

RESULTADOS

1.- Registre enseguida la dilución a la que se preparó la suspensión de eritrocitos empleada en el ensayo. Así mismo anote la densidad óptica considerada como el 100% de Hemólisis.

Dilución: _____
D.O. a 540 nm: _____

2.-Registre las densidades ópticas debidas a la liberación de hemoglobina tras la lisis eritrocítica causada por las distintas dosis de detergentes.

DETERGENTE	D.O. 540		
	10 µl	30 µl	50 µl
TWEEN-80			
CETRIMIDA			
DODECIL SULFATO DE SODIO			
DESOXICOLATO DE SODIO			

3.-Calcule los porcentajes de hemólisis para las concentraciones ensayadas de cada uno de los detergentes.

DODECIL SULFATO DE SODIO			
DESOXICOLATO DE SODIO			

4.- Construya en papel milimétrico una gráfica de dosis-respuesta, anotando en las abscisas el volumen de detergente utilizado, y en las ordenadas el porcentaje de hemólisis ocasionado.

MÉTODOS

- 1.- Colectar 5 ml de sangre humana con una jeringa estéril y transferirla a un tubo de ensayo de 13 x 100 mm conteniendo 0.5 ml de citrato de sodio al 3.8%.
- 2.- Mezclar suavemente por inversión para no causar hemólisis.
- 3.- Centrifugar a 3,000 r.p.m. durante 10 minutos.
- 4.- Eliminar el suero con una pipeta Pasteur.
- 5.- Lavar dos veces el paquete celular con NaCl al 0.85%.
- 6.- Resuspender el paquete celular con NaCl 0.85%, ajustando al volumen original de sangre.
- 7.- Preparar diluciones de la suspensión de eritrocitos de manera que cuando se adicionen 0.5 ml de la dilución a 4.5 ml de Triton X-100 al 1%, el sobrenadante obtenido después de centrifugar, muestre una absorbancia de 0.8 - 0.9 a 540 nm. El valor de absorbancia obtenido se considerará como el 100% de lisis; por lo que el porcentaje de hemólisis ocasionado por los diferentes agentes podrá calcularse a partir de este valor.
- 8.- La suspensión de eritrocitos deberá diluirse con NaCl al 0.85% a la dilución que mostró el valor de densidad óptica recomendado anteriormente.
- 9.- Preparar cuatro series de 3 tubos de ensayo de 13 x 100 mm, y adicionarles 4.5 ml de NaCl 0.85%.
- 10.- Añadir a todos los tubos 0.5 ml de la suspensión diluida de eritrocitos, y mezclar de la forma ya indicada.
- 11.- A cada uno de los tres tubos de ensayo de la primera serie añadirles 10, 30 y 50 µl respectivamente de Tween-80 al 1%. Mezclar cuidadosamente por inversión e incubar los tubos en baño de agua durante 20 minutos.
- 12.- De manera similar proceder con las tres series de tubos restantes, empleando los agentes tensioactivos como sigue:
 - 2a. serie de tubos: Cetrimida al 1%
 - 3a. serie de tubos: Dodecil sulfato de sodio al 1%
 - 4a. serie de tubos: Desoxicolato de sodio al 1%
- 13.- Después de la incubación, centrifugar todos los tubos a 3,000 r.p.m. durante 10 minutos para separar las células que permanecieron intactas.
- 14.- Determinar la absorbancia de todos los sobrenadantes a 540 nm en un espectrofotómetro.
- 15.- Registrar los valores.

RESULTADOS

1.- Registre enseguida la dilución a la que se preparó la suspensión de eritrocitos empleada en el ensayo. Así mismo anote la densidad óptica considerada como el 100% de Hemólisis.

Dilución: _____

D.O. a 540 nm: _____

2.- Registre las densidades ópticas debidas a la liberación de hemoglobina tras la lisis eritrocítica causada por las distintas dosis de detergentes.

DETERGENTE	D.O. 540		
	10 μ l	30 μ l	50 μ l
TWEEN-80			
CETRIMIDA			
DODECIL SULFATO DE SODIO			
DESOXICOLATO DE SODIO			

3.- Calcule los porcentajes de hemólisis para las concentraciones ensayadas de cada uno de los detergentes.

4.- Anote los porcentajes de hemólisis ocasionados por las concentraciones crecientes de agente tensoactivo.

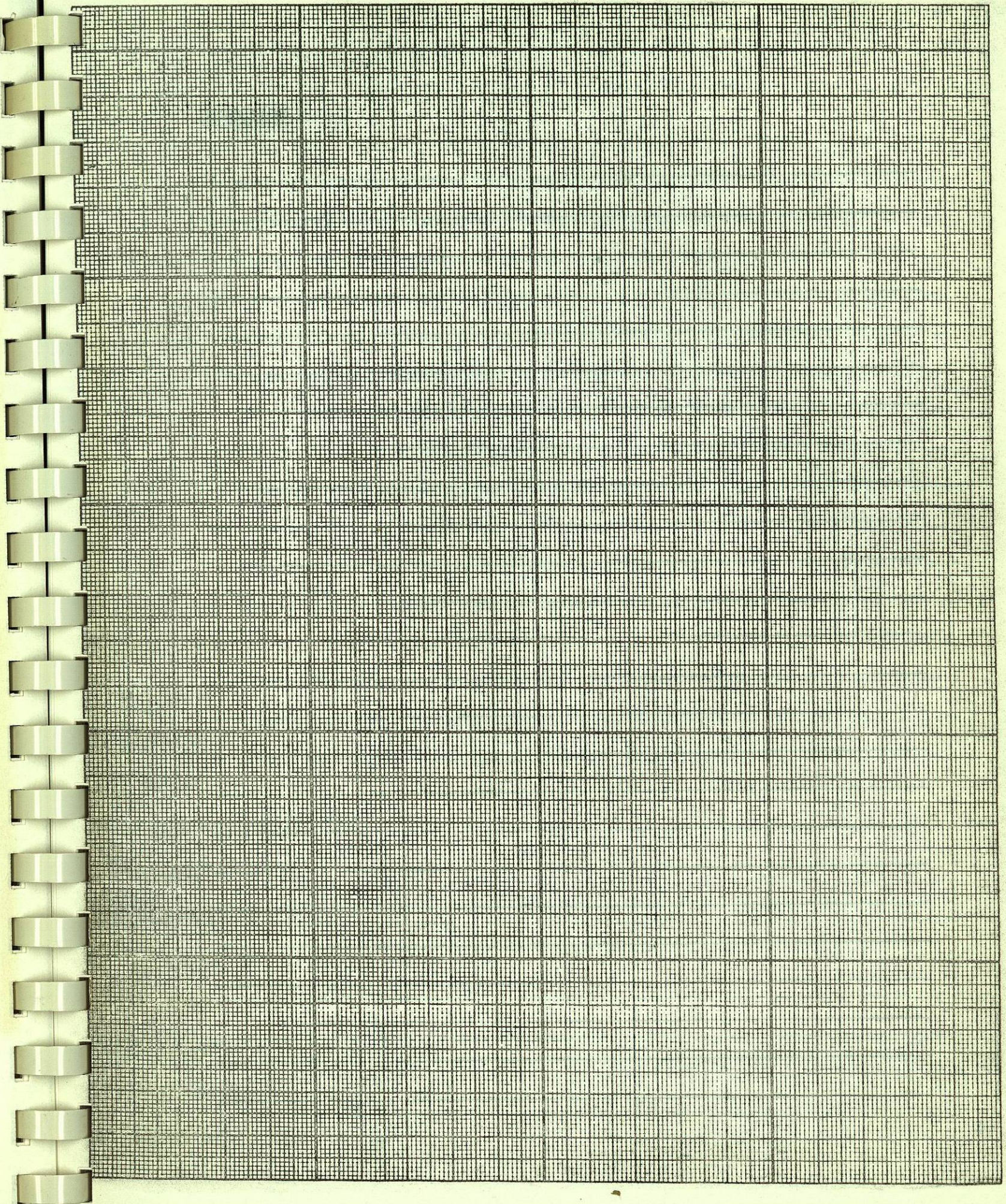
DETERGENTES	PORCENTAJE DE HEMÓLISIS CON:		
	10 μ l	30 μ l	50 μ l
TWEEN-80			
CETRIMIDA			
DODECIL SULFATO DE SODIO			
DESOXICOLATO DE SODIO			

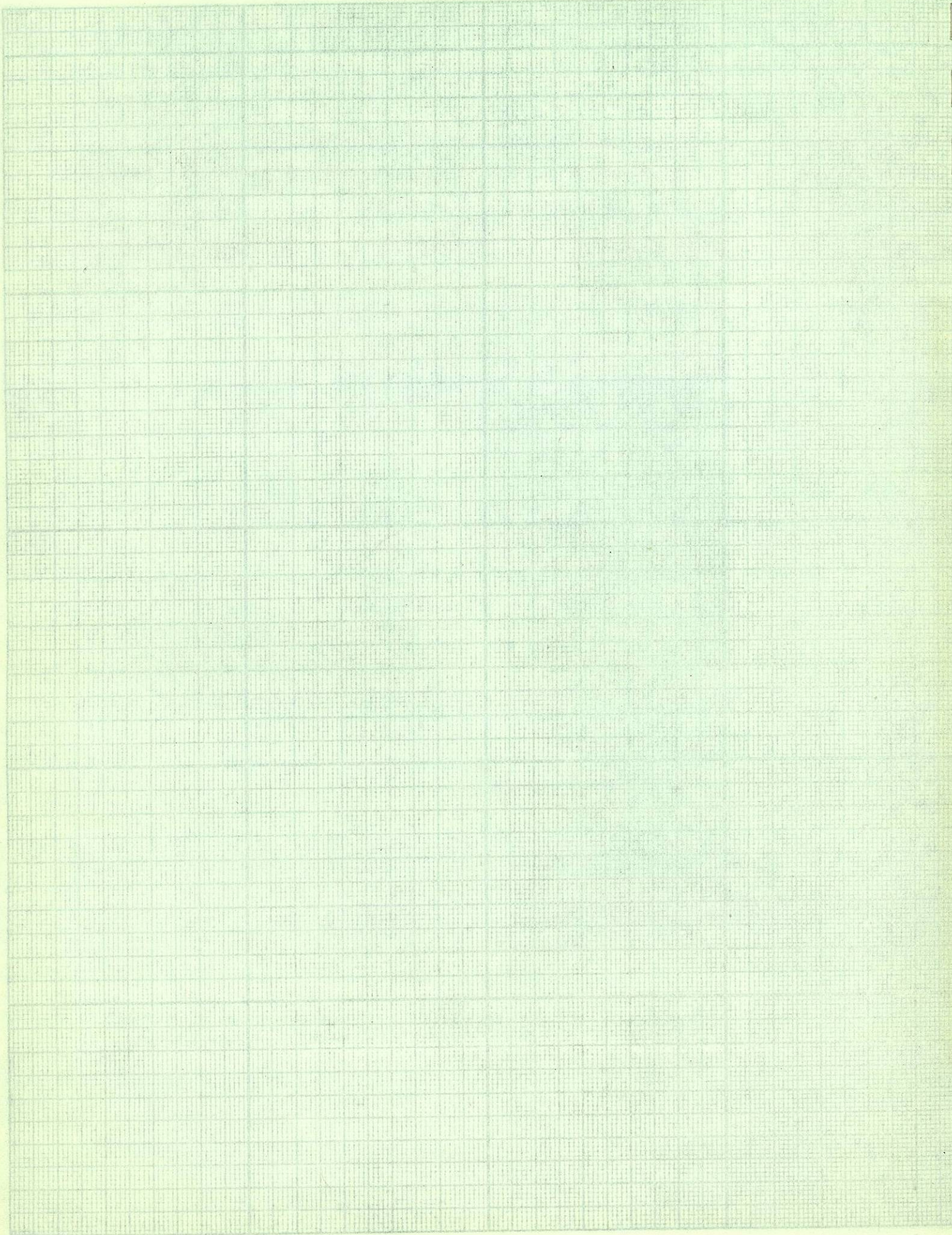
5.- Construya en papel milimétrico una gráfica de dosis-respuesta, anotando en las abscisas el volumen de detergente utilizado, y en las ordenadas el porcentaje de hemólisis ocasionado.

4.-Añote los porcentajes de hemólisis ocasionados por las concentraciones crecientes de agente tensactivo.

DETERGENTES	PORCENTAJE DE HEMÓLISIS CON:		
	10 ml	30 ml	50 ml
TWEEN-80			
CETRIMIDA			
DODECIL SULFATO DE SODIO			
DESOXICOLATO DE SODIO			

5.- Construya en papel milimétrico una gráfica de dosis-respuesta, anotando en las abscisas el volumen de detergente utilizado, y en las ordenadas el porcentaje de hemólisis ocasionado.





DISCUSION IONES

Blank lined area for writing under the 'DISCUSION' header.

BIBLIOGRAFIA

Blank lined area for writing under the 'BIBLIOGRAFIA' header.

DISCUSION

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

1.- Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts
Molecular Biology of the Cell
Garland Publishing, Inc. New York & London. pp
238-318.

2.- Joklik, V. F., M. J. Willett y D. B. Amos, 1986. Zinsser
18ª Edición. pp. 294-293.

3.- Plummer, D.T. 1978. An Introduction to Practical Bioche-
218-219.

BIBLIOGRAFIA

TRANSPORTE DE AZÚCARES EN LEVADURAS

INTRODUCCION

Los microorganismos en su ambiente natural se enfrentan tanto a condiciones adversas del entorno como a la competencia con otras formas de vida por la adquisición de las nutrientes escasamente presentes, y para preservar su sobrevivencia no solamente emplean la locomoción, quimiotaxis o la secreción de extracelulares sino también fabrican estructuras extracelulares como vainas, holdfast, materiales mucilaginosos, etc; mediante los cuales se fijan sobre objetos sólidos y aseguran la captación de materiales nutritivos.

BIBLIOGRAFIA

Sin embargo, cualquiera que sea la habilidad desplegada para proveer se de nutrientes, estos materiales deben ser movilizados desde el medio exterior por sus características físicas y químicas. En el paso libre de solutos, la actividad es muy dinámica en la entrada de nutrientes así como en la extracción de productos de desecho; para que esta translocación suceda, los microorganismos han desarrollado una gran variedad de mecanismos de transporte.

- 1.- Alberts, B., D. Bray., J. Lewis., M. Raff., K. Roberts y J.D. Watson. 1986. Molecular Biology of The Cell Garland Publishing, Inc. New Yor & London. pp - 255-317.
- 2.- Joklik, W. K., H.P. Willett y D.B. Amos. 1986. Zinsser Microbiología. Editorial Médica Panamericana. 18ª Edición. pp 284-293.
- 3.- Plummer, D.T. 1978. An Introduction to Practical Biochemistry. 2ª Edition. McGraw- Hill Book Co. pp - 218-219.

OBJETIVO

Con la aplicación de agentes fisicoquímicos pretendemos dilucidar el mecanismo de transporte utilizado por *Saccharomyces cerevisiae* para captar glucosa.

FUNDAMENTO

Los procesos de transporte son una característica de las membranas biológicas y han sido estudiados tanto en sistemas bacterianos como eucarióticos. En los microorganismos se conocen cinco mecanismos de transporte de azúcares mediados por acarreador, éstos pueden ser clasificados de acuerdo a la fuente energética acoplada en: difusión facilitada, sistema de transporte activo sensible a choque osmótico frío, sistema de transporte activo ligado con H⁺, cotransporte con Na⁺ y el sistema de la fosfotransferasa. El primero es independiente de energía, en tanto que el segundo y el último están enlazados a la energía liberada por la hidrólisis de moléculas fosforiladas de alta energía; mientras que el sistema de transporte activo ligado a H⁺ y el de cotransporte con Na⁺ son dependientes de la diferencia de potencial electroquímico establecido a través de la membrana y generado por las reacciones de oxidoreducción que sufren las moléculas transportadoras que participan en la cadena de transporte de electrones.

CONCLUSIONES

Lined writing area for conclusions.

BIBLIOGRAFIA

Lined writing area for bibliography.