

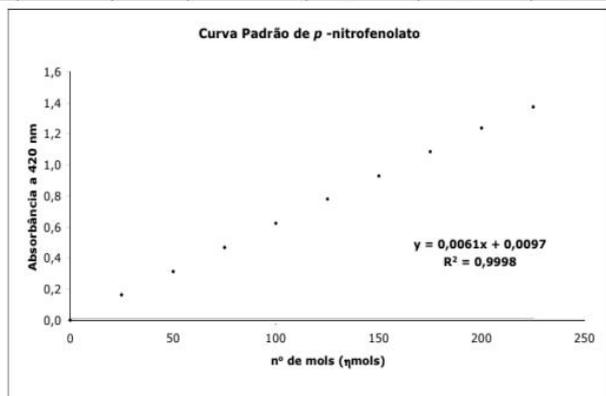
Exercícios dosagem de proteína e atividade enzimática

1. Proteínas podem ser detectadas diretamente por espectrofotometria de UV-Vis. Quais comprimentos de onda podem ser utilizados para isso e quais os grupos químicos envolvidos?
2. A seguinte tabela mostra os dados obtidos em um ensaio de Bradford, utilizando uma curva padrão de albumina e duas amostras (A e B), obtidas a partir de duas marcas diferentes de leite. Foram utilizados 0,2mL de cada amostra no ensaio. Determine a concentração de proteínas nas duas marcas de leite, em gramas por litro.

Amostra (mg)	Abs 1	Abs 2	Abs 3
0	0,059	0,072	0
1,5	0,557	0,499	0,558
1,25	0,441	0,460	0,432
1,0	0,348	0,474	0,324
0,75	0,300	0,240	0,291
0,5	0,205	0,249	0,227
0,25	0,108	0,113	0,110
0,125	0,052	0,044	0,073
Amostra A	0,526	0,550	0,489
Amostra B	0,193	0,272	0,331

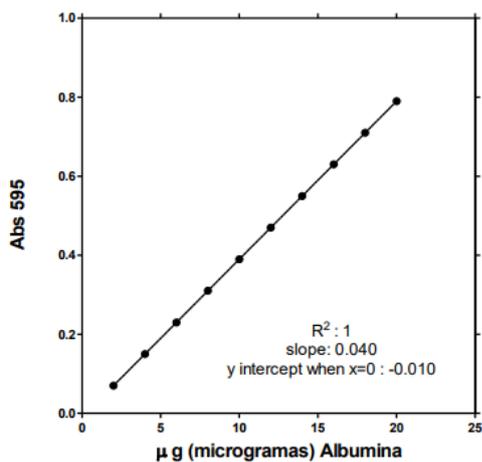
3. Como é preparada a curva padrão para as medidas de atividade enzimática?
4. Para o ensaio de atividade da alfa-glicosidase, por que é necessário incubar a reação a 30 °C? Por que é necessário coletar diferentes amostras com tempos de incubação diferentes?
5. (peso 4) Você preparou lisados a partir de diferentes linhagens de levedura. Em todas as amostras, você usou 5 g de células e obteve 10 mL de lisado. Esses lisados foram utilizados para ensaios enzimáticos, empregando p-nitrofenil α -glicosídeo (pNP α Glc) como substrato. Foram obtidos os resultados que se seguem. Paralelamente, uma Curva Padrão de p-nitrofenolato foi obtida:

linhagem	diluição	μL lisado diluído	μL água	μL pNP αglc	Abs 420 15 min	Abs 420 30 min	Abs 420 45 min	Abs 420 60 min
A	100x	100	100	200	0,050	0,100	0,150	0,200
B	50x	20	180	200	0,080	0,160	0,240	0,320
C	8x	50	150	200	0,250	0,500	0,750	1,000



As mesmas amostras foram submetidas à determinação de proteínas com o reagente de Bradford, obtendo-se os dados a seguir. Confeccionou-se também uma curva padrão usando albumina.

linhagem	diluição	μL lisado diluído	μL água	Reagente Bradford (mL)	Abs 595 15 min
A	20x	100	0	1	0,265
B	50x	20	80	1	0,320
C	10x	50	50	1	0,550



- Calcule a concentração de atividade enzimática no lisado de cada uma das linhagens de levedura.
- Calcule a atividade enzimática obtida por grama de células.
- Calcule a concentração de proteína em cada um dos lisados e a atividade específica de cada uma das amostra.
- Se o próprio lisado for utilizado industrialmente como fonte de enzima, qual das linhagens é melhor para produzir essa enzima em larga escala? Justifique as suas respostas.