



**DBQ4048 - SEPARAÇÃO, PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE  
CONSTITUINTES CELULARES**

**Carga horária:** 60 h/a - 2 créditos (60 h/a práticas)

**Ementa:** Separação de organelas e frações subcelulares de hepatócitos, por centrifugação e ultracentrifugação; purificação em gradiente de percol e sacarose. Caracterização e determinação do grau de pureza das frações subcelulares, através de medidas de atividades de enzimas específicas.

**Programa:** Princípios das técnicas de centrifugação; o funcionamento do equipamento e suas aplicações. Separação de constituintes celulares a partir de fígado de rato (mitocôndrias, microsossomos e vesículas de membrana plasmática de origem canalicular e sinusoidal), utilizando técnicas de centrifugação e ultracentrifugação diferencial ou em gradiente de percoll e sacarose. Determinação do conteúdo protéico e identificação e medida do grau de pureza das frações por meio de análises de enzimas marcadoras.

**Bibliografia:**

BRACHT, A; ISHII-IWAMOTO, E.L & SALGUEIRO-PAGADIGORRIA, C.L 4. Técnica de centrifugação e fracionamento celular. In: Métodos de Laboratório em Bioquímica. Bracht, A & Ishii-Iwamoto, EL (Ed). Manole Ltda, SP, Brasil, 2003. pp 77-101.

BRACHT, A; SUZUKI-KEMMELMEIER, F; SALGUEIRO-PAGADIGORRIA, CL; CONSTANTIN, J; YAMAMOTO, NS & ISHII-IWAMOTO, EL 5. Enzimas. In: Métodos de Laboratório em Bioquímica. Bracht, A & Ishii-Iwamoto, EL (Ed). Manole Ltda, SP, Brasil, 2003. pp 103-138.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A. L. & RANDALL, R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:131-138, 1982.

LOTEN, E.G & REDSHAW-LOTEN, J.C. Preparation of rat liver plasma membranes in a high yield. Analytical Biochemistry, 154:183-185, 1986.

ARMSTRONG, J. M.C.D. & NEWMAN, J.D. (1985) A simple, rapid method for the preparation of plasma membranes from liver. Arch. Biochem. Biophys. 238:619-628, 1985.

**Docente responsável:** Clairce Luiza Slagueiro Pagadigorria

**Departamentalização da disciplina:** Departamento de Bioquímica