

**Creación de cristales de mi proteína mediante gota colgante y me gustaría mejorar su calidad. Las condiciones de cristalización que utilicé fueron las siguientes:**  
En la gota: 6 mg/ml de proteína y 12% de sulfato de amonio.  
En el pozo: 24 mg/ml de sulfato de amonio.  
**¿Cómo puedo extrapolar estas condiciones a la técnica de contradifusión?**

Pienso que tienes tu proteína a una concentración de 12mg/ml y entonces, cuando se mezclan volúmenes iguales de proteína y  $(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)$  se obtiene la concentración de la gota. Si se dibuja la evolución de la gota en el diagrama de fase. La situación inicial en la gota es  $C_0$  (en rojo). La concentración inicial en el pozo no aparece etiquetada (en azul). La concentración en la gota cambia debido a que evapora. Sin embargo, mientras las moléculas de agua se mueven desde la gota hacia el pozo la concentración cambia a lo largo de la línea de rayas comenzando en el origen de la gráfica y pasando a través de las condiciones iniciales de la gota. Si el sistema de gota-pozo estuviera completamente cerrado, la evaporación de la gota sería consecuencia de la diferencia de presión entre la gota y el pozo. Por tanto, la concentración de proteína máxima alcanzable en la gota  $C_{\text{max}}$ , es el doble de la concentración de proteína inicial. Si obtiene cristales en la gota, la concentración máxima no se alcanzará nunca. También, si obtiene cristales en la gota esto significa que la localización de la supersolubilidad en la curva se encuentra entre  $C_0$  and  $C_{\text{max}}$ .

Puede utilizar sus condiciones iniciales de proteína y agente precipitante (aquellas que usó para la gota). En su caso particular, deberá llenar el capilar con su proteína tamponada a 12mg/ml. Entonces prepare el gel de agarosa con el mismo tampón. Finalmente, pinche el capilar en el gel y vierta sobre el estrato de gel la disolución de sulfato de amonio al 24%.