

**TERCER EJERCICIO de las pruebas selectivas para el acceso a la Escala de Ayudantes de Investigación de los Organismos Públicos de Investigación, por el sistema de acceso libre, convocadas mediante Resolución de 7 de noviembre de 2018, de la Subsecretaría de Ciencia, Innovación y Universidades (BOE 23 de noviembre de 2018)**

---

**Programa:** «Centros de referencia en biomedicina y salud humana. Enfermedades Crónicas»

**TRIBUNAL Nº:** 9

**Formato:** SUPUESTO PRÁCTICO relacionado con las materias específicas del programa « Centros de referencia en biomedicina y salud humana. Enfermedades Crónicas ».

**Advertencias:**

1. Para el desarrollo de las mismas, usted dispone de un “cuadernillo” debiendo escribir por ambas caras de cada hoja.
2. Recuerde que el examen lo corregirá directamente el tribunal, en revisión ciega, por lo que es necesario escribir con letra clara y legible, en color azul o negro, indicando en cada hoja la concreta pregunta que se está contestando, de modo que no haya confusión en las respuestas. No escriba su nombre ni apellidos en el interior del cuadernillo, ni se identifique de ningún otro modo.
3. No existe límite de espacio por pregunta.
4. El tiempo de realización de este ejercicio es de **120 MINUTOS (2 horas)**.
5. Compruebe en el “cuadernillo” los datos relativos a sus apellidos, nombre y DNI; no olvide firmar en el recuadro habilitado.
6. No podrá ausentarse del aula durante los primeros 15 minutos de examen ni cuando falten 15 minutos para finalizar el mismo. En caso de ausentarse antes de la finalización del tiempo del examen no podrá llevarse las preguntas.
7. Puede requerir el uso de calculadora.

La leucemia linfocítica crónica (LLC), es una enfermedad tumoral que afecta a células B de fenotipo maduro. Debido a su naturaleza asintomática, en la mayoría de las ocasiones, se identifica a través de un recuento anormalmente elevado de linfocitos B circulantes, que suele estar por encima de  $5.000/\text{mm}^3$ . La LLC no parece estar asociada con un único fallo molecular, sino que la interacción de diferentes factores determina el establecimiento de la enfermedad. En un laboratorio se reciben muestras de sangre de pacientes diagnosticados de LLC desde el Servicio de Hematología del Hospital Central de Madrid para completar un estudio en curso.

**CUESTIÓN 1:** Describe los procedimientos empleados en la manipulación de las muestras desde su origen hasta su llegada a nuestro laboratorio (transporte, envasado, conservación, recepción...). ¿Qué requerimientos mínimos de Bioseguridad debemos adoptar para minimizar los riesgos derivados de su manipulación? (**VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 6 PTOS**)

**CUESTIÓN 2:** Recibidas muestras de sangre completa de pacientes con LLC, se requiere tratarlas con un tampón hipo-osmótico ACK (amoníaco-cloruro-potasio) para excluir eritrocitos de análisis posteriores. La composición y pesos moleculares de cada componente del buffer ACK es la señalada en la siguiente tabla:

Reactivo	Concentración final	Pm (g/mol)
$\text{NH}_4\text{Cl}$	150 mM	53,491
$\text{KHCO}_3$	10 mM	100,115
$\text{Na}_2\text{EDTA}$	0,1 mM	372,24

¿Cómo prepararías un litro de tampón de lisis ACK a pH 7,2-7,4? (**VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 6 PTOS**)

**CUESTIÓN 3:** Junto con las muestras de sangre se reciben informes sobre el examen al microscopio de frotis de sangre de cada paciente en los que se identifica que la población linfocítica es de aspecto normal pero con recuentos muy elevados.

- Describe qué metodología utilizarías para identificar que la cifra de linfocitos aumentados corresponde efectivamente a la población de linfocitos B en las muestras de sangre recibidas.
- Diseña el experimento que utilizarías para ello y señala qué tipo de controles incluirías.

**(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 6 PTOS)**

**CUESTIÓN 4:** La presencia de mutaciones en el gen supresor tumoral *TP53* muestra marcada resistencia a quimioterapia, asociándose con un muy mal pronóstico de la enfermedad. El estudio de dichas mutaciones es uno de los objetivos a abordar en el laboratorio. ¿Qué técnica o técnicas experimentales seguirías para realizar un análisis de la presencia o ausencia de mutaciones en el gen *TP53* en células B aisladas por sorting celular? Descríbelas brevemente. **(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 6 PTOS)**

**CUESTIÓN 5:** Con objeto de profundizar en los mecanismos de patogénesis de la enfermedad, se inicia el desarrollo de un proyecto en el que se utilizarán ratones transgénicos condicionales en los que se sobre-expresa cierta proteína de señalización en el linaje de células B. La hipótesis de trabajo, basada en los datos previos del grupo, es que la sobreexpresión de dicha proteína favorece la proliferación de las células B.

- Describe cuáles son los permisos que se deben obtener para poder realizar este proyecto con animales de experimentación.
- Diseña de manera esquemática **un ejemplo de procedimiento** que sirva para estudiar la hipótesis de partida.

**(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 6 PTOS)**

