



## ELETROFORESE DE ÁCIDOS NUCLÉICOS: UMA PRÁTICA PARA O ENSINO DE GENÉTICA

Emanuel Ricardo Monteiro Martinez<sup>1</sup>, Luiz Ricardo de Souza Paiva<sup>1</sup>

Autor para correspondência: Emanuel Ricardo Monteiro Martinez, Departamento de Morfologia, Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP, CEP 18618-000, Fone: 14-3811-6264,

<sup>1</sup> Departamento de Morfologia, Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, UNESP, IB, Botucatu, São Paulo,

E-mail: [emanuel@ibb.unesp.br](mailto:emanuel@ibb.unesp.br)

Palavras-chave: Ensino, Eletroforese, Genética

### Resumo

No ensino de Genética tornam-se necessários práticas auxiliares ao aprendizado de diversos subtemas como, por exemplo, DNA. Neste sentido, a eletroforese em gel de agarose possibilita a observação do DNA extraído de um organismo de maneira menos abstrata do que em um laboratório de pesquisa. Mas, realizar esta prática em sala de aula torna-se muito difícil devido ao seu alto custo. Refletindo sobre este problema, desenvolvemos e adaptamos a eletroforese em gel de amido de uso culinário, tornando o assunto DNA mais visível, para o entendimento das teorias a respeito.

### Introdução

O conceito de DNA (ácido desoxirribonucléico) em metodologias de ensino-aprendizagem é um desafio para professores e pesquisadores envolvidos com a educação, devido, talvez, às dificuldades de se abstrair a teoria sobre DNA e demonstrá-la de forma visual, através de atividades práticas. Loreto e Sepel (2003) desenvolveram um trabalho que apresenta práticas que facilitam o aprendizado de temas sobre Biologia Molecular. Com base neste trabalho, tentamos reproduzir técnicas que poderiam ser aplicadas num curso de Biologia Molecular para professores e alunos de Ensino Médio e Superior. Estas práticas podem facilitar o entendimento acerca do DNA devido às dificuldades de se ensinar estes conceitos apenas em exposições orais. Porém, uma destas práticas não era viável do ponto de vista econômico devido à utilização do gel de agarose, um material de custo elevado. Para tentar resolver o problema, modificamos esta prática substituindo o gel de agarose por amido de milho, tornando-o acessível e mais observável em sala de aula. As práticas reproduzidas de Loreto e Sepel (2003), que

apresentam desde extração do DNA à eletroforese modificada apresentada neste trabalho, foram ministradas em dois cursos com aulas teórico-práticas no V Workshop da Pós-Graduação – UNESP, IB, Botucatu, SP e VII Encontro Maringense de Biologia – XX Semana de Biologia – UEM, Maringá, PR, ambas no ano de 2005. O público-alvo foi composto por professores e alunos do ensino fundamental, médio e superior.

Inicialmente proposta por Arne Teselius (1937), a eletroforese era técnica empregada para visualização de proteínas com suas diferenças de comprimento de fragmentos de aminoácidos e cargas elétricas. Atualmente, o uso desta técnica é comum também para estudos com ácidos nucleicos (Brown 1998; Farah 2000). Na visualização de material genético (ácido desoxirribonucléico e ribonucléico, DNA e RNA), utiliza-se comumente gel de agarose por apresentar porosidade irregular, funcionando assim como uma malha que separa o DNA, por diferença de tamanho, dos fragmentos menores que chegam mais rápido ao final da corrida eletroforética. O DNA apresenta-se com carga negativa e, devido a esta característica pode-se conduzi-lo de um pólo com carga negativa para um pólo com carga positiva. Porém, este material genético tem de estar em contato com uma solução salina que permita a condução elétrica através de íons (Figura 1). Loreto e Sepel (2003) sugerem uma metodologia modificada para eletroforese em gel de agarose aplicada ao ensino, mas de difícil acesso pelo alto custo da agarose. No presente trabalho modificamos esta prática com a substituição de agarose por amido de milho. O amido de milho é um produto barato, facilmente encontrado e vendido em mercados pois é muito utilizado em culinária (mingaus e cremes). Para sua utilização são necessárias algumas modificações para a condução de íons na eletroforese.

## Metodologia e Resultados

### 1. Cuba eletroforética

Na montagem da cuba eletroforética, utiliza-se um recipiente de plástico (4 cm de altura, 20 cm de comprimento e 12 cm de largura, podendo variar dependendo do tamanho da forma do gel – tipo Tupperware). Nas bordas, coloca-se o fio de cobre, preso por resina epóxi nas extremidades (cantos do recipiente), enrolam-se os fios de aço inox e prende-se com resina epóxi nas extremidades inferiores das bordas, que funcionarão como eletrodos positivos e negativos (Figura 2 a e b). Na ponta dos fios de cobre serão presas as presilhas do tipo “jacaré”, uma presilha positiva e uma negativa, ligadas à fonte de energia (dessas de brinquedos ou de impressoras); as fontes poderão ser de 20 a 30 volts, com um tempo de, no mínimo, 3 horas de corrida (Figura 4 b). Uma voltagem maior poderá diminuir o tempo de corrida, porém, poderá tornar-se perigosa em sala de aula.

### 2. Preparação de gel e soluções

Deve-se colocar num recipiente para serem aquecido, os seguintes materiais o tampão Bórax 18 mM (Borato de Sódio, comum em farmácias de manipulação - 3,8 gramas de Borato de Sódio + 1000 ml de água); o amido com concentração final de 8% (100 ml de tBorax + 8 gramas de amido). Deve-se aquecer em microondas, fogão, bico de Bunsen ou lamparina. Pode ser utilizado, também, um Erlenmeyer ou Becker até o início de fervura, fazendo-se movimentos circulares. Imediatamente após o início de fervura (gel viscoso), colocar em uma forma tipo mantegueira (2 cm de altura, 14 de comprimento e 8 cm de largura), tomando o cuidado de não deixar formar bolhas, para dar forma ao gel e solidificar. É importante esperar cerca de 30 minutos, em temperatura ambiente, o resfriamento, devido à evaporação (Figura 3). Antes de solidificar, coloca-se em uma extremidade o pente plástico que moldará os poços para aplicação dos ácidos nucleicos. O pente deverá ser fixado em encaixes feitos, com uma faca aquecida, nas laterais da forma do gel (Figura 3 d). Após este período, cobre-se o gel com saco plástico do tipo celofane e coloca-se na geladeira para ajudar a solidificar à temperatura de 4°C (durante 2 horas). Solidificado, retira-se o pente com cuidado (o pente não pode alcançar o fundo da forma), para aplicação do material genético. (Figura 4 a).

### 3. Aplicação do Material Genético

No caso de uma extração de ácidos nucleicos (DNA + RNA) caseira, do tipo descrita por Loreto e Sepel (2003) e, também de acordo com sites na internet (como por exemplo: <http://www.odnavaiaescola.com/atividades.html>), pode-se extrair material genético de frutas (banana, morango), insetos (abelha), fígado de boi; uma vez extraído o material colocá-lo em tubo (recipiente pequeno destes de remédio) com ajuda de uma seringa do tipo de insulina de 1 ml (material genético hidratado em água), cerca de 2 gotas (1 µ, aproximada-

mente, 1 unidade de 1 ml ou uma gota); em seguida, a adicionam-se 2 gotas de tampão de carregamento de amostra (0,5 ml de tBorax, 10 gotas de azul de bromotimol, encontrado em lojas de aquário ou 2 gotas de corante de bolo, sendo necessário acrescentar açúcar em ambos até saturar, cerca de 0,15 gramas). Para manter o material genético nos poços, o açúcar liga-se ao DNA e evita a flutuação, auxiliando ainda na visualização do material genético durante a corrida (coloração azulada). (Figura 4). Foram aplicadas em gel de amido diferentes amostras para avaliar a resolução e qualidade. Foram aplicadas em seqüência, as seguintes amostras:

- A. DNA,
- B. corante de bolo,
- C. azul de bromofenol,
- D. DNA + azul de bromofenol,
- E. DNA + corante de bolo,
- F. DNA + Blue Dextran (utilizado em laboratórios de molecular) (Figura 4 a e 5 b).

No decorrer da “corrida” eletroforética, a amostra “a” não foi visualizada devido à falta de um tampão de carregamento. As demais amostras foram visualizadas durante a “corrida”.

### 4. Corrida eletroforética

Após a aplicação, o gel foi colocado com sua forma na cuba eletroforética, contendo tampão Bórax. É importante não deixar o gel entrar em contato direto com o tampão, diferente do gel de agarose de Loreto e Sepel (2003), pois o tampão poderá dissolver o gel de amido. Nesta adaptação utilizou-se uma flanela de pano (tipo Perfex), cortada num tamanho que entrasse em contato com o tampão e com o gel nas extremidades positivas e negativas, por difusão há migração dos ácidos nucleicos (Figuras 4 b, 5 b). Com a cuba eletroforética montada, prendem-se as presilhas nas extremidades dos fios de cobre, colocando a cuba em um recipiente térmico esfriado (caixa de isopor, com gelo, para manter a temperatura e não deixar o gel dissolver), podendo, então, começar a corrida eletroforética.

## Discussão

A prática com estes materiais demonstrou ser mais viável economicamente quando comparado com o trabalho de Loreto e Sepel (2003). Em ambos os trabalhos, as amostras contendo apenas tampão de carregamento ou ácido nucleico mais tampão de carregamento, foi possível visualizar a sua “corrida”, pois estes apresentam cargas negativas. Dessa forma é importante que o professor apresente, da forma mais clara possível aos alunos, os conceitos físico-químicos que possam auxiliar a compreensão da prática.

Para o gel de amido não foi possível corar com azul de metileno 0,5% proposto para gel de agarose (Loreto e Sepel, 2003) pois este se dissolve. Na prática com o amido deve-se focar a “corrida” eletroforética, que mostra,

didaticamente, como amostras com carga negativa mi-gram e, desta forma, simbolizam o material genético.

Aconselha-se que o professor deva realizar esta prática em duas partes, devido à demanda de tempo que ela exige. Na primeira parte, a montagem da cuba eletroforética, do gel, aplicação das amostras e início de sua corrida um dia antes, para que esses resultados possam ser visualizados e apresentados aos alunos. No dia da aula, o professor deverá mostrar estes resultados após uma exposição teórica dos conceitos e, juntamente com os alunos, elaborar e montar a prática eletroforética.

### **Conclusão**

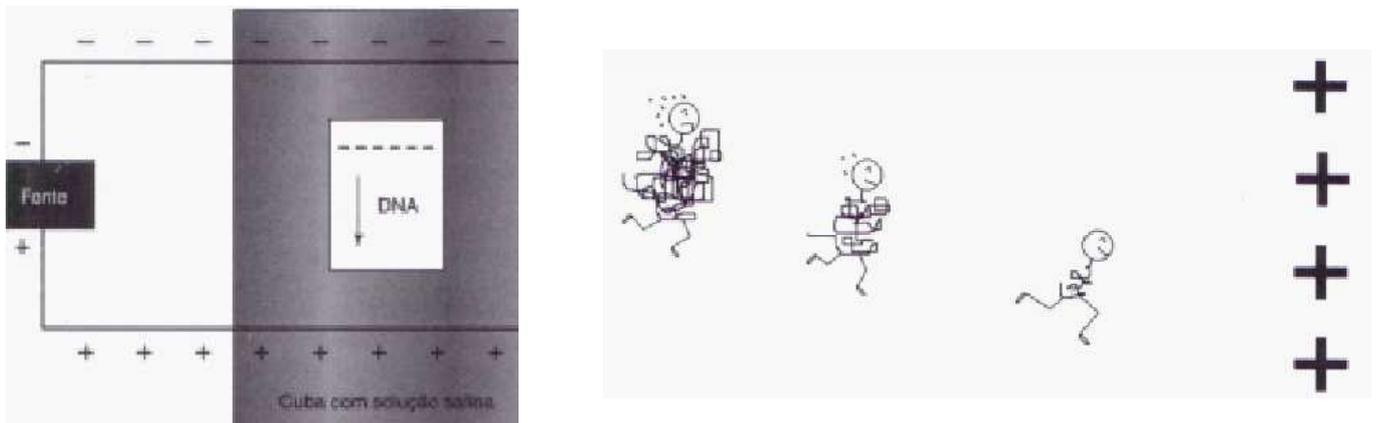
A eletroforese em gel de amido torna-se uma prática barata e de fácil demonstração, comprovada em cursos ministrados por nós. Uma prática que contribui para o entendimento do DNA e para a assimilação de conhecimentos multidisciplinares.

### **Agradecimentos**

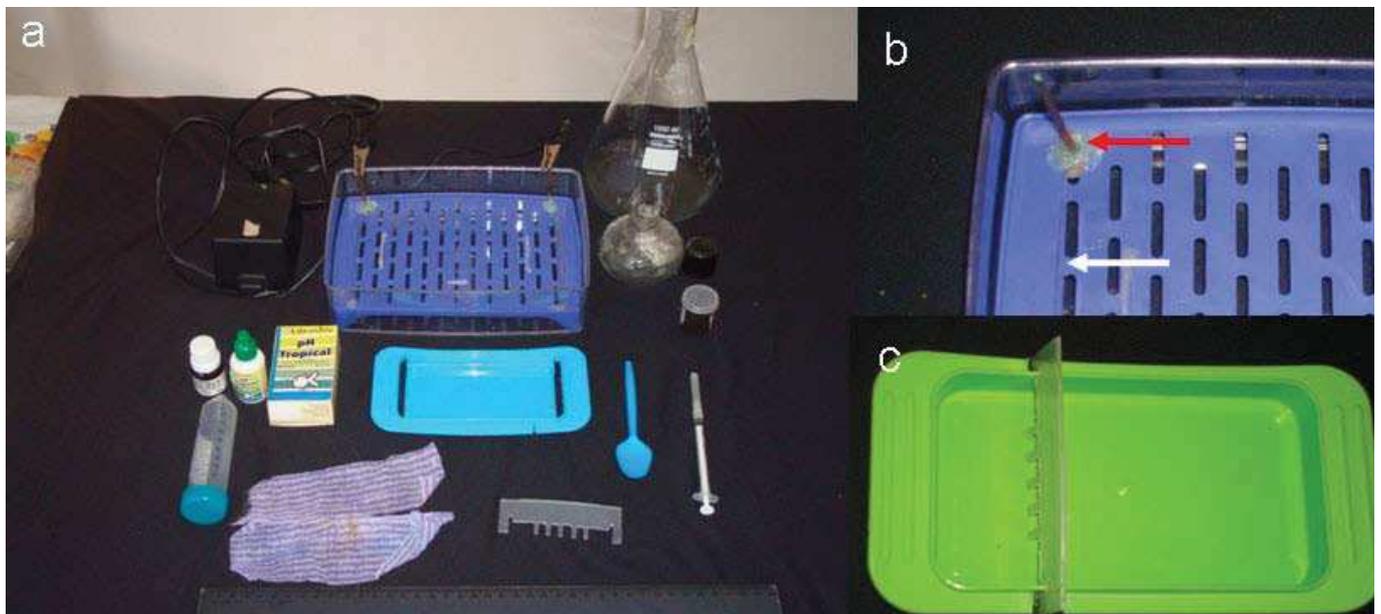
Ao Laboratório de Biologia e Genética de Peixes por ceder o espaço físico para o desenvolvimento deste trabalho.

### **Referências**

- Brown, T. A. (1999) Genética um enfoque molecular. 3ª Ed., Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, R.J.
- Farah, S. B. (2000) DNA: Segredos e Mistérios. Savier. São Paulo. SP.
- Loreto, E. L. S. e Sepel, L. M. N. (2003) Atividades Experimentais e Didáticas de Biologia Molecular e Celular. 2ª Ed., Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto. SP.
- Tiselius, A. (1937) A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. Biochem. J. 31, 1464.
- [http://educar.sc.usp.br/licenciatura/2003/siteprojeto/2003/6\\_enzima\\_e\\_gel.pdf](http://educar.sc.usp.br/licenciatura/2003/siteprojeto/2003/6_enzima_e_gel.pdf)
- <http://www.google.com.br>



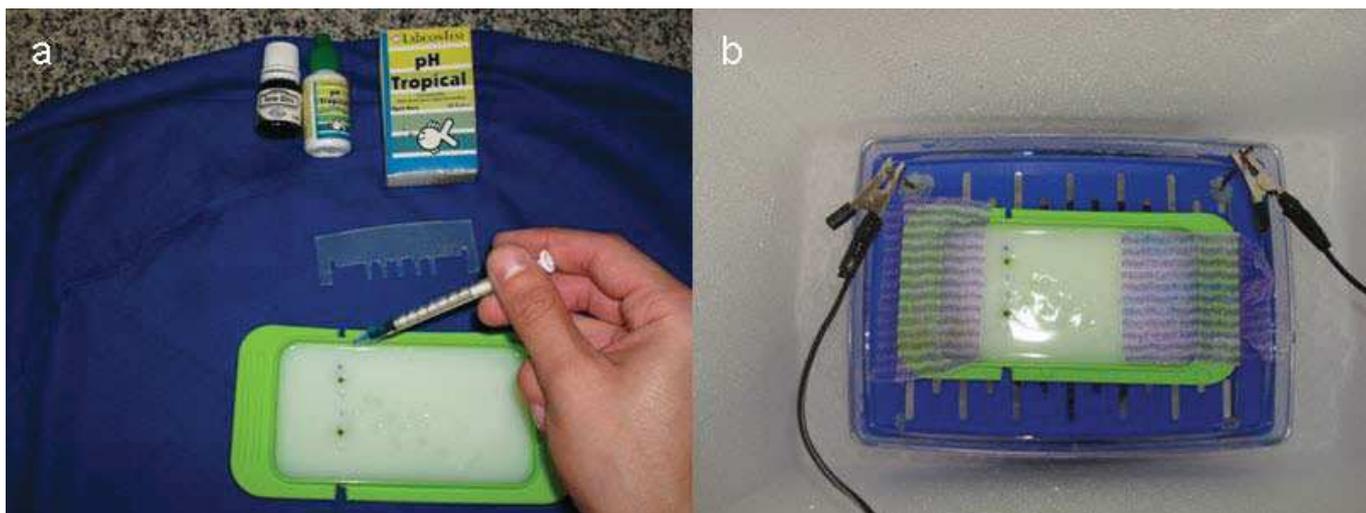
**Figura 1.** Eletroforese em gel de agarose. O material genético com carga negativa migrando na malha do gel do pólo negativo para o pólo positivo. Fonte: [www.google.com.br](http://www.google.com.br) [http://educar.sc.usp.br/licenciatura/2003/siteprojeto/2003/6\\_enzima\\_e\\_gel.p](http://educar.sc.usp.br/licenciatura/2003/siteprojeto/2003/6_enzima_e_gel.p)



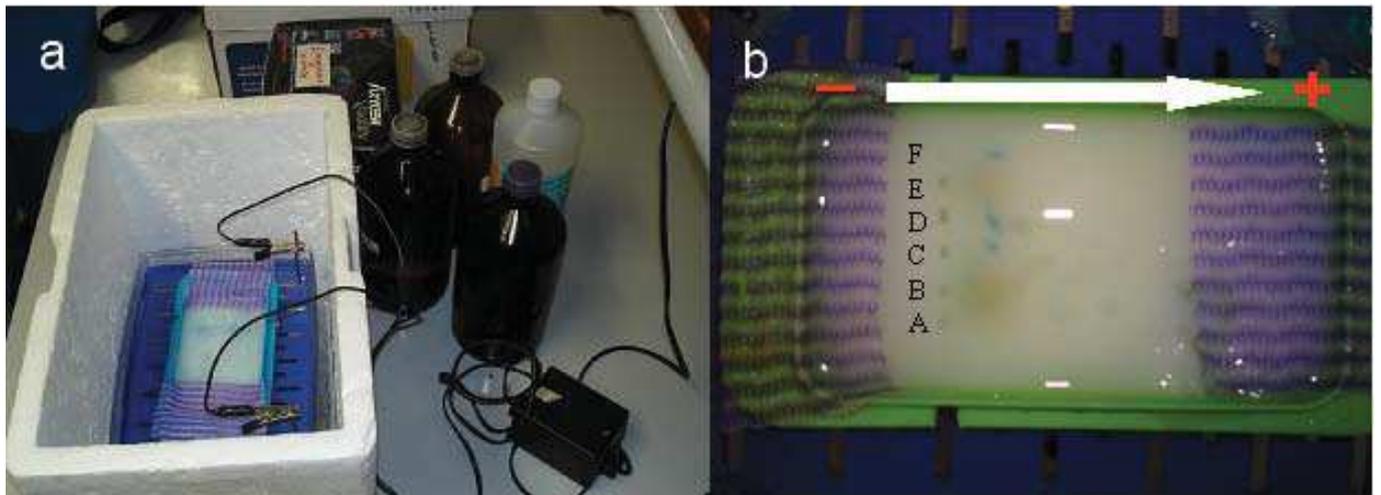
**Figura 2.** Materiais utilizados para Eletroforese: a. Cuba eletroforética e acessórios; b. Visão interna da cuba eletroforética, seta vermelha indica o fio de cobre e a seta branca o fio de aço inox; c. Forma para o gel de amido e pente para formar os poços no gel de amido.



**Figura 3.** Montagem do gel de amido: **a.** Materiais necessários para o preparo do gel; **b.** Aquecimento do amido de milho; **c.** Colocação do amido de milho fervido na forma; **d.** Forma com gel esfriando.



**Figura 4:** **a.** Aplicação das amostras no gel; **b.** “Corrida eletroforética”.



**Figura 5:** **a.** “Corrida eletroforética” com visão da cuba e fonte; **b.** Migração do material genético e tampões de carregamento do pólo negativo para o pólo positivo (Poços: A. DNA; B. corante de bolo; C. azul de bromofenol; D. DNA + azul de bromofenol; E. DNA + corante de bolo; F. DNA + Blue Dextran (utilizado em laboratórios de molecular)).