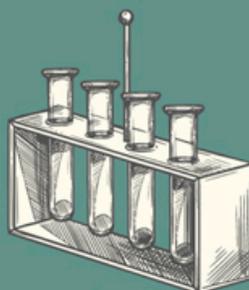
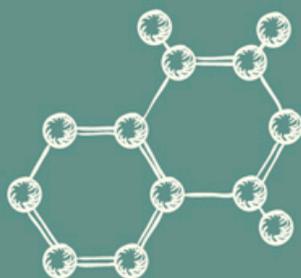
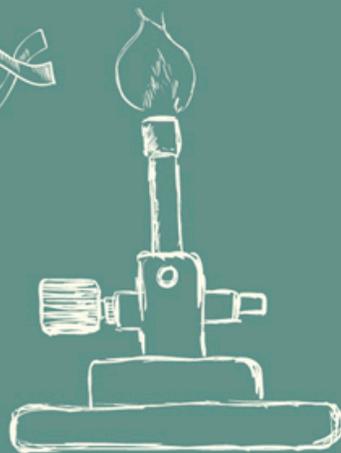


Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022

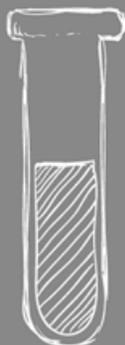
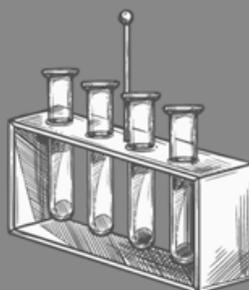
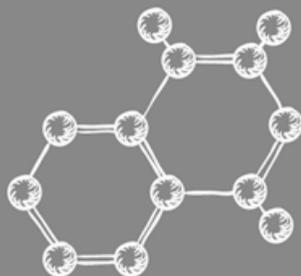
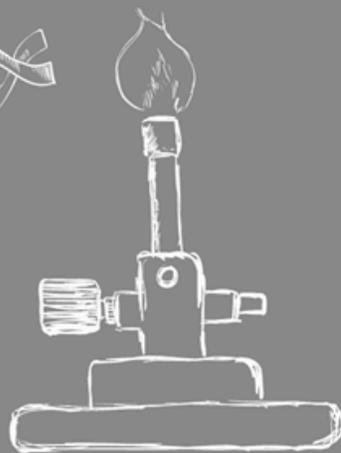


Paulo Afonso Granjeiro
Adriano Guimarães Parreira
Daniel Bonoto Gonçalves
José Antônio da Silva

- organizadores -

Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022



Paulo Afonso Granjeiro
Adriano Guimarães Parreira
Daniel Bonoto Gonçalves
José Antônio da Silva

- organizadores -

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Edição de arte da capa

Vinícius Souza Tarabal

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras

Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Universidade do Estado de Mato Grosso

Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados

Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. Edevaldo de Castro Monteiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Dr^ª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^ª Dr^ª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^ª Dr^ª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Práticas em bioquímica analítica

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Flávia Roberta Barão
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadores: Paulo Afonso Granjeiro
Adriano Guimarães Parreira
Daniel Bonoto Gonçalves
José Antônio da Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
P912	<p>Práticas em bioquímica analítica / Organizadores Paulo Afonso Granjeiro, Adriano Guimarães Parreira, Daniel Bonoto Gonçalves, et al. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.</p> <p>Outro organizador José Antônio da Silva</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-258-0709-6 DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.096221411</p> <p>1. Bioquímica. I. Granjeiro, Paulo Afonso (Organizador). II. Parreira, Adriano Guimarães (Organizador). III. Gonçalves, Daniel Bonoto (Organizador). IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 572</p>
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

PREFÁCIO

Medida pelos mais variados parâmetros, é incontestável a expansão das informações científicas produzidas nas últimas décadas. Em particular, a Bioquímica atravessa um período de aumento exponencial de conhecimentos.

Muitos desses conhecimentos têm sido aplicados, com uma velocidade e uma eficiência sem precedentes, na melhoria das condições de vida e bem-estar dos seres humanos. A saúde pública, a produção de alimentos, as matrizes energéticas, o cuidado com o meio ambiente e inúmeros outros setores da vida social têm sido beneficiados pelo contínuo fluxo das informações originadas nos laboratórios de pesquisa.

Para os profissionais envolvidos no ensino de Bioquímica, o crescimento vertiginoso dessa área agravou um crônico paradoxo curricular: o aumento do volume de informações e a manutenção do tempo destinado ao seu ensino.

Uma consequência perceptível desse conflito é a redução das atividades práticas de muitas disciplinas, em franca contradição com o fato de ser a Bioquímica uma ciência experimental. As atividades práticas de laboratório precisam, por isso, ser criteriosamente escolhidas para cumprir seu papel educativo.

A seleção dos experimentos de Bioquímica passa agora a ter um suporte valioso: três docentes da Universidade Federal de São João del Rei e um docente da Universidade Estadual de Minas Gerais, auxiliados por seus estudantes, reuniram, em um *e-book*, **Práticas em Bioquímica Analítica**, um conjunto de experimentos testados, aplicados rotineiramente e minuciosamente descritos.

Cada experimento ou módulo é iniciado com uma introdução teórica, seguida dos objetivos que devem ser alcançados pelos alunos e, naturalmente, pelos materiais e métodos a serem utilizados e o protocolo detalhado da atividade a ser realizada. Quando pertinente, é introduzida uma seção intitulada Curiosidades, com informações contextualizadas sobre o assunto em estudo. Para um aprofundamento no assunto, cada experimento é seguido de uma lista de referências bibliográficas. Estão contempladas as unidades programáticas principais do estudo de Bioquímica, precedidas por um excelente capítulo versando sobre segurança e boas práticas de laboratório.

Naturalmente, a totalidade de experimentos apresentados não poderia ser aplicada nas disciplinas comuns de diferentes habilitações – eles foram padronizados para o curso de Bacharelado em Bioquímica. Entretanto, trata-se de um rico repertório de atividades que poderão ser usadas de forma independente ou servir como modelo para adaptações e ajustes às condições de cada instituição e aos objetivos de cada docente.

Os docentes e alunos de Bioquímica ficam agradecidos à equipe autora das **Práticas em Bioquímica Analítica!**

Bayardo Baptista Torres

Professor Sênior - Departamento de Bioquímica. Laboratório de Ensino de Bioquímica. Universidade de São Paulo - USP

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

BIOSSEGURANÇA

Daniel Bonoto Gonçalves
Adriano Guimarães Parreira
Anderson Fernandes de Melo
Wanderson Duarte Penido
Anna Kelly Moura Silva
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Raquel Valinhas e Valinhas
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214111>

CAPÍTULO 2..... 13

PREPARO DE SOLUÇÕES

Daniel Bonoto Gonçalves
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Adriano Guimarães Parreira
Vinícius Souza Tarabal
Wanderson Duarte Penido
Júlia Antunes Tavares Ribeiro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214112>

CAPÍTULO 3..... 18

EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE SEMENTES

Jose Antonio da Silva
Maria Auxiliadora de Oliveira
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Klédna Constância Portes Reis
Anna Kelly Moura Silva
Júlia Antunes Tavares Ribeiro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214113>

CAPÍTULO 4..... 25

PRECIPITAÇÃO DE PROTEÍNAS DE SEMENTES

José Antonio da Silva
Maria Auxiliadora de Oliveira
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Diego Fernandes Livio
Raquel Valinhas e Valinhas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214114>

CAPÍTULO 5..... 32

DOSAGEM DE PROTEÍNAS – MÉTODO BRADFORD

José Antonio da Silva
Maria Auxiliadora de Oliveira
Nayara Lizandra Leal Cardoso
Diego Fernandes Livio
Raquel Valinhas e Valinhas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214115>

CAPÍTULO 6..... 37

MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

José Antonio da Silva
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves
Priscila Amaral Diniz
Anderson Fernandes de Melo
Diego Fernandes Livio
Anna Kelly Moura Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214116>

CAPÍTULO 7..... 45

DOSAGEM DE INIBIDORES DE PROTEASES

José Antonio da Silva
Luísa Ferreira da Cruz
Júlia Antunes Tavares Ribeiro
Diego Fernandes Livio
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214117>

CAPÍTULO 8..... 55

ENSAIO DE HEMAGLUTINAÇÃO

José Antonio da Silva
Júlia Antunes Tavares Ribeiro
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves
Vinícius Souza Tarabal
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves Gonçalves
Anderson Fernandes de Melo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214118>

CAPÍTULO 9..... 63

ELETROFORESE DE PROTEÍNAS EM GEL

José Antonio da Silva
Luísa Ferreira da Cruz
Tháís Paula Rodrigues Gonçalves

Priscila Amaral Diniz
Anna Kelly Moura Silva
Klédna Constância Portes Reis

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.0962214119>

CAPÍTULO 10..... 73

GRAU DE PURIFICAÇÃO E RENDIMENTO DE PROTEÍNAS

José Antonio da Silva
Paulo Afonso Granjeiro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141110>

CAPÍTULO 11..... 79

PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS

Paulo Afonso Granjeiro
Diego Fernandes Livio
Maria Auxiliadora de Oliveira
Adriano Guimarães Parreira
Vinícius Souza Tarabal
Tuânia Natacha Lopes Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141111>

CAPÍTULO 12..... 91

CARACTERIZAÇÃO DE LIPÍDIOS

Paulo Afonso Granjeiro
Diego Fernandes Livio
Maria Auxiliadora de Oliveira
Adriano Guimarães Parreira
Vinícius Souza Tarabal
Tuânia Natacha Lopes Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141112>

CAPÍTULO 13..... 103

PRODUÇÃO DE CARBOIDRATOS

Paulo Afonso Granjeiro
Raquel Valinhas
Heloísa Carneiro Colares
Tuânia Natacha Lopes Silva
Luísa Ferreira da Cruz
Felipe Ferreira Silva
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141113>

CAPÍTULO 14.....	112
CARACTERIZAÇÃO DE CARBOIDRATOS	
Paulo Afonso Granjeiro	
Heloísa Carneiro Colares	
Raquel Valinhas	
Luísa Ferreira da Cruz	
Felipe Ferreira Silva	
Pablo Felipe Rodrigues Gonçalves	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141114	
CAPÍTULO 15.....	121
EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS	
Daniel Bonoto Gonçalves	
Felipe Ferreira Silva	
Priscila Amaral Diniz	
Heloísa Carneiro Colares	
Klédna Constância Portes Reis	
Wanderson Duarte Penido	
Anderson Fernandes de Melo	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141115	
CAPÍTULO 16.....	129
CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS	
Daniel Bonoto Gonçalves	
Felipe Ferreira Silva	
Priscila Amaral Diniz	
Heloísa Carneiro Colares	
Klédna Constância Portes Reis	
Wanderson Duarte Penido	
Anderson Fernandes de Melo	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.09622141116	
RESPOSTAS DAS QUESTÕES.....	137
SOBRE OS ORGANIZADORES	147
SOBRE OS AUTORES	149

GRAU DE PURIFICAÇÃO E RENDIMENTO DE PROTEÍNAS

1. INTRODUÇÃO

José Antonio da Silva

Paulo Afonso Granjeiro

Como se avalia se o processo de purificação de uma proteína foi eficiente?

Para determinar o sucesso de um esquema de purificação de proteína, monitoramos cada etapa do procedimento determinando a atividade específica da mistura proteica e submetendo-a a uma análise por SDS-PAGE. Considere os resultados para a purificação de uma proteína fictícia, resumidos no quadro 13 (VOET; VOET, 2010).

Etapa	Proteína Total (mg)	Atividade Total (unidades)	Atividade Específica (unidade mg ⁻¹)	Rendimento (%)	Grau de Purificação
Homogeneização	295	5.300	18	100	1
Fracionamento salino	183	5.215	29	99	1,6
Cromatografia de filtração em gel	55	3.281	59	62	3,3
Cromatografia de troca iônica	45	3.021	67	57	3,7
Cromatografia de Afinidade	6,6	1.708	259	32	14,5

Quadro 13 – Quantificação de um protocolo de purificação de uma proteína fictícia.

Fonte: do próprio autor (2022).

Em cada etapa os seguintes parâmetros são medidos:

- **Proteína Total:** A quantidade de proteína presente em uma fração é obtida determinando-se a concentração de uma parte de cada fração, multiplicando pelo volume total da fração.
- **Atividade Total:** A atividade enzimática da fração é obtida medindo-se a atividade da proteína no volume da fração utilizada no ensaio, multiplicada pelo volume total da fração.
- **Atividade Específica:** este parâmetro é obtido dividindo-se a atividade enzimática total pela a quantidade total de proteínas presente em cada etapa de purificação. Esse índice aumenta após a purificação.
- **Grau de Purificação:** Estes parâmetros e a medida do aumento de pureza é obtido através da divisão das atividades específicas, calculada após cada etapa de purificação, pelas atividades específica do extrato inicial. Ou seja, indica quanto (rendimento em %) da proteína de interesse ativa presente no material de partida foi recuperada ao final da purificação. Um grau de perda é inerente do processo de purificação.

Também podem ocorrer perdas por desnaturação das proteínas devido às diferentes condições (pH, sais etc.) a que são submetidas nas diferentes etapas de purificação. Espera-se recuperar o máximo possível da proteína de interesse.

2 . OBJETIVOS

Determinar o rendimento e o grau de purificação do inibidor de proteínas extraídas de sementes.

3 . MATERIAIS

- a. Tubos de ensaio previamente lavados com álcool;
- b. Estantes para tubo ensaio
- c. Espectrofotômetro
- d. Pipetas de vidro de 1mL e 5 mL
- e. Pipetas automáticas
- f. Provetas de 25 ou 50 mL
- g. Beckers (25 e 50 mL)

4 . SOLUÇÕES

- a. Etanol 95%

- b. Reagente de Bradford;
- c. Solução de albumina do soro bovino (BSA);
- d. Tampão Tris-HCl 0,1M pH 8 e HCl 10-3 M;
- e. BAPNA (Cloridrato de N- α -Benzoil-L-arginina 4-nitroanilida) – SUBSTRATO estoque (438 mg de BAPNA em 10 mL de DMSO);
- f. Tripsina Bovina – ENZIMA estoque (5 mg/mL da enzima e diluir em 1 mM de HCl)
- g. Ácido Acético 30%;
- h. Amostra da extração salina (EB). Anotar o volume final e guardar 0,5 mL para as dosagens a diante;
- i. Amostra do FPLC das colunas de gel filtração (PII) e de troca iônica (DI). Anotar o volume final e guardar 0,5 mL para as dosagens a diante.

5 . PROCEDIMENTO

A. Ensaio para Determinar a Proteína Total

De acordo com o Quadro 14 pipetar os volumes de acordo com os reagentes.

Tubos	Concentração $\mu\text{g}/\mu\text{L}$	BSA (mL)*	Água (mL)	Bradford (mL)	**Abs _{595nm}
1,1',1''	Branco	-	0,5	4,5	
2,2',2''	10 μg / 5000 μL =2 $\mu\text{g}/1000 \mu\text{L}$	0,010 mL= 10 μg	0,490	4,5	
3,3',3''	20 μg / 5000 μL =4 $\mu\text{g}/1000 \mu\text{L}$	0,020 mL= 20 μg	0,480	4,5	
4,4',4''	40 μg / 5000 μL = 8 μg /1000 μL	0,040 mL= 40 μg	0,460	4,5	
5,5',5''	60 μg /5000 μL =12 μg /1000 μL	0,060 mL= 60 μg	0,440	4,5	
6,6',6''	80 μg /5000 μL =16 μg /1000 μL	0,080 mL= 80 μg	0,420	4,5	
7,7',7''	100 μg / 5000 μL =20 μg /1000 μL	0,100 mL= 100 μg	0,400	4,5	
		AMOSTRA	Água (mL)	Bradford (mL)	Abs_{595nm}
7,7',7''	EB 1/5	0,100	0,400	4,5	
8,8',8''	PII	0,100	0,400	4,5	
9,9',9''	DI	0,100	0,400	4,5	

*BSA: albumina soro bovino ** Abs: absorvência. Fonte: do próprio autor (2022).

Quadro 14 – Quadro para determinar proteína total.

1. Pipetar nos tubos os reagentes de acordo com a tabela acima. Após ensaio, agitar os tubos em vórtex, após 5 minutos em temperatura ambiente (escuro), e fazer a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de 595nm.

2. Achar média das triplicatas, subtrair do tubo 1 (controle) e grafar no programa (absorbância em Y e concentração de BSA em X).
3. Calcular a concentração de proteína em EB e nos picos da coluna usando a **Equação da Reta** e os dados do programa.
4. Caso a solução esteja muita concentrada, será necessário fazer as diluições apropriadas para leitura. Lembre-se de considerar as diluições quando calcular a concentração da amostra.

B. Ensaio para Determinar a Atividade de Inibição

De acordo com o Quadro 15 pipetar os volumes de acordo com os reagentes.

Tubos	Tampão Tris-HCl (μL)	H ₂ O (μL)	Enzima (μL)	Amostra (μL)	BAPNA* (mL)	Ácido Acético 30% (μL)	Abs 405 nm**
100%, 100%	250	200	50	-----	1	500	
B, B'	250	250	-----	-----	1	500	
EB	250	150	50	50	1	500	
PII	250	150	50	50	1	500	
DI	250	150	50	50	1	500	

* BAPNA: N-α-Benzoil-L-arginina 4-nitroanilida **Abs: absorbância.

Quadro 15 – Quadro para determinar atividade de inibição.

Fonte: do próprio autor (2022).

1. Colocar em sequência todos os componentes da tabela acima até o AMOSTRA. Pipetar 50 μL das amostras obtidas através cromatografia de gel filtração;
2. Incubar os tubos em banho-maria 37°C por 2 minutos e acrescentar o BAPNA nos tubos dentro do banho-maria;
3. Aguardar 20 minutos de reação e após esse tempo parar a reação utilizando-se ácido acético 30%;
4. Realizar a leitura dos tubos em espectrofotômetro a 405 nm;
5. A concentração de tripsina foi calculada de acordo com a equação 3 (*Trypsin assay worthington Biochemistry*). Uma unidade de inibição de 1 μg de tripsina sobre condições padronizadas de ensaio, e calculada Realizcomo descrito na equação 4.

$$\text{Tripsina} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = A_{280\text{nm}} \times 0,70 \quad (\text{Equação 3})$$

$$\text{UI} = \frac{(A_{405\text{nm}1} - A_{405\text{nm}2})}{(A_{405\text{nm}1} - A_{405\text{nm}0})} \times 2 \mu\text{g}. \quad (\text{Equação 4})$$

C. Preencher a tabela abaixo usando os dados dos ensaios:

ETAPA	VOLUME (mL)	PROTEÍNA (mg/mL)	ATIVIDADE (UI)	A.E. (UI/mg)	RENDIMENTO (%)	PURIFICAÇÃO (Vezes)
Extrato Bruto	102	295	5.300	18	100	1
Gel Filtração G-50	12					
DEAE-Sepharose	10					

Quadro 16 – Quadro com a purificação e rendimento.

Fonte: do próprio autor (2022).

6. QUESTÕES

01. Uma bioquímica conseguiu purificar uma proteína através da marcha de purificação a seguir. 1º passo: cromatografia de filtração em gel. 2º passo: cromatografia de troca aniônica. Após cada passo os tubos que continham a atividade de inibidor de tripsina foram reunidos.

- O que significa atividade específica?
- O que significa o cálculo do rendimento e grau de purificação para a proteína?

7. CURIOSIDADES

Processo de purificação de imunoglobulina G (IgG) com alto desempenho e rendimento. A imunoglobulina G (IGG) é uma proteína sanguínea com papel importante na resposta imune humana e animal em reconhecer agentes estranhos ao organismos. A IgG pode ser obtida a partir do plasma ou soro sanguíneo humano ou animal ou pode ser produzida através da tecnologia de hibridomas e da tecnologia do DNA recombinante. É reconhecida como uma produto chave dentre os hemoderivados decorrente da crescente demanda em aplicações terapêuticas. Além dessa importante aplicação, a IgG é muito utilizada em kits de diagnósticos e como ligante em cromatologia de imunoafinidade para purificação de proteínas e antígenos. Para todas as aplicações é de suma importância que se tenha um grau de pureza elevado. Desenvolvido na Unicamp um inédito processo de purificação da IgG a partir de soluções brutas de soro ou de plasma sanguíneo humano ou animal, resultando em alto grau de pureza. Durante o processo é utilizado adsorventes de baixo custo para minimizar o número de etapas e eliminar problemas da técnica de cromatografia de afinidade tais como perda da capacidade do adsorvente com o tempo de utilização, toxicidade em caso de desprendimento do ligante da matriz cromatográfica,

perda da atividade biológica da IgG devido a eluição realizada em valores de baixo pH e estocagem do adsorvente com menor possibilidade de contaminação bacteriana. Elimina-se também com este processo a combinação de técnicas de precipitação de etanol e cromatografia de troca-iônica, utilizando para isso, adsorventes com ligantes não biológicos imobilizados.

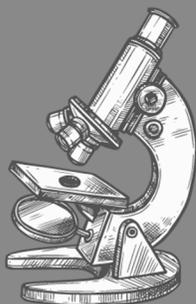
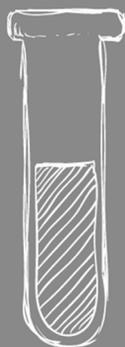
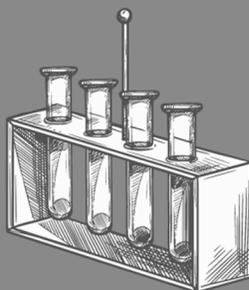
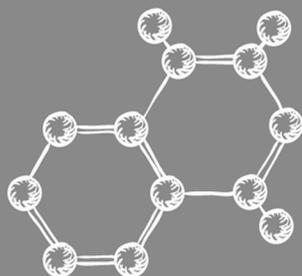
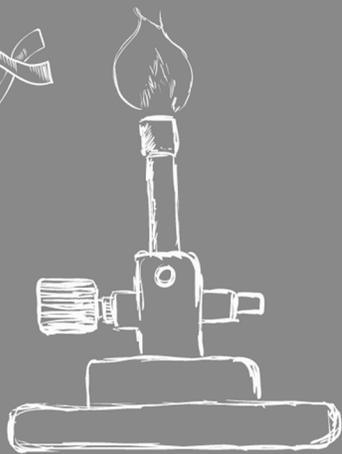
REFERÊNCIAS

POMPEU, D. G.; MATTIOLI, M. A.; RIBEIRO, R. I. M. A.; GONÇALVES, B.; MAGALHAES, J. T.; MARANGONI, S.; SILVA, J. A.; GRANJEIRO, P. A. Purification, partial characterization and antimicrobial activity of Lectin from *Chenopodium quinoa* seeds. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 35, n. 4, p. 696-703, 2015.

VOET, D. & VOET J. G. *Bioquímica*. 4a Edição, Editora Artmed, Porto Alegre-RS, 2011.

Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022



www.atenaeditora.com.br 

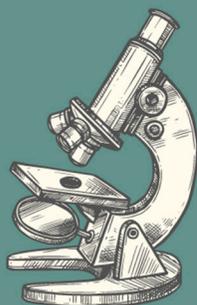
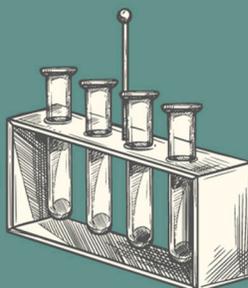
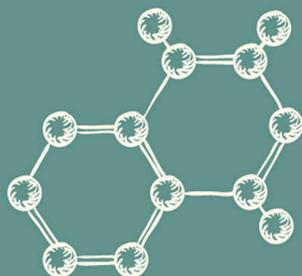
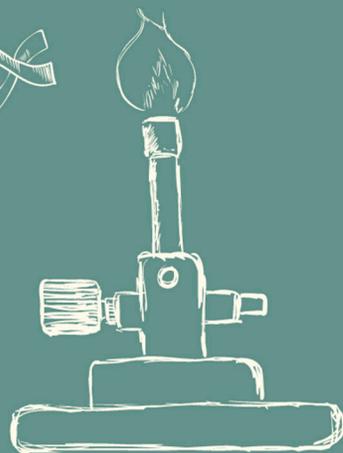
contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

Práticas em Bioquímica Analítica

Atena
Editora
Ano 2022



www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 