
**PROPUESTA DE UN CONTROL INTERNO PARA WESTERN BLOT
USANDO SALIVA COMO MUESTRA BIOLÓGICA**

**LIZETTE VÁSQUEZ ORELLANA
PAULINA ZAPATA MANCILLA
ODONTÓLOGO**

RESUMEN

En la técnica de western blot la existencia de controles internos o proteínas de referencia se utiliza comúnmente para evitar diferencias en las cargas de proteínas. Para los estudios de saliva esta estrategia no es posible ya que aún no se conoce una proteína salival cuya cantidad relativa al contenido de proteína total permanezca constante. Con el objetivo de descubrir una proteína candidata analizamos pools de 105 muestras salivales provenientes de pacientes sanos y con aftas usando un espectrómetro de masas timsTOF (Bruker). Identificamos y cuantificamos los péptidos y proteínas utilizando las herramientas de bioinformática contenidas en FragPipe. Luego con el paquete MSstats de R identificamos las proteínas comunes y que prácticamente no variaban en todas las condiciones evaluadas (*fold change* cercano a cero y un valor-p no significativo). Establecimos 8 candidatas. Para la selección final las proteínas seleccionadas no debían ser marcadores pronósticos de cáncer de acuerdo a la base The Human Protein Atlas. En esta investigación sugerimos que PRDX3 evidencia niveles de abundancia que se mantienen estables bajo diferentes condiciones, pudiendo ser una proteína candidata a ser usada como control interno para experimentos de western blot que tengan como centro la saliva.

ABSTRACT

In the western blot technique, the existence of internal controls or reference proteins is commonly used to avoid differences in protein loads. For saliva studies such strategy is not possible, since it is not yet known one salivary protein which relative amount to total protein content remains constant. In order to discover a candidate protein, we analyzed pools of 105 salivary samples from healthy controls and recurrent aphthous stomatitis patients using a timsTOF mass spectrometer (Bruker). We identify and quantify peptides and proteins using the bioinformatics tools contained in FragPipe. Then, with the MSstats package of R we identified the common proteins that practically did not vary in all the evaluated conditions (fold change close to zero and a non-significant p-value). We established 8 candidates. For the final selection, the selected proteins should not be cancer prognostic markers according to The Human Protein Atlas database. In this research, we suggest that PRDX3 shows levels of abundance that remain stable under different conditions, and may be a candidate protein to be used as an internal control for western blot experiments that have saliva as the center.