

## Roteiro Aula de Purificação de Proteínas

Relatório para entregar precisa conter : Numero do grupo, nome dos integrantes e número da proteína da default\_mixture, e complex\_mixture

Acessar Site:

[http://www.agbooth.com/pp\\_java/](http://www.agbooth.com/pp_java/)

Clique em:

[free online version](#)

## Protein Purification

- **Start**

- Start from beginning...
- Abandon scheme and start again
- Abandon this step and continue

- Start from stored material...
- Store your material...

- **PAGE**

- 1-Dimensional PAGE
- 2-Dimensional PAGE

- Coomassie Blue
- Immunoblot

- Hide gel

- **Separation**

- Ammonium sulfate fractionation...
- Heat treatment...
- Gel filtration...
- Ion exchange chromatography...
- Hydrophobic interaction chromatography...
- Affinity chromatography...

- **Fractions**

- Assay enzyme activity
- Dilute fractions x2
- Fractions pool

- **Start**

Start from beginning...

Default\_mixture : Purificar a proteína equivalente ao número do grupo +1

Complex\_mixture: Purificar a proteína equivalente ao número do grupo +20

Anotar as características da enzima

- **PAGE**

- **2 - dimensional PAGE**

Anotar numero de spots, intervalo de pH e de PM 9 spots pH 5 a 8.5, PM 10 a 80 K.

- **Separation**

- **Ion exchange chromatography**

pH > PI, proteína negativamente carregada

pH < PI, proteína positivamente carregada

DEAE cellulose , com gradient de sal, em pH 7

- **Fractions**

- **Assay enzyme activity**

Fractions pool

- **PAGE**

- **2 dimensional PAGE**

Anotar numero de spots, intervalo de pH e de PM: 2 spots pH 7 a 8, PM 10 a 70 K.

- **Separation**

- **Ion exchange chromatography**

CM-cellulose

Salt gradient (explicar o motivo da escolha da resina e do pH)

Anotar pH e concentraçao de sal

- **PAGE**

- **2 dimensional PAGE**

- Anotar numero de spots, intervalo de pH e de PM: 2 spots pH 7 a 8, PM 10 a 70 K.

- **Por fim, copiar a tabela com todos os passos, informar o PM e PI da enzima**