

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 16 de diciembre de 2022, de la Subsecretaría del Ministerio de Ciencia e Innovación (BOE de 26 de diciembre de 2022)

Programa «ÁREA GLOBAL 7: BIOMEDICINA Y SALUD. ESPECIALIDAD 9: ASISTENCIA EN BIOMEDICINA Y SALUD HUMANA»

TRIBUNAL Nº: 7

ADVERTENCIAS:

1. Por favor, **NO abra el cuadernillo** hasta que se le indique.
2. El tiempo de realización de este ejercicio es de **90 MINUTOS**.
3. Indique en las hojas autocopiativas: número de página, apellidos, nombre y DNI.
4. No se recomienda el uso de bolígrafos de gel o tinta líquida.
5. No existe límite de espacio por pregunta.
6. Está permitido el uso de calculadora. No está permitido el uso de dispositivos móviles ni relojes inteligentes u otros dispositivos similares durante la realización del ejercicio, los cuales serán retirados.
7. **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.

SUPUESTO PRACTICO 1

Descripción del caso:

En un laboratorio de microbiología, acreditado conforme a la norma UNE-EN ISO 15189, se recibe una muestra de esputo de un paciente con sospecha de infección por *Mycobacterium tuberculosis*. Considerando que se trata de un agente biológico del grupo 3 (BSL3), conteste las siguientes preguntas:

Preguntas (MÁXIMO 30 PUNTOS)

Pregunta 1. ¿Cómo debería realizarse la recepción de la muestra y cómo sería su manejo en un laboratorio con nivel de bioseguridad 3 (BSL3) previo a la realización de los ensayos? **(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 7,5 PUNTOS)**

Pregunta 2. Se necesita preparar 50 ml de una solución de lisis con un pH de 8,6 para extraer el ADN de la muestra. Teniendo en cuenta los datos facilitados a continuación, calcule la cantidad de cada uno de los componentes que habría que añadir e indique cómo proceder para preparar la solución de lisis.

Composición de la solución de lisis:

NaCl 0,1 M
Sacarosa 0,1 M
Tris 0,1 M
EDTA 0,05 M
SDS al 0,5 % (p/v)

Peso molecular de cada compuesto:

NaCl: 58,4 g/mol
Sacarosa: 342,30 g/mol
TRIS: 121,14 g/mol
EDTA: 292,24 g/mol
SDS: 288,38 g/mol

(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 7,5 PUNTOS)

Pregunta 3. Después de extraer el ADN y el ARN de la muestra, se diluyen 5 µl de cada extracción con 145 µl de agua desionizada y se mide la absorbancia a 230, 260 y 280 nm utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Los valores obtenidos fueron los siguientes:

Longitud de onda (nm)	Absorbancias ADN	Absorbancias ARN
230	0,150	0,120
260	0,180	0,090
280	0,095	0,181

¿Cuál es la concentración de ADN y ARN en µg/ml en cada una de las extracciones? ¿Considera que las extracciones son de buena calidad? Razone la respuesta.

(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 7,5 PUNTOS)

Pregunta 4. Tras confirmar la infección por *Mycobacterium tuberculosis*, el paciente comienza a recibir tratamiento. Con el fin de estudiar la respuesta del paciente al tratamiento, se envían muestras de esputo al laboratorio de microbiología cada mes durante dos años. En la siguiente tabla se indican las concentraciones de ADN determinadas en las muestras recibidas:

Muestra	Concentración ADN $\mu\text{g/ml}$
1	270
2	210
3	200
4	200
5	205
6	180
7	140
8	137
9	136
10	125
11	122
12	122
13	123
14	117
15	120
16	123
17	110
18	109
19	108
20	108
21	104
22	102
23	100
24	80

Calcule la media, la mediana y la moda de los datos que aparecen en la tabla. Indique las fórmulas utilizadas para el cálculo de cada una de ellas.

(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 7,5 PUNTOS)

SUPUESTO PRACTICO 2

Descripción del caso:

En un laboratorio que colabora en un proyecto de investigación multicéntrico nacional se recibe una biopsia tumoral procedente de un hospital de Castilla-La Mancha. Responda a las siguientes preguntas relacionadas con el procesamiento de la biopsia:

Preguntas (MÁXIMO 30 PUNTOS)

Pregunta 1. Se dispone del procedimiento para preparar una solución de 500 ml de PBS 10X. Teniendo en cuenta los pesos moleculares de cada uno de los compuestos, indicar la concentración final de cada uno de ellos razonando la respuesta.

Preparación de 500 ml de PBS 10X:

1. Añadir 400 ml de agua destilada a un vaso de precipitados limpio y autoclavado.
2. Añadir 40 g de NaCl a la solución.
3. Añadir 1 g de KCl a la solución.
4. Añadir 1,2 g de KH_2PO_4 a la solución.
5. Añadir 8,9 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a la solución.
6. Ajustar la solución a pH 7,4. Ajustar el volumen a 500 ml con agua destilada.

Pesos moleculares de cada componente:

NaCl: 58,4 g/mol.

KCl: 74,5 g/mol.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 177,99 g/mol.

KH_2PO_4 : 136,08 g/mol.

(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 7,5 PUNTOS)

Pregunta 2. Se quieren cultivar las células tumorales de la biopsia para estudiar posibles tratamientos *in vitro* y mantener la línea en el laboratorio. Por estudios previos se sabe que las células tumorales son adherentes y se cultivan bien en medio DMEM suplementado con 10% de suero fetal bovino y 5% de penicilina-estreptomicina.

- a) Indique los pasos necesarios para poner en cultivo las células tumorales a partir de la biopsia.
- b) Una vez establecido el cultivo, indique los pasos para congelar las células tumorales.
- c) En uno de los pases se realiza un estudio de viabilidad del cultivo. Para ello, todas las células del cultivo se resuspenden en 5 ml de medio y se realiza una dilución 1/10. De esta dilución se toman 10 μl a los que se añaden 10 μl de azul Tripán y se realiza un recuento de las células en una cámara de Neubauer. Para ello se cuentan las células de los cuatro cuadrantes de las esquinas (16 cuadrados por cada cuadrante), obteniendo los datos indicados en la tabla. Indique los pasos necesarios para el montaje de la cámara de Neubauer y el recuento de las células. Calcule el número total de células vivas, muertas y el porcentaje de viabilidad del cultivo.

	Cuadrante 1	Cuadrante 2	Cuadrante 3	Cuadrante 4
Nº células vivas	78	85	67	74
Nº células muertas	3	4	5	4

(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 7,5 PUNTOS)

Pregunta 3. Parte de la biopsia se destina al cultivo celular y otra parte se destina a estudiar la morfología celular mediante inclusión en parafina y tinción de hematoxilina-eosina.

- a) Enumere los pasos necesarios para la inclusión, tinción y observación de la muestra al microscopio.
- b) ¿Qué se observaría con esta tinción?

(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 7,5 PUNTOS)

Pregunta 4. En el laboratorio se está estudiando la respuesta *in vitro* de las células tumorales obtenidas de las distintas biopsias recibidas frente a un nuevo fármaco antitumoral. En la siguiente tabla se indican los porcentajes de viabilidad obtenidos tras el tratamiento en relación a los cultivos no tratados:

Biopsia	% Viabilidad celular respecto al control no tratado
1	84
2	79
3	92
4	67
5	75
6	99
7	94
8	97
9	86
10	80
11	77
12	85
13	74
14	86
15	72
16	64
17	96
18	69
19	98
20	61
21	72
22	61
23	89
24	90

Calcule la media, la mediana y la moda de los datos que aparecen en la tabla. Indique las fórmulas utilizadas para el cálculo de cada una de ellas.

(VALOR MÁXIMO DE LA PREGUNTA: 7,5 PUNTOS)