

Programa de l'assignatura

METODOLOGIA I EXPERIMENTACIÓ BIOQUÍMICA II

CURS 1997/1998

**DEPARTAMENT DE BIOQUÍMICA I BIOLOGIA MOLECULAR
FACULTAT DE CIÈNCIES
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA**

Nota: aquesta assignatura és exclusivament pràctica. Per tant, no s'inclou un programa convencional sino l'index corresponent al manual de laboratori que utilitzen els alumnes

INDEX GENERAL

Part I

Fraccionament del fetge de rata: caracterització de les fraccions subcel.lulars	3
Aïllament de teixits i fraccionament del fetge de rata	6
Estimació del contingut de DNA, RNA i proteïnes	15
Distribució d'enzims a la cè.lula	20
Glucosa-6-fosfatasa	21
Lactat deshidrogenasa	25
Succinat deshidrogenasa	26
Purificació de la lactat deshidrogenasa de múscul	35
Preparació de l'extracte	38
Cromatografia d'afinitat	38
Assaig de l'activitat	39
Determinació de la quantitat de proteïna pel mètode de Bradford	40
Electroforesi no desnaturalitzant en gels de poliacrilamida	42
Tinció per activitat enzimàtica	44
Cromatografia d'afinitat II: purificació de l'acetilcolinesterasa de cervell	48
Preparació de la columna d'afinitat	50
Preparació de l'AChE de cervell	52
Purificació de l'acetilcolinesterasa	53
Assaig de l'activitat	54
Detecció immunològica de proteïnes immobilitzades: Western Blot	56
Electroforesi	59
Transferència	61
Bloqueig i incubació amb anticòs	63
Detecció	64
Anàlisi de les mostres acumulades per electroforesi en poliacrilamida-SDS	65

Part II

Metodologies bàsiques de manipulació i anàlisi de DNA	67
Transformació de cè.lules competents d' <i>Escherichia coli</i>	67
Preparació de cel.lules competents	72
Transformació de cè.lules competents	72
Rèplica de transformants	73
Lectura de les rèpliques	74
Minipreparacions de DNA plasmídic	75
Minipreparació de DNA genòmic de <i>E. coli</i>	78
Obtenció de DNA de timus de vedella	80
Anàlisi espectrofotomètrica del DNA	81
Digestió amb enzims de restricció i anàlisi de la restricció	83
Electroforesi en gel d'agarosa	85

Part III

Mètodes bàsics en bioquímica de lípids	91
Extracció i purificació de fosfatidilcolina	91
Extracció dels fosfolípids.	92
Purificació del fosfolípids	93
Preparació de liposomes multil.lamelars grans	94
Caracterització dels fosfolípids obtinguts.	95
Incorporació d'una substància colorejada en MLVs i SUVs.	96