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.