Bioquimica Experimental – Aula 11/09/2020

Foram preparados três lisados de levedura com uma volume total de 5 mL, os quais foram utilizados para determinação da concentração de proteína total através do reagente de Bradford (Coomassie Blue G). Com base nos dados dos experimentos abaixo calcule a concentração de proteína total de cada lisado.

***Experimento 1***: Usando uma solução de albumina 1g/L foram preparados os tubos abaixo

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Tubo**  | **Solução de albumina (**u**L)**  | **Água (uL)**  | **Reagente de Bradford (mL)**  | **Absorbância em 595nm após 5 min de incubação**  |
| 1  | 0,5  | 99,5  | 1  | 0,002  |
| 2  | 1  | 99  | 1  | 0,001  |
| 3  | 2  | 98  | 1  | 0,1  |
| 4  | 4  | 96  | 1  | 0,18  |
| 5  | 6  | 94  | 1  | 0,32  |
| 6  | 8  | 92  | 1  | 0,4  |
| 7  | 10  | 90  | 1  | 0,51  |
| 8  | 12  | 88  | 1  | 0,6  |
| 9  | 14  | 86  | 1  | 0,7  |
| 10  | 16  | 84  | 1  | 1,7  |
| 11  | 18  | 82  | 1  | 0,9  |
| 12  | 20  | 80  | 1  | 1  |
| 13  | 30  | 70  | 1  | 1,02  |
| 14  | 40  | 60  | 1  | 1,05  |

***Experimento 2:*** Usando os três diferentes lisados foram preparados os tubos abaixo.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Tubo**  | **Lisado A (mL)**  | **Diluição prévia**  | **Reagente de Bradford (mL)**  | **Absorbância em 595nm após 5 min de incubação**  |
| 1  | 0,1  | Sem diluir  | 1  | 2  |
| 2  | 0,1  | 2x  | 1  | 0,55  |
| **Lisado B (mL)**  |
| 3  | 0,1  | 5x  | 1  | 0,32  |
| 4  | 0,1  | 10x  | 1  | 0,15  |
| **Lisado C (mL)**  |
| 5  | 0,1  | Sem diluir  | 1  | 0,32  |
| 6  | 0,1  | 200x  | 1  | 0,01  |

Dica: alguns valores de absorbância podem ser discrepantes e excluídos da análise.