



**PRUEBA PRÁCTICA DEL EJERCICIO DE
T.E. I LABORATORIO BIO/FISIO/MICRO**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Examen 22 de mayo de 2025

SUPUESTO PRÁCTICO 1

Se precisa el aislamiento e identificación de células linfocitarias. Para ello, se solicita al técnico que las extraiga y se proceda a su mantenimiento y recuento celular.

1. Se precisa obtener células de sangre periférica. ¿Qué tubo se utilizaría para la extracción?

- a) Tubo con fluoruro de sodio.
- b) Tubo con EDTA.
- c) Tubo con citrato sódico.
- d) Tubo vacío.

2. Para extraer células linfocitarias de sangre periférica ¿Cuál sería la técnica de aislamiento de elección?:

- a) Centrifugación diferencial mediante gradiente de densidad
- b) Cromatografía de intercambio iónico.
- c) Western blot.
- d) Electroforesis en gel de poliacrilamida.

3.- Para el mantenimiento in vitro de la población linfocitaria se precisa:

- a) Incubador de CO₂, un pH metro, una balanza, medios de cultivo específicos
- b) Incubador de CO₂, una cabina de flujo laminar, medios de cultivo específicos
- c) Liofilizador, una cabina de flujo laminar, medios de cultivo específicos.
- d) Criostato, una cabina de flujo laminar, medios de cultivo específicos.

4.- Para mantener los cultivos celulares, ¿qué medio de cultivo NO se utiliza de los siguientes?:

- a) DMEM
- b) RPMI
- c) PBS
- d) FBS (Suero de ternera fetal).

5.- Para la conservación a largo plazo de la población linfocitaria se precisa:

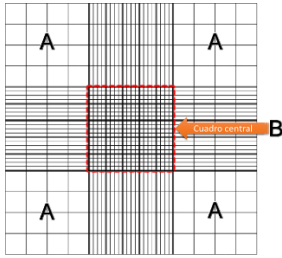
- a) Tanque de nitrógeno líquido, Dimetilsulfóxido, suero de ternera fetal, criotubos.
- b) Tanque de nitrógeno líquido, glucosa, tampón fosfato pH 7, criotubos.
- c) Tanque de helio líquido, sacarosa, criotubos.
- d) Tanque de nitrógeno líquido, sacarosa, tampón fosfato pH 7, criotubos.

6.- Queremos visualizar el cultivo in vivo de los linfocitos aislados de sangre periférica.

¿Qué microscopio sería el más adecuado para visualizar el cultivo celular?

- a) Microscopio de campo oscuro.
- b) Lupa binocular.
- c) Microscopio de contraste de fases.
- d) Microscopio de fluorescencia.

7.- ¿Cuál sería la fórmula para el recuento linfocitario para obtener células/ml, utilizando la cámara de Neubauer?



- a) La media de A por 10.000 por el factor de dilución.
- b) La media de B por 100 por el factor de dilución.
- c) La media de A por 100 por el factor de dilución.
- d) La media de A+B por 10.000 por el factor de dilución.

8.- Queremos diferenciar los linfocitos de sangre periférica en las distintas subpoblaciones. ¿Qué técnica sería la más adecuada para diferenciarlas y cuantificarlas?

- a) Inmunoprecipitación del extracto linfocitario y posterior Western-blot.
- b) ELISA.
- c) Citometría de flujo.
- d) HPLC.

SUPUESTO PRÁCTICO 2

En el procesamiento de una muestra de tejido cerebral se aísla el hipocampo izquierdo para una extracción de proteínas.

Hipocampo izquierdo. Extracción de proteínas de membrana

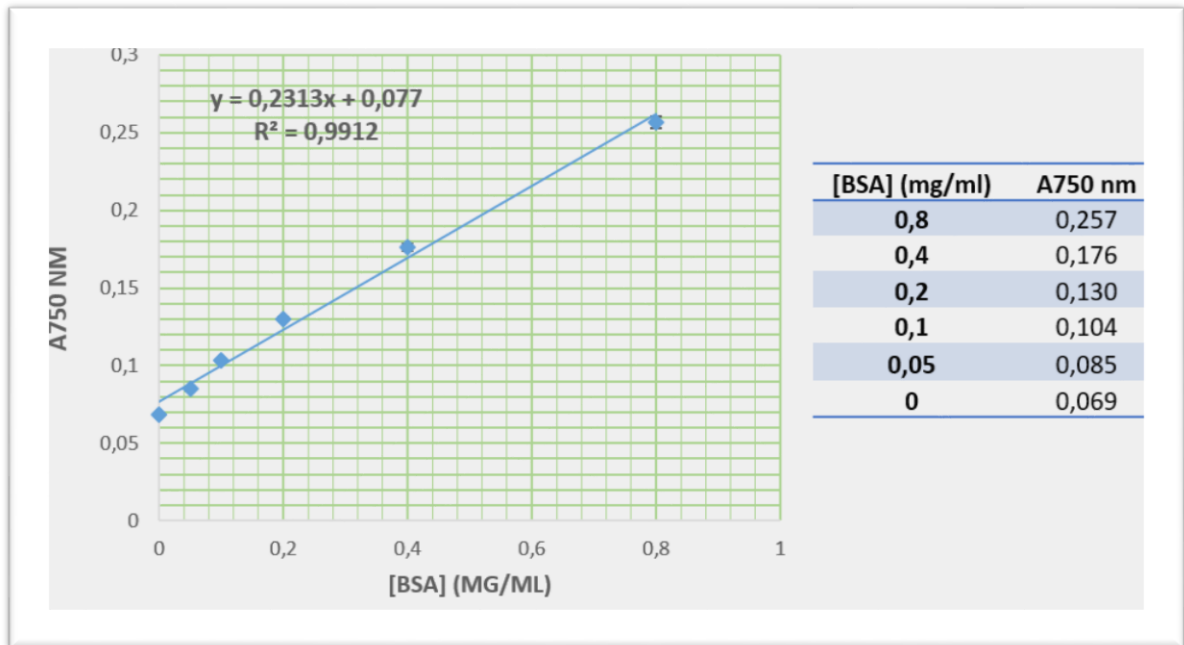
9. Indique el tampón más apropiado para la extracción de proteínas de membrana:

- a) PBS
- b) TBS
- c) Tampón fosfato pH 5.2
- d) RIPA

10. El método Lowry será el elegido para su cuantificación. Indique cuál de los siguientes reactivos NO forma parte de dicho método:

- a) Reactivo de Folin-Ciocalteu
- b) Sulfato de cobre
- c) Coomassie Brilliant Blue G-250
- d) Tartrato de potasio y sodio

11. Dada la siguiente curva estándar de BSA, calcule la concentración de la muestra extraída previamente, teniendo en cuenta la tabla adjunta que se ha seguido para la preparación de diferentes diluciones de la misma muestra.



| muestra | vol muestra (µl) | vol H2O (µl) | A750 nm |
|----------------|------------------|--------------|---------|
| hipocampo dcho | 5 | 195 | 0,297 |
| | 5 | 245 | 0,247 |
| | 5 | 1995 | 0,001 |

- a) 36.75 mg/ml
- b) 38.04 mg/ml
- c) 0.73 mg/ml
- d) 0.95 mg/ml

12. Una vez extraída la muestra, vamos a analizar la expresión de una proteína concreta mediante un Western Blotting. Previamente, es necesario que preparemos la muestra para poder cargarla en el gel. Para ello, se usará un Laemmli 2X. Teniendo en cuenta los cálculos anteriores, calcule el volumen necesario de la muestra de hipocampo que hace falta para cargar 20 µg finales en el pocillo.

- a) 0.54 µl
- b) 0.53 µl
- c) 27.40 µl
- d) 21.05 µl

SUPUESTO PRÁCTICO 3

En el laboratorio de prácticas se va a realizar una separación electroforética y posterior detección de proteínas séricas.

Ordene los pasos a seguir (la secuencia normal) para realizar el análisis:

13. ¿Cuál será el primer paso que se realizará?

- a) Obtención de la muestra de sangre venosa.
- b) Añadir tampón de carga a la muestra (una mezcla de SDS, glicerol, azul de bromofenol y β -mercaptoetanol o DTT).
- c) Sacar el gel de entre los dos cristales y eliminar el gel concentrante.
- d) Incubar con nitrato de plata.

14. ¿Cuál será el segundo paso que se realizará?

- a) Centrifugación y posterior obtención del suero (sin células ni fibrinógeno).
- b) Esperar 30 minutos hasta la completa coagulación sanguínea.
- c) Lavar y sensibilizar (con tiosulfato).
- d) Incubar con nitrato de plata.

15. ¿Cuál será el tercer paso que se realizará?

- a) Enchufar la fuente de alimentación y mantener a 100-150 V aproximadamente durante 1-2 horas.
- b) Fijar el gel (mezcla de etanol y ácido acético).
- c) Centrifugación y posterior obtención del suero (sin células ni fibrinógeno).
- d) Calentar a 95 °C durante 5 minutos para desnaturalizar las proteínas en la muestra.

16. ¿Cuál será el cuarto paso que se realizará?

- a) Añadir tampón de carga a la muestra (una mezcla de SDS, glicerol, azul de bromofenol y β -mercaptoetanol o DTT).
- b) Preparación del gel concentrador (entre el 4-5 % de acrilamida) y posterior polimerización.
- c) Montaje del gel en la cámara de electroforesis.
- d) Calentar a 95 °C durante 5 minutos para desnaturalizar las proteínas en la muestra.

17. ¿Cuál será el quinto paso que se realizará?

- a) Cargar las muestras desnaturalizadas en los pocillos del gel.
- b) Llenar la cámara de electroforesis con tampón de electroforesis (contiene SDS, Tris, glicina).
- c) Calentar a 95 °C durante 5 minutos para desnaturalizar las proteínas en la muestra.
- d) Preparación del gel separador (normalmente entre el 10-15 % de acrilamida), y posterior polimerización.

18. ¿Cuál será el sexto paso que se realizará?

- a) Incubar con nitrato de plata
- b) Sacar el gel entre los cristales y eliminar el gel concentrante
- c) Cargar las muestras desnaturalizadas en los pocillos del gel
- d) Preparación del gel concentrante (entre el 4-5 % de acrilamida) y posterior polimerización

19. ¿Cuál será el séptimo paso que se realizará?

- a) Llenar la cámara de electroforesis con tampón de electroforesis (contiene SDS, Tris, glicina).
- b) Montaje del gel en la cámara de electroforesis
- c) Cargar las muestras desnaturalizadas en los pocillos del gel
- d) Sacar el gel de entre los dos cristales y eliminar el gel concentrante

20. ¿Cuál será el octavo paso que se realizará?

- a) Preparación del gel concentrante (entre el 4-5 % de acrilamida) y posterior polimerización
- b) Añadir tampón de carga a la muestra (una mezcla de SDS, glicerol, azul de bromofenol y β -mercaptoetanol o DTT).
- c) Enchufar la fuente de alimentación y mantener a 100-150 V aproximadamente durante 1-2 horas
- d) Llenar la cámara de electroforesis con tampón de electroforesis (contiene SDS, Tris, glicina).

21. ¿Cuál será el noveno paso que se realizará?

- a) Llenar la cámara de electroforesis con tampón de electroforesis (contiene SDS, Tris, glicina).
- b) Calentar a 95 °C durante 5 minutos para desnaturalizar las proteínas en la muestra.
- c) Fijar el gel (mezcla de etanol y ácido acético).
- d) Incubar con nitrato de plata.

22. ¿Cuál será el décimo paso que se realizará?

- a) Llenar la cámara de electroforesis con tampón de electroforesis (contiene SDS, Tris, glicina).
- b) Esperar 30 minutos hasta la completa coagulación sanguínea.
- c) Cargar las muestras desnaturalizadas en los pocillos del gel.
- d) Llenar la cámara de electroforesis con tampón de electroforesis (contiene SDS, Tris, glicina).

23. ¿Cuál será el décimo primero paso que se realizará?

- a) Llenar la cámara de electroforesis con tampón de electroforesis (contiene SDS, Tris, glicina).
- b) Calentar a 95 °C durante 5 minutos para desnaturalizar las proteínas en la muestra
- c) Enchufar la fuente de alimentación y mantener a 100-150 V aproximadamente durante 1-2 horas.
- d) Revelar con formaldehído en carbonato de sodio.

24. ¿Cuál será el décimo segundo paso que se realizará?

- a) Sacar el gel entre los cristales y eliminar el gel concentrador
- b) Preparación del gel separador (normalmente entre el 10-15 % de acrilamida), y posterior polimerización
- c) Llenar la cámara de electroforesis con tampón de electroforesis (contiene SDS, Tris, glicina).
- d) Lavar y sensibilizar (con tiosulfato)

25. ¿Cuál será el décimo tercero paso que se realizará?

- a) Sacar el gel de entre los dos cristales y eliminar el gel concentrante.
- b) Cargar las muestras desnaturalizadas en los pocillos del gel
- c) Montaje del gel en la cámara de electroforesis
- d) Fijar el gel (mezcla de etanol y ácido acético)

26. ¿Cuál será el décimo cuarto paso que se realizará?

- a) Cargar las muestras desnaturalizadas en los pocillos del gel
- b) Lavar y sensibilizar (con tiosulfato)
- c) Sacar el gel de entre los dos cristales y eliminar el gel concentrante
- d) Fijar el gel (mezcla de etanol y ácido acético)

27. ¿Cuál será el décimo quinto paso que se realizará?

- a) Cargar las muestras desnaturalizadas en los pocillos del gel
- b) Sacar el gel de entre los dos cristales y eliminar el gel concentrante
- c) Incubar con nitrato de plata
- d) Esperar 30 minutos hasta la completa coagulación sanguínea.

28. ¿Cuál será el décimo sexto paso que se realizará?

- a) Revelar con formaldehído en carbonato de sodio.
- b) Incubar con nitrato de plata
- c) Fijar el gel (mezcla de etanol y ácido acético)
- d) Enchufar la fuente de alimentación y mantener a 100-150 V aproximadamente durante 1-2 horas

SUPUESTO PRÁCTICO 4

Se precisa realizar en el laboratorio la determinación cuantitativa de ácidos grasos en una muestra de carne de ternera.

- 29. ¿Qué método más apropiado utilizarías para realizar la determinación cuantitativa?**
- Electroforesis bidimensional y posterior análisis computacional
 - Cromatografía de gases.
 - Cromatografía en capa fina y posterior análisis instrumental.
 - Inmunoprecipitación, con un detector de ionización de llama (FID)
- 30. ¿Qué reacción bioquímica se debe producir para su detección?**
- La formación de enlaces nitrogenados.
 - La formación de alcaloides.
 - La formación de éteres metálicos.
 - La formación de ésteres metálicos.
- 31. En el proceso de obtención de ácidos grasos se utilizó cloruro de acetilo en metanol anhidro. Conteste la INCORRECTA.**
- Se debe realizar en campana de gases.
 - En la reacción de formación del compuesto es necesario utilizar métodos para enfriar el compuesto.
 - El cloruro de acetilo en metanol se utiliza para la digestión de la carne.
 - La adición del cloruro de acetilo sobre el metanol se debe realizar con mucha precaución porque provoca salpicaduras cuando ambos compuestos entran en contacto.
- 32. Qué equipos son necesarios para la obtención de los ácidos grasos en las muestras de carne.**
- Vortex, centrífuga, baño de agua.
 - Vortex, espectrofómetro, centrífuga.
 - Vortex, micrómetro de Haugh, centrífuga.
 - Vortex, centrífuga, lignificador.
- 33. ¿Cuál es el principio básico de la cromatografía de gases?**
- Separación por tamaño.
 - Separación por polaridad.
 - Separación por volatilidad.
 - Separación por peso molecular.
- 34. ¿En qué estado físico se encuentra la muestra que se introduce en un cromatógrafo de gases para analizar ácidos grasos, en el momento de la inyección?**
- Sólidos.
 - Líquidos.
 - Gases.
 - Sólidos previamente congelados y liofilizados.
- 35. En el proceso de extracción de ácidos grasos. ¿cuál de los siguientes disolventes es comúnmente utilizado?**
- Agua.
 - Hexano.
 - Etanol.
 - Acetona.

- 36. ¿Qué tipo de columna se utiliza frecuentemente en la cromatografía de gases para separar ácidos grasos?**
- Columna de papel.
 - Columna de gel filtración.
 - Columna capilar.
 - Columna de intercambio iónico.
- 37. ¿Qué se entiende por “derivación” en el contexto de análisis de ácidos grasos?**
- Alteración de la temperatura de la muestra.
 - Reacción química para convertir ácidos grasos en formas más volátiles.
 - Proceso de separación de compuestos.
 - Identificación de los picos en el cromatograma.
- 38. ¿Qué herramienta se utiliza para cuantificar las áreas de los picos en un cromatograma?**
- Refractómetro.
 - Espectrómetro de masas.
 - Software de análisis de datos.
 - Micrómetro de Haugh.
- 39. ¿Por qué es importante la purificación antes de la cromatografía de gases?**
- Para aumentar el volumen de la muestra.
 - Para eliminar interferencias que pueden afectar la separación.
 - Para cambiar el estado físico de la muestra.
 - No es importante.
- 40. ¿Qué tipos de detectores se utilizan en cromatografía de gases? Indique el incorrecto.**
- Detector de conductividad térmica (TCD): Mide la diferencia de conductividad térmica entre el gas portador y el analito.
 - Detector de espectrometría de masas (MS): Identifica los compuestos basándose en su relación masas/carga.
 - Detector de conductividad eléctrica (CE): Identifica los compuestos basándose en su radiación magnética.
 - Detector de ionización de llama (FID): Detecta compuestos orgánicos basándose en la ionización de los productos en una llama.