

COMPARACIÓN DEL PERFIL DE PROTEÍNAS PRESENTES EN LA SALIVA DE RATONES NOD Y BALB/c



Autores: Estudiantes: González Balanesco Dominique y Gómez Noelia Soledad
Coordinadores: Roca Valeria, Larocca Luciana, de la Fuente Verónica y Pérez Leirós Claudia
Lugar de trabajo: Área de Análisis Biológicos, Depto. de Química Biológica, FCEyN, UBA



INTRODUCCIÓN

Existe una enfermedad humana llamada síndrome de Sjögren que afecta a mujeres adultas y se caracteriza por producir una deficiencia en la producción de secreciones salivales y lagrimales. Una sintomatología similar se observa en ratones NOD. El objetivo de este trabajo fue comparar cualitativamente el perfil proteico de la saliva producida por hembras NOD en relación al de hembras normales (BALB/c), también llamadas "control" pues no presentan dicha sintomatología.



Figura 1. Los ratones NOD y BALB/c son muy similares fenotípicamente

MATERIALES Y MÉTODOS

- Se utilizaron 2 ratones hembras BALB/c y 2 NOD (Figura 1), provenientes del Bioterio Central de la FCEyN, UBA. Se estimuló la secreción salival con pilocarpina.
- Extracción y ultrafiltración (0,2 μ m) de las muestras de saliva
- Cuantificación de proteínas por método de Lowry
- Fraccionamiento de proteínas por : electroforesis en gel de Poliacrilamida-SDS
- Tinción de proteínas totales con el colorante Coomassie blue
- Secado y fotografía del gel teñido

RESULTADOS

1) Resultado de la cuantificación de proteínas por el método de Lowry: realizamos una curva patrón de proteínas para calcular la concentración de proteínas en la saliva de ratones NOD y BALB/c. La concentración de proteínas resultó igual en la saliva de ratones BALB/c y NOD (Fig 2b).

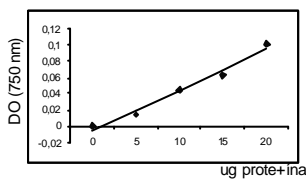


Figura 2a. Curva patrón de proteínas medidas por el método de Lowry

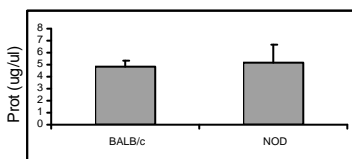


Figura 2b. valores de proteínas totales de saliva. Los datos son la media \pm DS de dos valores determinadas por el método de Lowry

2) Una vez conocidas las concentraciones de proteína en saliva de ambas cepas de ratón, pudimos calcular el volumen necesario para sembrar en el gel, de manera que para las cuatro muestras de saliva se sembrara la misma cantidad de proteínas (en masa).

3) Sembramos en el gel las muestras, junto con marcadores de peso molecular. Se utilizan en caso de querer averiguar el peso molecular de una proteína en particular y, en este caso, para estimar el PM de las proteínas teñidas.

4) Luego de "correr" las muestras, se visualizaron las proteínas mediante el agregado de un colorante afin a las mismas (Coomassie blue). Fotografiamos el gel. Esta fotografía se muestra en la figura 3.

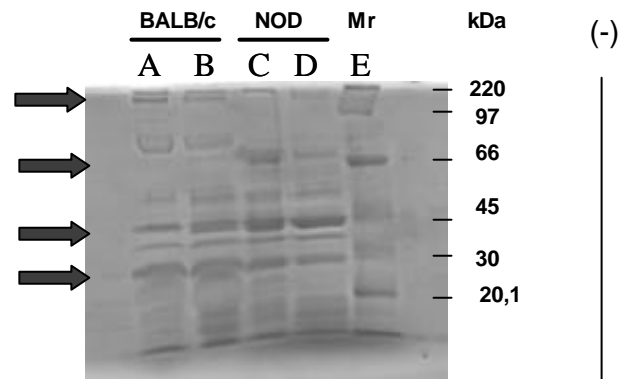


Figura 3. Fotografía del gel teñido con Coomassie blue. Las calles A y B corresponden a muestras de saliva de dos ratones NOD; las calles C y D corresponden a muestras de saliva de dos ratones BALB/c, y en la calle E se sembraron marcadores de peso molecular.

Las flechas rojas indican las proteínas con características electroforéticas diferentes

CONCLUSIONES GENERALES

- a) El método de Lowry nos sirvió para calcular la concentración de proteínas en la saliva de los ratones. Esto es importante dado que en el gel se debían sembrar las mismas cantidades proteicas (en masa) de todas las muestras. Sólo así podremos atribuir las diferentes intensidades de bandas a distintos niveles de expresión o secreción de proteínas. No hay diferencias en la concentración de proteínas totales entre BALB/c y NOD (Fig 2b)
- b) Al observar la Fig. 3 vemos que:
 - Hay bandas que están presentes en las dos cepas de ratón, y en igual intensidad
 - Hay bandas que aparecen con mayor intensidad o menor en alguna de las dos cepas de ratones. Esto pasa tanto para BALB/c como para NOD.

CONCLUSIÓN FINAL

Pudimos comprobar experimentalmente que existe una expresión diferencial de proteínas en la saliva de ratones BALB/c y NOD.