

DEMOLAB

Bioquímica. Què trobam dins un mamífer?

Elaboració d'aquest material

- Jaume Balaguer. Professor de Biologia i Geologia de secundària.
- Francisco José García Palmer. Professor del Departament de Biologia Fonamental i Ciències de la Salut de la UIB

Aquest informe ha estat revisat per Miriam Crespí, Joana Mascaró, i Francesca Molinos el setembre de 2010.

Amb la col·laboració de la Dra. Francesca Garcias, ex-degana de la Facultat de Ciències.

Organització de la visita

9:15 h	Hora prevista d'arribada del grup d'alumnes El lloc de recepció serà el vestíbul de l'edifici Mateu Orfila del campus de la UIB.	
9:15 – 9:30 h	Els alumnes rebran una breu explicació de l'activitat, les normes de seguretat i eliminació de residus, en el laboratori Demolab. El grup es dividirà en dos subgrups (A i B) d'acord amb les instruccions del professorat.	
9:30 – 11:10 h	Subgrup A Pràctica al Demolab	Subgrup B Pràctica alternativa
11:10 – 11:30 h	Descans	
11:30 – 13:10 h	Subgrup A Pràctica alternativa	Subgrup B Pràctica al Demolab
13:10 – 13:30 h	Els alumnes i professors avaluaran l'activitat.	
13:30 h	Fi de la visita.	

Què trobam dins un mamífer?

Objectius

- Identificar els diferents òrgans interns d'un mamífer
- Separar diferents macromolècules dels teixits

Pràctica 1: Dissecció d'un mamífer

Material

- Tisores, pinces, paper de filtre, rates Wistar, guillotina, tub de plàstic, vas de precipitats

Procediment

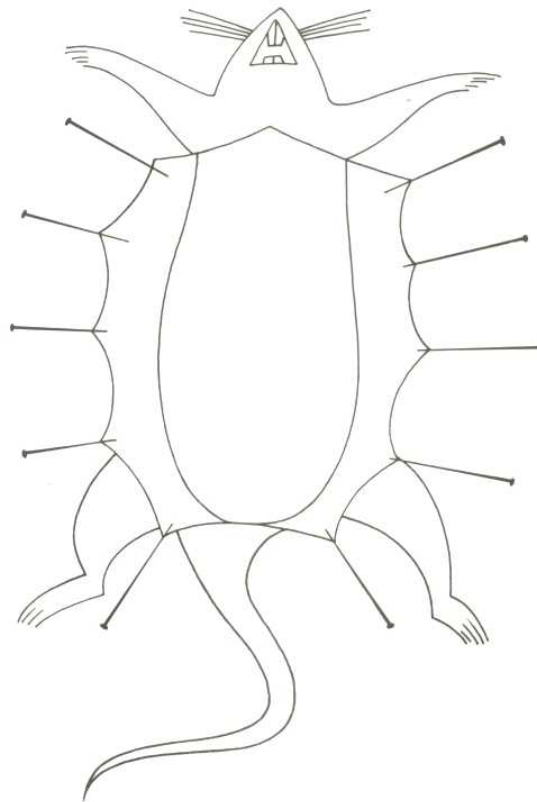
1. Sacrifici de l'animal per decapitació.
2. Col·locar l'animal sobre la cubeta de dissecció.
3. Observar la morfologia externa: sexe, cos recobert de pèl, dents de creixement continu, ulls, cua, etc.
4. Tallar l'animal per la part ventral. Separar la pell de forma lateral.
5. Identificar els òrgans interns i observar la seva forma i col·locació.

| 2 |

Qüestionari

1. Cita les característiques més rellevants observades en els mamífers
2. Quins òrgans trobam en la cavitat toràcica?
3. Quants lòbuls presenta el fetge?

4. Quina mida i color tenia la melsa?
5. Era mascle o femella?
6. Dibuixa en la següent figura el que has observat en la dissecció i indica els seus noms:



Pràctica 2: Extracció i purificació del glucogen de mostres de fetge i múscul de rata

Introducció

El glucogen és un polisacàrid format per glucoses i presenta una funció de reserva energètica. Després de les menjades, quan hi ha un excés de glúcids, aquests s'emmagatzemen en forma de glucogen als músculs i al fetge. El glucogen es mobilitza per mantenir la glucèmia o nivell de glucosa en sang.

Fonament

Per purificar el glucogen de la resta dels components cel·lulars, s'aprofiten les propietats característiques de la seva solubilitat en medi àcid i la seva insolubilitat en medi etanòlic.

La major part de les macromolècules naturals dels teixits animals precipiten quan les privam de la capa d'hidratació que les manté en dissolució. Així, en medi etanòlic precipiten la major part de les proteïnes i també el glucogen, la qual cosa ens permet eliminar els lípids, els monosacàrids i els aminoàcids lliures. Per separar el glucogen de les proteïnes aprofitarem la diferent solubilitat que presenten aquests dos compostos en medi àcid: les proteïnes són insolubles, mentre que el glucogen és soluble.

| 4 |

Material i reactius

- Agitador de tubs (vòrtex)
- Aigua destil·lada
- Balança electrònica
- Bany termostatitzat
- Centrífuga
- Espàtules
- Gradetes
- Paper de filtre
- Pipetes de vidre (1 ml, 5 ml)
- Pipetes pasteur
- Safates
- Tisores
- Tubs de centrífuga
- Vasos de precipitats (100 ml, 500 ml)
- Àcid tricloracètic 8%
- Etanol absolut
- KOH 30%

Procediment

1. Partirem de mostres de fetge i múscul de rata d'un pes aproximat de 0,3-0,8 g.
2. Cada mostra s'introdueix dins un tub d'assaig que conté 1 ml de KOH al 30% i que estava en un bany d'aigua a 100°C. Els tubs s'han de mantenir dins el bany fins que els teixits es digereixin completament.
3. Posteriorment, els tubs s'han de refredar en un bany d'aigua-gel fins aconseguir la temperatura ambient.
4. A continuació afegir a cadascun dels tubs 2 ml d'etanol absolut.
5. Agitar els tubs: en aquestes condicions el glucogen precipita, però també ho fan les proteïnes, sals minerals i altres molècules de baix pes molecular.
6. Seguidament les mostres se centrifuguen a 3.000 rpm, a 4 C durant 10 minuts i els sobrenedants resultants es descarten.
7. Els precipitats es ressuspenen en 1 ml d'àcid tricloracètic, amb la finalitat de separar el glucogen de les proteïnes: el glucogen és soluble en aquestes condicions, mentre que les proteïnes no ho són.
8. Tornam centrifugar els tubs ressuspesos a 3.000 rpm, a 4 C durant 10 minuts: guardam els sobrenedants amb el glucogen (amb una pipeta pasteur els passam a un altre tub d'assaig) i els precipitats els descartam.
9. Finalment, al sobrenedant obtingut hi afegirem 4 ml d'etanol en fred per a la precipitació selectiva del glucogen.
10. Tornam centrifugar, a 3.000 rpm, a 4 C durant 10 minuts, i aleshores rebutjam els sobrenedant i ens quedam amb el precipitat ple de glucogen i a més a més purificat.



Qüestionari

1. Què és el glucogen? Quina és la seva funció?
2. Per què després del sacrifici de l'animal d'experimentació s'ha de procedir a la dissecció i processament immediat del fetge i del múscul?
3. Quin efecte fan el KOH i el bany d'aigua a 100°C sobre les mostres de teixit?
4. Com s'explica que l'etanol absolut faci precipitar el glucogen i les proteïnes?
5. Quina finalitat té la utilització de l'àcid tricloracètic?