

CR 4.2 Las copias de una secuencia concreta de ADN se sintetizan, mediante la repetición de ciclos de desnaturalización, anillamiento de cebadores y extensión.

CR 4.3 La técnica de PCR convencional o en sus modalidades (PCR con transcriptasa inversa RT-PCR, PCR "in situ", multiplex PCR, PCR a tiempo real y PCR Nested) se aplican, en función de las muestras solicitadas, siguiendo protocolos.

CR 4.4 El producto amplificado del PCR se detecta mediante electroforesis en geles, hibridación en filtro, polimorfismo y otras técnicas, siguiendo el protocolo establecido.

RP 5: Realizar técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos solicitadas por el patólogo siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.

CR 5.1 Los ácidos nucleicos se secuencian mediante la técnica solicitada (método químico de Maxam y Gilbert, método enzimático Sanger, entre otras), siguiendo protocolos.

CR 5.2 Las secuenciaciones automáticas, pirosecuenciaciones y secuenciaciones a gran escala se realizan siguiendo protocolos.

CR 5.3 Las secuenciaciones mediante técnicas con micromatrices se realizan siguiendo protocolos, en caso de solicitarlo el patólogo.

RP 6: Realizar técnicas de citogenética convencional y molecular para el estudio de cariotipos bajo supervisión del facultativo responsable siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.

CR 6.1 El ADN del material biológico se extrae, en fresco o incluido en parafina, a través de diferentes sondas, según las técnicas al uso.

CR 6.2 Las técnicas de hibridación "in situ" fluorescente tipo FISH mediante sondas centroméricas, de pintado o de secuencia única se realizan siguiendo protocolos.

CR 6.3 Las técnicas de hibridación genómica comparada (CGH) se realizan, detectando cambios numéricos de secuencias de ADN siguiendo protocolos.

CR 6.4 Las técnicas de cariotipado espectral (SKY) para la caracterización citogenética de alteraciones cromosómicas se realizan siguiendo protocolos.

CR 6.5 La citogenética convencional, hibridación "in situ" con fluorescencia (FISH), hibridación genómica comparada y cariotipo multicolor (SKY FISH), se realizan, permitiendo al patólogo hacer un análisis citogenético de las células, bacterias y virus.

RP 7: Realizar técnicas de citometría de flujo para análisis y cuantificación celular bajo supervisión del facultativo responsable siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa aplicable.

CR 7.1 Las células se marcan con los reactivos correspondientes a cada técnica, siguiendo protocolos.

CR 7.2 Las muestras se purifican antes de proceder a su análisis posterior.

CR 7.3 El citómetro se programa, aplicando las diferentes técnicas de identificación celular.

CR 7.4 Los resultados obtenidos con el citómetro de flujo se recogen, entregándose al facultativo responsable para su interpretación.

CR 7.5 El equipo se mantiene limpio y operativo para el siguiente uso.

RP 8: Realizar técnicas de cultivo de tejidos aplicadas sobre muestras tisulares y líquidos biológicos bajo la supervisión del patólogo, siguiendo protocolos y cumpliendo la normativa aplicable.

CR 8.1 Los medios base y los aditivos de los medios de cultivo se seleccionan, controlando su calidad.

CR 8.2 Los tampones requeridos para mantener el pH se preparan, según protocolos establecidos.

CR 8.3 Los cultivos primarios y las líneas celulares se siembran, según protocolos establecidos.

CR 8.4 Las condiciones de asepsia y esterilidad se verifican, comprobando que se mantienen a lo largo de todo el proceso.

Contexto profesional

Medios de producción

Ficheros de piezas, de preparaciones, de fotografías y sus archivos correspondientes. Almacén del laboratorio. Instrumental fungible. Frigoríficos. Estufa. Olla a presión. Microscopio óptico. Fotomicroscopio. Microscopio de inmunofluorescencia. Termociclador. Cubeta de electroforesis. Transiluminador. Centrífuga. Cámara Polaroid. Micropipetas. Puntas de pipeta con filtro. Vortex. Agitador. Fotocolorímetro. Balanzas de precisión. Sondas específicas. Procesador de tinción automático. Placa termostática. Kits de reactivos específicos para determinación de marcadores inmunológicos de diversos tipos. Cebadores, DNA molde, DNA polimerasa, nucleótidos y tampones. Campana de flujo laminar. Baño termostático. Incubador de CO₂. Autoclave. Congelador. Microscopio invertido. Microcentrífuga. Dispensador de nitrógeno líquido.

Productos y resultados

Muestras preparadas para la realización de técnicas inmunohistoquímicas, inmunofluorescencias y biología molecular. Muestras teñidas con técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia para microscopía óptica o electrónica. Muestras marcadas con técnicas de hibridación "in situ" (ISH) para diagnóstico molecular. ADN amplificado mediante PCR. Técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos realizadas. Cariotipos estudiados con técnicas de citogenética convencional y molecular. Técnicas de citometría de flujo realizadas. Cultivos de tejidos preparados para su uso.

Información utilizada o generada

Libro de registro. Procedimientos normalizados en las técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia: métodos de fijación, deshidratación, dilución, desnaturalización, hibridación y síntesis. Técnicas de extracción, purificación y manipulación de ácidos nucleicos. Técnicas de amplificación (PCR y variantes). Técnicas de hibridación (citogenética molecular). Métodos de visualización de anticuerpos. Procedimientos de tinción, montaje y aclarados de preparaciones. Procedimientos de elaboración de preparaciones para inmunohistoquímica, inmunofluorescencia, PCR (y variantes) y citogenética. Hibridación. Métodos normalizados de observación microscópica óptica e inmunofluorescente. Protocolos de limpieza y esterilización de materiales y equipos. Especificaciones informativas en los kits, cebadores, DNA molde, nucleótidos y tampones de los reactivos utilizados. Historia o ficha clínicas. Ficheros. Listados y hojas de trabajo. Normas de mantenimiento de los equipos. Bibliografía especializada. Normativa aplicable sobre control de residuos, seguridad, control de calidad, entre otras.