

Roteiro Aula de Purificação virtual de Proteínas

Os grupos devem escolher uma proteína correspondente ao número do grupo na aba **default mixture** e outra na aba **complex mixture** para desenvolver o processo de purificação.

O Relatório para entregar precisa conter: Número do grupo, nome dos integrantes e número da proteína da default_mixture, e da complex_mixture, as etapas de purificação de cada uma das proteínas bem como a atividade específica da enzima inicial, a atividade recuperada em cada uma das etapas de purificação e atividade da enzima purificada e seu grau de pureza, final do processo.

Acessar Site:

http://www.agbooth.com/pp_java/

Clique em:

[free online version](#)

Protein Purification

Abas do programa:

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

Desenvolvendo a purificação

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 concentracao 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