

Bioquímica Experimental IV

SOLUÇÕES

Tampão de Lise - Citosol (200 ml)

50 mM HEPES pH 7.2

2 mM EDTA

10 mM NaCl

250 mM sacarose

0,12 g

17,11 g

Guardar a 4°C

2 mM DTT

stock 200 mM

0.1% IGEPAL CA-630 (v/v)/NP-40

stock 10% (v/v)

Inibidores de protease

Tampão de Lise - Núcleo (200 ml)

50 mM HEPES pH 7.2

2 mM EDTA

400 mM NaCl

20% glicerol (v/v)

4,7 g

40 ml stock 100%

2 mM DTT

stock 200 mM

Inibidores de protease

Tampão de Aplicação 2x (10 mL)

62,5 mM Tris-HCl pH 6.8

3% (m/v) SDS,

100 mM DTT,

10% (v/v) glicerol,

0,02% (m/v) Azul de bromofenol

1,25 mL Stacking Gel Buffer

3 mL 10% (w/v) SDS

154 mg DTT

1 mL 100% Glycerol

0,2 mL 1% (w/v) Bromophenol Blue

4,55 mL H₂O

Solução Padrão de BSA 1,4 mg/mL

Preparar 20 mL e alíquotar em tubos *Eppendorf*

Mistura etanol:éter etílico 2:1 (v/v)

Preparar 500 mL e guardar num esguicho

Persulfato de amónio (PSA) 10% (m/v)

Dissolver 1 g de persulfato de amónio em 10 mL de água destilada e alíquotar em tubos *Eppendorf*.

Tampão de electroforese Tris 0,025 M, glicina 0,192 M, SDS 0,1% (m/v), pH 8,3

Tris 3,0 g

glicina 14,4 g

SDS 10% (m/v) 10 mL

Para 1 L de tampão. **Não ajustar o pH final da solução**; misturar os reagentes e confirmar que o pH está próximo de 8.3 (± 0.2).

Tampão de transferência para Western blot Tris 0,025 M, glicina 0,192 M

Para 1 L

Tris 3,0 g

glicina 14,4 g

PBS (Phosphate buffered saline) 10x

Para 1 L

Na₂HPO₄.12H₂O 28,6 g

KH₂PO₄ 2 g

NaCl 80 g

KCl 2 g

Acertar o pH a 7,4

Tampão de lavagem para Western blot (PBS contendo 0,1% (v/v) Tween-20)

Glicerol 10% (v/v)