



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

**PROCEDIMIENTO SELECTIVO
PARA LA PROVISIÓN DE PUESTO DE TRABAJO**

Técnico Especialista de Laboratorio

OPL3FAPE

Resolución 26 de abril de 2023

Ejercicio 2 - Fase de oposición

10 de noviembre 2023

En el estudio de un nuevo fármaco F se utilizan ratas Wistar macho de 6 meses de edad, de las que se toman diferentes muestras.

Apartado 1: Determinación de malondialdehído en muestra tisular tras homogeneización

Muestra: segmento de aorta torácica

Técnica: ELISA

- La muestra de arteria se incuba en 2 mL de tampón M:

Prepare 50 mL de tampón M

Composición del tampón: NaCl (100 mM), KCl (4 mM), NaHCO₃ (25 mM), Na₂SO₄ (2.1 mM)

Pm. H=1, C=14, O=16, Cl=35.5, Na=23, K=39.1, S=32.1

Condiciones de incubación: 37 °C durante 15 min, con la concentración correspondiente del fármaco F.

- Fármaco F:

Prepare 3 muestras con las siguientes concentraciones de fármaco: 100 μM; 50 μM y 0 μM

Pm: 137.5

Añadir 20 μL de fármaco o de tampón (en el caso de la muestra control).

- Determinación de malondialdehído mediante técnica de ELISA:

La absorbancia determinada a 450 nm en cada muestra fue:

muestra 100 μM = 0.053

muestra 50 μM = 0.228

muestra 0 μM = 0.594

Curva estándar que sigue el patrón de una línea recta:

Concentración de malondialdehído (μmol/L)	Absorbancia
1	0.028
5	0.057
10	0.099
25	0.208
50	0.425

Calcule la concentración de malondialdehído en cada muestra, así como el porcentaje de inhibición obtenido por cada una de las concentraciones del fármaco F.

Apartado 2: Estudio de la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (PTPm) en linfocitos

Muestra: sangre periférica

Técnica: citometría de flujo

Fluorocromo: Calceína-AM

CoCl₂: sustancia de apantallamiento de la fluorescencia emitida por el fluorocromo

Ionomicina: sustancia inductora de la apertura del poro al permitir la entrada de exceso de Ca²⁺

Situaciones del estudio:

Volumen: 1 mL

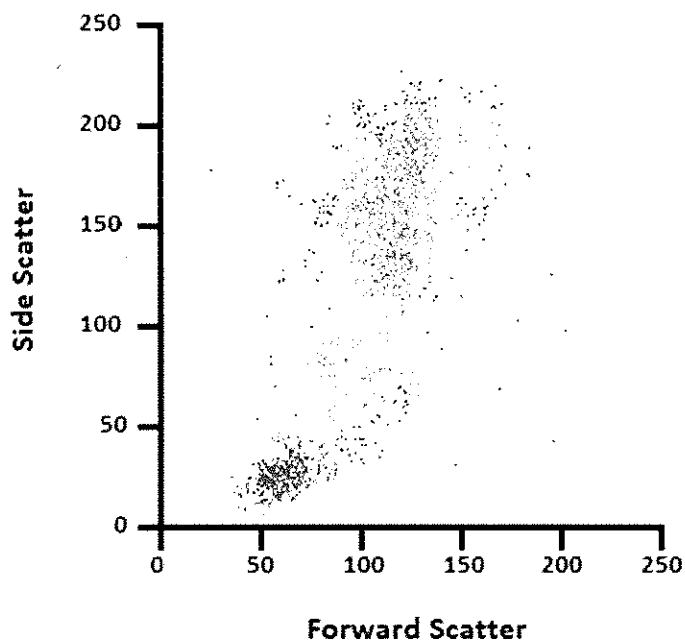
Tubo 1: muestra + calceína-AM

Tubo 2: muestra + calceína-M + Co Cl₂

Tubo 3: muestra + calceína-M + Co Cl₂ + Ionomicina

Tubo 4: muestra

El diagrama bidimensional de cualquiera de estos tubos tras la adquisición es:



Represente el diagrama de flujo del proceso de preparación de la muestra a añadir en las situaciones. Explique el desarrollo/características principales de cada etapa incluyendo reactivos, tampones a utilizar y condiciones esenciales/críticas para el proceso.

Apartado 3: Realización de cultivo de neuronas corticales

Muestra: cerebro completo

Técnica: cultivo celular

Soporte: placa de Petri de 100 mm de diámetro

Densidad celular: $3 \cdot 10^6$ células

Represente el diagrama de flujo del proceso. Explique el desarrollo/características principales de cada etapa, incluyendo reactivos, tampones a utilizar y condiciones esenciales/críticas para el proceso.

Apartado 4: Detección de la proteína Catalasa

Muestra: cultivo de neuronas corticales

Técnica: western blot condiciones desnaturalizantes/reductoras

Condiciones de incubación: 37 °C, 5% CO₂ en atmósfera húmeda durante 4 horas, con la concentración correspondiente de fármaco F (100 μM; 50 μM y 0 μM)

Anticuerpo primario: anticuerpo monoclonal frente a Catalasa producido en conejo

Anticuerpo secundario: anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado a fosfatasa alcalina producido en cabra

Represente el diagrama de flujo del proceso tras la incubación. Explique el desarrollo/características principales de cada etapa, incluyendo reactivos, tampones a utilizar y condiciones esenciales/críticas para el proceso.