



**PRUEBAS SELECTIVAS PARA INGRESO COMO PERSONAL
LABORAL FIJO**

GRUPO PROFESIONAL: M3

ESPECIALIDAD: INVESTIGACIÓN

**PROGRAMA: TÉCNICAS DE LABORATORIO EN BIOQUÍMICA,
BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE PLANTAS**

EJERCICIO PRÁCTICO

INSTRUCCIONES:

1. **No abra este cuestionario hasta que se lo indiquen.**
2. Este examen consta de tres casos prácticos, deberá **elegir dos de ellos.**
3. El tiempo de realización de este ejercicio es de **tres horas.**



GRUPO PROFESIONAL: M3

ESPECIALIDAD: INVESTIGACIÓN

PROGRAMA: TÉCNICAS DE LABORATORIO EN BIOQUÍMICA, BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE PLANTAS

EJERCICIO 1

Responda brevemente a las 10 cuestiones relacionadas con este supuesto práctico. Cada cuestión tiene un valor de dos puntos, dando un total de 20 puntos.

Unos investigadores consideran que el gen de interés A de *Arabidopsis thaliana* puede estar inducido a nivel de mRNA por alta temperatura en hojas a las 24 horas. Para evaluar la expresión de este gen mediante qRT-PCR en respuesta a alta temperatura, se plantean las siguientes cuestiones:

1. Establece las condiciones de cultivo y número de réplicas biológicas en el experimento.
2. Establece cómo cosechar y almacenar el material.
3. Indica un método común para extraer el RNA total de las hojas.
4. ¿En qué estado debe estar el material vegetal antes de la extracción de RNA? ¿cómo se debe procesar para llegar a ese estado?
5. Indica un método para eliminar los restos de DNA en la extracción y describe brevemente cómo funciona.
6. Indica un método para obtener cDNA a partir de RNA total y describe brevemente cómo funciona.
7. ¿Qué criterios debe reunir un gen para que pueda ser utilizado como gen de referencia para la qRT-PCR?
8. Indica el nombre de un tinte fluorescente que se una al ADN según se amplifica en la qRT-PCR y su uso está muy extendido en los centros de investigación.
9. Si el Ct obtenido para el gen A es 26 en la condición control y 22 en el tratamiento de alta temperatura (a las 12 horas desde el inicio del tratamiento) y el Ct para el gen de referencia es 21 en ambas condiciones, ¿qué se deduce de este resultado?
10. Indica una fórmula común para expresar los cambios en la expresión del gen A como *fold change*. Explica brevemente los términos que aparecen en la fórmula.

EJERCICIO 2

Responda brevemente a las 10 cuestiones relacionadas con este supuesto práctico. Cada cuestión tiene un valor de dos puntos, dando un total de 20 puntos.

Unos investigadores consideran que la proteína B de tomate (*Solanum lycopersicum*) podría localizarse en el cloroplasto en base a una predicción bioinformática de localización subcelular. Proponen estudiar la localización subcelular de la proteína B mediante expresión transitoria en hojas de *Nicotiana benthamiana* (cuestiones 1 a 5) y mediante Western blot (cuestiones 6 a 10).



1. Indica el nombre de una proteína fluorescente a la que se pueda fusionar la proteína B para observarla en el microscopio confocal cuando se exprese en hojas de *Nicotiana benthamiana*.
2. Indica los dos tipos de espectros de fluorescencia que son claves para elegir una proteína fluorescente adecuada para el sistema experimental elegido. Explica brevemente el mecanismo de fluorescencia en este tipo de proteínas.
3. Indica el género y especie de una bacteria que permita expresar la proteína B en hojas de *Nicotiana benthamiana*.
4. Indica un método común para introducir la bacteria en las hojas de *Nicotiana benthamiana*.
5. ¿Cuál es el plazo de incubación de las plantas, tras introducirles la bacteria, más apropiado para observar la expresión de la proteína B en el microscopio confocal: 3 días, 3 semanas o 3 meses?
6. Enumera las principales etapas de un Western blot.
7. A la hora de elegir una proteína marcadora de los cloroplastos para un Western blot, ¿cuál es la mejor opción entre las siguientes proteínas: Rubisco, celulosa sintasa o proteína ribosomal 80S? Indica un proceso fisiológico en el que participe la proteína marcadora de cloroplasto.
8. Si se van a usar hojas de plantas de tomate que no expresan transgenes (genotipo *wild-type*), ¿cómo se puede detectar la proteína B en un Western blot?
9. Indica un método común para bloquear los sitios de unión no específicos de los anticuerpos tras la transferencia a la membrana de PVDF (fluoruro de polivinilideno).
10. Para comprobar que todas las muestras tienen la misma cantidad de proteína en la membrana PVDF, se propone hacer una tinción. Indica un método común no basado en la fluorescencia para teñir las proteínas que están en la membrana de PVDF.

EJERCICIO 3

Responda brevemente a las 10 cuestiones relacionadas con este supuesto práctico. Cada cuestión tiene un valor de dos puntos, dando un total de 20 puntos.

Unos investigadores quieren comparar la respuesta a diferentes niveles de salinidad sódica de dos variedades de patata (*Solanum tuberosum*) (variedad C y D). Proponen realizar un ensayo en cámara de cultivo de condiciones ambientales controladas mediante cultivo hidropónico para responder a esta cuestión.

1. Describe brevemente un diseño experimental con los tratamientos a aplicar, cómo aplicarlos y número de repeticiones por tratamiento y variedad.
2. Se disponen de muestras de hoja para medir la concentración de cationes, ¿qué método de los siguientes es más adecuado para la extracción de los cationes? ¿digestión con ácido nítrico y peróxido de hidrógeno? ¿digestión con hidróxido sódico? ¿incubación en agua MilliQ?
3. Se disponen de otras muestras de hoja para medir la concentración de aniones, ¿qué método de los siguientes es más adecuado para la extracción de los aniones? ¿digestión con ácido nítrico y peróxido de hidrógeno? ¿digestión con ácido perclórico? ¿incubación en agua MilliQ?
4. Se desea medir la conductancia estomática en las hojas de manera no invasiva, ¿qué equipo es el más adecuado para medirla? Describe brevemente cómo funciona.
5. Se desea medir la asimilación neta de CO₂ en cada variedad de manera no invasiva, ¿qué equipo es el más adecuado para medirla? Describe brevemente cómo funciona.



6. Se desea medir la fluorescencia de la clorofila a y b en cada variedad de manera no invasiva, ¿qué equipo es el más adecuado para medirla? Describe brevemente cómo funciona.
7. ¿En qué rango de luz visible de los siguientes se detecta el pico de fluorescencia de la clorofila a y b? ¿en el verde? ¿en el azul? ¿en el rojo?
8. De los resultados obtenidos se concluye que la variedad C es tolerante a salinidad mientras que la variedad D es sensible. Se pretende identificar genes diferencialmente expresados en hojas entre las dos variedades para que puedan servir como marcadores moleculares de tolerancia a salinidad. ¿Qué método utilizarías para identificar estos genes?
9. Se considera que el gen S, altamente expresado en hoja en condiciones de salinidad en la variedad D, podría ser responsable de una peor respuesta a salinidad de esta variedad. ¿Qué aproximación utilizarías para inactivar completamente el gen S en la variedad D?
10. Se plantea la posibilidad de inocular microorganismos a nivel de raíz para mejorar la respuesta a la salinidad de la variedad D. ¿Es una buena estrategia? En caso afirmativo, aporta un ejemplo. ¿El uso de bioestimulantes químicos es una buena estrategia? En caso afirmativo, aporta un ejemplo.