

ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE *WESTERN BLOT* PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA KINASA C (PKC) EN PLAQUETAS

**CATRIL UTRERAS HERNÁNDEZ
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

RESUMEN

El desarrollo de este trabajo estará basado en la estandarización del método de western blot para determinar la participación que involucra la proteína kinasa C (PKC) dentro de procesos como activación y señalización intracelular que presenta la plaqueta cuando se encuentra implicada en estados patológicos que pueda sufrir el organismo. En los objetivos se plantea establecer un método que permita obtener un mayor rendimiento de la proteína kinasa C y con ello se determinará de manera más certera los protocolos desarrollados para su obtención en cuanto al lavado plaquetario y a lo que confiere al western blot y específicamente en la etapa de transferencia. Dentro de los objetivos específicos se plantea la identificación, la utilización de anticuerpos específicos, todo ello llevado a cabo mediante metodologías específicas y protocolos que se desarrollarán a lo largo de toda la estandarización donde se probarán diferentes variables indicadas y obteniendo resultados de acorde al trabajo establecido paso a paso. En el desarrollo de la identificación de PKC se utilizará la separación denaturante con geles de poliacrilamida en una corrida electroforética con una posterior transferencia a una membrana de nitrocelulosa que proporciona condiciones más estables para poder adicionar los anticuerpos específicos. Estas condiciones serán estables en un principio ya que se comenzará siguiendo un protocolo de lavado de plaquetas desarrollado y establecido anteriormente donde a partir de él se generarán variables de acuerdo a los resultados de proteínas plaquetarias que se irán obteniendo y por otra variaciones en la corrida electroforética de la proteína en cuestión, obteniendo, inicialmente, resultados poco certeros en cada modificación de los protocolos que se van desarrollando. Finalmente se obtienen resultados esperados de la estandarización para la PKC dejando muy en claro cada modificación que conllevó a nuestro resultado, viéndose reflejado en el revelado del western blot realizado con las muestras mediante la utilización de anticuerpos primarios específicos y secundarios revelado por quimioluminiscencia.