

B.3.2 Eletroforese

A eletroforese é considerada a principal técnica de separação molecular num laboratório atual de biologia celular. Trata-se de uma poderosa técnica, razoavelmente simples e de baixo custo, pelo que se tornou muito utilizada. A eletroforese aplica-se em bioquímica na separação de compostos com carga elétrica (aminoácidos, péptidos, proteínas, ácidos nucleicos) que depende do pH do meio em que se encontram. Esta técnica é muito útil na área forense, já que se usa para estabelecer relações de parentesco (teste de paternidade, por exemplo), para encontrar pessoas desaparecidas e para identificar criminosos e suas vítimas através de partículas dos respetivos tecidos ou fluidos (saliva, sangue, cabelo, pele...) em locais de crime.

3.2.1. O princípio da eletroforese

A eletroforese é o movimento de partículas dispersas num fluido sob a influência de um campo elétrico uniforme. Os iões positivos migram para um eléctrodo negativo e os iões negativos migram para um eléctrodo positivo (Fig 13).

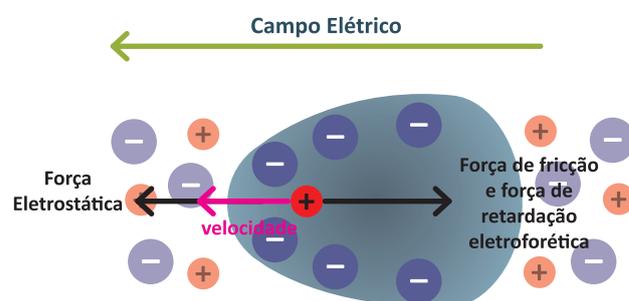


Figura 13 – Esquema de equilíbrio de forças em eletroforese.

As partículas coloidais suspensas têm carga elétrica superficial, fortemente dependente das espécies adsorvidas à sua superfície. Um campo elétrico externo exerce uma força eletrostática sobre estas partículas coloidais. Durante a eletroforese, a força, provocada pelo campo elétrico externo, opõe-se a forças de fricção entre a partícula e o fluido. Quando se igualam, a partícula coloidal que já estava em movimento, continua o movimento com velocidade constante. A velocidade de migração é constante e depende da massa e da carga da partícula, ou seja, de um equilíbrio de forças que também tem em conta o retardamento por fricção entre a amostra e o meio circundante (Fig. 13).

No fim da separação, as proteínas podem ser detetadas como bandas localizadas em diferentes posições do fluido. Este pode ser constituído por diferentes materiais, incluindo papel, acetato de celulose ou géis feitos de poliacrilamida (polímero sintético), agarose (também conhecido por ágar-ágar) ou amido (polímeros naturais). O avanço da frente pode seguir-se por observação com radiações UV, assim como a revelação do **eletroforama**. A figura 14 ilustra alguns aspetos técnicos da eletroforese.

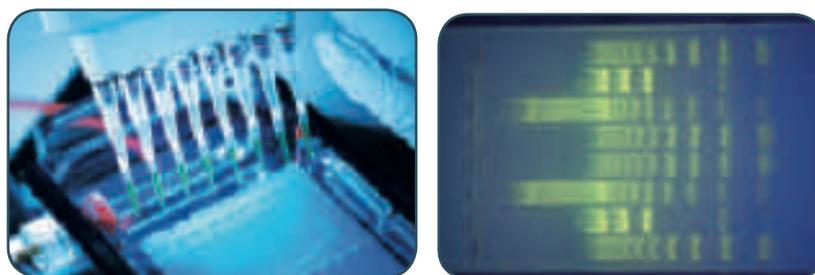


Figura 14 – Colocação de amostras de ADN em gel de agarose com uma pipeta multicanal (A); eletroforama revelado por radiações UV (B).

3.2.2 O ADN e a identificação genética

As técnicas da engenharia genética permitem identificar pessoas pela análise das suas moléculas de ADN (ácido desoxirribonucleico, DNA em inglês), a substância que constitui os genes. Com exceção dos gémeos verdadeiros, cada pessoa possui um conjunto de genes e, portanto, de moléculas de ADN, único.

O processo mais simples para caracterizar o ADN consiste em cortar as suas moléculas utilizando as chamadas enzimas de restrição e analisando, em seguida, o tamanho dos fragmentos que se formaram. Uma enzima de restrição corta a molécula de ADN em pontos específicos, somente onde ocorre determinada sequência de bases nitrogenadas. Como cada pessoa tem sequências típicas de bases nitrogenadas, o número e o tamanho dos fragmentos obtidos pelo corte enzimático permitem caracterizar o seu ADN.

O tamanho dos fragmentos obtidos, após o corte enzimático, é determinado pela técnica de eletroforese. A mistura de fragmentos de ADN é aplicada numa camada de gel e submetida a um campo elétrico. Nessas condições, os fragmentos movem-se com velocidades proporcionais ao seu tamanho, os menores mais rapidamente que os maiores. Quando se desliga o campo elétrico, fragmentos com tamanhos iguais ficam na mesma posição do gel, formando uma faixa. O padrão de faixas que se obtém é característico para cada pessoa, correspondendo à sua «impressão digital» genética. Trata-se de um eletroforama.

As relações de parentesco podem ser determinadas por técnicas de eletroforese. A figura 15 mostra as partes mais importantes para identificar ADN, obtidas por eletroforese de ADN de uma família: mãe, pai e quatro filhos A, B, C e D.

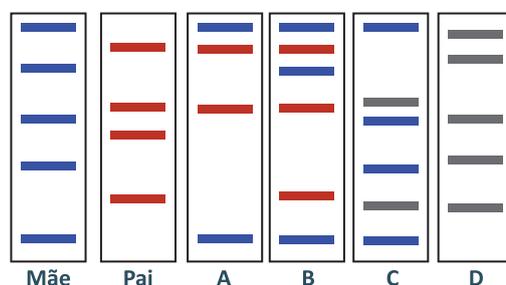


Figura 15 – Eletroforamas de mãe, pai e quatro filhos.

Algumas bandas maternas (azuis) e paternas (vermelhas) surgem no eletroforama dos filhos A e B. Já C tem bandas azuis da mãe e não tem bandas vermelhas do pai; o seu ADN paterno não é do pai de A e de B, mas é de outro indivíduo. O filho D poderia ser adotivo, já que tanto o seu ADN materno quanto o paterno são de outras pessoas diferentes de mãe e pai identificados nos eletroforamas (Fig. 15).

Atividade



Consultar os sítios da Internet para ver a realização de uma eletroforese de gel.

<http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/gel/>

<http://www.dnalc.org/resources/animations/gelectrophoresis.html>