



**PRUEBA PRÁCTICA DEL EJERCICIO DE
T.E. I LABORATORIOS
BIOQUÍMICA/FISIOLOGÍA/MICROBIOLOGÍA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

Examen 20 de abril de 2022

SUPUESTO 1 (Punt. Máxima: 12 Puntos)

Se pretende llevar a cabo la extracción de RNA de una muestra biológica. Seleccionar, entre las opciones que figuran a continuación los 5 pasos que forman parte del protocolo ordenándolas cronológicamente, de forma que el primero corresponda al número 1 y el último al 5.

- A. Disolver el precipitado con agua/DEPC.
- B. Eliminación del DNA con la enzima DNasa.
- C. Incubación con enzimas de restricción.
- D. Precipitación del RNA con isopropanol frío.
- E. Homogenización del tejido con trizol.
- F. Transformación del genoma en bacterias competentes.
- G. Incubación con RNAsa a 37°C durante 12 h.
- H. Adición de cloroformo y posterior centrifugación.
- I. Resuspensión de la muestra con tampón de lisis.
- J. Lavado con etanol al 70% con agua/DEPC.

SUPUESTO 2 (Punt. Máxima: 12 Puntos)

Ordena los pasos para preparar una tinción inmunohistoquímica a partir de tejido fijado en PFA (un hemisferio de cerebro de ratón) y cortado en criostato. Seleccionar los 11 pasos correctos:

- A. Bloqueo de los cortes con solución de Horse Serum al 10% en TBS
- B. Congelación del tejido en etanol frío (0°C)
- C. Deshidratación y posterior rehidratación de los cortes montados
- D. Extracción de medio hemisferio cerebral de ratón
- E. Incubación con anticuerpo primario específico, O.N.
- F. Incubación con anticuerpo secundario unido a ECL
- G. Incubación con anticuerpo secundario unido a HRP
- H. Incubación con anticuerpo secundario unido al fluoróforo Alexa 594
- I. Inmersión del tejido en PFA al 4% durante 24 horas
- J. Inmersión del tejido en sacarosa, 24 horas o hasta que el tejido deje de flotar.
- K. Inmersión del tejido en solución hipotónica para eliminar el PFA
- L. Lavados con BSA al 5% en TBE
- M. Montaje de los cortes en TBS: recogida de los cortes en flotación y montaje sobre portas previamente gelatinizados
- N. Permeabilización con BSA al 30%
- O. Permeabilización con Triton X100
- P. Preservación de los cortes realizados en solución anticongelante
- Q. Realización de cortes de 30 micras (μm) en el criostato
- R. Realización de cortes de 70 milímetros (mm) en el criostato
- S. Revelado de la actividad fluorescente con ECL