

Práctica 6: Transporte Celular y Preferencia de Carbohidratos

El Gran Banquete de la Levadura: ¿Qué azúcar prefieren comer?

MC. Carlos Montejo Dávila

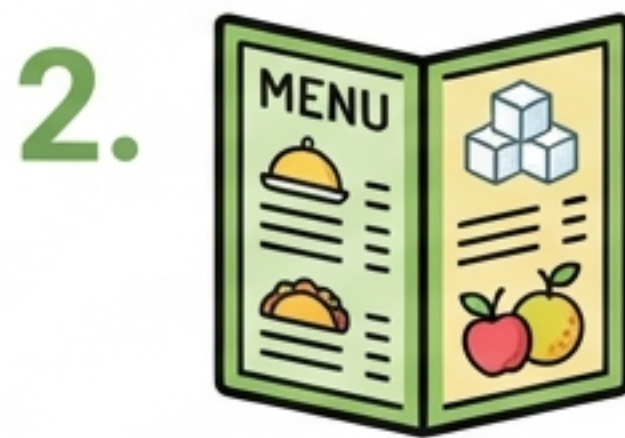


El Objetivo: Una carrera metabólica



Preparación: Lavar la levadura para dejarla "hambrienta".

Elimina fuentes de energía previas, preparando a la levadura para el experimento.



El Menú: Ofrecer distintas opciones de azúcar.

Proporciona diferentes carbohidratos (glucosa, maltosa, lactosa) como fuente de alimento.



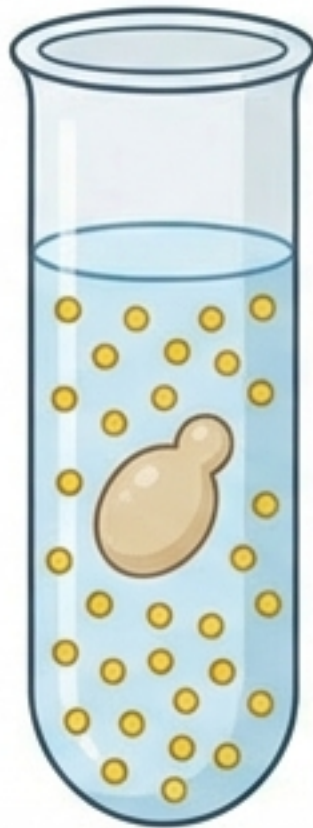
La Medición: Ver cuál entra más rápido usando química de color.

Se utiliza un indicador de color para detectar la velocidad de absorción de cada azúcar a través de la membrana celular.

La Lógica del Detective: Medición Indirecta

No medimos lo que entra. Medimos lo que sobra afuera.

Inicio (T0)



Mucho azúcar afuera

Final (T30)



Poco azúcar afuera = Mucho transporte

Analizaremos el líquido exterior (sobrenadante). Si el azúcar desaparece del líquido, significa que entró a la célula.

El Menú de Azúcares (Variables)

Soluciones al 15 mM

1. Entradas (Monosacáridos)



Glucosa



Fructosa



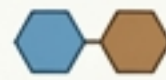
Arabinosa

¿Entran directo por los transportadores GluT?

2. Platos Fuertes (Disacáridos)



Maltosa



Lactosa

¿Requieren hidrólisis previa?

3. Control



Agua

Para calibrar nuestro cero.

Materiales y Reactivos Clave



Levadura Tradipan
(1 sobre nuevo)



Hielo
(El botón de pausa)



Tubos Cónicos
(Lavado)



Microtubos
(Reacción)



Reactivo DNS

Ten a mano tus pipetas y puntas antes de empezar.

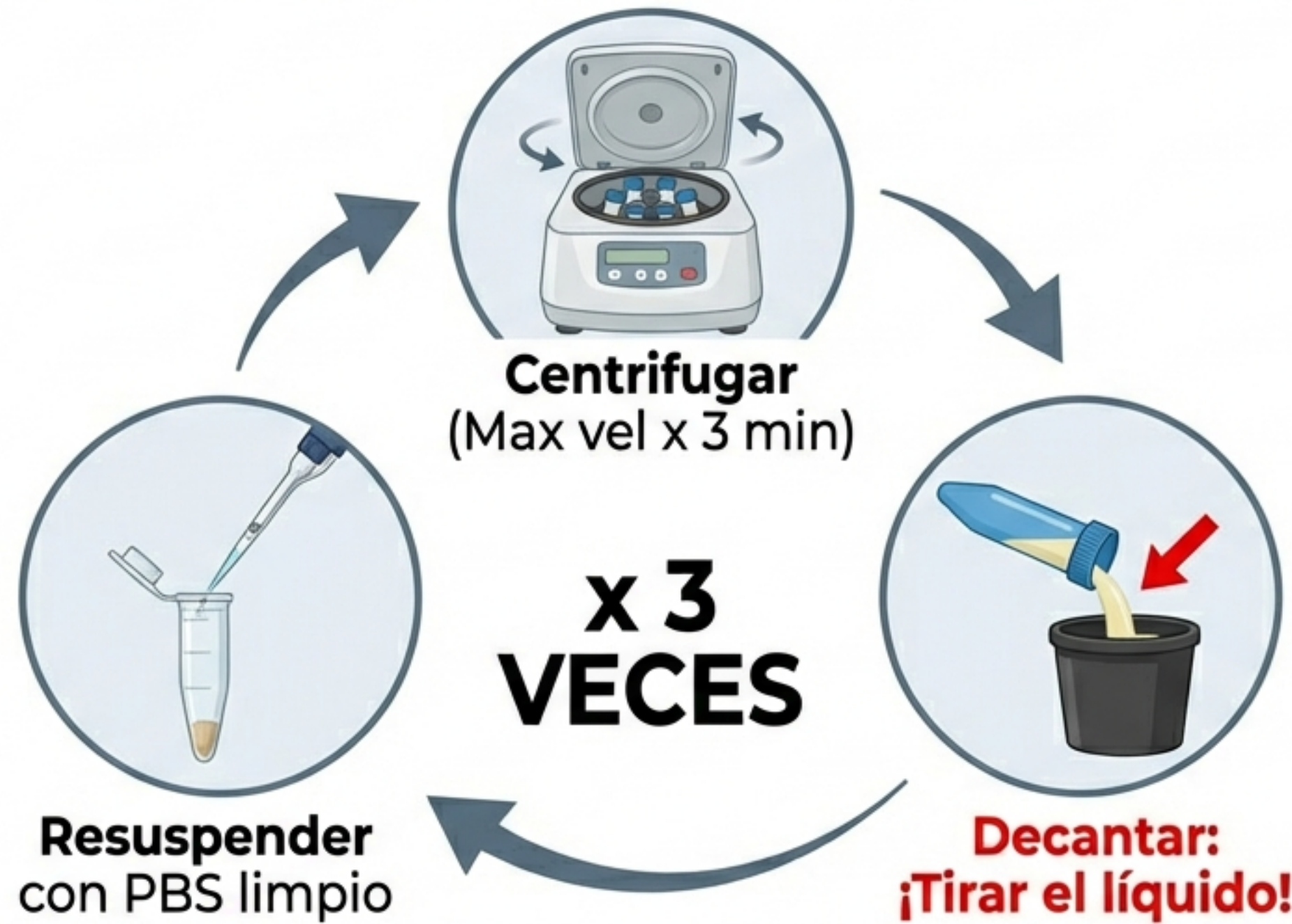
Fase 1: Despertando al Atleta



Propósito: Activar el metabolismo antes del lavado.

Fase 1 (Crítico): El Triple Lavado

Objetivo: Quitar todo el azúcar externo.



Si no lavas bien, el azúcar viejo arruinará el experimento.

Estado Final: Células Listas



¡NO poner en hielo todavía!
El frío detiene el metabolismo y las necesitamos activas.



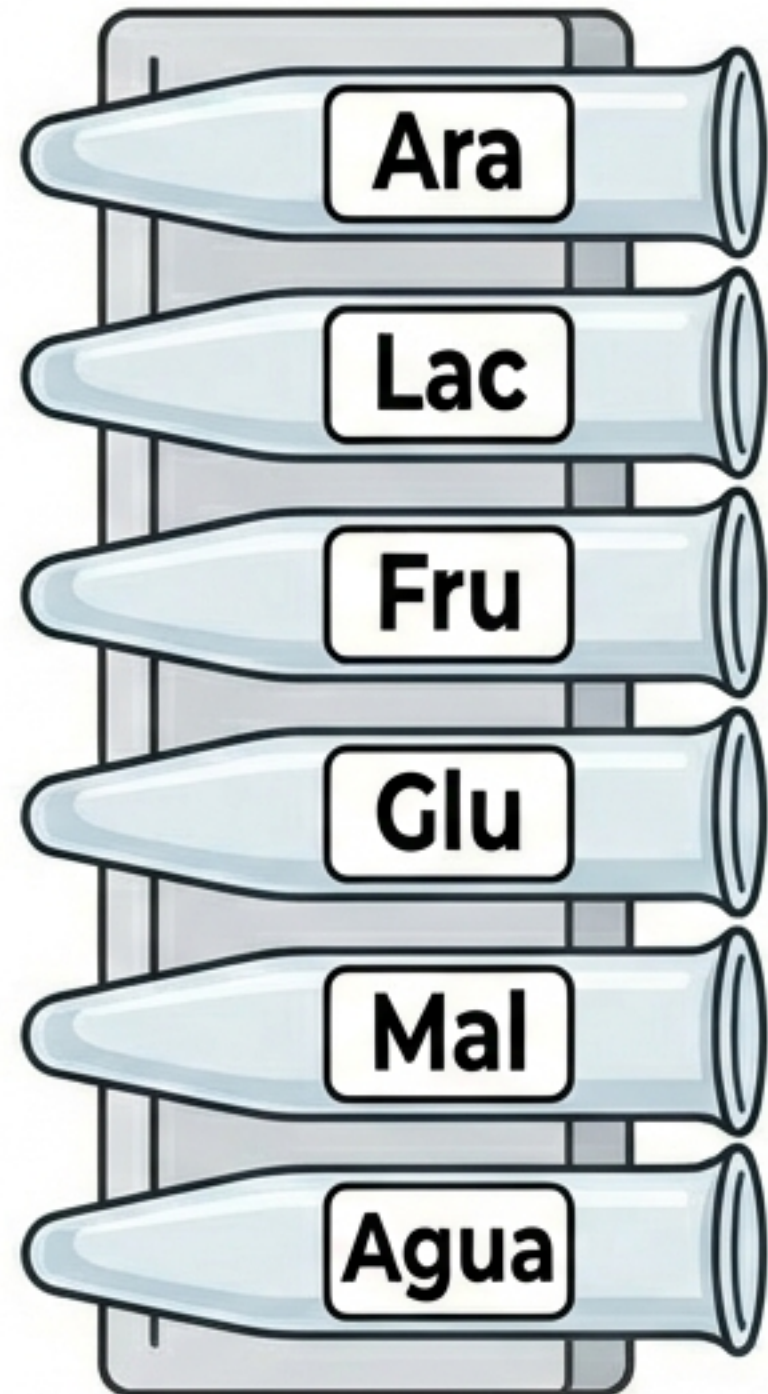
Células limpias



Células limpias (buscan fuente de carbono/azúcar)

**5 mL de PBS
+ Células**

Fase 2: Preparando la Mesa (Incubación)



0.7 mL Azúcar (Variable)

+

0.2 mL PBS

+

0.5 mL Células Lavadas



Agita suavemente. En cuanto las células tocan el azúcar... **¡Corre el Tiempo!**

Fase 3: La Línea de Tiempo (T0 vs T30)



¡ALERTA DE ERROR COMÚN!

Separación de Fases: ¿Qué guardamos?

Sobrenadante (Líquido)

- **GUARDAR**



Pellet (Células)

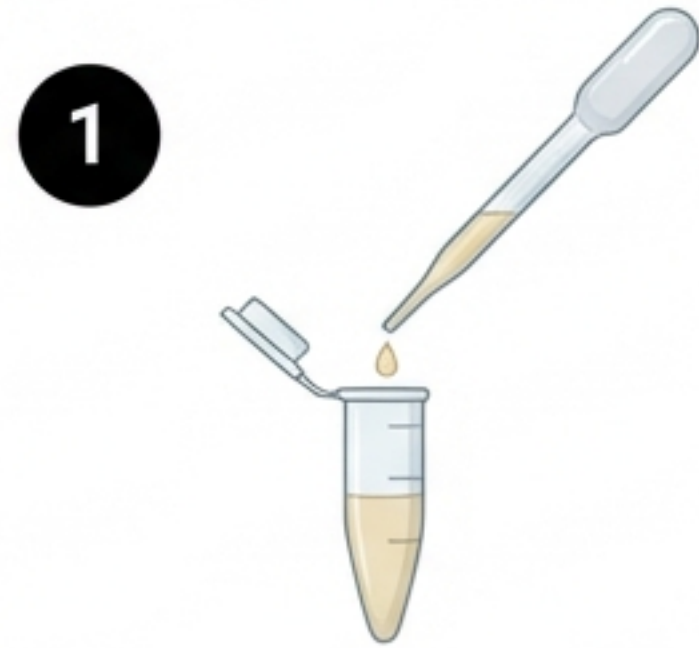
- **DESCARTAR**



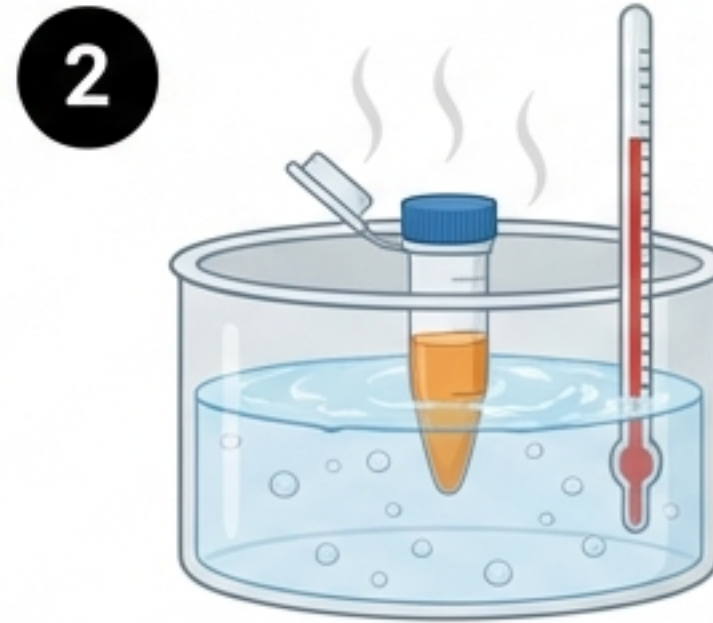
¡Queremos el líquido!

Vamos a medir cuánto azúcar **NO** se comieron.

Fase 4: El Revelado Químico (DNS)




1.0 mL Sobrenadante +
1.0 mL Reactivo DNS



Baño María:
Ebullición x 5 minutos

El calor revela el color.

 **Tip de Laboratorio: ¿Color muy intenso? (Absorbancia > 2.0)**

Si el equipo marca error o una lectura mayor a 2, la muestra está muy concentrada. Aplica una dilución directa en la cubeta:

Dilución a la mitad (1:2): Mezcla 1.0 mL de tu muestra revelada con 1.0 mL de agua destilada. Lee de nuevo y multiplica tu absorbancia final x 2.

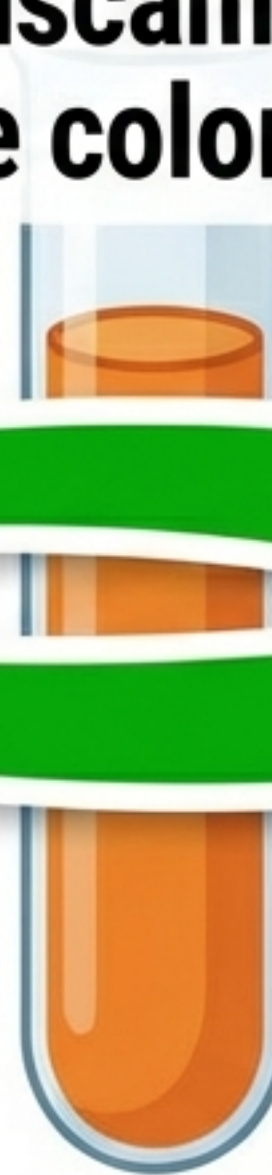
Mitad de la mitad (1:4): Mezcla 0.5 mL de tu muestra revelada con 1.5 mL de agua destilada. Lee de nuevo y multiplica tu absorbancia final x 4.



**Reactivo de
Dinitrosalisilato
(DNS)**

Interpretando el Semáforo DNS

Meta: Buscamos este cambio de color en T30.



ROJO
(Alto Azúcar)

La levadura
NO comió
(o es T0).

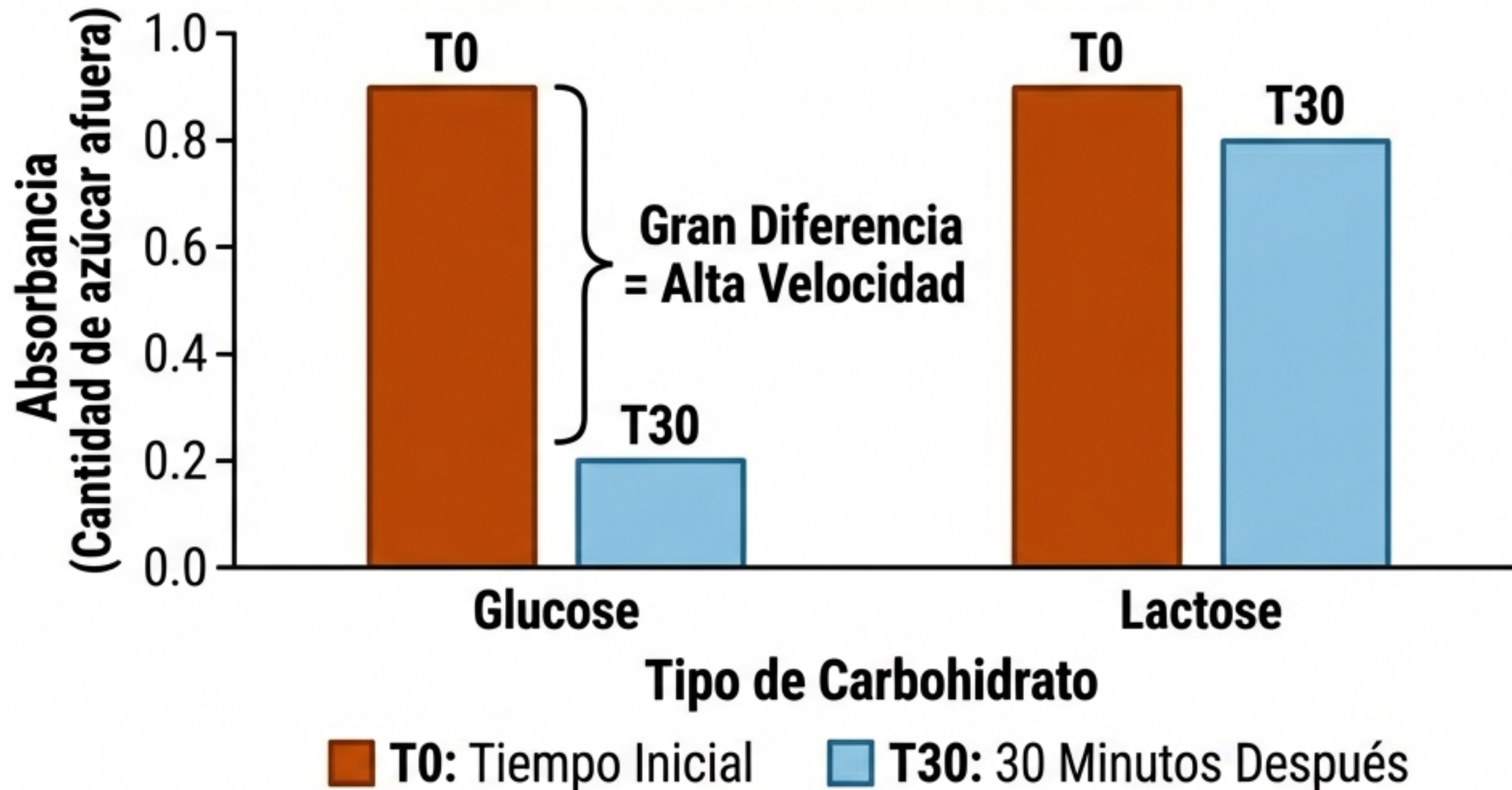
NARANJA
(Medio)

AMARILLO
(Bajo Azúcar)

La levadura
se comió todo.

Análisis de Resultados

$$\text{Velocidad} = \frac{\text{Abs T0} - \text{Abs T30}}{30 \text{ min}}$$



Resumen de Puntos Críticos



Lavado: 3 veces con PBS. ¡Tira el líquido aquí!



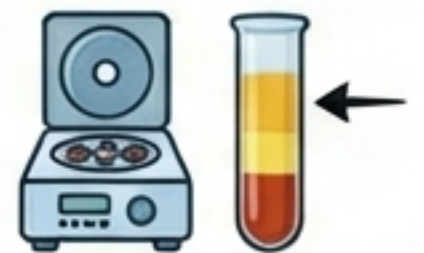
Células: No poner en hielo antes de la reacción.



Tiempos: T0 (Inmediato) vs T30 (Espera).



Centrifugado Final: ¡Guarda el líquido (sobrenadante)!



DNS: Hierve 5 minutos para ver el color.



¿Qué azúcar ganará la carrera hoy?