



VNIVERSITATIS VALÈNCIA

PRUEBAS SELECTIVAS DE ACCESO, POR EL TURNO
LIBRE, A LA ESCALA TÉCNICA MEDIA DE
INVESTIGACIÓN, SUBESCALA BIOLOGÍA, QUÍMICA Y
SANITARIA (TLO24_A2_36).

Tercera prueba (Supuestos Prácticos)
6 de febrero de 2026

Ejercicio 1.

Tenemos un péptido de punto isoeléctrico (pI) 7,4, en una disolución acuosa de composición 0,3 M de ácido acético y 0,4 M de acetato de sodio. La constante de disociación ácida para el ácido acético es $K_a = 1,8 \times 10^{-5}$.

Responda a las siguientes cuestiones:

- 1) Calcule el pH de dicha solución. (4 puntos)
- 2) Si se somete a electroforesis en acetato de celulosa, el péptido ¿migraría hacia el ánodo o hacia el cátodo? Explique el motivo. (2 puntos)
- 3) Represente esquemáticamente el resultado de separar por electroforesis en acetato de celulosa, utilizando el mismo tampón, este péptido de otros dos de pI 6,0 y 4,8. (4 puntos)

Ejercicio 2.

Tenemos una cepa de *E. coli* no patógena que contiene un plásmido que confiere resistencia a ampicilina.

Se requiere realizar una minipreparación de ADN para purificar el plásmido a partir del cultivo bacteriano. Para ello, se preparan 10 ml de medio LB con ampicilina a una concentración de 100 µg/ml. A continuación, se inocula la bacteria y, después de incubarlo a 37°C durante 18 horas, se purifica el plásmido.

Este plásmido se somete a digestión con distintas enzimas de restricción (HindIII, XhoI y EcoRI) y electroforesis en gel de agarosa (1%) con bromuro de etidio.

Los tamaños de los fragmentos observados resultantes de este análisis son los siguientes:

HindIII 5 kb

HindIII + XhoI 3 kb y 2 kb

HindIII + XhoI + EcoRI 2,5 kb; 2 kb y 0,5 kb

XhoI + EcoRI 2,5 kb

El plásmido contiene un inserto de ADN en el que se encuentra un gen cuya secuencia se conoce. La secuencia de este inserto se muestra más abajo y la región codificante del gen está marcada en negrita. El codón de inicio (ATG) y el codón de parada (TAA) están subrayados (se muestra la secuencia de la cadena en sentido 5' 3').

CAATTCATATCACTGTTAAATTCAATTTGCACTATAGCCGCACGTAAAAATAATTAACATA**ATG**
TCAGGAAAAGCTCATGGAGGTAAAGGTAAATCCGGCGCTAAAGACAGTGGTTCATTGAGATCTCA
ATCTTCTTCAGCAAGGGCTGGCTTGCAAGTTTCTTCTACAATTGCTTCAGGTGGTGTGTTTGCCTCA
TAGTAAATAAAGCATTATTATTGAAAGTGGAAGATTCTTTGATCAGGGCTTAAGAAGAATAGTTT
TTCTTTCCCATTTATCCCGGAAGCTT

Responda a las siguientes cuestiones (2 puntos por pregunta):

1) Detalle los pasos a seguir para la preparación de 400 ml de medio LB líquido teniendo en cuenta que la composición del medio LB es Triptona 1%, Extracto de levadura 0,5%, cloruro sódico 1%. Indique también el material y equipo básico de laboratorio que necesita. Comente también las medidas o equipamiento que debe utilizar para mantener la esterilidad.

2) Explique brevemente los distintos pasos para preparar un gel de agarosa 1% de 75 ml con Bromuro de Etidio (disponemos de un stock 20.000X de BrEt). Indique también las medidas de protección y bioseguridad que debe aplicar.

3) Represente esquemáticamente el mapa de restricción del plásmido analizado, indicando la posición de los sitios de restricción utilizados en el análisis y la distancia entre ellos expresada en kilobases (kb).

4) Diseñe una pareja de oligonucleótidos ("primers"), de 18 nucleótidos cada uno, que permitan amplificar, mediante PCR, exclusivamente la región codificante del gen incluyendo el codón de inicio y excluyendo el codón de parada. Escriba la secuencia de dichos oligonucleótidos en sentido 5' 3'. Indique el porcentaje de G+C de cada uno de ellos. ¿Cuál de los dos tendría una temperatura de fusión (Tm) más elevada?

5) El Servicio de Secuenciación de ADN requiere que la mezcla de reacción suministrada para secuenciar contenga 500 ng de plásmido y 25 pmoles de "primer" en un volumen final de 10 µl. Si disponemos de plásmido purificado a 0,2 µg/µl y el "primer" a 50 pmoles/µl, indique las cantidades necesarias para preparar la mezcla de secuenciación de acuerdo con los requerimientos del Servicio.

Ejercicio 3:

Un grupo de investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas solicita el uso del servicio de Microscopia para un estudio sobre comunicación intercelular. Requieren:

- A) Caracterización morfológica de vesículas de 50-100 nm (exosomas) mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).
- B) Análisis de colocalización en células vivas de las proteínas de membrana marcadas con Proteína verde fluorescente (GFP) y Proteína amarilla fluorescente (YFP) mediante Microscopía Confocal.

Cuestiones a resolver (2,5 puntos cada pregunta):

- 1) Describa el protocolo de contraste negativo para la visualización de exosomas. Justifique la elección frente a la técnica de ultramicrotomía tradicional.
- 2) Configuración Óptica: Explique el concepto de "crosstalk" o "bleed-through" entre GFP (λ_{Exc} 488nm / λ_{Em} 509nm) y YFP (λ_{Exc} 514nm / λ_{Em} 527nm). ¿Cómo configuraría los láseres y detectores para minimizarlo?
- 3) Defina el proceso de "Desmezclado Espectral" (Spectral Unmixing). ¿Qué requisitos previos son necesarios respecto a las muestras de control?
- 4) Seguridad y Gestión: Identifique los riesgos laborales asociados al uso de láseres de Clase 3B/4 y describa las medidas de protección para evitarlos, así como la gestión de residuos derivada del acetato de uranilo.