

Estándar de competencias profesionales

Aplicar técnicas complementarias en cultivos celulares

Familia Profesional **Sanidad**
Nivel **3**
Código **ECP2514_3**
Estado **BOE**
Publicación **RD 46/2022**

Competencia profesional

Elementos de la competencia

EC1 Realizar, operaciones de conteo celular, observando la viabilidad, apoptosis y senescencia celular, bajo supervisión facultativa, para determinar la cantidad y la calidad de las células de un cultivo celular.

IC1.1 La técnica de conteo celular se selecciona, pudiendo ser manual (cámara de Neubauer) o automática (contadores ópticos y por principio Coulter), según disponibilidad del laboratorio y tipo de células.

IC1.2 Las células se recuentan, considerando su viabilidad, apoptosis y senescencia, mediante microscopía óptica, para determinar el estado del cultivo.

IC1.3 Los colorantes y moléculas fluorescentes empleados se seleccionan (calceína AM, diacetato de fluoresceína, yoduro de propidio, homodímero de etidio, naranja de acridina, azul alamar, entre otros), teniendo en cuenta sus ventajas e inconvenientes.

IC1.4 Las células se recuentan con técnicas manuales, empleando la cámara de Neubauer y azul tripano como colorante vital, determinando su viabilidad (estado metabólico y alteraciones de membrana celular).

IC1.5 La senescencia en cultivos celulares se observa, aplicando la tinción de beta-galactosidasa, sustratos colorimétricos (X-Gal) y fluorescentes (FDG), entre otros.

IC1.6 La citotoxicidad/proliferación se determina, practicando ensayos MTT y similares (XTT, resazurina).

IC1.7 La apoptosis de un cultivo celular se detecta, empleando moléculas fluorescentes (técnica de TUNEL, ioduro de propidio, anexina V-FITC, PE, APC, caspasas, entre otras) y aplicando posteriormente técnicas de citometría de flujo, inmunofluorescencia, entre otras.

EC2 Extraer ácidos nucleicos de cultivos celulares, cuantificándolos y purificándolos, mediante sistemas manuales o automáticos, bajo supervisión facultativa, para su aplicación en clínica e investigación.

IC2.1 Los procedimientos previos a la extracción de ADN y/o ARN, homogenización, centrifugación, precipitación, lisis, entre otros, se practican, aislando las células a procesar del resto del cultivo celular.

IC2.2 El ADN y ARN total se extraen mediante procedimientos manuales o automatizados, basados en el método de Chomczynski (trizol y productos similares derivados de tiocianato de guanidina), entre otros, evitando la contaminación y degradación por DNAsas o RNAsas, obteniendo la cantidad suficiente para el procedimiento.

IC2.3 El ADN y ARN citoplásmicos se extraen mediante la técnica de lisis citoplasmática y proteinasa K, manual o con técnicas automáticas, controlando las contaminaciones.

IC2.4 Los ácidos nucleicos obtenidos se cuantifican aplicando técnicas de espectrofotometría, purificándolos mediante columnas, geles de agarosa o poliacrilamida, cromatografía, HPLC, entre otros.

IC2.5 La apoptosis de las células de un cultivo se detecta, aplicando la técnica de electroforesis de ADN en gel de agarosa o poliacrilamida, o mediante métodos automáticos, observando la integridad del ADN.

IC2.6 El ARN mensajero se purifica a partir de ARN total, aplicando técnicas de cromatografía de afinidad, en columnas, por hibridación con oligodT, entre otras.

IC2.7 El ADN y/o ARN se almacena en los viales específicos, según su registro correspondiente, controlando la temperatura y, en el caso de ARN, con el reactivo indicado en el protocolo, para garantizar su conservación y viabilidad.

IC2.8 Los ácidos nucleicos extraídos se someten a técnicas de Southern Blots, Northern Blots, construcción de librerías para secuenciación, PCR, (Reacción en Cadena de la Polimerasa) RT-PCR, qPCR, clonaje diferencial de genes, IP, ChIP, cribado de arrays, entre otras, aplicándose para el diagnóstico y seguimiento de diferentes patologías y estudios genéticos.

EC3 Recontar células, diferenciándolas y separándolas en su caso, mediante técnicas de citometría de flujo, bajo supervisión facultativa, para su aplicación en diagnóstico clínico e investigación.

- IC3.1** Las fases del ciclo celular se detectan por citometría de flujo, aplicando la técnica de ioduro de propidio, obteniendo información de inestabilidad genómica y de proliferación celular.
- IC3.2** La apoptosis se observa por citometría de flujo, aplicando la técnica de tinción con anexina V.
- IC3.3** Las medidas de calcio intracelular, expresión de marcadores intra y extracelulares, expresión de genes reporteros, se determinan por citometría de flujo para caracterizar el cultivo celular y evaluar su metabolismo.
- IC3.4** La técnica de citometría de flujo se aplica al cultivo celular para diferenciar las subpoblaciones presentes, utilizando anticuerpos específicos.
- EC4** Controlar la contaminación de un cultivo celular, teniendo en cuenta micoplasmas, entre otros tipos de contaminantes, aplicando normas de asepsia y vigilancia de los cultivos, bajo supervisión facultativa, para asegurar la viabilidad y funcionalidad del cultivo celular.
- IC4.1** Las posibles fuentes de contaminación de los cultivos celulares se detectan en los medios de cultivo y soluciones, en superficies y equipamientos (baños de agua, trampas de vacío, bandejas de incubadores, entre otros), atendiendo asimismo a la manipulación del operario.
- IC4.2** Los organismos contaminantes de los cultivos celulares se identifican, considerando sus diferentes tipos y características morfológicas (micoplasmas, bacterias, hongos, levaduras, entre otros).
- IC4.3** Los antibióticos (penicilina, estreptomicina) y antifúngicos (anfotericina B), se aplican, atendiendo a la prevención y tratamiento de los medios de cultivo.
- IC4.4** Las contaminaciones por microorganismos de los cultivos celulares se previenen, utilizando agentes antimicrobianos como superficies de cobre, sulfato de cobre, iones de plata, y otros aditivos para el agua de baños y depósitos de agua de los incubadores.
- IC4.5** Los micoplasmas contaminantes en cultivos celulares se detectan, empleando técnicas de PCR, técnicas de visualización por agentes fluorescentes o ensayos enzimáticos luminiscentes.
- IC4.6** Los cultivos celulares contaminados por micoplasma se aíslan de otros cultivos, tratándose con mezclas de antibióticos y agentes biológicos específicos.
- IC4.7** La contaminación de un cultivo celular por otras células (contaminación cruzada) se evita, manipulando separadamente las líneas celulares, no mezclando medios ni pipetas y almacenando los cultivos en las condiciones requeridas.
- IC4.8** Las líneas celulares se identifican, aplicando técnicas de perfil genético, garantizando la pureza del cultivo.

EC5 Aplicar, bajo supervisión facultativa, técnicas de modificación genética en cultivos celulares, mediante transfección y transducción viral, para expresar biomoléculas de interés, de aplicación clínica e investigación.

IC5.1 Las distintas técnicas de transfección se aplican en función de los objetivos, mediante plásmidos, genes reporteros, transfección estable y transitoria, diferenciándolas de técnicas de transducción.

IC5.2 Los genes se modifican mediante transfección transitoria o transducción viral estable, considerando la eficiencia y viabilidad de la misma.

IC5.3 La transfección celular con ADN, se ejecuta, introduciendo genes reporteros o silenciadores en plásmidos, mediante técnicas de transfección física (electroporación, biolística) y química (DEAE-dextrano, fosfato de calcio, lípidos catiónicos).

IC5.4 La expresión del gen transfectado se comprueba, aplicando técnicas PCR, Western Blot, inmunofluorescencia, ELISA, entre otros.

IC5.5 La eficiencia y viabilidad de la transfección se calcula, practicando el conteo de células que expresan el gen frente a las células totales.

IC5.6 Las células transfectadas se aíslan para generar clones, aplicando plaqueo espaciado y dilución límite, con posterior selección por resistencia a antibióticos.

IC5.7 La transducción viral (retrovirus, lentivirus, adenovirus, entre otros) se ejecuta, teniendo en cuenta la multiplicidad de infección, eficiencia y viabilidad, aplicando normas de bioseguridad.

EC6 Aplicar, bajo supervisión facultativa, técnicas de diferenciación y reprogramación genética de un cultivo celular, controlando su viabilidad y asepsia, para aplicaciones terapéuticas e investigación.

IC6.1 Los distintos linajes celulares, características de las células madre, diferentes niveles de diferenciación celular (totipotencia, pluripotencia, multipotencia, unipotencia y pluripotencia inducida o iPS), se identifican, seleccionando la línea celular para el procedimiento a realizar.

IC6.2 Las células se diferencian mediante la generación previa de supraestructuras celulares, considerando cuerpos embrioides (EBs), neuroesferas, cardioesferas y agregados celulares.

IC6.3 Las células madre de un cultivo celular se diferencian hacia otros tipos celulares mediante el suministro de suplementos específicos, biomoléculas, estímulos químicos, entre otros, controlando la viabilidad del cultivo y la asepsia.

IC6.4 Los ensayos de caracterización de las células diferenciadas se ejecutan, empleando técnicas de perfil genético y expresión de biomarcadores (proteínas, entre otros).

IC6.5 Los diferentes tipos de reprogramación celular se identifican, teniendo en cuenta la reprogramación directa, intermedia, indirecta o embrionaria (células iPS), así como sus aplicaciones en medicina e investigación.

Contexto profesional

Ámbito profesional

Sectores productivos

Ocupaciones y puestos de trabajo relevantes

Medios de producción

Microscopio óptico invertido. Microscopio confocal. Microscopio de fluorescencia. Cámara de Neubauer. Espectrofotómetro. Sistemas de electroforesis. Citómetro de flujo. Incubadores. Estufas. Termocicladores. Centrífugas. Baños. Congeladores. Cabinas de flujo laminar. Pipetas. Micropipetas. Contenedores de residuos. Sistemas de extracción de ácidos nucleicos manuales o automáticos. Sistemas de visualización de productos de electroforesis. Termobloque. Agitadores. Vórtex. Sonicador. Equipos de transferencias.

Información utilizada o generada

Normativa aplicable relativa a protección medioambiental y prevención de riesgos laborales en cuanto a seguridad y bioseguridad. Normativa aplicable referente a almacenamiento y conservación de materiales, reactivos y productos de laboratorio de cultivos celulares. Normativa aplicable de protección de datos. Protocolos de aplicación de técnicas de cultivos celulares. Normativa de Bioseguridad en el Laboratorio de la Organización Mundial de la Salud. Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio. Bibliografía especializada. Libros de registro. Estándares de calidad. Normativa de gestión de residuos.