

Ficha de exercícios 3 – BMC – Módulo de Biologia Molecular

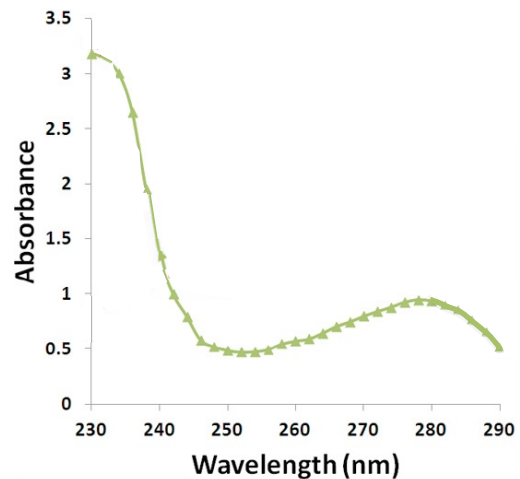
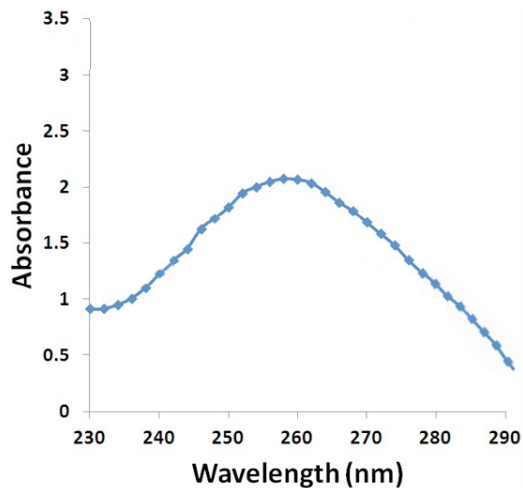
1. As bases nucleotídicas absorvem radiação a ___ nm, enquanto que os aminoácidos aromáticos absorvem radiação a ___ nm.

- a. 280, 260.
- b. 260, 280.
- c. 280, 280.
- d. 260, 260.
- e. Nenhuma das hipóteses está correta.

2. Indique quais as razões de absorvância na gama dos raios ultravioleta que lhe permitem definir a pureza de uma amostra de DNA.

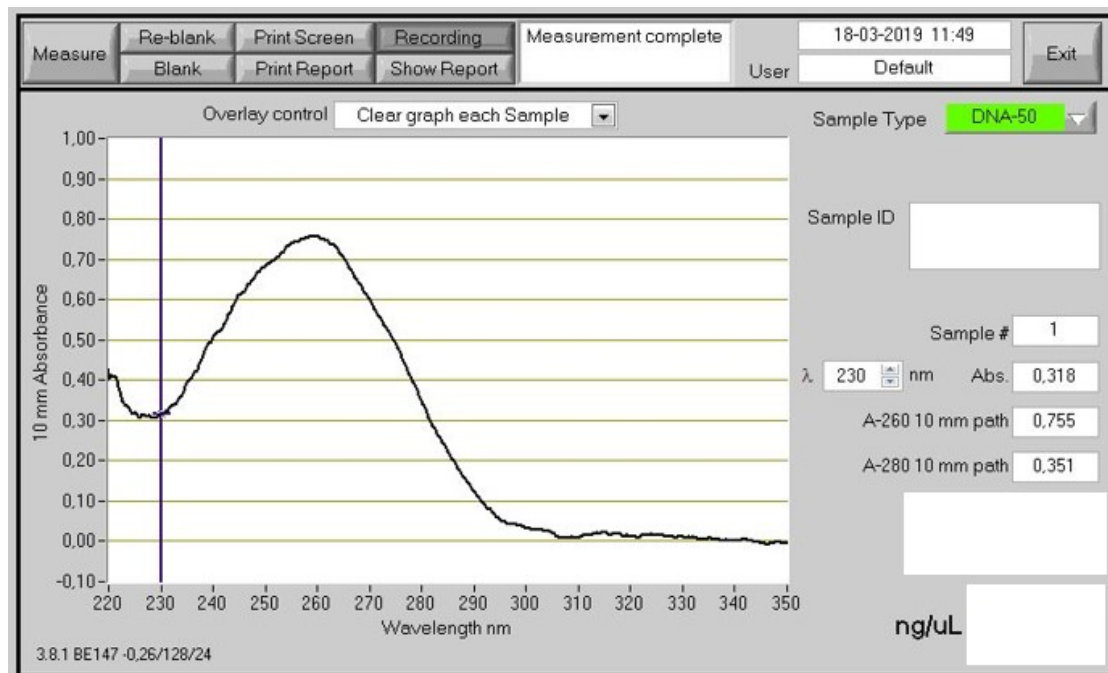
- a. A260/A320 e A280/A260
- b. A280/A260 e A260/A230
- c. A230/A260 e A260/A280
- d. A260/A320 e A230/A260
- e. A260/A280 e A260/A230

3. Qual dos espectros apresentados deverá ter sido obtido a partir de uma amostra de DNA?



4. O que deverá acontecer ao espectro se a amostra for fervida? Desenhe um novo espectro na figura do exercício anterior.

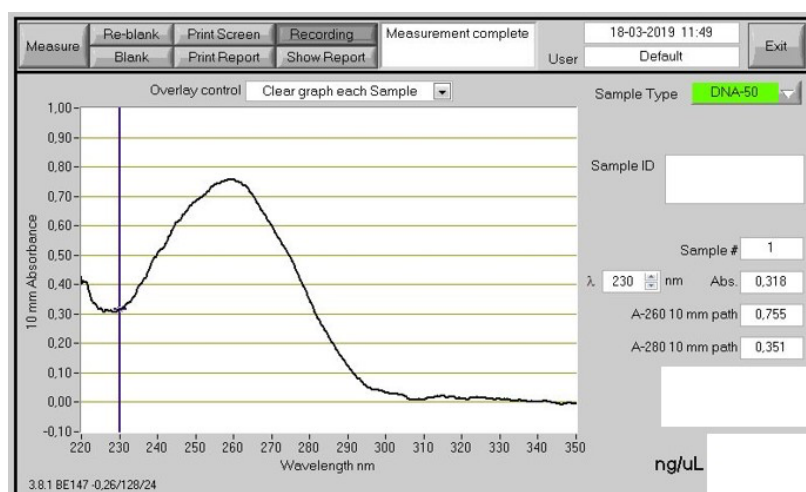
5. Considerando o espectro de absorvância abaixo, indique qual o valor das razões de absorvância A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230} :

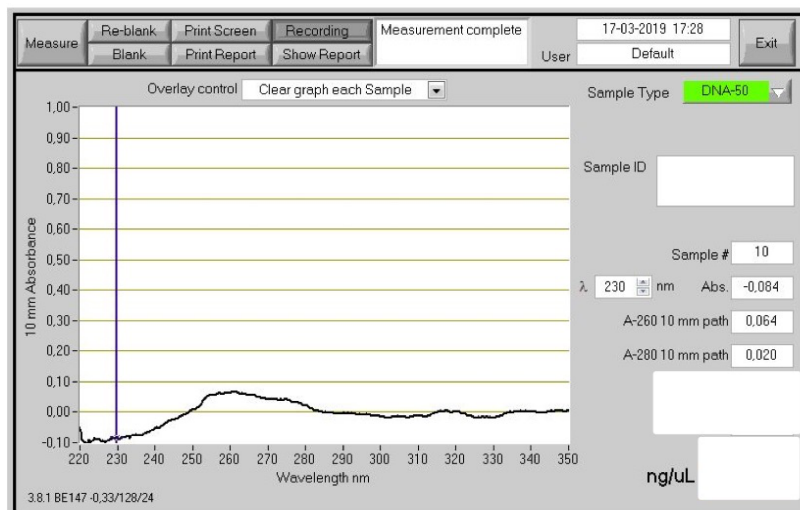


Selecione uma opção de resposta:

- a. $A_{260}/A_{280} = 0,46$ e $A_{260}/A_{230} = 0,42$
- b. $A_{260}/A_{280} = 2,15$ e $A_{260}/A_{230} = 2,37$
- c. $A_{260}/A_{280} = 0,46$ e $A_{260}/A_{230} = 2,37$
- d. $A_{260}/A_{280} = 2,15$ e $A_{260}/A_{230} = 0,42$
- e. nenhuma alínea está correta

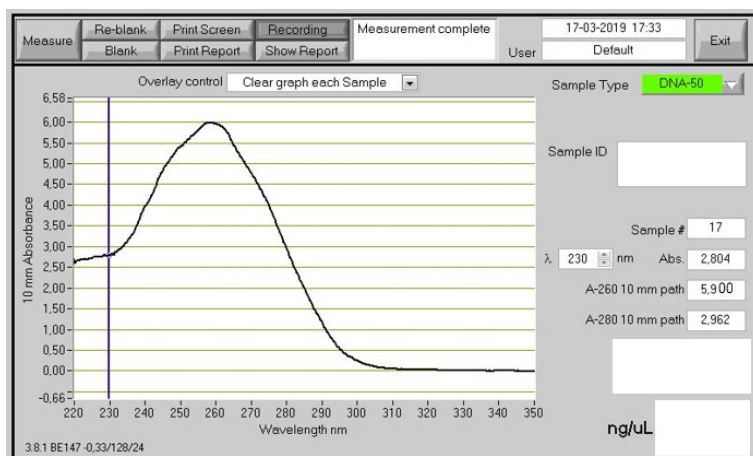
6. Relativamente aos espectros de absorvância abaixo, indique qual a opção correta:





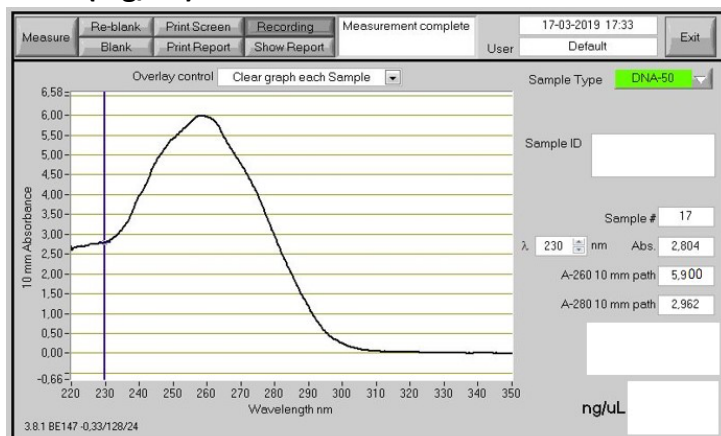
- A amostra tem muito pouco DNA.
- Os valores A260/A280 e A260/A230 indicam que o DNA está contaminado com proteínas com resíduos aromáticos.
- A amostra de DNA está contaminada com restos celulares.
- A amostra de DNA está contaminada com DNA em cadeia simples ou nucleotídeos livres.
- Os valores das razões de A260/A280 e A260/A230 estão de acordo com os critérios de pureza e o DNA plasmídico está puro.

7. No caso do espectro de absorvância obtido por espectrofotometria de UV de uma amostra de DNA plasmídico, indique qual a concentração de DNA plasmídico da amostra inicial, considerando que a leitura diz respeito a uma diluição de 1:20 da amostra inicial e que o coeficiente de extinção molar de DNA em cadeia dupla é de $20 \text{ mg/ml}^{-1}\text{cm}^{-1}$ e $d=1 \text{ cm}$.



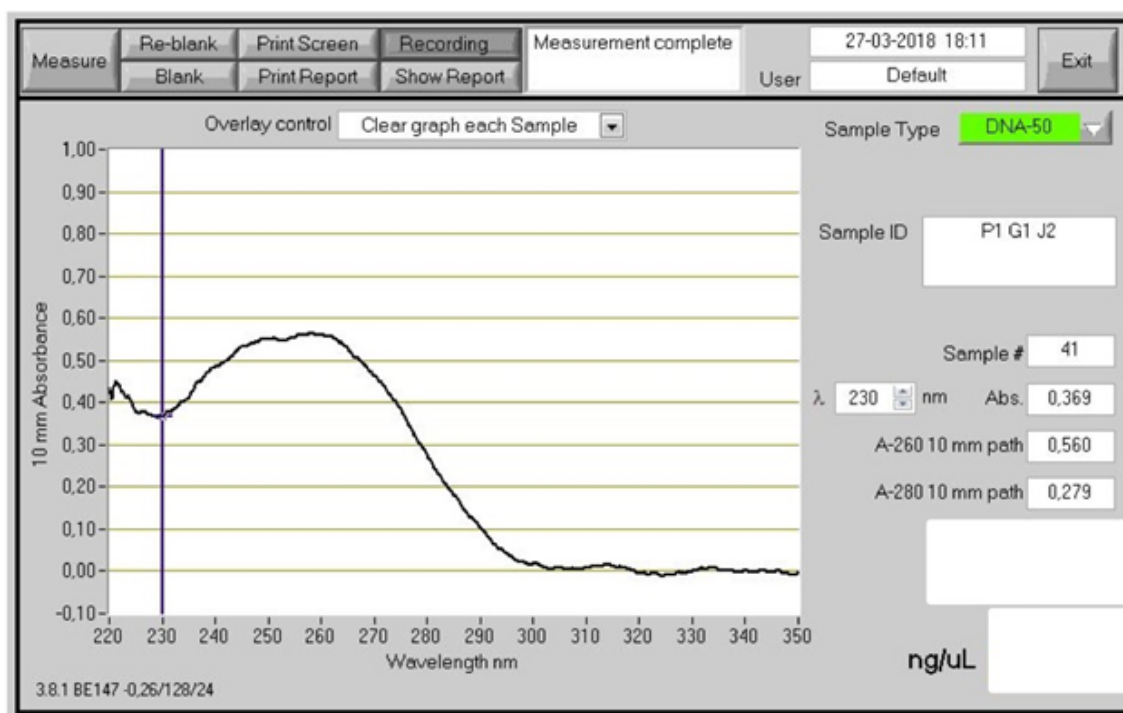
- 2360 ng/μl
- 11,4 ng/μl
- 5900 ng/μl
- 59 ng/μl
- 23,6 ng/μl

8. Relativamente ao espectro de absorvância obtido por espectrofotometria de UV de uma amostra de DNA plasmídico, indique qual o volume necessário de solução de DNA plasmídico inicial de forma a digerir ~2 mg de DNA, considerando que a leitura diz respeito a uma diluição de 1:100 e que o coeficiente de extinção molar de DNA em cadeia dupla é de $20 \text{ (mg/ml)}^{-1}\text{cm}^{-1}$ e $d=1 \text{ cm}$.



- a. 0,68 μL
- b. 6,8 μL
- c. 68 μL
- d. 59 μL
- e. 5,9 μL

9. Considerando o espectro de absorvância no UV de uma amostra de DNA obtida pelo método de extração fenólica, indique qual a explicação mais plausível para os valores de absorvância obtidos e justifique a sua escolha.



- a) Durante o protocolo de extração, a seguir à adição de etanol absoluto e centrifugação, o pellet soltou-se e não se conseguiu recuperar.
- b) A extração foi realizada com fenol equilibrado a pH 4.
- b) A extração foi realizada com fenol equilibrado a pH 7.
- c) Após o passo de adição da solução fenólica, a mistura não foi homogeneizada de forma eficiente, não havendo extração total da proteína.
- d) Após o passo de precipitação do DNA não se procedeu à evaporação total do álcool.

10. Considerando as razões de pureza de uma amostra de DNA, analise a seguinte observação experimental:

Amostra 1: DNA cromossómico extraído utilizando um kit comercial, a partir de uma cultura de *E. coli*.

$A_{260}/_{280} = 1,6$; $A_{260}/_{230} = 1,3$

Amostra 2: Amostra 1, submetida a um passo de purificação fenólica (para remoção de proteínas contaminantes).

$A_{260}/_{280} = 1,99$; $A_{260}/_{230} = 1,85$

Amostra 3: Amostra 2, à qual se adicionou uma amostra da proteína XPTO pura.

$A_{260}/_{280} = 1,99$; $A_{260}/_{230} = 1,6$

O que pode inferir acerca da proteína XPTO?