



**PRUEBA PRACTICA DEL EJERCICIO DE
T.E. I LAB.
BIOQUIMICA/FISIOLOGIA/MICROBIOLOGIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**CONCURSO-OPOSICIÓN DE PROMOCIÓN INTERNA Y SISTEMA GENERAL DE
ACCESO LIBRE DE PERSONAL LABORAL FIJO DE ADMINISTRACIÓN Y SERVICIOS
(RES. 11-07-2022)**

10 de Enero de 2023

SUPUESTO 1 (Máx. puntuación: 12 puntos)

Para poder clasificar bacterias, el primer paso antes de realizar otro tipo de pruebas más complejas, es la tinción de Gram.

1) Se trata de una tinción:

- a) Polaridad bacteriana
- b) transcripción inversa
- c) Diferencial
- d) De patogenicidad

2) De los siguientes pasos, 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 (Máx. puntuación: 12 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 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