



VNIVERSITAT D VALÈNCIA

PROVES SELECTIVES D'ACCÉS, PEL TORN LLIURE, A
L'ESCALA TÈCNICA MITJANA D'INVESTIGACIÓ,
SUBESCALA BIOLOGIA, QUÍMICA I SANITÀRIA
(TLO24_A2_36).

Tercera prova (Supòsits pràctics)
6 de febrer de 2026

Exercici 1.

Tenim un pèptid de punt isoelèctric (pI) 7'4, en una dissolució aquosa de composició 0'3 M d'àcid acètic i 0'4 M d'acetat de sodi. La constant de dissociació àcida per a l'àcid acètic és $K_a = 1'8 \times 10^{-5}$.

Responga a les qüestions següents:

- 1) Calcule el pH d'aquesta solució. (4 punts)
- 2) Si se sotmet a electroforesi en acetat de cel·lulosa, el pèptid ¿migraria cap a l'ànode o cap al càtode? Explique el motiu. (2 punts)
- 3) Represente esquemàticament el resultat de separar per electroforesi en acetat de cel·lulosa, utilitzant el mateix tampó, aquest pèptid d'altres dos de pI 6,0 i 4,8. (4 punts)

Exercici 2.

Tenim una soca d' *E. coli* no patògena que conté un plasmidi que confereix resistència a ampicil·lina.

Es requereix realitzar una minipreparació d' ADN per purificar el plasmidi a partir del cultiu bacterià. Per a això, es preparen 10 mL de medi LB amb ampicil·lina a una concentració de 100 µg/mL. A continuació, s'inocula el bacteri i, després d'incubar-lo a 37 °C durant 18 hores, es purifica el plasmidi.

Aquest plasmidi se sotmet a digestió amb diferents enzims de restricció (HindIII, XhoI i EcoRI) i electroforesi en gel d'agarosa (1%) amb bromur d'etidi.

Les mides dels fragments observats resultants d' aquesta anàlisi són les següents:

HindIII 5 kb

HindIII + XhoI 3 kb i 2 kb

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

XhoI + EcoRI 2,5 kb

El plasmidi conté un inserit d'ADN en el qual es troba un gen, la seqüència del qual es coneix. La seqüència d'aquest inserit es mostra més avall i la regió codificant del gen està marcada en negreta. El codó d'inici (ATG) i el codó de parada (TAA) estan subratllats (es mostra la seqüència de la cadena en sentit 5' 3').

CAATTCATATCACTGTTAAATTCAATTTGCACTATAGCCGCACGTAAAAATAATTAACATA**ATG**
TCAGGAAAAGCTCATGGAGGTAAAGGTAAATCCGGCGCTAAAGACAGTGGTTCATTGAGATCTCA
ATCTTCTTCAGCAAGGGCTGGCTTGCAAGTTTCTCTACAATTGCTTCAGGTGGTGTGTTTGCCTCA
TAGTAAATAAAGCATTATTATTGAAAGTGGAAGATTCTTTGATCAGGGCTTAAGAAGAATAGTTT
TTCTTTCCCATTTATCCCGGAAGCTT

Responga a les següents qüestions (2 punts per pregunta):

1) Detalle els passos a seguir per a la preparació de 400 mL de medi LB líquid tenint en compte que la seua composició és: Triptona 1%, Extracte de llevat 0,5%, clorur sòdic 1%. Indique el material i equip bàsic de laboratori que necessita. Comente també les mesures o equipament que ha d'utilitzar per mantenir l'esterilitat.

2) Explique breument els diferents passos per preparar un gel d'agarosa 1% de 75 mL amb Bromur d'etidi (disposem d'un estoc 20.000X de BrEt) i indique també les mesures de protecció i bioseguretat que ha d'aplicar.

3) Represente esquemàticament el mapa de restricció del plasmidi analitzat, indicant la posició dels llocs de restricció utilitzats en l'anàlisi i la distància entre ells expressada en quilobases (kb).

4) Dissenyi una parella d'oligonucleòtids ("primers"), de 18 nucleòtids cadascun, que permetin amplificar, mitjançant PCR, exclusivament la regió codificant del gen incloent el codó d'inici i excloent el codó de parada. Escriba la seqüència d'aquests oligonucleòtids en sentit 5' 3'. Indique el percentatge de G + C de cadascun d'ells. Quina dels dos tindria una temperatura de fusió (T_m) més elevada?

5) El Servei de Seqüenciació d'ADN requereix que la barreja de reacció subministrada per seqüenciar contingui 500 ng de plasmidi i 25 pmols de "primer" en un volum final de 10 µL. Si disposem de plasmidi purificat a 0,2 µg/µL i el "primer" a 50 pmoles/µL, indiqui les quantitats necessàries per preparar la barreja de seqüenciació d'acord amb els requeriments del Servei.

Exercici 3:

Un grup de recerca de la Facultat de Ciències Biològiques demana l'ús del servei de Microscòpia per a un estudi sobre comunicació intercel·lular. Requereixen:

- A) Caracterització morfològica de vesícules de 50-100 nm (exosomes) mitjançant Microscòpia Electrònica de Transmissió (TEM).
- B) Anàlisi de col·locació en cèl·lules vives de les proteïnes de membrana marcades amb Proteïna verda fluorescent (GFP) i Proteïna groga fluorescent (YFP) mitjançant Microscòpia Confocal.

Qüestions a resoldre (2,5 punts cada pregunta):

- 1) Descrigua el protocol de contrast negatiu per a la visualització d' exosomes. Justifique l'elecció davant la tècnica d'ultramicrotomia tradicional.
- 2) Configuració Òptica: Explique el concepte de "crosstalk" o "bleed-through" entre GFP (λ_{Exc} 488nm / λ_{Em} 509nm) i YFP (λ_{Exc} 514nm / λ_{Em} 527nm). Com configuraria els làsers i detectors per minimitzar-lo?
- 3) Defineixi el procés de "Desmesclat Espectral" (Spectral Unmixing). Quins requisits previs són necessaris respecte a les mostres de control?
- 4) Seguretat i Gestió: Identifiqui els riscos laborals associats a l'ús de làsers de Classe 3B/4 i faça una descripció de les mesures de protecció per poder-ho evitar, així com la gestió de residus derivada de l'acetat d'uranil.