

BMC – Exercícios

Felipe B. Pinto 61387 - MIEQB

16 de novembro de 2022

Conteúdo

Grupo I – Lista	2	Questão 7	6
Questão 1	2	Questão 8	7
Questão 2	2	Questão 9	8
Questão 3	3	Questão 10	9
Questão 4	3	Grupo II – Extra	10
Questão 5	4	Questão 1	10
Questão 6	5		

Grupo I

Questão 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.

RS: b.

Questão 2

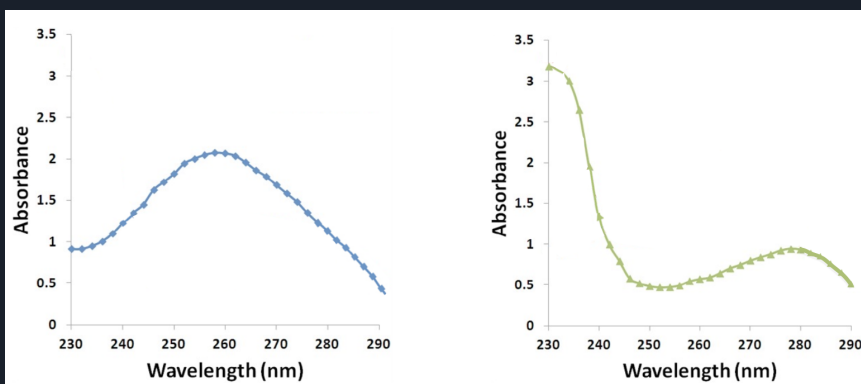
Indique quais as razões de absorvância na gama dos raios ultravioleta que lhe permitem definir a pureza de uma amostra de DNA.

- a. A_{260}/A_{320} e A_{280}/A_{260} d. A_{260}/A_{320} e A_{230}/A_{260}
- b. A_{280}/A_{260} e A_{260}/A_{230}
- c. A_{230}/A_{260} e A_{260}/A_{280} e. A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230}

RS: e.

Questão 3

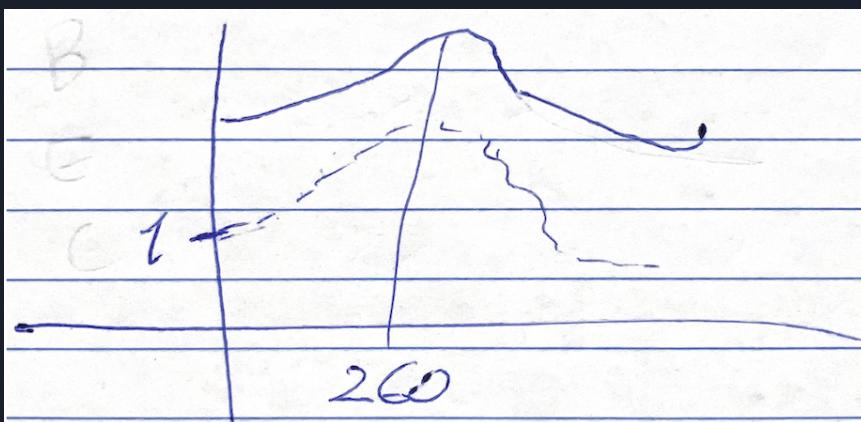
Qual dos espectros apresentados deverá ter sido obtido a partir de uma amostra de DNA?



RS: Primeiro gráfico por possuir um pico próximo de 260 nm

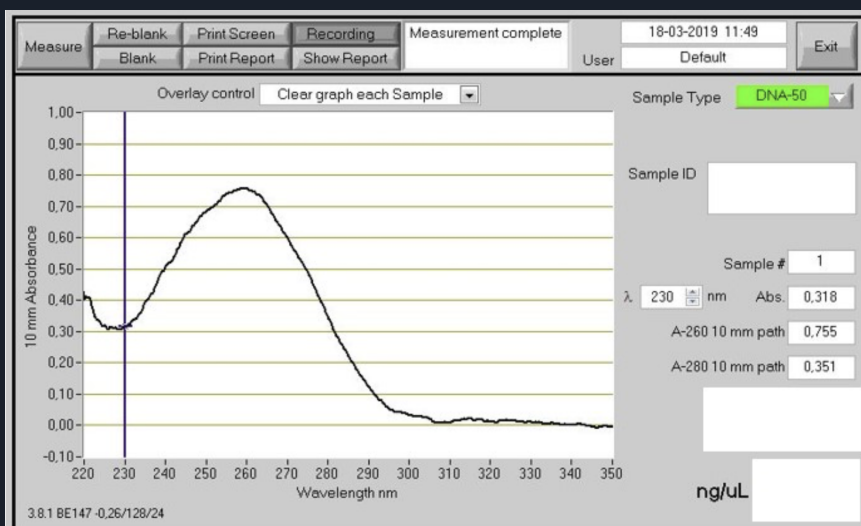
Questão 4

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



Questão 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

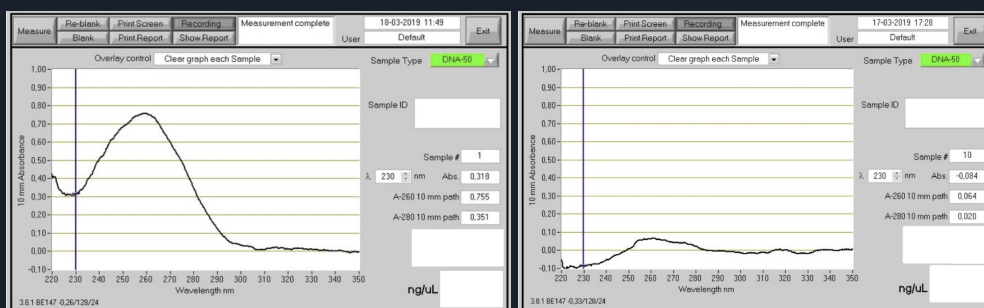
RS

$$A_{260}/A_{280} \cong 0.755/0.351 \cong 2.15 \quad A_{260}/A_{230} \cong 0.755/0.318 \cong 2.37$$

RS: b.

Questão 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.

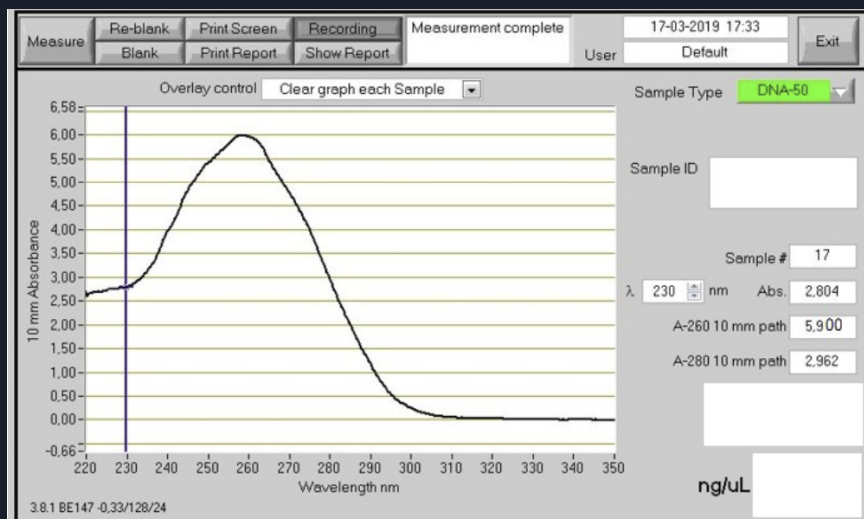
RS

RS 1o Gráfico: d.
(fazer as razões)

RS 2o Gráfico: a.

Questão 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 $d = 1 \text{ cm}$.



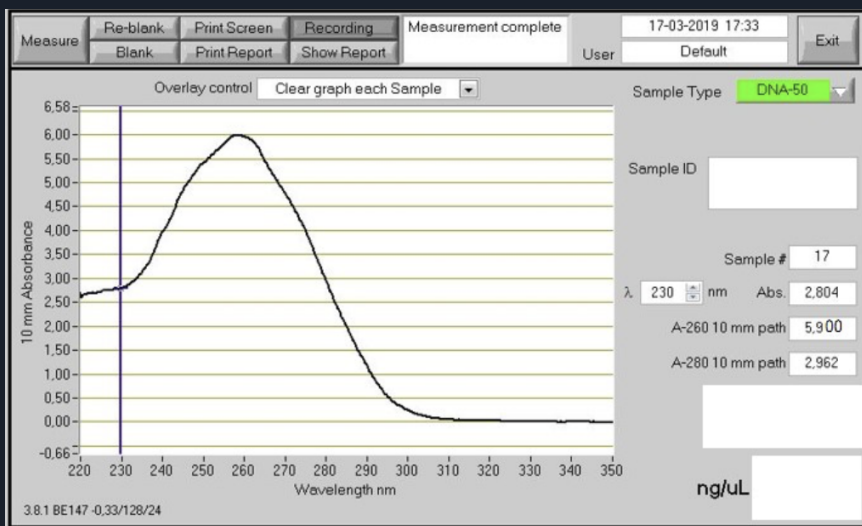
- a. 2360 ng/μL c. 5900 ng/μL e. 23.6 ng/μL
b. 11.4 ng/μL d. 59 ng/μL

RS C.

$$C = C_i 20 = \frac{A}{L \varepsilon} 20 \cong \frac{5.9}{1 * 10^{-2} * 20 * 10^{-3}} 20 = \frac{5.9}{20} 20 * 10^{-5} = 5.9 * 10^{-5}$$

Questão 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

c. 68 μL

e. 5.9 μL

b. 6.8 μL

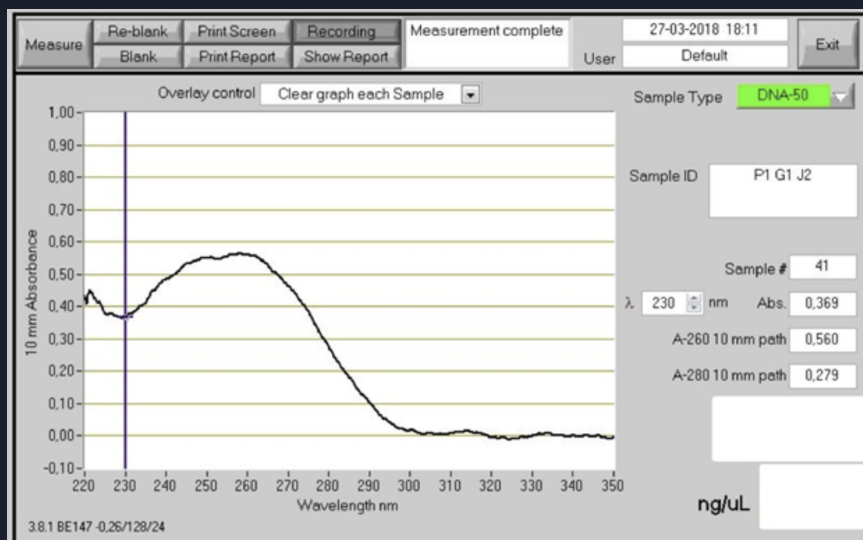
d. 59 μL

RS C.

$$\begin{aligned}
 Vol &= m/C = m \left(\frac{A}{L \varepsilon} * 100 \right)^{-1} = \frac{m L \varepsilon}{A * 100} = \\
 &= \frac{20 * 10^{-2} * 1 * 10^{-3} * 20 * 10^{-6}}{5.900 * 100} \cong 67.80 \text{ E-9}
 \end{aligned}$$

Questão 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.



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

Questão 10

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

Amostra 1: DNA cromossômico 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.

$$A_{260}/280 = 1.99; A_{260}/230 = 1.6$$

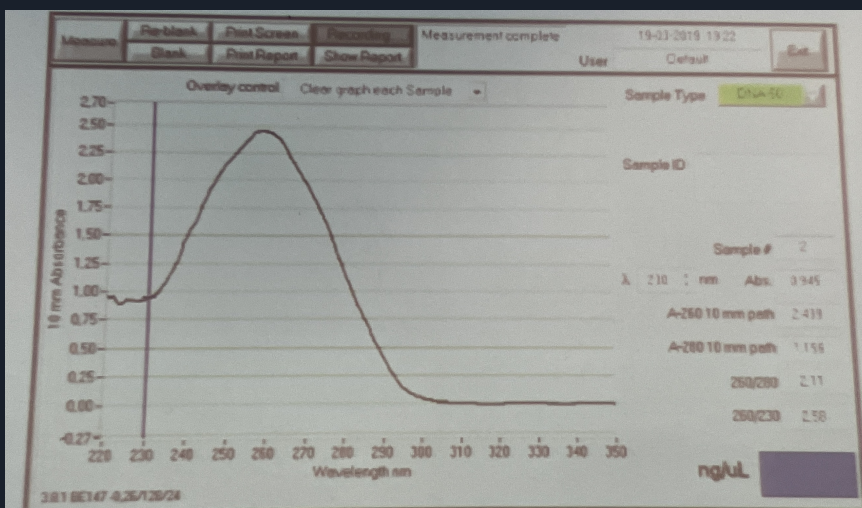
O que pode inferir acerca da proteína XPTO?

Grupo II

Questão 1

Is the sample pure or contaminated?

Sample concentration in mg/mL ?



RS

$A_{260}/A_{280} = 2.1 > 2.0$ e $A_{260}/A_{230} = 2.58 > 2.2$ \therefore A amostra está contaminada

$$C = \frac{A}{L \epsilon} * 100 = \frac{2.439}{1 * 10^{-2} * 20 * 10^{-6}} * 100 = \frac{2.439}{20} * 10^{-6} \cong$$

$$\cong 121.95 \text{ E-9 kg/L} = 121.95 \text{ E-6 mg/mL}$$