

## Protocollo di cristallizzazione

### Soluzioni fornite

- 1) soluzione tampone: Na-acetato (pH 4.6) alla concentrazione 1M
- 2) soluzione precipitante: NaCl alla concentrazione del 20% (w/v)
- 3) soluzione proteica: lisozima disciolto in H<sub>2</sub>O alla concentrazione di 40 mg/ml

### Preparazione delle prove di cristallizzazione

**A)** Pipettare 0.5 ml di soluzione di cristallizzazione (composta da soluzione precipitante + soluzione tampone + H<sub>2</sub>O) in 2 pozzetti della piastra di cristallizzazione seguendo lo schema sotto riportato:

<b>1</b>	<b>2</b>
<b>NaCl</b> (200 $\mu$ l)	<b>NaCl</b> (225 $\mu$ l)
<b>Tampone pH 4.6</b> 50 mM (25 $\mu$ l)	<b>Tampone pH 4.6</b> 50 mM (25 $\mu$ l)
<b>H<sub>2</sub>O</b> (275 $\mu$ l)	<b>H<sub>2</sub>O</b> (250 $\mu$ l)

Qual è la concentrazione dell'NaCl nella soluzione 1 e 2 ?

Usare un puntale diverso per le diverse soluzioni

**B)** Mescolare con un puntale le soluzioni nei pozzetti e preparare un vetrino coprioggetto

**C)** Pipettare 2  $\mu$ l di soluzione proteica sul centro del vetrino coprioggetto

**D)** Aggiungere alla soluzione proteica 2  $\mu$ l di soluzione di cristallizzazione (presa dal pozzetto) e capovolgere il vetrino sul pozzetto mantenendo la goccia pendente al centro

**E)** Coprire la piastra di cristallizzazione con il coperchio trasparente per prevenire l'evaporazione della goccia e per garantire il corretto raggiungimento dell'equilibrio di vapore necessario per la cristallizzazione della proteina.