

## DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ACETILCOLINESTERASA (AChE) EN EL CEREBRO Y MÚSCULO ESQUELÉTICO DE PECES. EFECTOS DE CONTAMINANTES AMBIENTALES. EVALUACIÓN

1. Preparar el tampón de homogeneización:

- Es una disolución acuosa de TRIS/HCl 0.1 M, Tritón 0.1 %. Esta disolución tiene que estar a pH 8. Preparar 50 mL.
- Disponemos de las siguientes disoluciones stocks: TRIS 1M y Tritón 100%.

2. Preparar el tampón de reacción:

- Es una disolución acuosa de TRIS 25 mM, CaCl<sub>2</sub> 1 mM. Esta disolución tiene que estar a pH 7.6. Preparar 100 mL.
- Disponemos de las siguientes disoluciones stocks: TRIS 1M y CaCl<sub>2</sub> 100 mM

3. Hemos incubado cerebro de barriguda (*Parablennius parvicornis*) con diferentes concentraciones de Cu (CuSO<sub>4</sub>) obteniéndose los siguientes datos al medir la actividad de la AChE durante un periodo de tiempo, a 410 nm:

Tiempo	Absorbancia según concentración del contaminante		
	Cu 0 mM	Cu 0,1 mM	Cu 1 mM
0,00	0,4455	0,6061	0,3975
0,33	0,4909	0,6472	0,4277
0,67	0,5343	0,6886	0,4541
1,00	0,5760	0,7280	0,4779
1,33	0,6182	0,7690	0,5016
1,67	0,6614	0,8090	0,5227

- Representa gráficamente la respuesta y di cuál es la actividad enzimática en cada caso.
- Señala el porcentaje de inhibición enzimática que genera cada concentración de contaminante.

4. Al incubar cerebro de barriguda con diferentes contaminantes a la misma concentración se han obtenido los siguientes datos al medir la actividad de la AChE durante un periodo de tiempo, a 410 nm:

Tiempo (min)	Absorbancia					
	Hg 0 mM	Hg 1 mM	Cu 0 mM	Cu 1 mM	Tri 0 mM	Tri 1 mM
0,00	0,4588	0,2579	0,4455	0,3975	0,7204	0,3613
0,33	0,4979	0,2616	0,4909	0,4277	0,7544	0,3621
0,67	0,5359	0,2783	0,5343	0,4541	0,7871	0,3626
1,00	0,5747	0,3025	0,576	0,4779	0,8206	0,364
1,33	0,612	0,3280	0,6182	0,5016	0,8535	0,3646
1,67	0,6509	0,3543	0,6614	0,5227	0,8859	0,3664

- Comenta la sensibilidad de la AChE frente a los diferentes contaminantes: HgCl<sub>2</sub>, CuSO<sub>4</sub> y Trichlorfon.