



**PROCESO SELECTIVO POR EL SISTEMA DE ACCESO LIBRE PARA INGRESO EN LA ESCALA DE AYUDANTES DE INVESTIGACION DE LOS ORGANISMOS PÚBLICOS DE INVESTIGACIÓN, CONVOCADO POR RESOLUCION DE 14 DE DICIEMBRE DE 2020 (BOE N° 8 DE 9 DE ENERO DE 2021)**

## **Cuestionario del tercer ejercicio**

**Programa: BIOLOGÍA Y BIOMEDICINA, RECURSOS NATURALES, CIENCIAS AGRARIAS Y ALIMENTOS**

No abra el **CUESTIONARIO** ni empiece el examen hasta que se le indique.

**NO ESCRIBA** ningún dato personal ni realice ninguna marca en las hojas de respuestas, ni en el exterior de los sobres. Hágalo en la **HOJA DE DATOS PERSONALES ESTABLECIDA AL EFECTO**.

Si utiliza diversas hojas de respuestas, **NUMÉRELAS**.

El **CUESTIONARIO** consta de **UNA** pregunta. **COMPRUEBE** que sea legible. En caso contrario, solicite uno nuevo al personal del aula.

La **CALIFICACIÓN** que se otorga a cada pregunta **ESTÁ INDICADA** en el **CUESTIONARIO**, siendo necesario obtener un mínimo de **15 PUNTOS** para superarlo.

El tiempo para la realización de este ejercicio será de **DOS HORAS**.

Una vez finalizado el ejercicio, el personal del aula le indicará los pasos a seguir.

El **CUESTIONARIO** se podrá utilizar como borrador y se podrá llevar por el opositor al finalizar el tiempo marcado para el ejercicio.

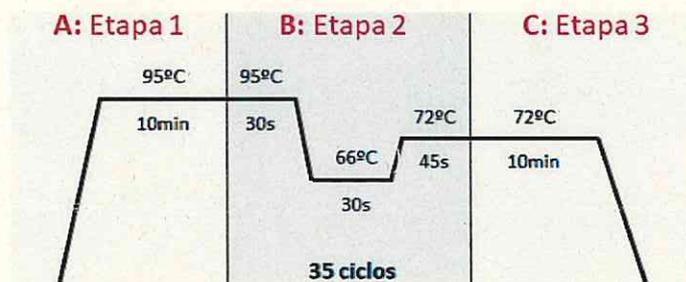
Madrid, 2 de octubre de 2021

En su nuevo laboratorio recibe muestras de maíz de 4 campos de cultivo (A, B, C y D), y debe determinar si se trata de maíz transgénico o no, así como la cantidad de proteína recombinante Cry1Ab. Además, se le requiere evaluar el residuo de glifosato presente en maíz. Para realizar las determinaciones se ha llevado a cabo una molienda de cada muestra recibida y se ha obtenido la harina correspondiente.

A) En primer lugar, se decide llevar a cabo un ensayo de amplificación de ADN por PCR para determinar la presencia o ausencia del gen codificante de Cry1Ab en las muestras de maíz. Para ello se purifica en condiciones óptimas el ADN de las muestras que utilizaremos para nuestros experimentos.

A.1) A partir del ADN, describa el experimento que debe realizar para poder identificar cuáles son las muestras que provienen de un cultivo de maíz transgénico. Detalle las bases de la técnica, enumerando y explicando todos los pasos seguidos en el proceso de análisis de la muestra por PCR. Incluya el material, reactivos y equipos que se necesitará, indicando su función. **(10 puntos)**

A.2) El programa de temperaturas y tiempos para realizar la PCR en el termociclador se representa por el siguiente diagrama:



Comente qué proceso se da a cada temperatura en cada etapa. **(4 puntos)**

A.3) Tras la reacción de PCR, realizamos una electroforesis en gel de agarosa con las muestras obtenidas. Haga una representación del gel resultante si la única muestra no transgénica es la muestra A. **(1 punto)**

B) En segundo lugar se realiza la extracción de la proteína Cry1Ab de la muestra B. Para ello se emplean 100 g de harina y 100 mL de tampón de extracción. A continuación, se purifica Cry1Ab por cromatografía de afinidad, recogiendo toda la proteína recombinante en 1 mL de tampón de elución. Finalmente, se mide por triplicado la absorbancia a 280 nm con un espectrofotómetro, obteniendo los datos que aparecen en la Tabla 1.

Ensayo	Muestra B
1	0,325
2	0,398
3	0,356

B.1) Calcule la media y la desviación media (o desviación absoluta promedio) de los datos obtenidos con la muestra B. (2 puntos)

B.2) Suponiendo que el peso molecular de Cry1Ab es 130 kDa, que su coeficiente de extinción molar a 280 nm es  $32 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , y que el paso de luz de la cubeta es 0,2 cm, calcule el contenido de dicha proteína (en mg/kg) en la muestra B. Escriba paso a paso los cálculos realizados. (5 puntos)

C) Por último, para evaluar el residuo del herbicida glifosato se amplía el muestreo a 12 muestras y se realiza un análisis mediante HPLC-MS.

C.1) Se le pide preparar las disoluciones patrón del herbicida a 0,02, 0,1, 0,5 y 2,5 ng/mL (0,4 mL de cada una) en metanol mediante dilución seriada desde el patrón más concentrado. Para ello dispone de 10  $\mu\text{L}$  de una disolución estándar de glifosato a 2  $\mu\text{M}$  en metanol, de tubos de 1 mL y de dos micropipetas automáticas cuyo rango de medida abarca, en un caso, de 10 a 100  $\mu\text{L}$  y en el otro de 100 a 1000  $\mu\text{L}$ . El peso molecular del glifosato es 169 Da. Calcule los volúmenes (en  $\mu\text{L}$ ) necesarios en cada paso, describiendo el proceso. (6 puntos)

C.2) Para este estudio se utilizan 5 g de harina de cada muestra que se extraen con 5 mL de metanol. En la Tabla 2 aparecen las concentraciones obtenidas de glifosato en los 12 extractos.

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
0	0,20	0,01	7,05	0	0,15	0,28	2,52	5,31	0,49	0,56	1,68

Considerando que el límite de cuantificación de la técnica es  $0,02 \mu\text{g}/\text{mL}$  y que el límite máximo de residuos autorizado en la Unión Europea para glifosato en maíz es de  $3 \text{ mg}/\text{kg}$ , calcule la frecuencia relativa, en tanto por cien, de:

- muestras sin residuos
- muestras con residuos pero que no superan los límites legales
- muestras que incumplen la normativa europea.

Represente los resultados de las frecuencias encontradas en un diagrama de sectores (o gráfico circular). (2 puntos)