas podem ser colocadas no lixo comum após desinfecção durante 15 minutos.

Questões para discussão

- O que significa ‘lise’? Como é que isto ajuda a extrair o DNA?
- O tampão de lise contém um detergente designado por SDS. Com base no teu conhecimento sobre a estrutura celular, o que achas que o detergente faz?
- No interior das células, o DNA encontra-se fortemente enrolado e ligado a uma variedade de proteínas. Que passo ajuda a libertar o DNA das proteínas?
- O que é que o último passo te diz acerca da solubilidade do DNA quer em água salgada, quer em etanol?
- Como podes confirmar que o precipitado branco é mesmo DNA?

Actividades de extensão

- Compara este método de extracção de DNA com métodos mais simples, usando ervilhas congeladas (Madden, 2006) ou kiwis^{w2}. De que forma diferem? Qual funciona melhor? Consegues explicar porquê? Consegues identificar o método mais semelhante ao utilizado pelos geneticistas profissionais?
- Extrair simplesmente DNA de um indivíduo não é suficiente para saber se este tem uma predisposição para a obesidade. Que outros testes teriam que ser feitos? Fica a saber mais sobre as técnicas utilizadas em investigação em genética.
- Em muitos países, pais portadores de condições genéticas graves, como a fibrose cística ou a hemofilia, podem optar por diagnósticos genéticos pré-implantação, de modo a evitar o nascimento de crianças portadoras da doença. Achas que este procedimento deveria estar disponível para pais com uma predisposição genética para a obesidade? Os teus colegas concordam contigo?

Material de apoio a:

McLusky S, Malagrida R, Valverde L (2013) A genética da obesidade: uma actividade laboratorial. *Science in School* 26.

www.scienceinschool.org/2013/issue26/obesity/portuguese