



ACESSO ABERTO

Data de Recebimento:
29/10/2024

Data de Aceite:
14/11/2024

Data de Publicação:
21/11/2024

***Autor correspondente:**

Renato Massaharu Hassunuma,
Doutorado em Odontologia (área
de concentração Biologia Oral),
Rua Luís Levorato, 140 - Chá-
caras Bauruenses, Bauru - SP,
17048-290. Telefone de contato:
(14) 3312-7000. E-mail: rhassu-
numa@gmail.com.

Citação:

GUIMARÃES, G.S et al. LA-
BXCHANGE: introduzindo a
técnica do DNA recombinante
por meio de uma animação inte-
rativa gratuita on-line. **Revista
Multidisciplinar em Educação
e Meio Ambiente**, v. 5, n. 4,
2024. [https://doi.org/10.51161/
integrar/rema/4496](https://doi.org/10.51161/integrar/rema/4496)

DOI: 10.51161/integrar/
rema/4496

Editora Integrar© 2024.

Todos os direitos reservados.

LABXCHANGE: INTRODUZINDO A TÉCNICA DO DNA RECOMBINANTE POR MEIO DE UMA ANIMAÇÃO INTERATIVA GRATUITA ON-LINE

Gabriela Silva Guimarães^a, Renato Massaharu Hassunuma^a, Patrícia Carvalho Garcia^a, Sandra Heloisa Nunes Messias^b

^a Universidade Paulista, Câmpus Bauru. Rua Luís Levorato, 140 - Chácaras Bauruenses, Bauru - SP, 17048-290.

^b Universidade Paulista – UNIP, Câmpus Paraíso. Rua Vergueiro, 1211, 8º andar – Paraíso, São Paulo – SP, CEP: 01504-001.

RESUMO

Introdução: Os recursos didáticos de e-learning ou ensino eletrônico tem sido amplamente utilizados nos últimos anos devido ao avanço das novas tecnologias de informação e comunicação e às necessidades impostas durante a pandemia da covid-19. Uma das ferramentas desenvolvidas para o ensino eletrônico foi o LabXchange, que apresenta a animação Restriction enzyme digest, uma ferramenta didática interativa on-line gratuita que explica de forma detalhada a técnica do DNA recombinante. **Objetivos:** Analisar a animação Restriction enzyme digest como uma proposta didática no ensino da técnica de DNA recombinante. **Material e métodos:** Foram traduzidas e analisadas todas as etapas e atividades apresentadas na animação Restriction enzyme digest. Após a análise foram pontuados os fatores positivos e negativos observados durante a sua utilização. **Resultados:** A animação mostrou com detalhes as etapas laboratoriais da técnica do DNA recombinante, podendo ser considerado uma excelente ferramenta didática para introduzir o assunto ao aluno antes de atividades práticas. **Conclusões:** A animação Restriction enzyme digest corresponde a um excelente modelo para o desenvolvimento de outras animações que possam ser desenvolvidas sobre outras técnicas laboratoriais. A animação se mostrou uma ferramenta didática de ensino eletrônico ao incluir além da apresentação de conhecimento relacionado à técnica, uma autoavaliação e um breve resumo para assimilação do aprendizado

Palavras chaves: *e-Learning*. Animação. DNA recombinante. Enzimas de Restrição-Modificação do DNA.

ABSTRACT

Introduction: E-learning or electronic teaching resources have been widely used in recent years due to the advancement of new information and communication technologies and the needs imposed during the covid-19 pandemic. One of the tools developed for electronic teaching was LabXchange, which features the Restriction enzyme digest animation, a free online interactive

teaching tool that explains the recombinant DNA technique in detail. **Objectives:** To analyze the Restriction enzyme digest animation as a didactic proposal for teaching the recombinant DNA technique. **Material and methods:** All steps and activities presented in the Restriction enzyme digest animation were translated and analyzed. After the analysis, the positive and negative factors observed during its use were scored. **Results:** The animation showed in detail the laboratory steps of the recombinant DNA technique, and can be considered an excellent teaching tool to introduce the subject to students before practical activities. **Conclusions:** The Restriction enzyme digest animation represents an excellent model for the development of other animations that can be developed using other laboratory techniques. The animation proved to be a didactic tool for electronic teaching by including, in addition to the presentation of knowledge related to the technique, a self-assessment and a brief summary for assimilation of learning.

Keywords: e-Learning. Animation. Recombinant DNA. DNA Restriction-Modification Enzymes.

1 INTRODUÇÃO

A técnica do DNA recombinante foi desenvolvida em 1972 pelo bioquímico-geneticista Paul Berg, o qual incorporou o DNA da bactéria *Escherichia coli* no DNA potencialmente causador de câncer do vírus do tumor polioma SV40 (Lukiw, 2023). Esta tecnologia gerou inúmeros avanços tecnológicos, como a produção segura de proteínas utilizadas com fins terapêuticos (Khan *et al.*, 2016).

Esta técnica é baseada principalmente na utilização de enzimas de restrição, as quais desde a sua descoberta no início da década de 1950, têm sido amplamente utilizadas também em outras técnicas de biologia molecular como: clonagem, mapeamento e edição de DNA. As enzimas de restrição tornam possível a produção de fragmentos específicos da molécula de DNA, tornando-se uma peça-chave em estudos genéticos (Di Felice; Micheli; Camilloni, 2019). Ademais, são conhecidas como endonucleases de restrição e são expressas em todos os tipos bacterianos. Estas enzimas são capazes de proteger bactérias contra infecções virais, por meio do reconhecimento e clivagem do DNA viral em uma sequência específica do ácido nucleico, denominada local de restrição (Petersen *et al.*, 2022).

As bactérias também possuem um outro grupo de enzimas denominadas metiltransferases, que são capazes de realizar a adição de grupamentos metil em bases nitrogenadas de sequências alvo após a replicação do DNA. As DNA metiltransferases procarióticas podem ou não estar associadas às enzimas de restrição. Ao realizar a metilação do DNA, estas enzimas protegem o seu genoma da ação das enzimas de restrição (Casadesús; Sánchez-Romero, 2022). Vale ressaltar que a metilação do DNA também desempenha outras funções como a regulação da expressão gênica, da replicação do DNA e de outros processos celulares bacterianos (Anton; Roberts, 2021).

Assim, as enzimas de restrição e suas metiltransferases correspondentes constituem um complexo enzimático denominado sistema de modificação e restrição de DNA. Tradicionalmente, as enzimas de restrição são classificadas em quatro grupos, designados como tipos I, II, III e IV, os quais são diferenciados principalmente pela sua estrutura, local de clivagem, especificidade e necessidade de cofatores para sua ativação (Loenen *et al.*, 2014).

As informações sobre as enzimas de modificação-restrição de DNA estão depositadas em um banco de dados denominado REBASE, o qual fornece informações sobre os locais de reconhecimento e clivagem de enzimas de restrição e metiltransferases de DNA, juntamente com sua disponibilidade comercial, sensibilidade à metilação, dados de cristalização e sequências (Roberts *et al.*, 2023).

Uma proposta de ensino de como as enzimas de restrição são aplicadas em experimentos laboratoriais

é apresentada pelo site LabXchange, que corresponde a uma plataforma de ensino de ciências gratuita criada pela Universidade de Havard com suporte da Fundação Amgen. A plataforma possui uma atividade intitulada *Restriction Enzyme Digest* (Digestão por enzimas de restrição), que será utilizada como modelo para o ensino sobre a ação das enzimas de restrição no presente estudo (LabXchange, 2019). Assim, o presente estudo tem como objetivo principal analisar a aplicação da animação *Restriction Enzyme Digest* no ensino da técnica de DNA recombinante, como recurso didático de ensino eletrônico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado entre março a outubro de 2024, sendo uma pesquisa de natureza aplicada, de abordagem qualitativa, cujo objetivo é explicativo, e com procedimentos técnicos que caracterizam uma pesquisa narrativa, a qual visa analisar e apresentar propostas para aplicação didática de ensino eletrônico da animação *Restriction Enzyme Digest* no ensino da técnica de DNA recombinante.

A animação *Restriction Enzyme Digest* está disponível gratuitamente no site LabXchange, podendo ser utilizada on-line em qualquer navegador de internet e, portanto, na maioria dos modelos de computadores, notebooks, celulares e tablets. O acesso à animação pode ser obtido por meio do link: https://www.labxchange.org/library/items/lb:LabXchange:1fb8b9d5:lx_simulation:1.

Assim, na atual pesquisa, a animação foi analisada, verificando os conteúdos abordados em cada etapa da animação e discutida quanto a sua aplicação didática em sala de aula, enquanto recurso de ensino eletrônico. Foram levantados também alguns pontos positivos e negativos observados durante a análise da animação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A animação *Restriction enzyme digest* (Digestão por enzimas de restrição, na tradução livre) corresponde a uma simulação de uma aplicação de enzimas de restrição em um laboratório virtual. Nesta atividade, o usuário é convidado a aplicar enzimas de restrição para cortar as fitas de DNA de dois plasmídeos, produzindo fragmentos com extremidades adesivas complementares que serão usadas para produção de um plasmídeo recombinante.

Esta atividade é iniciada no botão “Iniciar simulação”. Antes de iniciar a animação, o usuário precisa determinar um nível de instrução: a) o *level one* (nível um) é indicado para pessoas não familiarizadas com a técnica, apresentando a maior quantidade de suporte e dicas; b) o *level two* (nível dois) é recomendado para usuários familiarizados com a técnica, oferecendo menos dicas e menos explicações das etapas do experimento; e c) o *level three* (nível três) é sugerido para aqueles que conhecem bem a técnica e desejam explorar novos tópicos e habilidades.

No presente estudo, como se trata de uma abordagem para o ensino, foi escolhido o *level one*. Para iniciar o nível um, basta o usuário clicar na opção Level one e clicar no botão *Start level one*. Ao iniciar o nível um, o usuário é convidado a acompanhar as sete etapas desta animação: a) *Context* (Contexto); b) *Materials* (Materiais); c) *Predictions* (Predições); d) *Protocol* (Protocolo); e) *Results* (Resultados); f) *Reflection* (Reflexão); e g) *Summary* (Sumário).

3.1 Etapa *Context*

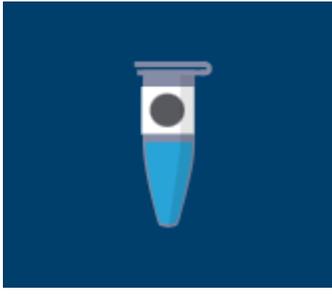
Nesta primeira etapa, intitulada *Context* (Contexto), o usuário é apresentado às condições em que o experimento irá ocorrer. Na presente simulação, o usuário realiza o corte de fitas de DNA de dois plasmídeos, por meio de enzimas de restrição, produzindo fragmentos de DNA. São conhecidos o tamanho dos nossos plasmídeos e os locais onde as enzimas irão cortar o DNA, sendo possível prever o comprimento dos fragmentos que serão produzidos. Posteriormente, o comprimento destes fragmentos é confirmado utilizando eletroforese em gel. Os fragmentos de DNA produzidos serão unidos para formar plasmídeos recombinantes.

3.2 Etapa *Materials*

Nesta segunda etapa, intitulada *Materials* (Materiais), é apresentado todo material a ser usado no experimento, sendo os textos originais e traduzidos mostrados no Quadro 1.

Quadro 1 – Etapa *Materials*

Imagem	Texto original	Tradução
-	<i>Click on the images to learn more about them.</i>	Clique nas imagens para saber mais sobre elas.
-	Reagents <i>Chemicals that can be used in this experiment</i>	Reagentes Produtos químicos que podem ser usados neste experimento
	Buffer (2.5XB) Solution <i>Solution tube containing buffer at 2.5 times concentration for the restriction enzyme digest (2.5XB) with purple label.</i>	Solução tampão (2,5XB) Microtubo tipo eppendorf contendo solução tampão de concentração de 2,5 vezes para digestão com enzimas de restrição (2,5XB) com rótulo roxo.
	pKAN-R Plasmid (K) Solution <i>Solution tube of pKAN-R plasmid (K) with red label</i>	Solução de plasmídeo pKAN-R (K) Microtubo tipo eppendorf contendo plasmídeo pKAN-R (K) com etiqueta vermelha.
	pARA Plasmid (A) Solution <i>Solution tube of pARA plasmid (A) with green label.</i>	Solução de Plasmídeo pARA (A) Microtubo tipo eppendorf contendo plasmídeo pARA (A) com rótulo verde.

	<p>Restriction Enzymes (RE) Solution tube of restriction enzymes BamHI and HindIII (RE) with black label.</p>	<p>Enzimas de Restrição (RE) Microtubo tipo eppendorf contendo as enzimas de restrição BamHI e HindIII (RE) com etiqueta preta.</p>
	<p>Distilled Water (dH₂O) Tube of distilled water (dH₂O) with blue label.</p>	<p>Água Destilada (dH₂O) Microtubo tipo eppendorf contendo água destilada (dH₂O) com etiqueta azul.</p>
<p>-</p>	<p>Micropipetting equipment <i>Used to measure small volumes</i></p>	<p>Micropipetas Utilizadas para aspirar volumes pequenos</p>
	<p>P2 Pipette <i>Used to draw up and dispense volumes of liquid between 0.2 and 2 microliters.</i></p>	<p>Micropipeta P2 Utilizada para extrair e dispensar volumes de líquido entre 0,2 e 2 microlitros.</p>
	<p>P20 Pipette Used to draw up and dispense volumes of liquid between 2 and 20 microliters.</p>	<p>Micropipeta P2 Utilizada para extrair e dispensar volumes de líquido entre 0,2 e 2 microlitros.</p>
	<p>P200 Pipette <i>Used to draw up and dispense volumes of liquid between 20 and 200 microliters.</i></p>	<p>Micropipeta P200 Utilizada para extrair e dispensar volumes de líquido entre 20 e 200 microlitros.</p>

	<p>P1000 Pipette <i>Used to draw up and dispense volumes of liquid between 200 and 1000 microliters.</i></p>	<p>Micropipeta P1000 Utilizada para extrair e dispensar volumes de líquido entre 200 e 1000 microlitros.</p>
	<p>P2 Tip Box <i>Filled with P2 tips. Tips are attached to the micropipette and discarded after single use to avoid contamination between transfers</i></p>	<p>Caixa de pontas P2 Preenchidas com pontas P2. As pontas são fixadas na micropipeta e descartadas após uso único para evitar contaminação entre as transferências.</p>
	<p>P20 Tip Box <i>Filled with P20 tips. Tips are attached to the micropipette and discarded after single use to avoid contamination between transfers.</i></p>	<p>Caixa de pontas P20 Preenchidas com pontas P20. As pontas são fixadas na micropipeta e descartadas após uso único para evitar contaminação entre as transferências.</p>
	<p>P200 Tip Box <i>Filled with P200 tips. Tips are attached to the micropipette and discarded after single use to avoid contamination between transfers.</i></p>	<p>Caixa de pontas P200 Preenchidas com pontas P200. As pontas são fixadas na micropipeta e descartadas após uso único para evitar contaminação entre as transferências.</p>
	<p>P1000 Tip Box <i>Filled with P1000 tips. Tips are attached to the micropipette and discarded after single use to avoid contamination between transfers.</i></p>	<p>Caixa de pontas P1000 Cheio de dicas P1000. As pontas são fixadas na micropipeta e descartadas após uso único para evitar contaminação entre as transferências.</p>

-	<p>Empty tuber Used to hold solutions</p>	<p>Tubos vazios Usados para armazenar soluções</p>
	<p>A+ Tube <i>Empty 1.5 ml solution tube. Used to hold solutions. Labeled A+.</i></p>	<p>Tubo A+ Tubo de solução de 1,5 mL. Usado para armazenar soluções. Rotulado com o texto A+.</p>
	<p>A- Tube <i>Empty 1.5 ml solution tube. Used to hold solutions. Labeled A-.</i></p>	<p>Tubo A- Tubo de solução de 1,5 mL. Usado para armazenar soluções. Rotulado com o texto A-.</p>
	<p>K+ Tube <i>Empty 1.5 ml solution tube. Used to hold solutions. Labeled K+.</i></p>	<p>Tubo K+ Tubo de solução de 1,5 mL. Usado para armazenar soluções. Rotulado com o texto K+.</p>
	<p>K- Tube <i>Empty 1.5 ml solution tube. Used to hold solutions. Labeled K-.</i></p>	<p>Tubo K- Tubo de solução de 1,5 mL. Usado para armazenar soluções. Rotulado com o texto K-.</p>
-	<p>Other equipment</p>	<p>Outros equipamentos</p>

	<p>Microcentrifuge <i>Motor-driven centrifuge that spins samples at high speed to collect liquid at the bottom of the tube for easy transfer.</i></p>	<p>Microcentrifuga Centrífuga motorizada que processa amostras em alta velocidade para coletar o líquido no fundo do tubo.</p>
	<p>Trash <i>Used to dispose of any non-hazardous waste resulting from the experiment, including micropipette tips.</i></p>	<p>Lixo Utilizado para descartar quaisquer resíduos não perigosos resultantes do experimento, incluindo pontas de micropipetas.</p>
	<p>Floating Tube Rack <i>Used to hold solution tubes on lab bench and inside a water bath.</i></p>	<p>Rack de tubo flutuante Usado para manter tubos tipo eppendorf na bancada do laboratório e em banho-maria.</p>
	<p>Freezer <i>Small counter top lab freezer set at -20°C. Used to store solutions for later use or analysis.</i></p>	<p>Congelador Congelador de laboratório pequeno de bancada ajustado a -20°C. Usado para armazenar soluções para uso ou análise posterior.</p>
	<p>Water Bath <i>Used to incubate samples in water, at a constant temperature. Has a temperature setting and a timer.</i></p>	<p>Banho-maria Utilizado para incubar amostras em água, a uma temperatura constante. Possui ajuste de temperatura e timer.</p>

	<p>Ice Bucket Used to keep solutions at a cold temperature to prevent temperature fluctuations and enzymatic degradation.</p>	<p>Balde de gelo Usado para manter soluções em temperatura baixa para evitar variações de temperatura e degradação enzimática.</p>
---	--	---

Fonte: LabXchange, 2019.

Após a apresentação dos materiais que serão utilizados na simulação, a animação direciona o usuário para próxima etapa.

3.3 Etapa *Predictions*

Na etapa *Predictions* (Predições), o usuário deve ser capaz de prever os plasmídeos a serem formados a partir dos cortes determinados pelas enzimas de restrição (Figura 1).

Figura 1 – Imagem mostrada na etapa *Predictions*



Fonte: LabXchange, 2019.

No caso do plasmídeo pKAN-R, as enzimas de restrição BamHI e HindIII, geram um fragmento pBAD-*rfp* de 807 pb (indicado na Figura 1). O outro trecho deve ser deduzido pelo usuário, subtraindo o número de pares de bases do pKAN-R do número de pares de bases do pBAD-*rfp*, obtendo um valor de 4705 pb.

No caso do plasmídeo pARA, as enzimas de restrição BamHI e HindIII, geram um fragmento de 377 pb (indicado na Figura 1) e um outro fragmento de 4495 pb, calculado a partir do número de pares de bases do pARA menos 377 pb (tamanho do primeiro fragmento).

3.4 Etapa Protocol

As orientações apresentadas nesta etapa são apresentadas e traduzidas no Quadro 4:

Quadro 2 – Etapa Protocol

Texto original	Tradução
<p>1. Set the temperature of the water bath. <i>a) Select the water bath to set the temperature to 37°C.</i></p>	<p>1. Defina a temperatura do banho-maria. a) Selecione o banho-maria para definir a temperatura para 37°C.</p>
<p>2. Set the volume of the P20 micropipette. <i>a) Select the P20 micropipette from the micropipette rack.</i> <i>b) Select the volume setting to set the volume to 4µl, and then select “Save volume”.</i> <i>c) Select the P20 tip box to open it.</i> <i>d) Move the P20 micropipette onto the P20 tip box to attach a tip.</i> <i>e) Select the P20 tip box to close it.</i></p>	<p>2. Defina o volume da micropipeta P20. a) Selecione a micropipeta P20 no suporte de micropipetas. b) Selecione a configuração de volume para definir o volume para 4 µl e selecione “Salvar volume”. c) Selecione a caixa de pontas P20 para abri-la. d) Mova a micropipeta P20 para a caixa de pontas P20 para fixar uma ponta. e) Selecione a caixa de pontas P20 para fechá-la.</p>
<p>3. Draw up the reaction buffer into the micropipette. <i>a) Move the restriction buffer (2.5XB) tube to the empty tube rack and open it.</i> <i>b) Select the micropipette and place it in the restriction buffer solution tube (2.5xB).</i> <i>c) Draw up the restriction buffer (2.5xB) by selecting the plunger and holding it down until it reaches the first stop.</i> <i>d) Select the restriction buffer (2.5xB) solution tube to close it.</i></p>	<p>3. Prepare o tampão de reação na micropipeta. a) Mova o tubo tipo eppendorf do tampão de restrição (2,5XB) para o suporte de tubos vazio e abra-o. b) Selecione a micropipeta e coloque-a no tubo tipo eppendorf da solução tampão de restrição (2,5xB). c) Prepare o tampão de restrição (2,5xB) selecionando o êmbolo e mantendo-o pressionado até atingir a primeira parada. d) Selecione o tubo tipo eppendorf tampão de restrição (2,5xB) para fechá-lo.</p>
<p>4. Pipette the restriction buffer into the K- tube. <i>a) Select K- tube to open it.</i> <i>b) Dispense the restriction buffer into the K- tube by holding down the plunger until it reaches the second stop, then releasing it.</i> <i>c) Move the micropipette over the trash can and select the eject icon to eject the tip.</i> <i>d) Select the K- tube to close it.</i></p>	<p>4. Pipete o tampão de restrição no tubo K-. a) Selecione o tubo K- para abri-lo. b) Dispense o tampão de restrição no tubo K- pressionando o êmbolo até atingir a segunda parada e depois soltando-o. c) Mova a micropipeta sobre a lixeira e selecione o ícone de ejeção para ejetar a ponta. d) Selecione o tubo K- para fechá-lo.</p>

<p>5. Pipette the restriction buffer into the K+, A+ and A- tubes.</p> <p>a) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 4µL of restriction buffer (2.5xB) into the K- tube.</i></p> <p>b) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 4µL of restriction buffer (2.5xB) into the A+ tube.</i></p> <p>c) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 4µL of restriction buffer (2.5xB) into the A- tube.</i></p>	<p>5. Pipete o tampão de restrição nos tubos K+, A+ e A-.</p> <p>a) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 4 µL de tampão de restrição (2,5xB) no tubo K+.</i></p> <p>b) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 4 µL de tampão de restrição (2,5xB) no tubo A+.</i></p> <p>c) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 4 µL de tampão de restrição (2,5xB) no tubo A-.</i></p>
<p>6. Dispense the other solutions into the K+, K-, A+ and A- tubes.</p> <p>a) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 4µL of pKAN-R plasmid (K) from the K tube into K+ tube.</i></p> <p>b) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 4µL of pKAN-R plasmid (K) from the K tube into K- tube.</i></p> <p>c) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 4µL of pARA plasmid (A) from the A tube into the A+ tube.</i></p> <p>d) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 4µL of pARA plasmid (A) from the A tube into the A- tube.</i></p> <p>e) <i>Change the volume of the P20 micropipette to 2µL.</i></p> <p>f) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 2µL of restriction enzymes from the RE tube into the K+ tube.</i></p> <p>g) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 2µL of restriction enzymes from the RE tube into the A+ tube.</i></p> <p>h) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 2µL of distilled water from dH₂O tube into the A- tube.</i></p> <p>i) <i>Follow the micropipetting procedure to dispense 2µL of distilled water from dH₂O tube into the K- tube.</i></p>	<p>6. Dispense as outras soluções nos tubos K+, K-, A+ e A-.</p> <p>a) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 4µL de plasmídeo pKAN-R (K) do tubo K para o tubo K+.</i></p> <p>b) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 4 µL de plasmídeo pKAN-R (K) do tubo K para o tubo K-.</i></p> <p>c) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 4 µL de plasmídeo pARA (A) do tubo A para o tubo A+.</i></p> <p>d) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 4 µL de plasmídeo pARA (A) do tubo A para o tubo A-.</i></p> <p>e) <i>Alterar o volume da micropipeta P20 para 2µL.</i></p> <p>f) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 2 µL de enzimas de restrição do tubo RE para o tubo K+.</i></p> <p>g) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 2 µL de enzimas de restrição do tubo RE para o tubo A+.</i></p> <p>h) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 2 µL de água destilada do tubo dH₂O no tubo A-.</i></p> <p>i) <i>Siga o procedimento de micropipetagem para dispensar 2 µL de água destilada do tubo dH₂O no tubo K-.</i></p>

<p>7. Spin the solution tubes.</p> <p>a) <i>Select the microcentrifuge to open it.</i></p> <p>b) <i>Move the K+, K-, A+, and A- tubes into the microcentrifuge and balance them correctly by placing the tubes at equal distances from each other inside the microcentrifuge.</i></p> <p>c) <i>Select the microcentrifuge to close it.</i></p> <p>d) <i>Press the pulse button to spin the microcentrifuge.</i></p> <p>e) <i>Once the spin is complete, open the microcentrifuge by selecting it.</i></p> <p>f) <i>Select the microcentrifuge to close it.</i></p>	<p>7. Centrifugue os tubos de soluções</p> <p>a) Selecione a microcentrífuga para abri-la.</p> <p>b) Mova os tubos K+, K-, A+ e A- para a microcentrífuga e equilibre-os corretamente, colocando os tubos a distâncias iguais uns dos outros dentro da microcentrífuga.</p> <p>c) Selecione a microcentrífuga para fechá-la.</p> <p>d) Pressione o botão de pulso para girar a microcentrífuga.</p> <p>e) Assim que a rotação for concluída, abra a microcentrífuga selecionando-a.</p> <p>f) Selecione a microcentrífuga para fechá-la.</p>
<p>8. Incubate the solution tubes at 37°C.</p> <p>a) <i>Move the solution tubes into the floating solution tube rack.</i></p> <p>b) <i>Select the water bath to open it.</i></p> <p>c) <i>Move the rack containing the K+, K-, A+, and A- tubes to the 37°C water bath.</i></p> <p>d) <i>Select the water bath to close it.</i></p> <p>e) <i>Set the timer (by using the + and – buttons) to 1 hour and press start.</i></p> <p>f) <i>When the time is up, remove the floating solution tube rack from the water bath by pressing the eject button.</i></p>	<p>8. Incubar os tubos tipo eppendorf a 37°C.</p> <p>a) Mova os tubos tipo eppendorf para o suporte flutuante de tubos de solução.</p> <p>b) Selecione o banho-maria para abri-lo.</p> <p>Mova o rack contendo os tubos K+, K-, A+ e A- para o banho-maria a 37°C.</p> <p>c) Selecione o banho-maria para fechá-lo.</p> <p>d) Defina o cronômetro (usando os botões + e –) para 1 hora e pressione “Iniciar”.</p> <p>e) Quando o tempo acabar, remova o suporte de tubos tipo eppendorf flutuante do banho-maria pressionando o botão de ejeção.</p>
<p>9. Store the solution tubes in the freezer.</p> <p>a) <i>Select the freezer to open it.</i></p> <p>b) <i>Move your rack containing samples K+, K-, A+ and A- onto the -20 °C freezer.</i></p> <p>c) <i>Close the freezer to store your samples for later analysis.</i></p>	<p>9. Armazene os tubos tipo eppendorf no freezer.</p> <p>a) Selecione o freezer para abri-lo.</p> <p>b) Mova seu rack contendo amostras K+, K-, A+ e A- para o freezer -20 °C.</p> <p>c) Feche o freezer para armazenar suas amostras para análise posterior.</p>

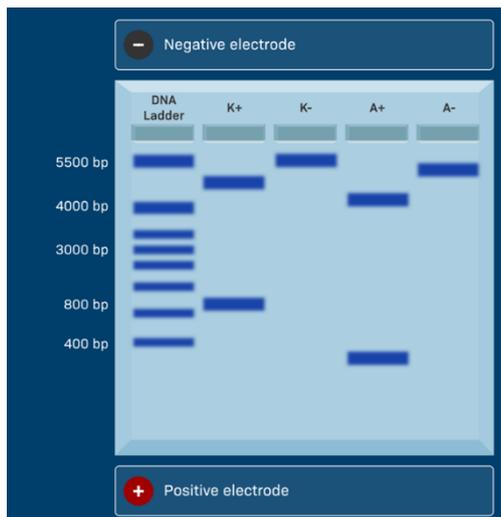
Fonte: LabXchange, 2019.

Por meio das instruções, o usuário deverá conseguir executar todos os procedimentos descritos no Quadro 2 para prosseguir com a etapa seguinte.

3.5 Etapa Results

Nesta etapa, os resultados obtidos pelo usuário deverão ser comparados aos esperados, onde devem ser obtidos os fragmentos pré-estabelecidos de DNA dos plasmídeos. Caso o usuário tenha obtido os fragmentos esperados, as amostras são submetidas a eletroforese em gel, obtendo-se os resultados apresentados na Figura 2.

Figura 2 – Resultados de eletroforese apresentados na etapa *Results*



Fonte: LabXchange, 2019.

Os textos apresentados e traduzidos nesta etapa são apresentados no Quadro 3:

Quadro 3 – Etapa *Results*

Texto original	Tradução
<p>Results <i>Once you have performed your restriction digest, you would not be able to confirm your results simply by looking at your tubes. In this simulated environment, we've provided a hypothetical view of your results.</i></p>	<p>Resultados Depois de ter realizado sua digestão de restrição, você não seria capaz de confirmar seus resultados simplesmente olhando para seus tubos. Neste ambiente simulado, fornecemos uma visão hipotética de seus resultados.</p>
<p>Actual Results <i>Compare your actual results to the ideal results for A+, A-, K+, and K-. If the restriction digest was successful, you should see that the plasmid DNA has been cut into linear fragments.</i></p>	<p>Resultados Reais Compare seus resultados reais com os resultados ideais para A+, A-, K+ e K-. Se a digestão de restrição foi bem-sucedida, você deve ver que o DNA plasmidial foi cortado em fragmentos lineares.</p>
<p>Ideal results <i>(Figure)</i></p>	<p>Resultados ideais (Figura)</p>

<p>Predicted Results</p> <p><i>In order to confirm the results of the restriction digest, you would need to use a technique called gel electrophoresis. This technique uses a porous agarose gel to separate molecules by size and charge. Having a good understanding of predicted fragment sizes will allow you to correctly interpret if your enzymes cut the plasmids correctly and efficiently based on the size of the bands observed on the gel. This is what you predicted to find in your digested K+ and A+ results:</i></p> <p><i>a. pKAN-R: 0 bp and 0 bp</i></p> <p><i>b. pARA: 0 bp and 0 bp</i></p> <p><i>Once you have run your samples through gel electrophoresis, you can confirm whether you have produced the correct sized fragments using a DNA ladder. The ladder contains DNA fragments of known sizes for you to compare with the sample bands on the gel in order to estimate their size. If your digest was not set up at optimal conditions (optimal temperature and correct restriction buffer) you may see a ‘partial’ or ‘incomplete’ cut. The gel below shows the ideal gel electrophoresis result for the digest products.</i></p> <p><i>(Figure)</i></p> <p><i>Now that we have completed a restriction digest, which tubes can we combine to create new recombinant plasmids?</i></p> <p><i>(Type your answer here)</i></p>	<p>Resultados previstos</p> <p>Para confirmar os resultados da digestão de restrição, você precisaria usar uma técnica chamada eletroforese em gel. Esta técnica usa um gel poroso de agarose para separar as moléculas por tamanho e carga. Ter uma boa compreensão dos tamanhos de fragmentos previstos permitirá interpretar corretamente se suas enzimas cortam os plasmídeos de maneira correta e eficiente com base no tamanho das bandas observadas no gel. Isto é o que você previu encontrar em seus resultados de K+ e A+ digeridos:</p> <p>a. pKAN-R: 0 pb e 0 pb</p> <p>b. pARA: 0 pb e 0 pb</p> <p>Depois de passar suas amostras por eletroforese em gel, você pode confirmar se produziu os fragmentos de tamanho correto usando uma escada de DNA. A escada contém fragmentos de DNA de tamanhos conhecidos para você comparar com as bandas de amostra no gel, a fim de estimar seu tamanho. Se sua digestão não foi realizada em condições ideais (temperatura ideal e tampão correto), você pode ver um corte “parcial” ou “incompleto”. O gel abaixo mostra o resultado ideal da eletroforese em gel para os produtos digeridos.</p> <p>(Figura)</p> <p>Agora que concluímos uma digestão de restrição, que tubos podemos combinar para criar novos plasmídeos recombinantes?</p> <p>(Digite sua resposta aqui)</p>
--	--

Fonte: LabXchange, 2019.

3.6 Demais atividades

Após concluída a animação, o usuário é direcionado a uma etapa intitulada *Reflection* (Reflexão), no qual o mesmo realiza uma autoavaliação composta por seis perguntas. A última etapa é designada *Summary* (Sumário) e é apresentado um breve resumo do experimento com a discussão de alguns tópicos de aprendizado importantes para o aluno.

3.7 O ensino eletrônico (*e-learning*) e os pontos positivos e negativos observados na animação *Restriction enzyme digest*

O ensino eletrônico, também conhecido como *e-learning*, corresponde a um modelo de ensino apoiado em tecnologias de informação e comunicação, adotando recursos modernos e integrados à educação que conectam diferentes mídias para transmissão de dados de som, imagens, gráficos para professores e

alunos (Marawa'a, 2024).

A expansão do ensino eletrônico ocorreu de forma acelerada nos últimos anos, especialmente em decorrência da pandemia causada pela covid-19, que levou ao fechamento e restrições de instituições educacionais, sendo que os diferentes cursos da área da saúde tiveram que realizar a transição para as plataformas on-line e adotar estratégias de *e-learning* para garantir a continuidade do processo de ensino (Lewis, Popov, Fatima, 2024).

Este tipo de ensino pode apresentar algumas vantagens sobre muitas outras formas de entrega de educação, como por exemplo, o fato de disponibilizar conteúdos que podem ser acessados em qualquer dia, horário e local, bem como os fatores econômicos associados ao seu uso. Além disso, o *e-learning* permite abordar diferentes estilos de aprendizagem do aluno, como visual, auditivo e cinestésico (Greaves, 2017).

Vale mencionar também que a adoção de estratégias de ensino eletrônico também está atrelada à relativa boa aceitação na adoção destes recursos educacionais. Estudos indicam que alunos consideram bastante satisfatório o emprego de novas tecnologias na aquisição de conhecimento. Entretanto, vale ressaltar que o emprego de recursos de ensino eletrônico não garante o desenvolvimento de habilidades clínicas e técnicas seja eficaz, sendo necessário o monitoramento dos alunos (Abbasi et al., 2020).

Assim, antes da utilização de recursos de ensino eletrônico é necessário avaliar as principais vantagens e desvantagens relacionadas ao seu emprego para que a sua aplicação seja otimizada no processo de aprendizagem pelo aluno. Desta forma, durante a análise da animação *Restriction enzyme digest*, foram pontuados alguns fatores considerados positivos e negativos, os quais estão indicados no Quadro 4.

Quadro 4 – Pontos positivos e negativos observados na aplicação didática da animação *Restriction enzyme digest*

Variável	Pontos positivos	Pontos negativos
Conteúdo	A animação apresenta uma relação detalhada de material e etapas que explicam minuciosamente a técnica do DNA recombinante.	Alunos não habituados com a técnica ou que não conheçam alguns dos materiais de laboratório usados, podem ter dificuldade para compreender a técnica.
Idioma	A animação está disponível no idioma português.	A versão traduzida apresenta alguns erros de tradução.
Aplicação	A animação pode ser usada para preparar o aluno para futuras práticas demonstrativas para a técnica em questão ou pode ser um substituto para situações onde a instituição de ensino não apresenta material e equipamento necessários para a demonstração da técnica.	A animação não substitui a atividade prática demonstrativa da técnica, incluindo o desenvolvimento de habilidades no manuseio de equipamentos de laboratório. A presença de um supervisor pode ser imprescindível em algumas etapas da animação.

Custos	A animação é gratuita, sem necessidade de compra de softwares. Além disso, o seu uso requer equipamentos de baixa configuração, podem ser utilizando em celulares com acesso à internet.	A utilização da animação requer que o aluno possua recursos tecnológicos como computadores, celulares ou tablets, além de ser necessária a conexão com a internet.
Ambiente de ensino	O emprego da animação pode ser considerado um fator motivador por alguns alunos.	O uso individual da animação no computador não desenvolve habilidades sociais, nem estimula a interação do aluno com outros estudantes.
Nível de dificuldade	A animação apresenta diferentes níveis de dificuldade, podendo facilitar a sua utilização por usuários menos experientes.	A falta de práticas laboratoriais pode ser um empecilho para usuários iniciantes.
Conhecimento de informática	A animação é uma oportunidade para o uso de novas tecnologias pelo aluno. A animação não requer que o estudante possua conhecimento prévio de informática.	Em algumas situações, pode ser que o professor necessite de algum conhecimento de informática para resolver problemas no uso dos computadores ou outras tecnologias pelos alunos.

Fonte: Autores, 2024.

4 CONCLUSÕES

O ensino eletrônico tem sido amplamente adotado por instituições de ensino nos últimos anos tanto por conta do rápido desenvolvimento tecnológico, quanto pelas necessidades impostas durante a pandemia causada pela covid-19. Mesmo com o fim da pandemia, o uso de novas tecnologias de informação e comunicação continuam sendo utilizados por alunos e professores no ensino à distância e presencial, consagrando a sua utilização como recurso didático desta nova geração de docentes e discentes.

Neste contexto, foi desenvolvido a animação *Restriction enzyme digest*, que surgiu como uma proposta de auxiliar no ensino sobre a técnica do DNA recombinante, no intuito de suprir as necessidades de práticas presenciais durante a pandemia. Embora a animação não substitua uma prática laboratorial, considerando o desenvolvimento de habilidades como o uso de vidrarias de laboratório e os cuidados de biossegurança, a mesma pode ser empregada para preparar alunos melhor para futuras práticas.

Vale ressaltar que a animação pode ser um excelente modelo para o desenvolvimento de futuras simulações computacionais sobre outras técnicas laboratoriais empregadas nas mais variadas áreas de Análises Clínicas e pesquisa.

CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflito de interesse na presente pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, M. S.; AHMED, N.; SAJJAD, B.; ALSHAHRANI, A.; SAEED, S.; SARFARAZ, S.; ALHAMDAN, R. S.; VOHRA, F.; ABDULJABBAR, T. E-learning perception and satisfaction among health sciences students amid the COVID-19 pandemic. **Work**, v. 67, n. 3, p. 549-56, 2020. Disponível em: <https://content.iospress.com/articles/work/wor203308>. Acesso em: 03 jul. 2024.
- ANTON, B. P.; ROBERTS, R. J. Beyond restriction modification: epigenomic roles of dna methylation in prokaryotes. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 75, p. 129-49, 2021 Oct. 8. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-micro-040521-035040>. Acesso em: 09 abr. 2024.
- CASADESÚS, J.; SÁNCHEZ-ROMERO, M. A. DNA methylation in prokaryotes. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 1389, p. 21-43. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-11454-0_2. Acesso em: 09 abr. 2024.
- DI FELICE, F.; MICHELI, G.; CAMILLONI, G. Restriction enzymes and their use in molecular biology: An overview. **J. Biosci.**, v. 44, n. 2, p. 38, 2019 Jun. Disponível em: <https://www.ias.ac.in/article/fulltext/jbsc/044/02/0038>. Acesso em: 09 abr. 2024.
- GREAVES, R. F. E-learning: a model to support ongoing education. **E. J. I. F. C. C.**, v. 28, n. 3, p. 185-92, 2017 Oct. 10. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5655633/>. Acesso em: 03 jul. 2024.
- KHAN, S.; ULLAH, M. W.; SIDDIQUE, R.; NABI, G.; MANAN, S.; YOUSAF, M.; HOU, H. Role of recombinant DNA technology to improve life. **Int. J. Genomics.**, v. 2016, p. 2405954, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5178364/>. Acesso em: 13 mai. 2024.
- LABXCHANGE. Restriction enzyme digest, 2019 Jul. 19. Disponível em: https://www.labxchange.org/library/items/lb:LabXchange:1fb8b9d5:lx_simulation:1. Acesso em: 25 abr. 2024.
- LEWIS, K. O.; POPOV, V.; FATIMA, S. S. From static web to metaverse: reinventing medical education in the post-pandemic era. **Ann. Med.**, v. 56, n. 1, p. 2305694, 2024 Dec. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10810636/>. Acesso em: 03 jul. 2024.
- LOENEN, W. A.; DRYDEN, D. T.; RALEIGH, E. A.; WILSON, G. G.; MURRAY, N. E. Highlights of the DNA cutters: a short history of the restriction enzymes. **Nucleic Acids Res.**, v. 42, n. 1, p. 3-19, 2014 Jan. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3874209/>. Acesso em: 09 abr. 2024.
- LUKIW, W. J. Commentary: A tribute to Dr. Paul Berg (1926-2023) American biochemist, Nobel Laureate and discoverer of recombinant DNA technology, vaccine and genetic engineering. **Front. Cell Dev. Biol.**, v. 11, p. 1210530, 2023 May 18. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10233203/>. Acesso em: 13 mai. 2024.
- MARAWA A, A.; E-learning experiences among nursing students: a scoping review. **Adv. Med. Educ. Pract.**, v. 15, p. 369-79, 2024 May 3. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11075691/>. Acesso em: 03 jul. 2024.
- PETERSEN, K. V.; TESAURO, C.; HEDE, M. S.; PAGES, C.; MARCUSSEN, L. B.; KELLER, J. G.; BUGGE, M.; HOLM, K.; BJERGBÆK, L.; STOUGAARD, M.; WEJSE, C.; KNUDSEN, B. R. Rolling circle enhanced detection of specific restriction endonuclease activities in crude cell extracts. **Sensors (Basel)**, v. 22, n. 20, p. 7763, 2022 Oct. 13. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9608553/>. Acesso em: 09 abr. 2024.

ROBERTS, R. J.; VINCZE, T.; POSFAI, J.; MACELIS, D. REBASE: a database for DNA restriction and modification: enzymes, genes and genomes. **Nucleic Acids Res.**, v. 51, n. D1, p. D629-30, 2023 Jan. 6. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9825431/>. Acesso em: 09 abr. 2024.