

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA
TÉCNICAS ANALÍTICAS
OPCIÓN: FISIOLÓGIA CELULAR

SEM.	CÓDIGO	TEORÍA H/S	PRÁCT H/S	LAB. H/S	UNIDAD CRÉDITO	PRELACIÓN
8	13116	3	0	6	6	12201 - 12303

El presente Programa es de tipo experimental. En este período trataremos de utilizar los conocimientos de cada una de las técnicas con el objetivo de aplicarnos a la caracterización y purificación de una enzima particular del metabolismo de organismos vivos.

El curso difiere de los cursos hasta ahora dictados en que los aspectos experimentales serán realizados en sistemas hasta ahora muy poco estudiados, lo cual conlleva un esfuerzo adicional, un diseño experimental propio y la generación de conocimiento.

PROGRAMA

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES: Unidades de concentración, pH, buffers. Factores que afectan la estabilización de enzimas.

ESPECTROSCOPIA UV/VISIBLE: Aspectos teóricos y la utilidad de la técnica. Ley de Lambert-Beer. Métodos para la determinación de concentración de proteínas. Preparación de soluciones y de curvas estándar. Método de Lowry, Biuret. Espectro de absorción de p-nitrofenol. Utilización de la Espectroscopía UV/VISIBLE en cinética enzimática y determinación de metabolitos. Aplicación de la metodología a la enzima dentro del estudio.

PURIFICACIÓN ENZIMÁTICA: Tabla de purificación y preparación de extractos. Homogeneización, precipitación, filtración y diálisis. Utilización de conos amicon y centriflo. Cromatografía de exclusión: Modo de operación, medios, aplicación de muestras. Determinación de pesos moleculares. Utilización de patrones. Cromatografía de intercambio iónico: El intercambiador, medios y preparación. Polibuffers. Cromatografía de afinidad: Preparación de ligandos. Selección de ligandos. Preparación de Sepharosa-CNBr, dextran blue, etc. Utilización de fenil Sepharosa. Centrifugación: Fuerza centrífuga relativa, coeficiente de sedimentación, gradientes de densidad.

ELECTROFÓRESIS: Teoría de la Electroforesis. sistema electroforéticos. Electroforesis en geles de poliacrilamida nativos. Determinación de PM. Electroforesis en geles de poliacrilamida

con SDS. Desnaturalización de proteínas y determinación de pesos moleculares con estándar. Electroforesis para la detección de enzimas específicas. Principio del método. Aplicaciones. Isoenzimas y tratamiento de datos. Isoenfoco.

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS: Principios del método. Aplicaciones.

TÉCNICAS INMUNOQUÍMICAS: Métodos inmunológicos. Preparación de anticuerpos y su determinación cuantitativa. Immunoblotting.

CARIOTIPOS: Determinación práctica y utilidad.

MAPAS PEPTÍDICOS: Determinación de mapas peptídicos por métodos químicos y enzimáticos. Análisis de datos.

MICROSCOPIA: Utilización de Microscopía de fluorescencia.