



**PRUEBA PRÁCTICA DEL EJERCICIO DE
T.E. I BIO/FISIO/MICRO
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

Examen 25 de octubre de 2022

SUPUESTO 1 (Puntuación Máxima: 7 Puntos)

1. Para poder clasificar bacterias, el primer paso antes de realizar otro tipo de pruebas más complejas, es la tinción de Gram. Se trata de una tinción:
 - a) Polaridad bacteriana.
 - b) transcripción inversa.
 - c) Diferencial.
 - d) De patogenicidad.

2. Seleccione y ordene cronológicamente los 8 pasos a seguir en la tinción:
 - a) Adición del colorante (violeta de genciana) y posterior lavado con agua.
 - b) Secado al aire hasta evaporación.
 - c) Fijación de la muestra con formol al 10%.
 - d) Decoloración con alcohol: acetona y posterior lavado con agua.
 - e) Fijación por llama.
 - f) Extensión de la muestra en el portaobjetos.
 - g) Adición del colorante de contraste (safranina) y posterior lavado con agua.
 - h) Deshidratación en baños de etanol (70%-80%-absoluto) de 1 min cada uno.
 - i) Observación al microscopio con aceite de inmersión.
 - j) Adición del mordiente (lugol) y posterior lavado con agua.
 - k) Esterilización del material que se va a utilizar
 - l) Adición del colorante primario (fucsina ácida) y posterior lavado con agua.

3. Tras la tinción de Gram, se pueden observar dos tipos de poblaciones bacterianas:
 - a) Bacterias Gram (+) teñidas de azul y Gram (-) teñidas de rosa.
 - b) Bacterias Gram (+) teñidas de rosa y Gram (-) teñidas de violeta.
 - c) Bacterias Gram (+) sin teñir y Gram (-) teñidas de rosa.
 - d) Bacterias Gram (+) teñidas de rosa y Gram (-) sin teñir.

SUPUESTO 2 (Puntuación Máxima: 11 Puntos)

1. El Western-Blot es una técnica analítica basada en la detección de proteínas de una muestra que puede provenir de un extracto celular o de tejidos. Consta de tres etapas:
 - a) Electroforesis, inmunodetección y cuantificación.
 - b) Cuantificación, transferencia a soporte sólido e inmunodetección.
 - c) Separación por tamaño, cuantificación e inmunodetección.
 - d) Separación por tamaño, transferencia a soporte sólido e inmunodetección .

2. Seleccione los seis reactivos necesarios para preparar el “resolving gel” de una PAGE-SDS y ordénelos en el orden correcto en que deben ser mezclados:
 - a) SDS al 10%
 - b) Agua destilada
 - c) APS al 10%
 - d) Isopropanol al 1%
 - e) Tampón Tris-HCl 1,5M pH 8,8
 - f) TEMED
 - g) Tampón Tris-Borato 0,3M pH 7,4
 - h) Acrilamida:Bisacrilamida al 30%
 - i) Tampón Tris-HCl 0,5M pH 6,8
 - j) Tampón Tris-Acetato 1M pH 7,4

3. Otra de las fases del Western-Blot es el bloqueo y la incubación con anticuerpos de la membrana. Ordene cronológicamente los pasos necesarios para llevar a cabo este proceso:
- a) Sumergir la membrana en tampón de bloqueo. Agitación durante 1 hora. Retirar el tampón
 - b) Lavar la membrana en T-TBS 1X durante 5-10min en agitación a temperatura ambiente, 3 veces
 - c) Recuperar el anticuerpo. Conservar a -20°C
 - d) Añadir el anticuerpo primario (diluido en solución de bloqueo). Incubar *over night* a 4°C en agitación
 - e) Retirar el anticuerpo y lavar con T-TBS 1X durante 10 min en agitación, 3 veces
 - f) Revelar con la técnica elegida
 - g) Preparar tampón de bloqueo (leche en polvo al 10-20% en T-TBS)
 - h) Añadir el anticuerpo secundario (diluido en solución de bloqueo). Incubar a temperatura ambiente al menos 1 hora

SUPUESTO 3 (Puntuación Máxima: 6 Puntos)

Ordena cronológicamente los 6 pasos generales para llevar a cabo la extracción de DNA en un laboratorio, de forma que el primero corresponda al número 1 y el último al número 6.

- a) Lisis celular
- b) Centrifugación
- c) Degradación de ARN por RNAasa
- d) Cuantificación de DNA
- e) Precipitación del DNA con con isopropanol frío
- f) Degradación de proteínas utilizando proteasas
- g) Homogenización del tejido con trizol
- h) Centrifugación de ADN
- i) Incubación
- j) Lavado con etanol
- k) Obtención de la muestra celular