

### Cristallizzazione del lisozima

a cura di G. Nappo e V. Cecatiello

*La cristallizzazione avviene quando una soluzione contenente alte concentrazioni di una proteina purificata diventa supersatura, cioè raggiunge una concentrazione superiore a quella consentita come massima possibile. Il processo inizia con la formazione del primo nucleo cristallino (fenomeno detto "nucleazione") a cui segue la crescita del cristallo. Al suo interno le molecole si dispongono in modo ordinato, tenute insieme da interazioni non covalenti. I cristalli di proteine sono molto importanti in biologia, perché vengono utilizzati per determinare la loro struttura tridimensionale.*

#### Obiettivo

In questa attività sperimentiamo la cristallizzazione del lisozima, una proteina dotata di eccezionale stabilità, che produce con facilità e in tempi brevi dei cristalli di grandi dimensioni (visibili al microscopio).

#### Procedimento

1. Pulire accuratamente un vetrino coprioggetto.
2. Trasferire sul vetrino 4  $\mu$ l di lisozima.
3. Utilizzando un puntale pulito aggiungere 4  $\mu$ l di soluzione di precipitante nella stessa goccia.
4. Osservare al microscopio e attendere la formazione dei cristalli.



#### Tempo previsto

30 minuti

#### Materiale e Reagenti

- ✓ Guanti
- ✓ Puntali
- ✓ Vetrino coprioggetto
- ✓ Lisozima commerciale sciolto in acqua (100 mg/ml)
- ✓ Soluzione precipitante (PEG 6000 30%, NaCl 1M, Sodio Acetato pH 4.5 50 mM)

#### Strumentazione

- ✓ Micropipette
- ✓ Microscopio ottico