



## **PUESTA A PUNTO DE UN MÉTODO DE WESTERN BLOT PARA PROTEÍNAS PLAQUETARIAS**

**NATALIA OSSES CARES  
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

### **RESUMEN**

Este trabajo experimental trata de la estandarización de un método de western blot para el estudio de proteínas involucradas en la señalización plaquetaria como lo son la p38 MAPK (Proteína Kinasa Activada por Mitógenos) y la Glicoproteína IIb/IIIa (GP IIb/IIIa), las cuales pueden estar involucradas tanto en la hemostasia como en los procesos patológicos que implican la activación y agregación plaquetaria. Los objetivos específicos de este estudio plantean la estandarización de un protocolo adecuado de lavado de plaquetas que permita tener un rendimiento adecuado y plaquetas en estado de reposo, la identificación de la proteína p38 fosforilada en lisados plaquetarios totales como en sus fracciones de membrana y citosol, además de comparar los niveles de activación de la p38 fosforilada frente a distintos agonistas con plaquetas sin activación o en reposo. Y finalmente identificar la Glicoproteína IIIa del complejo IIb/IIIa en lisados plaquetarios totales. La metodología utilizada para el estudio de proteínas plaquetarias tiene como paso inicial la separación de proteínas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones denaturantes y su posterior transferencia a una membrana de fluoruro de polivinilideno, la detección de las proteínas fue realizada en lisados plaquetarios a través de anticuerpos específicos y mediante un sistema de revelado que involucra la adición de un sustrato para fosfatasa alcalina observándose una reacción positiva como bandas de coloración azul o violeta en la membrana.