

Ex 5

Resina de cromatografia de troca aniônica → carregada positivamente (+)

Em pH 9 → proteína muito retida na coluna = elui no final do gradiente salino → carga líquida –
→ $pI < 9$

Em pH 8 → proteína retida na coluna = elui no início do gradiente salino → carga líquida –
→ $pI < 8$

Em pH 6 → proteína não retida na coluna → carga líquida 0 ou + → $pI \geq 6$
portanto: $6 \leq pI \text{ da proteína} < 8$

Ex 6

- Eletroforese do tipo **SDS-PAGE** dos materiais de T e F contém proteína com migração relativa (mr) = PM ~30 Kda

- **Tabela 2 (F)** fornece: $v_t = 25\text{mL}$, PMs e Vol. Eluição de proteínas que servem de marcadores de PM. Aplicando os dados em $K_{av} = (v_e - v_0)/(v_t - v_0)$ para todas proteínas, exceto a de maior PM (excluída) que representa $v_0 = 7,53\text{mL}$:
Curva log PM (y) por K_{av} (x) → gráfico → reta descendente
Equação → $y = -2,6305x + 5,0841$; $r^2 = 0,0018$

Para a enzima (atividade celulásica) com $v_e = 9,58\text{ mL}$ e $K_{av} = 0,1173$ → $\log PM = 4,7754$ → $PM = 59.624$

Portanto, os resultados de F indicam que a celulase tem PM de ~ 60 Kda e deve ser formada por 2 subunidades idênticas com ~30 Kda, pois as condições utilizadas mantêm a proteína na estrutura nativa enquanto a SDS-PAGE não.

a) Recuperações: T = 20%; F = 80%

b) Atividades específicas:

T = 500 U/mg → 2000 U/mg (Enriq. = 4)

F = 2000 U/mg → 4000 U/mg (Enriq. = 2)

c) T porque leva a maior enriquecimento, ou seja, fornece material mais rico na enzima de interesse (com maior grau de pureza).