

# *Prova Experimental*

## *Física, Química, Biologia*

---

*Complete os espaços:*

<i>Nomes dos estudantes:</i>	
<i>Número do Grupo:</i>	
<i>País:</i>	<b><i>BRAZIL</i></b>
<i>Assinaturas:</i>	

*A proposta deste experimento é extrair DNA de trigo germinado e, posteriormente, comparar o tamanho dos fragmentos de DNA a algumas amostras, realizando uma eletroforese em gel.*

### ***Extração do DNA de trigo germinado***

*Nota: É possível que mais de uma das opções seja correta e, nesse(s) caso(s), você precisa assinalar todas para conseguir pontuação integral.*

*Uma parte do procedimento de extração de DNA já foi realizada pelos técnicos do laboratório.*

*DNAs de diversos tecidos de plantas podem ser isolados. O trigo germinado é uma fonte excelente de DNA.*

*Esta parte do procedimento já foi feita para você:*

- 2 gramas de pó seco de trigo germinado foram colocado em um tubo.*
- Uma solução contendo agentes tamponantes, sais e detergentes foi adicionada ao tecido.*
- O tecido foi incubado a 60°C por 20 minutos com agitação constante. Tubos com a mistura de trigo germinado foram transferidos para um banho de gelo por alguns minutos para resfriar a mistura rapidamente para aproximadamente 25°C. A amostra foi rotacionada levemente durante este período.*
- Os tubos foram colocados nas mesas.*

#### *Os estudantes devem começar seus experimentos pelo estágio A*

*Nós fizemos uma solução contendo DNA e colocamos 3 mL desta em um tubo de ensaio para cada grupo.*

- A- Incline seu tubo de ensaio e coloque álcool (etanol) lentamente pela parede dentro do tubo, de modo que se forme uma camada em cima do extrato de trigo. Pare de adicionar álcool quando tiver mais ou menos a mesma quantidade de álcool e de mistura de trigo no tubo.*
- B- Durante um período de aproximadamente 5 minutos, observe alguma mudança que possa aparecer. Após este tempo, você deve ser capaz de responder às questões 1 e 2.*

1 – Qual(is) mudança(s) você observa após adicionar álcool à solução de DNA? **(1 ponto)**

- I. São observadas duas fases distintas.
- II. Aparência de aglomerados brancos leitosos depois de 5 minutos.
- III. Aglomerados de DNA são formados na solução, mas eles são invisíveis.
- IV. Aparência de uma solução branca leitosa homogênea.

C- Use uma ponta amarela ou uma alça de metal para extrair o aglomerado de DNA.

D- Transfira o DNA coletado para o tubo "Your Sample" ("Sua Amostra") contendo solução com corante.

O passo A requer álcool gelado. O DNA solubilizado entra em contato com o álcool onde as duas superfícies de líquido se encontram. O álcool desidrata e precipita o DNA, pois o DNA é insolúvel no álcool (especialmente álcool gelado).

2 – O que acontece durante o período de 5 minutos depois de adicionar etanol ao tubo de ensaio? **(1 ponto)**

- I. Aglomerados de DNA aparecem imediatamente após a adição de etanol.
- II. Um fio fino de DNA aparece após a adição de etanol e sua quantidade aumenta gradualmente.
- III. Aglomerados de DNA se separam da fase inferior e flutuam na fase superior.
- IV. Aglomerados de DNA vão para o fundo do recipiente.

**O que é eletroforese?**

Eletroforese é uma técnica analítica usada para separar uma mistura de macromoléculas, como fragmentos de DNA, RNA ou proteínas, em função de suas propriedades físicas.

As moléculas de DNA a serem analisadas são colocadas em um meio viscoso, o gel de agarose, e são induzidas a migrar através do gel.

Agarose é um polímero natural feito com algas e forma uma rede porosa quando misturado em água para preparar o gel.

Os corantes azul de bromofenol e cianolato de xileno migram através de um gel de agarose a uma velocidade aproximadamente igual a dos fragmentos de DNA em fita dupla de 500 e 4000 pares de bases nitrogenadas, respectivamente.

3 – O que induz as moléculas de DNA a migrarem através do gel de agarose? (1 ponto)

- I. Campo elétrico externo
- II. Campo gravitacional
- III. Força elétrica entre moléculas
- IV. Campo magnético induzido
- V. Interações hidrofóbicas

4 – Nesse experimento, o principal fator para desacelerar a velocidade de migração das moléculas de DNA no gel de agarose é o(a)... (1 ponto)

- I. Carga elétrica da molécula de DNA
- II. Campo elétrico no gel
- III. Tamanho da molécula de DNA
- IV. Espessura do gel

5 – A molécula de DNA possui uma ..... e migra em direção ao ..... (1 ponto)

- I. carga elétrica negativa – ânodo
- II. carga elétrica positiva – ânodo
- III. carga elétrica positiva – cátodo
- IV. carga elétrica negativa – cátodo

6 – Quanto maior a concentração do gel de agarose, ..... do gel. (1 ponto)

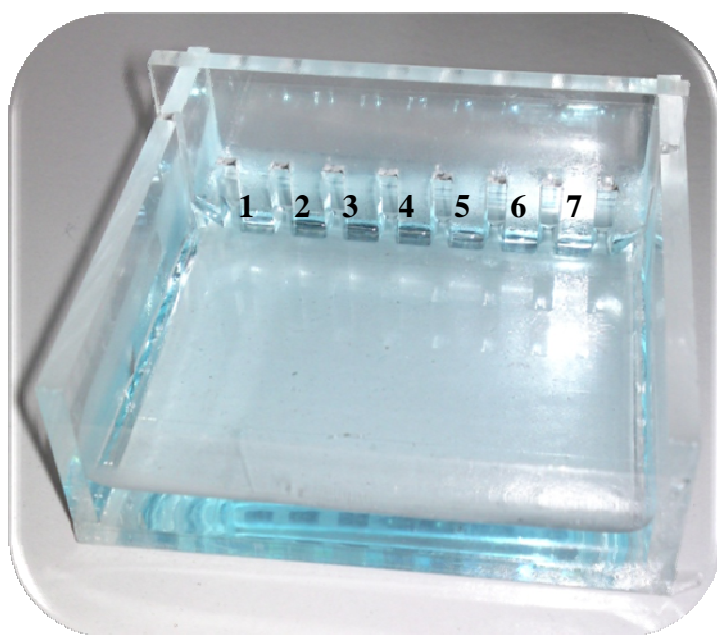
- I. menores os poros
- II. maiores os poros



Cada grupo receberá um pouco de gel de agarose e um recipiente com 7 cavidades nas quais as amostras serão colocadas. Para preencher cada cavidade, pegue uma seringa, conecte-a à ponta amarela e despeje a amostra. O procedimento deve ser efetuado com o cuidado de não se preencher mais do que a metade da ponta amarela em nenhuma etapa. Adicione na cavidade apenas uma gota da amostra. Utilize uma nova ponta para preencher cada cavidade. Tome cuidado para não danificar a cavidade. Se você não conseguir realizar estes procedimentos, peça ajuda a um fiscal (neste caso, você será penalizado em 2 pontos).

Cada cavidade deve ser preenchida com as amostras da seguinte maneira:

- 1 e 2: "Sua Amostra", que deve estar marcada com uma "cara sorridente" 😊. A cavidade 1 serve para você treinar, enquanto que a cavidade 2 deve ser efetivamente utilizada para os procedimentos seguintes.
- 3: deixe-a vazia
- 4: amostra X1
- 5: amostra X2
- 6: amostra X3



Equipamentos da Eletroforese de DNA

7 – Qual amostra é idêntica à "Sua Amostra" ("Your Sample")? (3 pontos)

- I. X1
- II. X2
- III. X3

8 – Meça a tensão elétrica da fonte de alimentação e anote-a abaixo. **(1 ponto)**

9 – Nesta etapa, faça a montagem da eletroforese, posicione o multímetro na configuração de medida de corrente elétrica e solicite que um fiscal faça a verificação. **(2 pontos)**

10 – Meça a corrente elétrica no circuito e a distância percorrida pelas moléculas no recipiente para as amostras X1, X2 e X3. Anote seus dados na tabela abaixo. Considere a tensão elétrica da fonte de alimentação constante. Tome os dados das 4 amostras simultaneamente. Comece com  $t=0$  e meça até  $t=40$  min, usando intervalos de tempo de 5 minutos. A amostra X2 contém 2 diferentes tipos de moléculas denominadas p e q. A molécula p pode ser vista como uma faixa de cor azul e a molécula q como uma faixa azul escura, que aparecem ao longo da eletroforese. **(8 pontos)**

11 – Calcule a resistência elétrica e anote na tabela. **(2 pontos)**

Tempo (min)	Corrente (I) (mA)	Distância (x) (mm)			Resistência (R) ( $\Omega$ )
		X1	X2	X3	
			p	q	
0					
5					
10					
15					
20					
25					
30					
35					
40					

12 – Construa o gráfico da corrente elétrica em função do tempo. **(1,5 pontos)**

13 – Construa o gráfico da resistência elétrica em função do tempo. **(1,5 pontos)**

14 – Para as amostras X1 e X3, construa os gráficos da distância em função do tempo. Identifique cada curva adequadamente. **(4 pontos)**

15 – Supondo que o campo elétrico no interior do recipiente seja uniforme, estime o seu valor. **(1 ponto)**

*Moléculas se movimentam com velocidade terminal no gel quando a força imposta nas moléculas se iguala à força de atrito com o gel. Neste regime, a força de atrito é dada por um coeficiente de atrito vezes a velocidade terminal.*

16 – Considere a carga elétrica de cada molécula igual a  $1 \times 10^{-16}$  C. Para as amostras X1 e X3, calcule o valor do coeficiente de fricção do gel. **(2 pontos)**

17 – Mobilidade é definida como a razão entre a velocidade terminal e o campo elétrico ao qual as moléculas estão sujeitas. Para as amostras X1 e X3, calcule a mobilidade. **(2 pts.)**

18 – Durante a eletroforese, foi observado que bolhas são continuamente liberadas dos eletrodos. Escreva a fórmula química dos gases liberados no: **(0,5 ponto)**

- Ânodo:

- Cátodo:

19 – Escreva abaixo as semirreações eletroquímicas que ocorrem no: **(2 pontos)**

- Ânodo:

- Cátodo:

20 – Use as setas convenientes para preencher os espaços: ( $\uparrow$  quando aumenta,  $\downarrow$  quando diminui ou  $\leftrightarrow$  quando não se altera): **(1,5 pontos)**

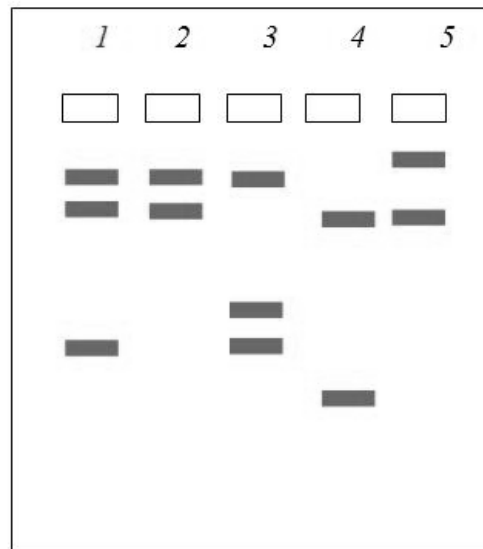
O pH da solução próximo ao ânodo durante a eletroforese:

O pH da solução próximo ao cátodo durante a eletroforese:

O pH da solução total após a eletroforese:



21 – Enzimas de restrição cortam a molécula de DNA nos pontos designados e então produzem fragmentos de DNA. Uma amostra de DNA foi tratada com uma enzima de restrição nos pontos mostrados pelas setas. Os fragmentos de DNA foram então separados por eletroforese. Qual dos esquemas abaixo (1 a 5) é o resultado mais provável se a molécula de DNA é linear? **Circule a resposta correta. (1 ponto)**



22 – Se a mesma molécula de DNA fosse circular, qual seria a resposta correta depois da reação completa? **Circule a resposta correta. (1 ponto)**