



Nov 18, 2020

Expressão de scPPx 1

Mariana Jacques¹¹Universidade Federal do Rio de Janeiro*In Development*

This protocol is published without a DOI.

Phosphate**Mariana Jacques**

PROTOCOL CITATION

Mariana Jacques 2020. Expressão de scPPx 1 . **protocols.io**
<https://protocols.io/view/express-o-de-scpx-1-bpremm3e>



LICENSE

————— This is an open access protocol distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

CREATED

Nov 16, 2020

LAST MODIFIED

Nov 18, 2020

PROTOCOL INTEGER ID

44550

MATERIALS TEXT

- Tampão C
60 mM Tris HCl pH=7,5, 6 mM MgCl₂, Glicerol 30%
- Tampão B
60 mM Tris HCl pH = 7,5, 6mM MgCl₂,

:

1 Tampão C

-60 mM Tris HCl pH 7,5, 6 mM MgCl₂, Glicerol 30%.

Tampão B

- 60 mM Tris HCl pH 7,5, 6 mM MgCl₂, 250 mM Imidazol

Tampão de Lise

- ? mM Tris HCl pH 7,5, 200 mM NaCl, 5% Glicerol

Tampão A

- 60 mM Tris HCl pH 7,5, 6 mM MgCl₂, 10 mM Imidazol.

2 Cultura em 5mL

Cultura em 1 L

- 3 Crescer até 0,6 - 0,8 DO 600 (Guardar 20 μ L)
- 4 Induzir com 500 μ M de IPTG por 3 h/ 37 °C
- 5 Centrifugar (___ min/___ g) e ressuspender em 30 mL
- 6 Lisar (Potência 30%/ 10 pulso de 10 seg a cada 1 min)
- 7 Spin 5000 g/ 10 min
Passar em filtro de 0.8 μ m/ 0,4 μ m

Centrifugar para baixar o debris celular, passar em filtro de 0,22 μ m

Colunas

- 8 Coluna de Níquel

20 ml Tampão A
5 mL Tampão A
8,5 ml Lisado
5 mL Tampão B
- 9 Coluna de Desalting

25 ml Tampão C
1,5 ml Amostra
2 ml Tampão C (Recolher)
(Repetir esse processo 3 vezes)

25 ml Tampão C
1,5 ml Amostra