

EX 4 – curva de Bradford corrigida

Homogeneizado de partida: Atividade enzimática = 80 mU/mL; atividade específica = 80mU/mg

Volume a purificar = 1,5 mL; número de U iniciais da purificação = 120 mU

Volume DEAE obtido = 1 mL; Atividade enzimática = 74 um/mL; número de U finais = 74 U (Recuperação= 61,7 %)
 atividade específica = 370 mU/mg (Enriquecimento = 4,6 vezes)

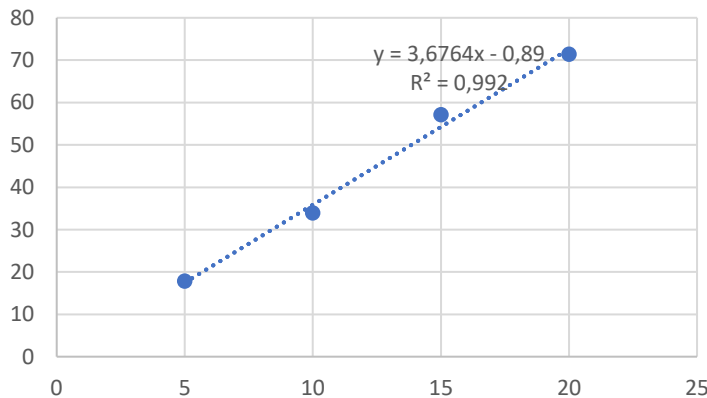
Concentração de proteínas= 0,2 mg/mL (como divulgada anteriormente)

Como muitos chegaram a 2 mg/mL, nos preocupamos e fomos buscar a origem da divergência. Acabamos verificando que no preparo da Lista de Exercícios de 2023 ocorreu um erro de digitação na **curva padrão** do Ex. 4, pois os valores de x deveriam ser 0; 0,005; 0,01 e 0,015. Portanto, agora sabemos que ela ficou diferente da curva do Ex. 4 original usada na resolução feita pelas professoras/monitora, que chegaram a 0,2 mg/mL.

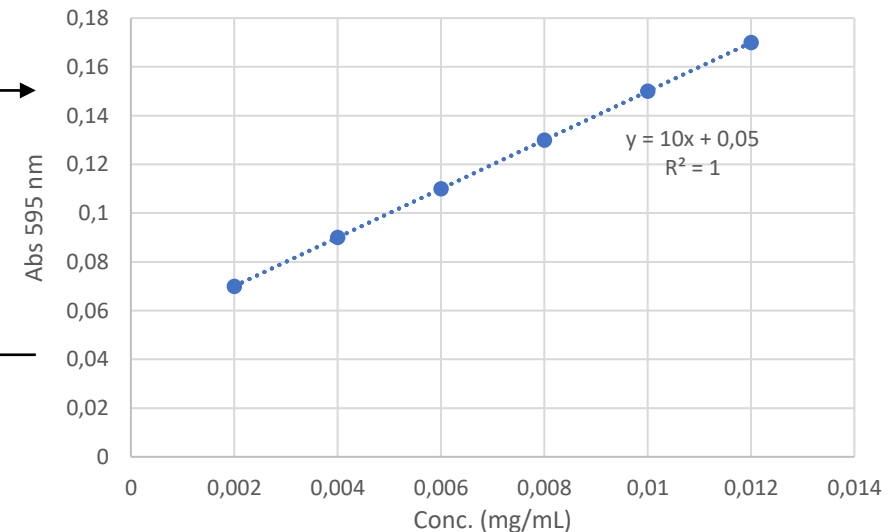
O importante é que entendemos porque não havia consenso com alguns grupos! Segue abaixo a curva correta e o raciocínio mais simples de ser feito para o cálculo (o mesmo do Ex 3 em que não se considerou 1mL do reagente de Bradford adicionado ou 1,1 mL):

Material DEAE	tempo	Abs 420 nm	nmol formado
50	5	0,1	17,86
50	10	0,19	33,9
50	15	0,32	57,1
50	20	0,4	71,4
		y = 0,0056 x	

n mol produto X tempo



C (mg/ml)	Abs
0,002	0,07
0,004	0,09
0,006	0,11
0,008	0,13
0,01	0,15
0,012	0,17



Abs lidas confiáveis	C(mg/mL)	diluição	Cfinal (mg/mL)
0,13	0,008	25	0,2
0,15	0,01	20	0,2

3,67 nmol/min em 0.050 ml (tabela fornecida)

= 74mU/mL

EX 4 - utilizando a curva dada na apostila

Homogeneizado de partida: Atividade enzimática = 80 mU/mL; atividade específica = 80mU/mg

Volume a purificar = 1,5 mL; número de U iniciais da purificação = 120 mU

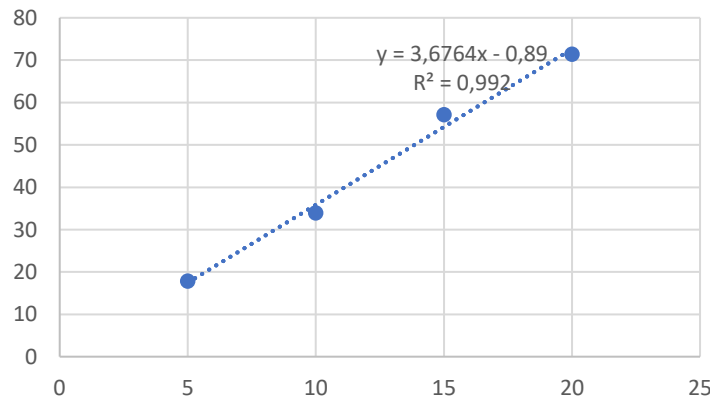
Volume DEAE obtido = 1 mL; Atividade enzimática = 74 um/mL; número de U finais = 74 U (Recuperação= 61,7 %)
 atividade específica = 37 mU/mg (Enriquecimento = não há!!!! e sim perda.)

Concentração de proteínas= 2 mg/mL

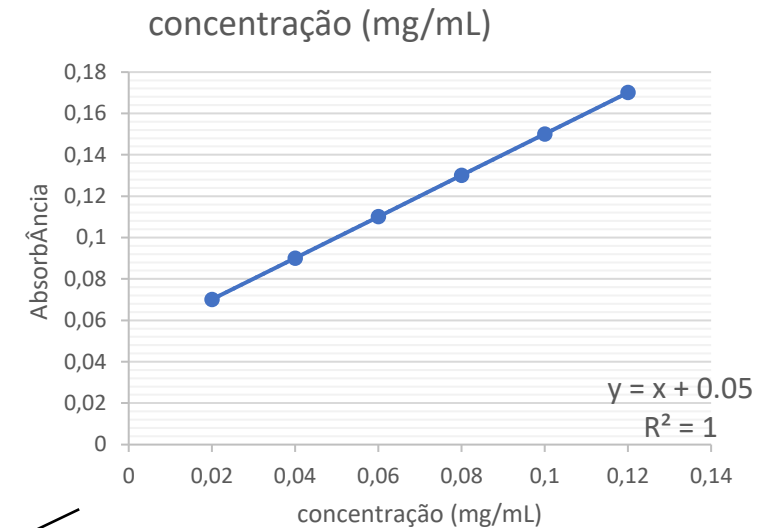
Calculo obtido usando-se a curva dada na apostila, onde NÃO haveria enriquecimento!!!

Material DEAE	tempo	Abs 420 nm	nmol formado
50	5	0,1	17,86
50	10	0,19	33,9
50	15	0,32	57,1
50	20	0,4	71,4
		y= 0,0056 x	

n mol produto X tempo



C (mg/ml)	Abs
0,02	0,07
0,04	0,09
0,06	0,11
0,08	0,13
0,1	0,15
0,12	0,17



Abs lidas confiáveis	C(mg/mL)	diluição	Cfinal (mg/mL)
0,13	0,08	25	2
0,15	0,1	20	2

3,67 nmol/min em 0.050 ml (tabela fornecida)
 = 74mU/mL