

نام فارسی درس: آزمایشگاه بیوشیمی متابولیسم

نام انگلیسی درس: Metabolism Biochemistry Laboratory

تعداد و نوع واحد: ۱ واحد عملی

تعداد ساعت: ۳۲

نوع درس: تخصصی

پیشنیاز: دارد (همزمان با درس بیوشیمی متابولیسم)

آموزش تکمیلی: ندارد

هدف درس:

هدف این درس آشنائی دانشجویان دوره کارشناسی رشته زیست شناسی با روش های عملی بررسی متابولیتهای اولیه مانند کربوهیدراتها، چربی ها و پروتئینها و واکنشهای تنفسی است.

سرفصل درس:

- ۱- متابولیسم کربوهیدراتها- هیدرولیز نشاسته تحت اثر آنزیم آمیلاز- بررسی فعالیت آنزیم در شرایط مختلف درجه حرارت و تعیین درجه حرارت بهینه و بدست آوردن منحنی زمان هیدرولیز نسبت به درجات مختلف حرارت- رابطه هیدرولیز و هضم نشاسته با عبور نور (Transmission)
- ۲- تعیین منحنی های زمان هیدرولیز نسبت به شرایط مختلف pH و تعیین بهترین pH فعالیت آنزیم- بررسی اثر تراکم آنزیم و تراکم سوبسترا روی فعالیت آنزیم و تعیین زمان هیدرولیز در تراکم های مختلف سوبسترا و آنزیم- بدست آوردن  $V_{max}$  و  $K_m$  آنها- مطالعه اثر ضد عفونی کننده ها و مهار کننده های آنزیمی.
- ۳- استخراج مونوساکاریدهای احیاء کننده از بافتهای گیاهی و جانوری- اندازه گیری مقدار آنها با رسم منحنی های مربوطه - تعیین بیشینه طول موج و بهترین طول موج مناسب برای اندازه گیری مقدار قند
- ۴- شناسائی و تخلیص قند از طریق کروماتوگرافی کاغذی- اندازه گیری  $R_f$  های مربوطه با استفاده از قندهای معلوم به عنوان شاهد و بررسی قندهای موجود در بافتها با بکارگیری انواع دو بعدی آن
- ۵- استخراج لیپیدها و رنگیزه های گیاهی- جداسازی آنها و مقایسه جداسازی از طریق کروماتوگرافی لایه نازک و کروماتوگرافی کاغذی- تعیین بهترین روش کروماتوگرافی برای هر کدام از آنها



۶- استخراج اسیدهای آمینه و تعیین و شناسایی انواع آنها از طریق کروماتوگرافی لایه نازک و کاغذی-  
 تعیین Rf و مشخص نمودن نوع اسید آمینه به کمک Rf و مقایسه با کروماتوگرافی دو جهت آن  
 ۷- بکارگیری و مقایسه جداسازی کروماتوگرافی ستونی برای رنگیزه ها و اسیدهای آمینه و سعی در  
 بدست آوردن قله های (پیک) خالص جهت ثبوت درجه خلوص اجزای تشکیل دهنده آنها  
 ۸- استخراج پروتئینها از بافتهای مختلف گیاهی و جانوری- بدست آوردن بافر مناسب برای خالص سازی  
 بهتر- تعیین مقدار آن و انتخاب مقدار مناسب جهت تزریق در ژل الکتروفورز برای بدست آوردن باندهای  
 بیشتر و بهتر

۹- تهیه ژل پلی آکرلامید و جداسازی پلی پپتیدها از طریق الکتروفورز و تعیین وزن مولکولی آنها  
 ۱۰- متابولیسم پورین و پیریمیدین- استخراج مشتق متیله پورین انجام شده و تعیین مقدار در نمونه های  
 مختلف  
 ۱۱- بهینه سازی روش استخراج با محاسبه و تعیین درصد خطای آزمایش و ایجاد یک منحنی دقیق  
 استاندارد و با مداخله درصد خطا مقدار واقعی ماده استخراجی  
 ۱۲- استخراج اندامکهای سلولی از بافتهای گیاهی و جانوری با کمک و استفاده از شیب و گرادیان غلظت  
 Continuous و discontinuous  
 ۱۳- جداسازی اندامک های حاصل از گرادیان به کمک Fraction Collector و تعیین مقدار جذب و  
 سنجش خلوص فراکشنهای جداشده از طریق اسپکتروفتومتری یا از طریق میکروسکوپی  
 ۱۴- اندازه گیری تنفس و فتوسنتز در نمونه بافتی گیاهی و جانوری و بدست آوردن کسر تنفسی و مقایسه  
 این کسر تنفسی در شرایط مختلف زندگی

منابع:

1. Berg, J.M., Tymoczko, J.L. and Stryer, L. (2010) Biochemistry, 7<sup>th</sup> Edition. W.H. Freeman, New York.
2. Nelson, D.L. and Cox, M.M. (2008) Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition. W.H. Freeman.
3. Yohnson, P. (2010) Chromatography Techniques.
4. Hinton, R. (2008) Density gradient Centrifugation.

