

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Odontología
Escuela Profesional de Odontología



**Diferencia en la expresión de proteínas del *Streptococcus mutans*
al tratamiento con clorhexidina al 2%. Arequipa 2025.**

Tesis presentada por la Bachiller:

Carpio Cuayla, Andrea Alexandra

ORCID: 0009-0003-7811-7532

para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Asesor (a):

Dr. Ponce Soto, Luis Alberto

ORCID: 0000-0001-5976-2913

Arequipa - Perú

2025

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ODONTOLOGIA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 14 de Mayo del 2025

Dictamen: 015193-C-EPO-2025

Visto el borrador del expediente 015193, presentado por:

2020814052 - CARPIO CUAYLA ANDREA ALEXANDRA

Titulado:

**DIFERENCIA EN LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS DEL STREPTOCOCCUS MUTANS AL
TRATAMIENTO CON CLORHEXIDINA AL 2%. AREQUIPA 2025.**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Título Profesional/Título de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

CIRUJANO DENTISTA

**29238358 - SALAS ROJAS MONICA HILDA CLEOFE
DICTAMINADOR**



**30963687 - VALDIVIA PINTO PATRICIA MARCELA
DICTAMINADOR**



**30862017 - FIGUEROA BANDA RUFO ALBERTO
DICTAMINADOR**



Diferencia en la expresión de proteínas del Streptococcus mutans al tratamiento con clorhexidina al 2%. Arequipa 2025.

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%	10%	6%	18%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María	17%
	Trabajo del estudiante	
2	Ezz Aldeen Salaymeh, Doron Steinberg, Aiman Abu Ammar. "Chlorhexidine-loaded microneedles for treatment of oral diseases", International Journal of Pharmaceutics, 2024	3%
	Publicación	
3	discovery.researcher.life	2%
	Fuente de Internet	
4	go.gale.com	1%
	Fuente de Internet	
5	pearl.plymouth.ac.uk	1%
	Fuente de Internet	
6	repositorio.unheval.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado

DEDICATORIA

Con el corazón lleno de agradecimiento, brindo esta tesis a las personas que son mi mayor apoyo a lo largo de este camino, y sin quienes este logro no habría sido posible.

A Dios, fuente de toda sabiduría, paz y fortaleza. Gracias por sostenerme en los momentos de debilidad, por abrirme caminos cuando todo parecía cerrado, y por llenarme de esperanza cuando las fuerzas flaqueaban. Sin ti, nada de esto tendría sentido. A Ti encomiendo este logro y todos los que estén por venir.

A mi papa, **ELVIS MARTÍN CARPIO CUSIRRAMOS**, gracias por ser un ejemplo de responsabilidad, esfuerzo y constancia. Tus palabras siempre han sido una guía y tu apoyo, un impulso para no rendirme. Tu presencia firme y tus consejos me han ayudado a mantenerme en pie aún en los momentos más difíciles. Eres el corazón que me anima a seguir adelante

A mi mamá, **JULITSA GLENDA CUAYLA VIVANCO**, mi mayor inspiración. Gracias por tu amor incondicional, por tus abrazos que reconfortan el alma, y por estar siempre ahí, sin importar la hora o las circunstancias. Tu entrega y sacrificio me enseñaron el verdadero significado de la fortaleza. Gracias por creer en mí incluso cuando yo dudaba.

A mi hermano, **ANDRE FABIÁN CARPIO CUAYLA**, gracias por tu compañía, tu paciencia y tu apoyo constante. Aunque a veces en silencio, sé que siempre estás ahí. Tu forma de estar presente, sin necesidad de grandes gestos, ha sido un refugio en momentos de presión y cansancio. Me enorgullece poder compartir este logro contigo.

A mi abuela, **AMANDA JUSTA VIVANCO MORALES**, que aún me acompaña con su presencia cálida, su fe inquebrantable y su amor sin medida. Eres el motor principal de este logro. Tus oraciones, tu apoyo constante, tus palabras llenas de sabiduría y tu abrazo oportuno me han sostenido más de lo que imaginas. Gracias por ser mi refugio, mi fuerza y mi impulso. Esta meta alcanzada lleva también tu nombre y tu amor.

A mi abuelo, **MARTÍN LESMES CARPIO OLÍN**, que ahora descansa en el cielo. Aunque físicamente no estés conmigo, tu recuerdo me acompaña todos los días. Tu ejemplo de vida, tu bondad y tu sabiduría siguen siendo faros que me guían. Esta meta alcanzada lleva también tu nombre y tu legado. Gracias por todo lo que sembraste en mí.

A mi persona especial , que desde el día uno está siempre para mí, nunca me cansare de agradecer porque vuelvas a coincidir en mi vida y por apoyarme tanto.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a la **Universidad Católica de Santa María**, por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente en un ambiente de aprendizaje, crecimiento y desarrollo. A lo largo de estos años, encontré en sus aulas no solo conocimiento, sino también inspiración, valores y un compromiso con la excelencia académica que me acompañará en toda mi carrera.

A **Dios**, por darme la vida, la sabiduría, la fuerza y las oportunidades. Por abrir caminos cuando parecía que no había salida, y por llenarme de esperanza y luz en los días oscuros. Todo esto ha sido posible gracias a Su infinita gracia.

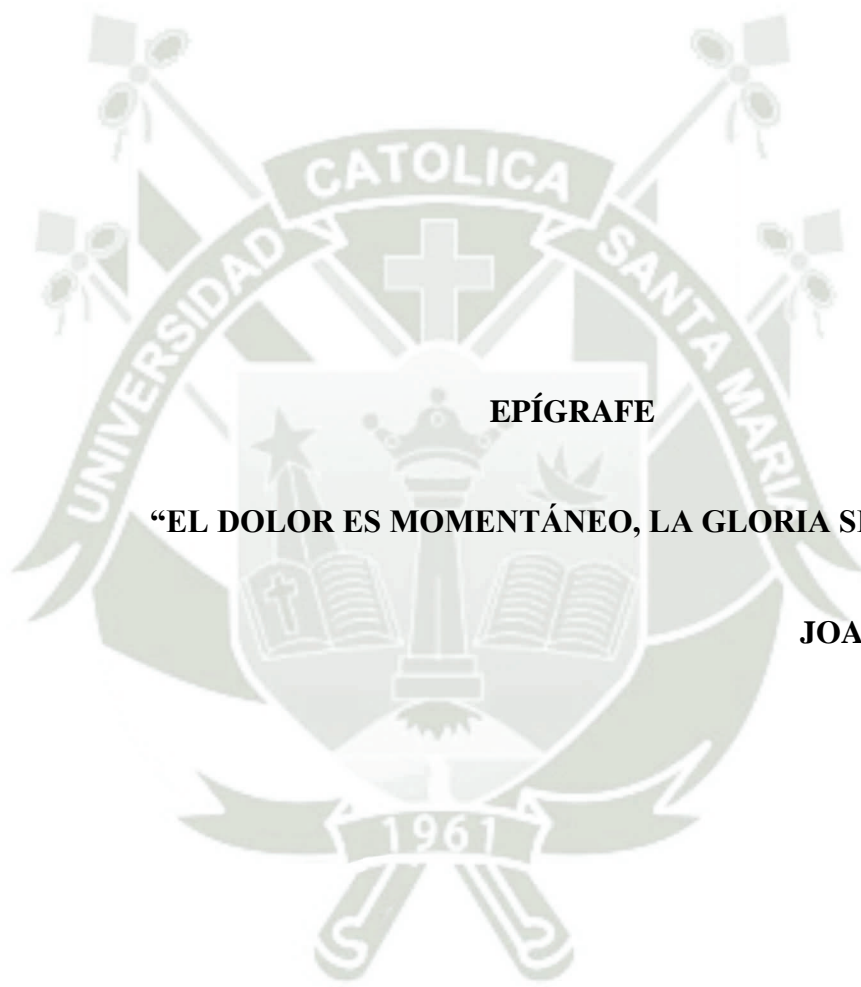
A **mí misma**, quiero reconocer el valor de haber llegado hasta aquí. No ha sido fácil, pero cada desafío superado me ha demostrado de lo que soy capaz. Agradezco a esa parte de mí que no se rindió, que enfrentó sus miedos y que se mantuvo firme ante las adversidades. Hoy me abrazo con orgullo y gratitud.

Al **Dr. Luis Alberto Ponce Soto**, gracias por su dedicación, paciencia y guía durante todo este proceso. Su experiencia, consejos y observaciones fueron fundamentales para estructurar este trabajo y llevarlo a buen término. Gracias por motivarme a superarme y por confiar en mis capacidades.

A los **dictaminadores**, mi agradecimiento por el tiempo que dedicaron a revisar este trabajo, por sus observaciones constructivas y por su compromiso con la calidad académica. Sus aportes enriquecieron significativamente el resultado final.

Y por supuesto, a mi familia, mi fuente más profunda de amor y fortaleza. A mis padres **Elvis** y **Julitsa**, mi hermano **Andre** y a mi querida abuela **Amanda**, gracias por su apoyo absoluto, por sus palabras de aliento, su paciencia y su fe en mí. A mi abuelo **Martín**, que ahora me cuida desde el cielo, gracias por todo lo que sembraste en mi vida. Su amor me sostuvo en los momentos más arduos y me impulsó a seguir adelante. Esta tesis es tanto mía como suya.

Finalmente, a mi amiga **Milagros**, gracias por ser una red de apoyo emocional y académico. Por acompañarme en los momentos de estrés, por celebrar los logros, y por compartir tantas experiencias que hoy se convierten en recuerdos entrañables. Tu presencia hizo este camino mucho más llevadero y valioso.



EPÍGRAFE

“EL DOLOR ES MOMENTÁNEO, LA GLORIA SERÁ ETERNA”

JOAO ARRIAGA

RESUMEN

El propósito del presente estudio fue encontrar la diferencia de expresión a través de una plataforma proteómica, en ausencia y presencia de clorhexidina al 2% en cultivo de la bacteria altamente patógena *Streptococcus mutans*, causante de caries dental. La potente y sensible técnica de la Electroforesis Bidimensional 2D y la Espectrometría de Masas ESI-MS/MS identificó trece (13) proteínas de *S. mutans* cultivadas en condiciones de estrés inducidas por clorhexidina al 2%. Estas trece (13) proteínas se analizaron por un análisis bioinformático utilizando la plataforma BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI (National Center for Biotechnology Information) de U.S.A. Se empleó una base de datos de proteínas esenciales para encontrar homología de secuencia de proteínas del UniProtKB/Swiss-Prot disponible en: <http://www.expasy.ch/sprot/> y <http://www.ebi.ac.uk/swissprot/>. Así se determinó estas trece (13) proteínas esenciales para la supervivencia bacteriana. Estas fueron: Thioredoxin peroxidase, Glucosyltransferase-SI (GTF-SI) (EC 2.4.1.5), Enolasa, Formiato acetiltransferasa, Aspartate-beta-semialdehyde dehydrogenase, Phosphohexose isomerase, 4-hidroxi-tetrahidrodipicolinato reductasa, Sintasa de glucógeno, Antígeno de superficie celular I/II, 2-fosfo-D-glicerato hidrolasa, Beta-D-fructofuranosil transferasa, Ketol-acid reductoisomerase (NADP⁺) y Phospho-2-keto-3-deoxyheptonate aldolase. Las proteínas identificadas, incluyen proteínas metabólicas de energía central, factores de virulencia. Estas proteínas regulan diversos factores de virulencia, las cuales podrían ser consideradas como blancos terapéuticos en diversos tratamientos de estudio e investigación.

Palabras claves:

Streptococcus mutans, clorhexidina al 2%, proteómica.

ABSTRACT

The purpose of the present study was to identify the difference in expression through a proteomic platform, in the absence and presence of 2% chlorhexidine in culture of the highly pathogenic bacterium *Streptococcus mutans*, which causes dental caries. The powerful and sensitive technique of 2D Two-Dimensional Electrophoresis and ESI-MS/MS Mass Spectrometry identified thirteen (13) proteins from *S. mutans* cultured under 2% chlorhexidine-induced stress conditions. These thirteen (13) proteins were analyzed by bioinformatic analysis using the BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) platform of the NCBI (National Center for Biotechnology Information) of the U.S.A. An essential protein database was used to find sequence homology of UniProtKB/Swiss-Prot proteins available at: <http://www.expasy.ch/sprot/> y <http://www.ebi.ac.uk/swissprot/>. These thirteen (13) proteins essential for bacterial survival were determined. These were: Thioredoxin peroxidase, Glucosyltransferase-SI (GTF-SI) (EC 2.4.1. 5), Enolase, Formate acetyltransferase, Aspartate-beta-semialdehyde dehydrogenase, Phosphohexose isomerase, 4-hydroxy-tetrahydrodipicolinate reductase, Glycogen synthase, Cell surface antigen I/II, 2-phospho-D-glycerate hydrolase, Beta-D-fructofuranosyl transferase, Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+)) and Phospho-2-keto-3-deoxyheptonate aldolase. The identified proteins include central energy metabolic proteins, virulence factors. These proteins regulate various virulence factors, which could be considered as therapeutic targets in various study and research treatments.

Keywords:

Streptococcus mutans, 2% chlorhexidine, proteomics.

ÍNDICE

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
EPÍGRAFE	
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO TEÓRICO	3
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	4
1.1 Determinación del problema.....	4
1.2 Enunciado	6
1.3 Descripción	6
1.3.1 Áreas del conocimiento	6
1.3.2 Operacionalización de Variables:.....	6
1.3.3 Interrogantes Básicas	7
1.3.4 Taxonomía de la investigación	7
1.4 Justificación del Problema.....	7
1.4.1 Originalidad.....	7
1.4.2 Relevancia	8
1.4.3 Actualidad.....	8
1.4.4 Factibilidad	8
1.4.5 Interés Personal.....	8
2. OBJETIVOS	9
2.1 Objetivo General.....	9
2.2 Objetivos Específicos	9
3. MARCO CONCEPTUAL	10
3.1 Conceptos Básicos	10
3.1.1 Clorhexidina	10
3.1.2 <i>Streptococcus mutans</i>	10
3.2 Análisis de antecedentes investigativos.....	11
3.2.1 Antecedentes Internacionales	11
3.2.2 Antecedentes Nacionales	13
4. HIPÓTESIS	15

CAPÍTULO II PLANTEAMIENTO OPERACIONAL	16
1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN	17
1.1. Técnicas	17
1.1.1. Muestras.....	17
1.1.2. Preparación de muestras	17
1.1.3. Electroforesis bidimensional 2D SDS-PAGE	17
1.1.4. Identificación de proteínas mediante nano-HPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS	18
1.1.5. Análisis estadístico	19
1.2. Instrumentos.....	19
1.2.1 Instrumentos documentales	19
1.2.2 Instrumentos mecánicos	19
1.3. Materiales.....	20
2. CAMPO DE VERIFICACIÓN	20
2.1 Ubicación espacial	20
2.2 Ubicación temporal.....	20
2.3 Población/muestra.....	20
2.4 Unidades de Estudio	20
2.4.1 Criterios de inclusión.....	20
2.4.2 Criterios de exclusión	20
2.5. Consideraciones éticas	21
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	21
3.1 Organización de la información.....	21
3.2 Recursos.....	21
4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS	21
4.1 Plan de Procesamiento	21
4.1.1 Tipo de procesamiento.....	21
4.1.2 Operaciones del procesamiento	22
4.2 Plan de Análisis	22
CAPÍTULO III RESULTADOS.....	23
DISCUSIÓN	42
CONCLUSIONES	47
RECOMENDACIONES.....	48
REFERENCIAS.....	49

ANEXOS	54
Anexo 1. Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM.....	55
Anexo 2 Declaración Jurada de Autorización	56



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Péptidos identificados por mass spectrometry ESI-Q-TOF_MS/MS y Analizados por el Software DNA Star. Ver. 6.0.	28
Tabla 2. Identificación de los spots, después de analizar por espectrometría de masas ESI-QTOF MS/MS.	29



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Electroforesis bidimensional (2D) del extracto de proteínas expresadas de cultivo de <i>Streptococcus mutans</i> en presencia de clorhexidina al 2%.....	24
Figura 2.	Imagen tridimensional del gel de electroforesis bidimensional (2D) del extracto de proteínas expresadas de cultivo de <i>Streptococcus mutans</i> en presencia de clorhexidina al 2%	25
Figura 3.	Electroforesis bidimensional (2D) del extracto de proteínas expresadas de cultivo e <i>Streptococcus mutans</i>	26
Figura 4.	Imagen tridimensional del gel de electroforesis bidimensional del mapa de referencia del cultivo e <i>Streptococcus mutans</i>	27
Figura 5.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 121 (Query_10001), con otras proteínas de la familia de las tio peroxidasa, de naturaleza citoplasmática, actuando a nivel del receptor de peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂), transductor redox	30
Figura 6.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 122 (Query_10001)	30
Figura 7.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 123 (Query_10001)	31
Figura 8.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 124 (Query_10001),	32
Figura 9.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 125 (Query_10001)	33
Figura 10.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 126 (Query_10001)	34
Figura 11.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 127 (Query_10001)	35
Figura 12.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 128 (Query_10001)	36
Figura 13.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 129 (Query_10001),	37
Figura 14.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 130 (Query_10001),	38
Figura 15.	Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípptica, del spot 131 (Query_10001)	39

Figura 16. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot 132 (Query_10001) 40

Figura 17. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos deducida obtenido por digestión trípica, del spot 133 (Query_10001). 41



INTRODUCCIÓN

Streptococcus mutans fue excluido por primera vez en 1924, por lesiones cariosas. Sin embargo, fue alrededor de la década de 1950, cuando esta bacteria atrajo la atención de varias comunidades científicas, así como de laboratorios clínicos y animales, que revelaron que *S. mutans* era un agente etiológico significativo en varias patologías dentales. *S. mutans* generalmente reside dentro de la boca humana o más precisamente en la placa dental, que es una biopelícula construida sobre la superficie dura del diente por una gama diversa de bacterias. Además, esta bacteria también está implicada en la bacteriemia y la endocarditis infecciosa, una hinchazón mortal de las válvulas cardíacas. La característica única que hace de *S. mutans* uno de los organismos cariogénicos más potentes incluye la capacidad de *S. mutans* para metabolizar una extensa variación de carbohidratos en ácidos orgánicos (acidogenicidad) y también puede prosperar incluso en condiciones ácidas (aciduridad) (14).

Aunque se han empleado enfoques genéticos y bioquímicos durante las últimas décadas para explorar la biología de *S. mutans*, la cadena completa del genoma de la cepa UA159 de *S. mutans* se publicó recién en 2001, lo que transformó drásticamente el panorama. Actualmente, *S. mutans* se encuentra entre las bacterias Gram positivas mejor caracterizadas. El genoma de *S. mutans* que se secuenció por primera vez (cepa UA159 del serotipo c) contenía ~2,0 Mb de ADN, que agrupaba alrededor de 2000 genes. Sin embargo, el transcriptoma y el proteoma de *S. mutans* han recibido menos atención, aunque se sabe que son significativos para comprender la patogénesis de cualquier bacteria (14).

El proteoma se considera una fracción funcional de la célula que fluctúa en respuesta a los estímulos impuestos externamente, como el estrés farmacológico. En condiciones de estrés, la armonía dentro de la célula bacteriana se altera y las bacterias adoptan funciones celulares alternativas simultáneamente, mientras que el proteoma medio para evitar el efecto. En consecuencia, el proteoma obtenido cuando las bacterias se cultivan en condiciones estresantes podría revelar algunas vías novedosas que adoptan las bacterias para evitar perturbaciones a su alrededor. Además, la proteómica, junto con un enfoque bioinformático, podría ayudar a resolver dichos problemas biológicos. (14)

El presente estudio pretende comprender la patogénesis de la bacteria cariogénica *S. mutans*. Se realizó estudios sobre la diferencia en la expresión de proteínas del *Streptococcus mutans* al tratamiento con clorhexidina al 2%. El objetivo de este estudio es proporcionar datos útiles a

los investigadores que exploran dianas o trabajan en el descubrimiento de fármacos, para decodificar consultas biológicas con un método computacionalmente manejable mediante la exploración, el filtrado y la ponderación de los enormes conjuntos de datos a escala del proteoma. (14)





CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Determinación del problema

Según el investigador J. Clarke en 1924 identificó un microorganismo a partir de lesiones cariosas, al que llamó *Streptococcus mutans*, debido a que consideró que sus formas ovaladas eran variantes atípicas de los streptococcus. No obstante, no fue sino hasta finales de la década de 1950 que *S. mutans* comenzó a captar un interés significativo dentro de la comunidad científica. Para mediados de los años 60, tanto estudios clínicos como experimentos en modelos animales permitieron establecer protagónico como uno de los importantes agentes causantes de la caries dental (14).

Este microorganismo habita de forma natural en la cavidad bucal humana, particularmente en el sarro dental: una biopelícula compleja formada por múltiples especies microbianas que se adhieren a las superficies duras del diente. El potencial cariogénico de *S. mutans* se atribuye a tres características clave:

- Su capacidad para sintetizar grandes cantidades de glucanos extracelulares a partir de la sacarosa, facilitando así una adhesión robusta a las superficies dentales y promoviendo la formación de una matriz polimérica protectora.
- Su versatilidad metabólica para fermentar diversos carbohidratos, produciendo ácidos orgánicos en el proceso (acidogenicidad).
- Su notable resistencia a condiciones adversas del entorno oral, como los cambios en ph o disponibilidad de nutrientes, lo que le permite sobrevivir y mantener su actividad cariogénica.

Un conteo elevado de *S. mutans* puede dar una prevalencia de caries alta o baja, esto se debe a que no es el único microorganismo acidófilo que posee la placa dentobacteriana. De acuerdo con su clasificación serológica es muy posible encontrar de los tipos c,d, y e en mayor proporción en humanos, mientras los tipos a,b,f,g y h pueden estar en pocas cantidades o no encontrarse, ya que pertenecen a animales. Sobrevive en la boca, principalmente en las superficies lisas de los dientes, algunos estudios demuestran su supervivencia en cucharas por un periodo de tiempo relativamente largo. La posibilidad de encontrarlo antes de la aparición de los dientes es pequeña, ya que es transmitido de madre a hijo, por ser ella la se encuentra en contacto desde los primeros meses de vida y realiza la transmisión de saliva al besarlos o al utilizar objetos que han sido empleados

por ella al preparar sus alimentos. Los estudios demuestran que el mayor conteo de *S. mutans* se encuentra en personas que viven en ciudades industrializadas y consumen grandes cantidades de azúcar refinada, bajos conteos se encuentran en personas que viven en zonas rurales separadas de las grandes localidades.

A diferencia del resto de los *Streptococcus orales*, *S. mutans* presenta una capacidad distintiva para fermentar una amplia variedad de azúcares incluidos alcoholes de azúcar como el manitol y sorbitol. En condiciones de baja disponibilidad de carbohidratos, los principales productos de fermentación son formiato, acetato y etanol. Sin embargo, cuando el entorno es rico en carbohidratos, *S. mutans* produce predominante ácido láctico, un ácido fuertemente implicado en la producción de caries. Esta habilidad de generar ácidos a partir de azúcares se conoce como acidogenicidad. Lo notable es la velocidad con la que *S. mutans* genera estos ácidos en estudios realizados en un rango de ph entre 7.0 y 5.0, se ha observado que supera a otros streptococcus orales en la producción de ácidos su alta acidogenicidad altera la ecología microbiana de la cavidad bucal, favoreciendo la proliferación de esta y otras bacterias. El resultado de este desequilibrio es una disminución sostenida del ph en la placa dental, especialmente después del consumo de carbohidratos. Este posee una notable acidotolerancia, lo que le permite mantener su actividad metabólica y capacidad glucolítica incluso en ambientes extremadamente ácidos, por debajo de ph 4,4 donde muchas otras bacterias no pueden sobrevivir ni crecer.

A partir de la efervescencia de carbohidratos especialmente de la sacarosa, *Streptococcus mutans* es capaz de sintetizar polisacáridos extracelulares como glucanos y fructanos. Estos compuestos cumplen un papel fundamental en la adhesión selectiva y la acumulación de comunidades bacterianas cariogénicas sobre las superficies dentales. Además, contribuyen desarrollar la porosidad y el grosor de la matriz de la placa dental, lo que facilita la difusión de sustratos hacia capas profundas de biofilm. Esta difusión prolongada, junto con la producción de ácidos, provoca una disminución sostenida del ph en zonas más internas de la placa, favoreciendo así la desmineralización del esmalte y el desarrollo de las lesiones cariosas.

La capacidad de *S. mutans* para adherirse a la película adquirida del esmalte se sustenta en dos mecanismos principales:

-ADHERENCIA DEPENDIENTE-INDEPENDIENTE DE SACAROSA

La clorhexidina es un antiséptico bucal que inhibe el crecimiento de *Streptococcus mutans* y otros microorganismos mediante diversos mecanismos.

Mecanismos de acción

- a) Se une a la pared de los microorganismos, aumentando su permeabilidad y favoreciendo la entrada de agua.
- b) Altera la estructura de la placa bacteriana
- c) Desequilibra y penetra las membranas de las células bacterianas
- d) Precipita el citoplasma e interfiere con la función de la membrana.
- e) Inhibe el uso de oxígeno, lo que causa una rebaja de los niveles de ATP y la muerte celular.
- f) Reduce la formación de la película y la colonización de la placa.

1.2 Enunciado

Diferencia en la expresión de proteínas del *Streptococcus mutans* al tratamiento con clorhexidina al 2%. Arequipa 2025.

1.3 Descripción

1.3.1 Áreas del conocimiento

- a) Área general: Ciencia de la Salud
- b) Área específica: Odontología
- c) Especialidad: Cariología
- d) Tópico: Proteómica

1.3.2 Operacionalización de Variables:

<i>Variables</i>	<i>Indicadores</i>	<i>Sub-Indicadores</i>
Independiente: Expresión proteómica de <i>Streptococcus mutans</i>	Aminoácidos y Proteínas expresados.	Número de spots proteico según las condiciones control a los 5 días
Dependiente: Expresión proteómica de <i>Streptococcus mutans</i> expuesta a clorhexidina al 2%	Aminoácidos y Proteínas expresados.	Número de spots proteico según la densidad de clorhexidina al 2% en 5 días.

1.3.3 Interrogantes Básicas

- Sería posible que la expresión proteómica diferencial de *Streptococcus mutans* se pueda observar en presencia y ausencia de clorhexidina al 2%.
- ¿Cuál es el nivel de expresión proteómica diferencial de *Streptococcus mutans* en presencia y ausencia de clorhexidina al 2%.
- ¿Cuál es el nivel de expresión proteica de *Streptococcus mutans* en el proceso cariogénico a través de electroforesis bidimensional 2D y espectrometría de masas ESI-qTOF MS/MS?
- ¿Cuál es la relación entre la expresión proteica de los factores de supervivencia de *Streptococcus mutans* y su resistencia a la clorhexidina al 2%?

1.3.4 Taxonomía de la investigación

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	1. Por la técnica de recolección	2. Por el tipo de dato que se planifica recoger	3. Por el número de mediciones de la variable	4. Por el número de muestras o población	5. Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Experimental	Prospectivo	Transversal	Comparativo	De laboratorio	Experimental	Explicativo

1.4 Justificación del Problema

1.4.1 Originalidad

La exploración es única. El estudio del análisis de la expresión proteica de los factores de supervivencia en sobrenadante de cultivos de *Streptococcus mutans* en presencia de clorhexidina al 2%, no ha sido investigada ampliamente. A nivel general existen estudios que hablan de la relación de *Streptococcus mutans* con relación a la presencia de clorhexidina al 2%, mas no existen muchos estudios que comparen su supervivencia en presencia de clorhexidina al 2%.

1.4.2 Relevancia

El *Streptococcus mutans* es una bacteria común en la microbiota oral y representa uno de los principales agentes causales de la caries dental. Además, está implicada en infecciones graves asociadas a los estreptococos del grupo viridans, como la bacteriemia y la endocarditis. Este estudio permite observar la respuesta de *S. mutans* frente a la clorhexidina al 2%, lo cual ofrece información valiosa para la práctica clínica, brindando una opción terapéutica útil en casos similares.

1.4.3 Actualidad

Toda y cada una de las investigaciones realizadas hasta ahora en la actualidad se sabe que hay algunos factores en los que la clorhexidina es utilizada cuando hay dicha infección pero las contradicciones de los estudios y búsquedas que se vienen realizando nos muestran datos nuevos y actuales para poder conocer la diferencia al tratamiento con clorhexidina al 2%.

1.4.4 Factibilidad

El proyecto se considera viable, ya que la recolección de las muestras se llevará a cabo en una clínica local, lo que facilita el acceso al material biológico necesario. El estudio se desarrollará en el Laboratorio de Química y Proteínas F-401 de la Universidad Católica de Santa María, con la supervisión del Dr. Gustavo Obando y la colaboración del Dr. Luis Alberto Ponce Soto, especialista en proteómica. Posteriormente, el modelo será enviado para secuenciación, y el análisis bioinformático se realizará en el mismo laboratorio, utilizando la base de datos Mascot como herramienta de apoyo para la interpretación de los resultados.

1.4.5 Interés Personal

Mi interés principal radica en profundizar en el estudio de la resistencia de *Streptococcus mutans* a la clorhexidina al 2%, así como identificar los factores que contribuyen a su supervivencia. Considero que esta investigación puede aportar significativamente al desarrollo de estrategias más efectivas para combatir infecciones orales y prevenir posibles complicaciones a largo plazo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Determinar la expresión proteómica diferencial del *Streptococcus mutans* en presencia y ausencia de clorhexidina al 2%.

2.2 Objetivos Específicos

- Reconocer el nivel de expresión proteica de *Streptococcus mutans*, a través de electroforesis bidimensional 2D y espectrometría de masas ESI-qTOF MS/MS, en ausencia de clorhexidina al 2%.
- Identificar el nivel de expresión proteica de *Streptococcus mutans* en presencia de clorhexidina al 2% contaminadas a través de electroforesis bidimensional 2D y espectrometría de masas ESI-qTOF MS/MS.
- Establecer la relación en la expresión proteica de los factores de supervivencia de *Streptococcus mutans* frente a clorhexidina al 2%, respecto de su mapa de referencia (control).

3. MARCO CONCEPTUAL

3.1 Conceptos Básicos

3.1.1 Clorhexidina

La clorhexidina se considera el desinfectante de referencia en odontología, ampliamente reconocida por su eficacia en la reducción de la placa dental y prevención de la gingivitis es uno de los agentes antimicrobianos más utilizados en la práctica clínica, con una capacidad de disminución de la placa que puede alcanzar hasta un 60%. Su mecanismo de acción se basa de la formación de la película adquirida sobre el diente, como la alteración del crecimiento bacteriano y su capacidad de adherencia a las superficies dentales (35).

Este compuesto se encuentra comúnmente en tres formas químicas: digluconato, acetato e hidrocloreuro. De estas, el digluconato es la forma más empleada en productos comerciales, habitualmente en concentraciones del 12% o 20% (8 como concentrado base, luego diluido para uso clínico). Aunque su acción es más potente contra bacterias grampositivas, la clorhexidina también muestra eficacia frente a bacterias gramnegativas, lo que amplía su espectro antimicrobiano y utilidad clínica (35).

Ventajas:

La clorhexidina es un agente antimicrobiano de acción rápida y efecto prologando, gracias a su alta adhesividad superficies biológicas como la piel, el esmalte dental y las proteínas salivales. Su perfil de seguridad es elevado, incluso en recién nacidos debido a su mínima absorción cutánea. Su naturaleza catiónica le permite unirse eficazmente a la hidroxiapatita y la película adquirida, lo que potencia su acción residual en la cavidad bucal. Además, se le atribuye propiedades antiinflamatorias relacionadas con su efecto detergente y su posible capacidad antioxidante (36).

3.1.2 *Streptococcus mutans*

Es uno de los principales microorganismos asociados a la caries dental. Según la hipótesis ecológica de la placa, esta enfermedad no es causada por un solo patógeno, sino por un desequilibrio en el microbiota oral debido a cambios en el ambiente local. El estudio es fundamental para comprender como coloniza los tejidos dentales,

interactúan con otras especies y participa en la formación de biopelículas. Gracias a las herramientas de biología molecular, se ha avanzado en la identificación de sus variantes, los compuestos que produce para adherirse al diente y su papel en el desarrollo de las caries, lo que ha permitido el diseño de métodos más precisos para su detección y control (29).

Fisiología:

Es un coco Gram positivo, que se dispone en cadenas, carece de movilidad y es catalasa negativa. Este fermenta diversos carbohidratos, como glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salcina, generando ácidos orgánicos como productos finales, Sin embargo, generalmente no metaboliza la arginina para la producción de amoníaco. Se clasifica en varios serotipos (C, E, F y K) determinados por diferencias inmunológicas, biológicas y genéticas. Su hábitat natural es la cavidad oral humana, donde muestra una marcada afinidad por las superficies dentales y se encuentra con frecuencia en lesiones cariosas, desempeñando un papel clave en la etiología de la caries (29).

3.2 Análisis de antecedentes investigativos

3.2.1 Antecedentes Internacionales

- **Lorena Porte L., Stephanie Braun J., Jeannette Dabanch P., Alicia Egaña y Daniela Andrighetti.**

Título: *Streptococcus mutans*: Una bacteria que hace honor a su nombre.

Fuente:

https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071610182009000700017&script=ci_ar t text

Resumen:

Streptococcus mutans es un componente habitual de la microbiota oral, asociado principalmente a la caries dental y, en algunos casos, a infecciones graves como bacteriemia y endocarditis. Su diagnóstico puede ser complicado, ya que ocasionalmente se tiñe como bacilo Gram positivo (27).

- **Antonio Bascones Martínez Fuente**

Título: Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual.

Fuente:

https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699658520060010100004

Resumen: El control de placa bacteriana es fundamental para la prevención de enfermedades periodontales. Ante la limitada eficacia del control mecánico en algunos casos, el uso complementario de antisépticos orales se ha vuelto cada vez más común. Entre ellos, la clorhexidina es ampliamente reconocida como el agente más eficaz (28).

- **Atsuko Watanabe¹ , Miki Kawada-Matsuo^{2,3}, Mi Nguyen-Tra Le^{2,3}, Junzo Hisatsune**

Título: Análisis exhaustivo de bacteriocinas en *Streptococcus mutans*

Fuente: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92370-1>

Resumen: *Streptococcus mutans* produce bacteriocinas con actividad antibacteriana contra diversas bacterias. Sin embargo, no se ha realizado un análisis exhaustivo de estas bacteriocinas. En este estudio, aislamos 125 cepas de *S. mutans* de voluntarios y determinamos la secuencia completa de su genoma. Con base en el análisis genómico, se investigó la distribución de cada gen de bacteriocina (mutacinas I-IV, K8 y Smb). Se encontraron 17, 5 y 2 cepas con una coincidencia del 100 % con las mutacinas I, II y III, respectivamente (29).

- **Peninsula Dental School, Plymouth University, Portland Square C506, Plymouth, PL4 8AA, UK**

Título: Usos actuales de la clorhexidina para el tratamiento de enfermedades bucales: una revisión narrativa.

Fuente:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030057122030244X?via%3Dihub>

Resumen: La clorhexidina (CHX) es un enjuague bucal antiséptico de uso común, utilizado por odontólogos y el público en general, debido a sus efectos antimicrobianos. El objetivo de este artículo fue proporcionar una

revisión narrativa de los usos antimicrobianos actuales de la CHX en odontología para el tratamiento de enfermedades bucodentales, destacando la necesidad de estudios adicionales que respalden su uso seguro y adecuado (30).

- **Am J Dent. Author manuscript**

Título: El todo es mayor que la suma de sus partes: las interacciones bacterianas de la placa dental pueden afectar las propiedades de virulencia de las bacterias cariogénicas *Streptococcus mutans*.

Fuente: <https://scispace.com/papers/the-whole-is-greater-than-the-sum-of-its-parts-dental-plaque-219q1zbcg5>

Resumen: Está bien establecido que la caries dental se causa por la acumulación de placa dental en las superficies dentales. Varias décadas de estudios in vitro y clínicos han identificado a *Streptococcus mutans* como un importante agente etiológico en la formación de lesiones cariosas. Además, diversos enfoques han sugerido que las interacciones entre los componentes bacterianos de las biopelículas pueden influir en las propiedades de estas estructuras polimicrobianas (31).

4.1.2 Antecedentes Nacionales

- **J.A. Lemos, S.R. Palmer, L. Zeng, Z.T. Wen, J.K. Kajfasz, I.A. Freires, J. Abranches, and L.J. Brady**

Título: The Biology of *Streptococcus mutans*

Fuente:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0304416572900621?vi%3Dihub>

Resumen: Como principal agente etiológico de la caries dental en humanos, *Streptococcus mutans* reside especialmente en las biopelículas que se forman en las superficies dentales, también conocidas como placa dental. Además de la caries, *S. mutans* es responsable de casos de endocarditis infecciosa, y un subconjunto de cepas está indirectamente implicado en la aparición de otras patologías extraorales (32).

- **Vijaya Lakshmi Bolla, M. Jyothi¹, Shanthan Reddy Mettu¹, Mallela G. Manoj Kumar, Kakumanu Nageswara Rao, Munnangi Surendra Reddy, Pradeep Koppolu**

Título: Eficacia de tres enjuagues bucales contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*: un estudio comparativo.

Fuente:

<http://journals.lww.com/aoambyBhDMf5ePHKav1zEoum1tQfN4a+kJLhEZgbsIHo4XMi0hCywCX1AWnYQp/IIQrHD3i3D0OdRyi7TvSFI4Cf3VC4/OAVpDDa8KKGK V0Ymy+78=> on 08/18/2024

Resumen: La caries dental es una de las enfermedades crónicas infantiles más frecuentes y causa molestias continuas, debido al deterioro funcional y estético. Para controlar la caries dental, la eliminación de la placa es fundamental, lo que requiere el uso de agentes quimioterapéuticos. Diversos efectos secundarios asociados con la clorhexidina han impulsado la búsqueda de un agente quimioterapéutico alternativo (33).

- **Autores: H. Koo a–c S. Duarte a R.M. Murata a K. Scott-Anne b S. Gregoire b G.E. Watson a A.P. Singh d N. Vorsa d, e**

Título: Influencia de las proantocianidinas del arándano en la formación de biopelículas por *Streptococcus mutans* en la superficie apatítica recubierta de saliva y en el desarrollo de caries dentales in vivo

Fuente: <http://karger.com/cre/article-pdf/44/2/116/2499247/000296306.pdf>

Resumen: Los extractos crudos de arándano, formulados en distintos vehículos, han demostrado capacidad inhibitoria sobre la formación de biopelículas orales en estudios in vitro. Esta actividad se ha atribuido a la presencia de proantocianidinas (PAC), compuestos que han mostrado interferir con factores clave de virulencia de *Streptococcus mutans*, como la inhibición de la enzima glucosiltransferasa (Gtf) (34).

- **Autores: Zoë L.S. Brookes; Raul Bescos, Louise A. Belfield; Kamran Ali; Anthony Roberts**

Título: Usos actuales de la clorhexidina para el tratamiento de enfermedades bucales: una revisión narrativa

Fuente:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030057122030244X?via%3Dihub>

Resumen: La clorhexidina (CHX) es un enjuague bucal antiséptico de uso habitual, utilizado por odontólogos y el público en general, debido a sus efectos antimicrobianos. El objetivo de este artículo fue proporcionar una revisión narrativa de los usos antimicrobianos actuales de la CHX en odontología para el tratamiento de enfermedades bucodentales, destacando la necesidad de estudios adicionales que respalden su uso seguro y adecuado (35).

- **Autores:** Zoe Brookes €; Leanne Teoh; Fabian Cieplik; Purnima Kumar

Título: Efectos del enjuague bucal en el microbioma bucal: ¿son buenos, malos o equilibrados?

Fuente:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.identj.2023.08.014>, <http://dx.doi.org/10.1016/j.identj.2023.0>

Resumen: Esta revisión narrativa describe el microbioma oral y su papel en la salud y la enfermedad bucal, antes de considerar el impacto de los enjuagues bucales de venta libre (OTC) de uso común sobre las bacterias, virus, bacteriófagos y hongos orales que componen estas comunidades microbianas en diferentes nichos de la boca (36).

4. HIPÓTESIS

Ho: Dado que la presencia de clorhexidina al 2%, podría afectar el desarrollo de *Streptococcus mutans*, es posible que exista cambios en la expresión de proteínas asociado al efecto antiséptico.

Hi: Dado que la presencia de clorhexidina al 2%, podría afectar el desarrollo de *Streptococcus mutans*, no es posible que exista cambios en la expresión de proteínas asociado al efecto antiséptico.



CAPÍTULO II
PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1. Técnicas

1.1.1. Muestras

Streptococcus mutans, cepa UA159.

1.1.2. Preparación de muestras

Se realizaron cultivos de *S. mutans* en placas de cultura utilizando caldo BHI hasta formar biofilm (cultivados a 37°C por 7 días). Una vez realizado este procedimiento, se procedió a colocar clorhexidina al 2% por una hora en esta cultivo, acto seguido, será retirado la clorhexidina y se colocará caldo BHI para la subsiguiente cultivo por 24 horas a 37°C. Se recogió el sobrenadante del grupo experimental y el grupo control (sin tratamiento) y se realizará por electroforesis bidimensional (2D), la confrontación de la expresión de proteínas de los grupos. Acto seguido por medio de espectrometría de masas, se determinaron las proteínas que fueron expresadas en el grupo de la clorhexidina al 2%.

1.1.3. Electroforesis bidimensional 2D SDS-PAGE

La electroforesis en gel bidimensional se realiza siguiendo protocolos previamente establecidos. La concentración de proteína en los sobrenadantes se determina a mediante un kit de cuantificación de proteínas de Bio-Rad. Todas las muestras pareadas se analizan cuantitativamente de forma conjunta. Se aplica 1 mg de proteína por muestra en tiras de gradiente de pH no lineal (rango 3-10), posicionadas en cámaras de rehidratación con los extremos orientados hacia los polos ácido y básico, respectivamente (38).

El enfoque comenzó a 200 V, incrementando gradualmente el voltaje hasta alcanzar 8000 V a una velocidad de 4 V/min, y se mantiene constante durante 3 horas adicionales, alcanzando un total aproximado de 150,000 Vh, La segunda dimensión se lleva a cabo mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 12% con SDS. Los geles, con dimensiones de 180 x 200 x 1,5 mm³, se procesan a una corriente constante de 40 mA por gel. Posteriormente, las proteínas se fijan utilizando una solución de metanol al 50% con ácido fosfórico al 5% durante 2 horas (39).

Los geles se pintan con Coomassie Brilliant Blue R-250 (Merck, Alemania) durante 12 h y se visualizan las manchas de proteínas. Cada experimentación se realiza dos veces para garantizar la exactitud de los análisis. Las imágenes se escanean utilizando un escáner GS-800 de luz blanca de alta calidad Bio-Rad (400–750 nm). Las proteínas expresadas diferencialmente se identificaron utilizando el software de análisis PD-Quest 2DE (Bio-Rad, EE.UU.).

La cantidad de cada mancha en un gel se normaliza como porcentaje del total de manchas presentes en el mismo gel, evaluándose mediante densidad óptica (OD). Para comparar el volumen relativo de las manchas entre dos grupos, se utiliza la prueba t de Student. Se seleccionan para análisis por espectrometría de masas en tándem (MS/MS) aquellas manchas que muestran cambios consistentes con una diferencia mínima de 2 veces significancia estadística ($p < 0,05$).

1.1.4. Identificación de proteínas mediante nano-HPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS

Las manchas de proteína se extraen manualmente del gel y se someten a digestión enzimática utilizando tripsina bovina de grado secuencial (V511A, Promega). Las muestras proteicas se reducen, alquilan y posteriormente se dirigen con tripsina siguiendo protocolos estándar y previamente descritos por Ponce-Soto et al., (2007)(37). Los péptidos resultantes de la digestión se analizan mediante un sistema de nano-HPLC acoplado a un espectrómetro de masas Q-TOF Premier (Micromass, Manchester, Reino Unido), equipado con una fuente de ionización por electropulverización (ESI).

Los espectros se adquieren hasta alcanzar una relación señal/ruido adecuada. Para el análisis MS/MS, se consideran únicamente los picos con carga doble o superior, dentro del rango de masa de 400 a 1600 m/z. Se seleccionan iones con una intensidad de detección mayor a 10 cuentas por segundo para generar espectros de fragmentación mediante disociación inducida por colisión (CID).

Los productos de autólisis de tripsina y los iones precursores derivados de queratina se excluyen automáticamente del análisis. Para cada escaneo de encuesta, se seleccionan tres iones para MS/MS, la información utilizada para generar la lista de picos MS/MS se extrae a partir de espectros combinados, obtenidos mediante la integración de múltiples adquisiciones. (37)

Los datos de espectrometría de masas en tándem (MS/MS), archivos "pk1 list (pk1)" adquiridos por el software de ProteinLynx 2.2.5 (Waters), incluyen los valores de masa, la intensidad y la carga de los iones precursores (iones originales con +2 o +3 de carga en este estudio).

Los archivos pk1 se analizan utilizando el motor de búsqueda MASCOT (26) contra la base de datos de proteínas SWISS-PROT. Las proteínas se identifican sobre la base de dos o más péptidos cuyas puntuaciones de iones excedieron el umbral, $p < 0,05$, lo que indica el nivel de confianza del 95% para estos péptidos coincidentes.

1.1.5. Análisis estadístico

Todas las muestras fueron procesadas por duplicado utilizando geles bidimensionales (2D) y espectrometría de masas ESI-Q-TOF-MS/MS en tiempo real. Los resultados obtenidos mostraron una buena correlación entre replicas, sin desviaciones inesperadas. La comparación estadística entre grupos se realizó mediante la prueba t de Student no apareada, considerando un valor de significancia de $p < 0,05$. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software de SPSS, versión 11.5.

1.2. Instrumentos

1.2.1 Instrumentos documentales

a) Especificación

- Uso de protocolos en microbiología y análisis proteómico.

1.2.2 Instrumentos mecánicos

- Estufa
- Baño María
- Mini Centrífuga
- Bortex
- Sonicador
- Equipo de electroforesis bidimensional 2D
- Espectrometro de masas ESI-Q-TOF-MS/MS

1.3. Materiales

- Base de dato como Scopus, Scielo, Pubmed, Science Direct
- Pymol, Dna Star, BLAST, UniProtKB/Swiss-Prot

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1 Ubicación espacial

Ámbito General: Arequipa

Ámbito Específico: Laboratorios de Microbiología de la Universidad Católica Santa María.

2.2 Ubicación temporal

La investigación corresponde al año 2025.

2.3 Población/muestra

En el siguiente estudio se analizó desde la aproximación proteómica, cultivos microbiológicos de *Streptococcus mutans*, en ausencia y presencia de clorhexidina al 2%. Así definimos:

Población 1. Cultivo de *Streptococcus mutans*, en ausencia de clorhexidina al 2% (Control o Mapa de Referencia).

Población 2. Cultivo de *Streptococcus mutans*, en presencia de clorhexidina al 2% (Tratamiento).

2.4 Unidades de Estudio

En el presente trabajo de investigación se tomaron un agente y una cepa, mismos que son usados en grupos por que corresponde a una investigación experimental.

2.4.1 Criterios de inclusión

- Cultivo purificado de *Streptococcus mutans*.

2.4.2 Criterios de exclusión

- Cultivo contaminado con otros microorganismos en el medio.

2.5. Consideraciones éticas

El presente trabajo tiene como objetivo analizar la expresión de proteínas en presencia y ausencia de clorhexidina al 2% y analizar a través de una plataforma proteómica, a fin de conocer las proteínas expresas. Esta plataforma tecnológica se ha utilizado para descubrir marcadores proteicos altamente sensibles y específicos para el diagnóstico.

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1 Organización de la información

Antes de la realizar el estudio necesitamos lo siguiente:

- Solicitud formal de autorización para el uso de los laboratorios de la Universidad Católica Santa María.
- Adquisición de la cepa del microorganismo en estudio.
- Preparación y acondicionamiento de las unidades experimentales que serán usadas para el estudio.

3.2 Recursos

- **Físicos:**
 - Laboratorios de la Universidad Católica Santa María
 - Biblioteca de la Universidad Católica Santa María
- **Humanos:**

Investigador: Andrea Alexandra Carpio Cuayla.
Asesor: Dr. Luis Alberto Ponce Soto
- **Económicos:**
 - Financiado por el investigador.

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

4.1 Plan de Procesamiento

4.1.1 Tipo de procesamiento


Se empleó un procesamiento computarizado utilizando programas como Mascot y Pattern lab como base de datos para el análisis de secuencia.

4.1.2 Operaciones del procesamiento

- **Clasificación:** La información obtenida de los instrumentos aplicados fué ordenada en una matriz de sistematización.
- **Codificación:** Para el procesamiento computarizado fué necesario haber realizado el análisis de proteómica de las muestras.
- **Conteo:** Se utilizó matrices de recuento.
- **Tabulación:** Se elaboró tablas de doble entrada.
- **Graficación:** Se elaboró gráficos de barra doble.

4.2 Plan de Análisis

Variable investigativa	Tipo de variable	Escala por escala de medición	Estadística Descriptiva (Medidas de tendencia central y de dispersión)	Estadística
Nivel de expresión proteómica en el sobrenadante de <i>Streptococcus mutans</i> en pacientes a los 5 días y control en ausencia de clorhexidina al 2%	Cuantitativo	De razón	Ninguna	Ninguna
Nivel de expresión proteómica en el sobrenadante de <i>Streptococcus mutans</i> en pacientes a los 5 días y control en presencia de clorhexidina al 2%				



CAPÍTULO III
RESULTADOS

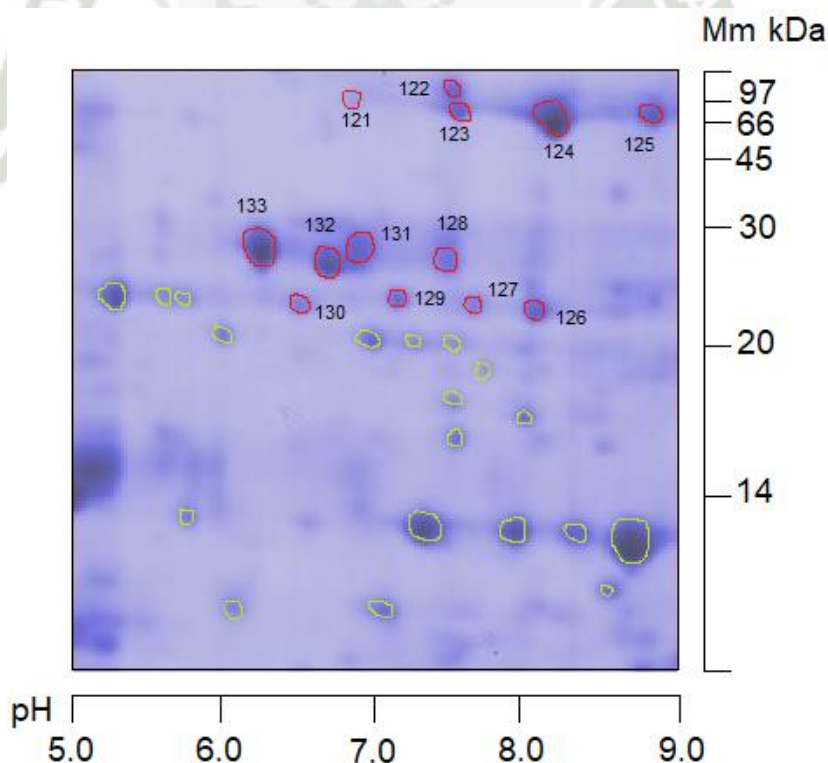
1. **Gel de Electroforesis bidimensional 2D (SDS-PAGE) procedente de cultivo de *Streptococcus mutans* Mapa Referencial del Expresión (control).**

Gel de electroforesis SDS-PAGE 2D de la figura 1, evidencia la expresión de proteínas procedente del cultivo de *Streptococcus mutans* en ausencia de clorhexidina al 2% analizadas con ayuda del software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), coloreado con comasie blue.

El software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), muestra un análisis de los geles referencial de expresión y de tratamiento de (*Streptococcus mutans* en presencia de clorhexidina al 2%). Se registra la expresión de 13 proteínas denominadas de 121 a la 133 respectivamente.

Figura 1.

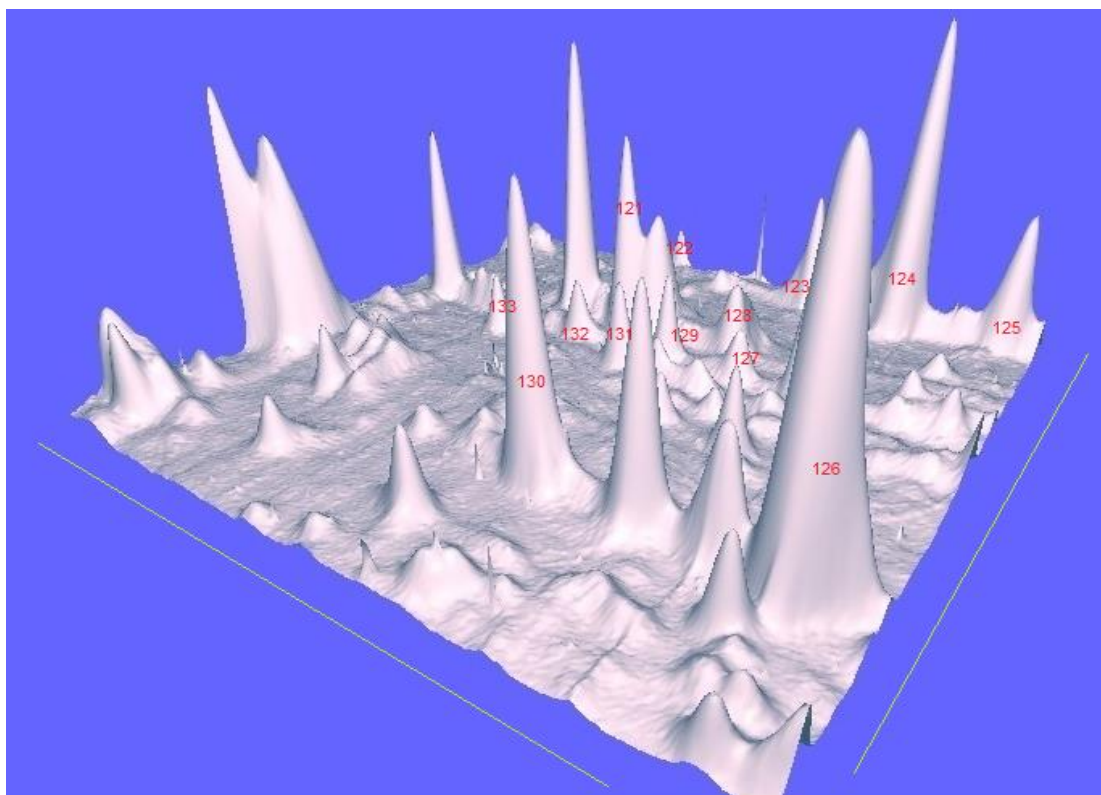
Gel 2D SDS-PAGE de expresión, de *Streptococcus mutans* en ausencia de clorhexidina al 2%.



Los “spots” identificados se mantuvieron en los rangos de 6.0 a 9.0 de pI y masas en torno de 20 a 97 kDa respectivamente.

Figura 2.

Imagen 3D del gel 2D SDS-PAGE de expresión en cultivo de *Streptococcus mutans* en ausencia de clorhexidina al 2%



El software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), muestra 13 proteínas coloreadas con comasie blue.

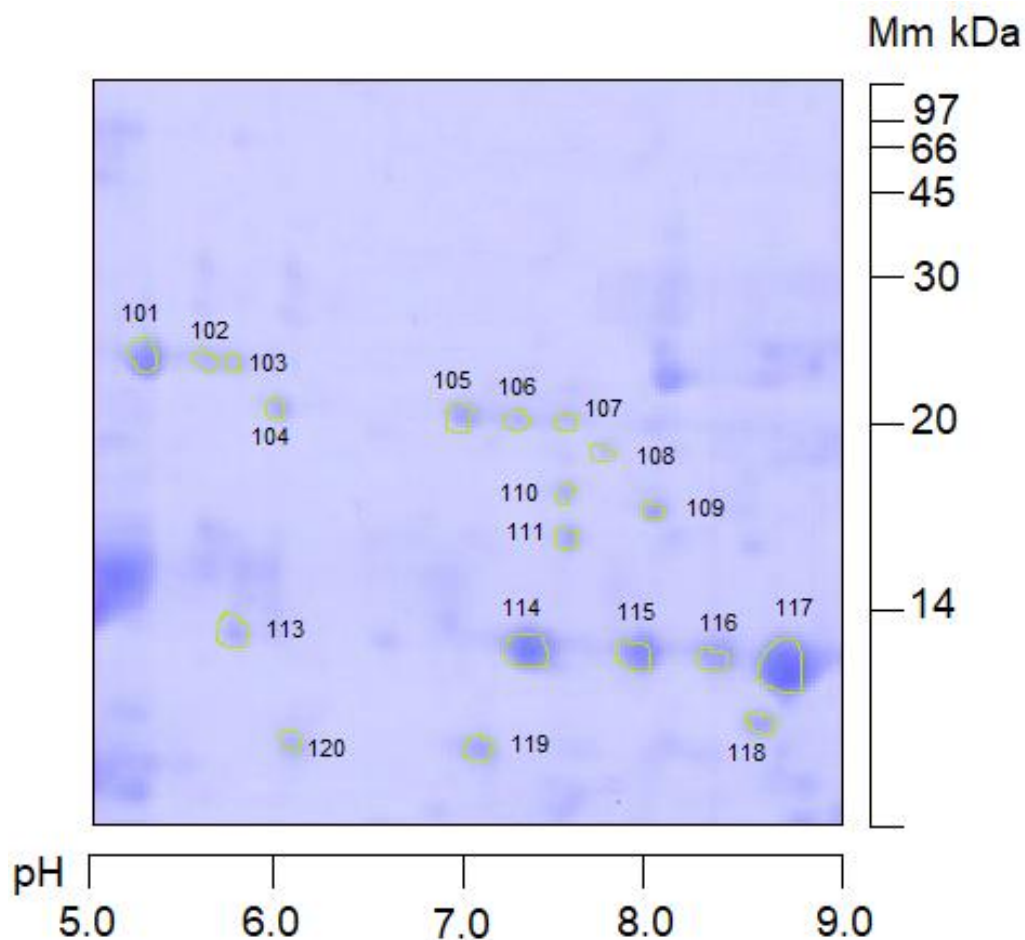
2. Electroforesis bidimensional 2D del medio de cultivo en presencia de *Streptococcus mutans* y clorhexidina al 2% (Estudio).

Gel de electroforesis SDS-PAGE 2D de la figura 3, evidencia la expresión de proteínas procedente del cultivo de *Streptococcus mutans* en presencia de clorhexidina al 2% analizadas con ayuda del software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), coloreado con comasie blue.

No fueron identificados a través de sus secuencias, este procedimiento se reservó para las proteínas procedentes del cultivo de *Streptococcus mutans* en ausencia de clorhexidina al 2%.

Figura 3.

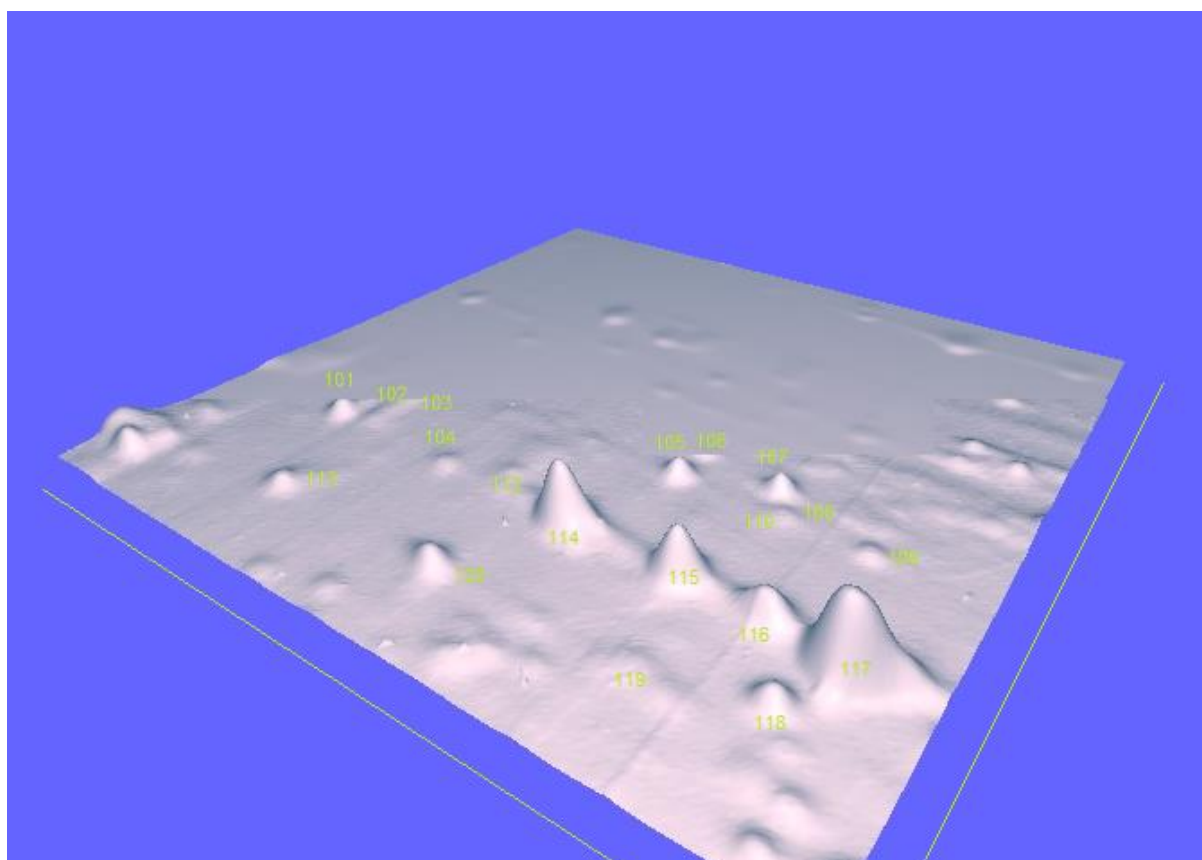
Gel 2D SDS-PAGE de expresión proteica de *Streptococcus mutans* en presencia de clorhexidina al 2%.



Los “spots” identificados se mantuvieron en los rangos de 5.0 a 9.0 de pI y masas en torno de 5 a 30 kDa respectivamente.

Figura 4.

Imagen 3D del gel 2D SDS-PAGE de expresión en cultivo de *Streptococcus mutans* en presencia de clorhexidina al 2%



El software PD Quest Basic versión 8.0.1 (Bio Rad Ca. USA), muestra 20 proteínas coloreadas con comasie blue.

3.3 Caracterización estructural de los spots 121 al 133 procedentes de cultivo celular de *Streptococcus mutans* en ausencia de clorhexidina al 2%.

Los spots en estudio fueron digeridos por separado con tripsina bovina y los péptidos trípticos obtenidos, fueron separados en cromatografía líquida de interacción hidrofóbica con una columna HiTrap.

Fueron obtenidos entre 5 a 9 picos proteicos, (datos no mostrados), de los cuales fueron escogidos al azar y por ser los más extensos, 01 pico de cada spot, resultando 13 picos de péptidos representativos por cada spot, los cuales fueron colectados manualmente y

liofilizados.

Posteriormente el secuenciamiento de cada péptido fue realizado por espectrometría de masas en tandem ESI-Q-TOF/MS/MS. Los datos obtenidos fueron procesados usando el software Mascot MS/MS Ion Search (26). La tabla 1 muestra las masas y la secuencia deducida de cada una de los péptidos obtenidos por clivaje tríptico.

No fueron discriminados los residuos de Leucina (L) e Isoleucina (I) en ninguna de las secuencias reportadas, pues no son distinguibles en el espectro CID (Disociación Inducida por Colisión) de baja energía. Debido a la calibración externa aplicada a todos los espectros, no fue posible resolver la diferencia 0,036 Da entre los residuos de Glutamina (Q) y Lisina (K) excepto para las lisinas que fueron deducidas en base al clivaje de la tripsina (Tripsina cliva en el extremo carboxiterminal de la Lisina o Arginina).

Cada péptido secuenciado, fue sometido a la base de datos del NCBI usando el programa BLAST-p protein search en la base de datos UniProtKB/Swiss-Prot como una búsqueda específica de proteínas básicas a través del motor de búsqueda complementario Mascot (Tabla 2), las mismas que fueron identificadas como pertenecientes a la familia de proteínas....

Tabla 1.

Péptidos secuenciados por espectrometría de masas ESI-Q-TOF_MS/MS y Analizados por el Software DNA Star. Ver. 6.0.

Los residuos de Lisina (K) y Arginina (R) fueron deducidos del clivaje por la tripsina.

N	SPOT	Secuencia del Péptido	Mm	pI
1	121	...KLQVGDTAPDFSLTDTLDSKKTADLDFAGQK...	3210.55	4.42
2	122	...NIRKVNKGYKYYKEDGTLQKNYALNINGKTFDFDETGALSNNLPSKK...	5567.21	9.57
3	123	...KILKERGLETAVGDEGGFAPKFDGTEDAVETIIKAIETAGYK...	4468.00	4.54
4	124	...LPYPFRHYCMSMSHKHSSIQYEGVTTMAKEGYGEMSCISCCVSPLD...	5502.02	6.56
5	125	...AVHADILPSGGDKKHYPYAFNALAQIDVFTDNDYTYEEMKMTNETK...	5502.77	4.55
6	126	...AAEKIKSDSEVLVVIGIGGSYLGARAAIDFLNSSFVNLENK...	4295.87	4.83
7	127	...ASKYFPDLEIIEIHHDKKKDAPSGTAVKTAELIREARAYK...	4540.16	8.52
8	128	...HIFRDGVDFYFIDNKHYFYRGOIYGEFDDGERFAYFQ...	4676.08	4.79
9	129	...QDLTPPSVPTVHFHYFKLAVQPQVNKEIRNNNDINIDRTLVAKQSVVKFQLKT...	6227.14	9.72
10	130	...VLPTMMNIINGGSHSDAPIAQEFMIVPAGAPTF...	3671.30	4.17
11	131	...VKLTSDAQTGHQMTYQEFDKIAQTLIAQDERYAIPYFNAKAIK...	4946.58	7.14
12	132	...GPGHLVRRTYTEGFGVPSLYAVYQNPTGNAENIALDWAK...	4262.73	7.15
13	133	...NPTSGNLNIMFNGIYAAQNKQSFLFNAGEEVETSGNPTAHVILRGGVNEYGK...	5499.05	5.68

Tabla 2.

Análisis Comparativo de los spots correspondientes a la expresión de *Streptococcus mutans* en ausencia de clorhexidina al 2% vía espectrometría masas ESI-QTOF MS/MS.

Database consultada: UniProtKB/Swiss-Prot.

N	Spot	Molécula	Organismo	ACCESION
1	121	Thioredoxin peroxidase	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	Q8DUK3.1
2	122	Glucosyltransferase-SI (GTF-SI) (EC 2.4.1.5)	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	P13470
3	123	Enolasa	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	Q8DTS9.1
4	124	Formiato acetiltransferasa	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	Q59934.2
5	125	Aspartate-beta-semialdehyde dehydrogenase	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	P10539
6	126	Phosphohexose isomerase	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	Q9X670
7	127	4-hidroxi-tetrahidrodipicolinato reductasa	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	Q8DUL9.1
8	128	Sintasa de glucógeno	<i>Streptococcus gordonii</i> estirpe Challis subestirpe CHI	A8AYH0.1
9	129	Antígeno de superficie celular I/II	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	P23504.2
10	130	2-fosfo-D-glicerato hidrolasa	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	Q8DTS9.1
11	131	Beta-D-fructofuranosil transferasa	<i>Streptococcus mutans</i> UA159	P11701.2
12	132	Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+))	<i>Streptococcus pneumoniae</i> Hungary19A-6	B119N6.1
13	133	Phospho-2-keto-3-deoxyheptonate aldolase	<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC 13032	P35170.2

4. Análisis de homología secuencial vía espectrometría de masas ESI-Q-TOF-MS/MS de los péptidos 121 al 133 procedentes de cultivo celular de *Streptococcus mutans* en ausencia de clorhexidina al 2%.

La homología secuencial de los trece (13) péptidos determinados por espectrometría de masa en ESI-Q-TOF-MS/MS, procedentes de cultivo celular de *Streptococcus mutans* en ausencia de clorhexidina al 2%, muestran similitud con otras secuencias similares con cada uno de los mismos en forma independiente.

Las secuencias de los péptidos en sus estudios de homología secuencial, indican que son parte de regiones altamente conservadas mutaciones muy puntuales, las cuales podrían o no influir en la función biológica de las proteínas estudiadas, correspondientes a los trece (13) péptidos tal como se muestran en las figuras que van desde la 5 a la 17.

Para la homología secuencial se muestra una gran similitud o región conservada en rojo, con otras secuencias para cada proteína estudiada en la expresión, según el BLAST.

Figura 5.

Análisis de homología secuencial deducida, del spot 121 (Query_10001), con otras proteínas de la familia de las tio peroxidasa, de naturaleza citoplasmática, actuando a nivel del receptor de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), transductor redox

Q8DUK3.1	1	MTTFNGNTVTLAGKKLQVGD	TAPDFSLTDTDL	SKKTLAD	FAGQK	KVISV	VPSIDT	GVCD	AQTRRF	NQELSD	ADANTV	VITV	80	
P31308.3	1	MTTFLGNPVTFTGKQLQVGD	AHDFSLTATDLS	SKKTLAD	FAGKK	KVLSI	IIPSIDT	GVCS	TQTRRF	NQELSD	LDNTV	VITV	80	
P42366.2	1	MTTFLGNPVTFTGKQLQVGD	AHDFSLTATDLS	SKKTLAD	FAGKK	KVLSI	IIPSIDT	GVCS	TQTRRF	NQELSD	LDNTV	VITV	80	
Query_10001	1	-----	KLQVGD	TAPDFSLTDTDL	SKKTLAD	FAGQK	-----						30	
Q8DUK3.1	81	SVDLPFAQARWCGAAGL	NDAITLSDYYD	SFGKAY	GLLINEL	HLH	LGRAV	FLV	LEDNK	ITYLEY	LDEMT	NHPN	YDAALAAV	160
P31308.3	81	SVDLPFAQGWCAAE	GIENAVMLSDY	FDHSF	GRDYAV	LIN	EWHL	LARAV	LVLDEN	NTV	TYAEY	VNDIN	TEPDYDAAIAAV	160
P42366.2	81	SVDLPFAQGWCAAE	GIENAVMLSDY	FDHSF	GRDYAV	LIN	EWHL	LARAV	LVLDEN	NTV	TYAEY	VNDIN	TEPDYDAAIAAV	160
Query_10001		-----												
Q8DUK3.1	161	K--												161
P31308.3	161	KSL												163
P42366.2	161	KNL												163
Query_10001		---												

Figura 6.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 122 (Query_10001)

P13470.2	1365	PNSGNEVRNRYVRTSSGN	MYFFGNDGYALI	-----	GWH	-----								1397	
P27470.1	1334	AKSGEQVFNKTVKAAD	GKTYVIGNDG	VAVDPS	VVKGQ	TFK	DASG	ALRF	YNLKG	QLVT	GSGW	YETAN	HDWY	IQSGKALTG	1413
P11001.1	1339	AQTGEQVFNKSV-	SVNGKTY	YFGSD	GTAQT	QANPK	QTF	KDGS	GLRF	YNLE	GQYV	S	GSGW	YETAHEWVYVKS	1417
Query_10001		-----													N
P13470.2	1398	--VVEGRRVYFDENG	----	VYRASHDQR	RNHWD	-----	YDYRRD	-----							1437
P27470.1	1414	EQTINGQHLYFKKDG	HQVKGQLVT	GTGK	VRYD	ANS	GDQAF	NKSV	TVNG	KTY	YFG	NDG	TAQT	AGNPKGQTF	1492
P11001.1	1418	AQTIGNQRVYFKDNG	HQVKGQLVT	GNDG	KLRY	YD	ANS	GDQAF	NKSV	TVNG	KTY	YFG	NDG	TAQT	1497
Query_10001	2	IRKVN	GKY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	48
P13470.2	1438	-----													1450
P27470.1	1493	FYSMEGQLVTGSGW	SNAQGGQ	NLYV	KNGK	VLT	GLQ	TVG	SQR	VY	FDEN	GIQ	AKG	KAVRT	1572
P11001.1	1498	FYNLEGQYVSGS	GWYKNAQ	GGQ	NLYV	KD	GK	VLT	GLQ	TV	G	NQ	KV	YFDEN	1577
Query_10001		-----													
P13470.2	1451	---NFFRF	-----												1455
P27470.1	1573	VNGRY	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	1592
P11001.1	1578	VYGQ	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	1597
Query_10001		-----													

En la figura 6, se muestra que otras proteínas de la familia de las glucosiltransferasa de un sistema de dos componentes, extracelular, junto con otras glucosiltransferasas (Gtfs), son esenciales para la formación de la placa dental, una biopelícula que puede causar caries

Figura 7.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 123 (Query_10001)

Q8DTS9.1	1	MSIITDVYAREVLDSRGNPTLEVEVYTESGAFGRGMVPSGASTGEHEAVELRDGDKSRYGGLGTQKAVDNVNNIIAEALI	80
Q5M0M5.1	1	MSIITDVYAREVLDSRGNPTLEVEVYTESGAFGRGMVPSGASTGEHEAVELRDGDKARYGGLGTQKAVDNVNNVIAEHII	80
A2RIX1.1	1	MSIITDIYAREVLDSRGNPTLEVEVYTEDGAFGRGMVPSGASTGEHEAVELRDGDKSRYNGLGTQKAVDNVNNIIAEAI	80
Query_10001		-----	
Q8DTS9.1	81	GYDVRDQQAIDKAMIALDGTTPNKGLGANAILGVSIIVARAADFLIPLYSYLGGFNTKVLPTPMNIIINGGSHSDAPI	160
Q5M0M5.1	81	GFDVRDQQGIDRAMIALDGTTPNKGLGANAILGVSIIVARAADYLEVPLYSYLGGFNTKVLPTPMNIIINGGSHSDAPI	160
A2RIX1.1	81	GYEVDQQAIDRAMIALDGTENKGLGANAILGVSIIAARAAADELVPLYNLYLGGFNAKVLPTPMNIIINGGSHSDAPI	160
Query_10001		-----	
Q8DTS9.1	161	AFQEFMIVPAGAPTFKEALRWGAEIFHALK KILKERGLE AVGDEGGFAPKFDGTEDAVETI IKAIETAGYK PGEE-VFL	239
Q5M0M5.1	161	AFQEFMIVPAGAPTFKEALRWGAEIFHALK KILKERGLE AVGDEGGFAPRFDGTEDGVETI IKAI EAGYVPGKD-VFI	239
A2RIX1.1	161	AFQEFMIVPVGAPTFKEALRWGAEIFHALK KILKARGLE AVGDEGGFAPKFDGTEDGVETI LKAIEAAGYK AGEDgVMI	240
Query_10001	1	----- KILKERGLE AVGDEGGFAPKFDGTEDAVETI IKAIETAGYK -----	42
Q8DTS9.1	240	GFDCASSEFYD--NGVYDYTKFEGEGAKRSAAEQIDYIEELVKNYPIITIEDAMDENDWDGKALTARLGDRVQLVGDD	317
Q5M0M5.1	240	GLDCASSEFYDaeRKVYDYTKFEGEGAAVRTAAEQIDYLEELVKNYPIITIEDGMDENDWDGKALTARLGDKVQLVGDD	319
A2RIX1.1	241	GFDCASSEFYE--NGVYDYTKFEGEGGKLSASEQVDYLEELVSKYPIITIEDGMDENDWDGKILTERLGKKVQLVGDD	318
Query_10001		-----	
Q8DTS9.1	318	FFVTNTDYLARGIKEGAANSILIKVNQIGTLTETFEAIEMAKEAGYTAVVSHRSGETEDSTIADISVATNAGQIKTGSL	397
Q5M0M5.1	320	FFVTNTAYLEKGAIEHAANSILIKVNQIGTLTETFDAIEMAKEAGYTAVVSHRSGETEDSTIADIAVATNAGQIKTGSL	399
A2RIX1.1	319	FFVTNTKYLERGIRENASNAILIKVNQIGTLTETFEAIEMAKEAGFTAIVSHRSGETEDSTISDIAVATNAGQIKTGSL	398
Query_10001		-----	
Q8DTS9.1	398	RTDRIAKYNQLLRIEDQLGEVAEYRGLKSFYNLKK	432
Q5M0M5.1	400	RTDRIAKYNQLLRIEDQLGEVAEYRGLKSFYNLKK	434
A2RIX1.1	399	RTDRMAKYNQLLRIEDQLAEVAQYKGLKAFYNLKK	433
Query_10001		-----	

En la figura 7, indica que con otras proteínas de la familia de la fosfopiruvato hidratasa o enolasa (EC 4.2.1.11). Una metaloenzima que cataliza la transformación de 2-fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato durante la glucólisis. La enzima puede también catalizar la reacción inversa, según la concentración de los sustratos en el medio.

Figura 8.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 124 (Query_10001),

Q59934.2	237	LDVRKPAMNVKEAIQWNIAYMAVCRVINGAATSLGRVPIVLDIFAERDLARGTFTESEIQEFVDDFVFMKLRVTKFARTK	316
Q32797.1	240	LDVSRPAMNVKEAIQWNIAYMAVCRVINGAATSLGRVPIVLDIFAERDLARGTFTEQEQIQEFVDDFVLMKLRVTKFARAA	319
Q32799.1	240	LDVSRPAMNVKEAIQWNIAYMAVCRVINGAATSLGRVPIVLDIFAERDLARGTFTEQEQIQEFVDDFVLMKLRVTKFARAA	319
Query_10001		-----	
Q59934.2	317	AYDELYSGDPTFITTSMAGMGADGRHRVTKMDYRFLNLTLDIGNAPEPNLTVLWSSKLPYPFRHYCMSMSHKHSSIQYEG	396
Q32797.1	320	AYDELYSGDPTFITTSMAGMGNDGRHRVTKMDYRFLNLTLDIGNAPEPNLTVLWDSKLPYSFKRYSMSMSHKHSSIQYEG	399
Q32799.1	320	AYDELYSGDPTFITTSMAGMGNDGRHRVTKMDYRFLNLTLDIGNAPEPNLTVLWDSKLPYSFKRYSMSMSHKHSSIQYEG	399
Query_10001	1	-----LPYPFRHYCMSMSHKHSSIQYEG	23
Q59934.2	397	VTTMAKEGYGEMSCISCCVSPLDPENEDRRHNLQYFGARVNVLKALLTGLNGGYDDVHKDYKVFDEPIRDEVLDVFETVK	476
Q32797.1	400	VETMAKDGYGEMSCISCCVSPLDPENE EGRHNLQYFGARVNVLKAMLTGLNGGYDDVHKDYKVFDEIPVRDEILDYDVTM	479
Q32799.1	400	VETMAKDGYGEMSCISCCVSPLDPENE EGRHNLQYFGARVNVLKAMLTGLNGGYDDVHKDYKVFDEIPVRDEILDYDVTM	479
Query_10001	24	VTTMAKEGYGEMSCISCCVSPLD-----	46
Q59934.2	477	ANFEKALDWLTDYVDAMNIIHYMTDKYNYEAVQMAFLPTRVKANMGFGICGFSNTVDSLSAIKYATVKPIRDEDEGYIYD	556
Q32797.1	480	ENFDKSLDWLTDYVDAMNIIHYMTDKYNYEAVQMAFLPTKVRANMGFGICGFANTVDSLSAIKYAKVKTLRDENGYIYD	559
Q32799.1	480	ENFDKSLNWLTDYVDAMNIIHYMTDKYNYEAVQMAFLPTKVRANMGFGICGFANTVDSLSAIKYAKVKTLRDENGYIYD	559
Query_10001		-----	

En la figura 8, indica que con otras proteínas de la familia de la piruvato formato-liasa. La acetiltransferasa de formiato, es una enzima que cataliza la transferencia de un grupo acetilo de acetil-CoA a un sustrato que en este caso es el formiato. Esta enzima es esencial para el metabolismo del formiato y su papel es crucial en la producción de energía

Figura 9.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 125 (Query_10001)

P10539.2	1	M--GYTVAIVGATGAVGTRMIQQLLEQSTLPVDKVRLLSSRSAGKVLQYKDQDVTVELTTKDSFEG--VDIALFSAGGSV	76
Q04797.1	1	MGRGLHVAVVGATGAVGQMLKTLLEDRNFEMDTLTLSSKRSAGTKVTFKGQELTVQEASPESEFEG--VNIALFSAGGSV	78
Q59291.2	1	MSKKQKIAIVGATGAVGEE LLNVLDELDFPVESILPLASAKSVGSEVEFKGKAYVKVELTENVFKEpIDIAFFSAGGSV	80
Query_10001		-----	
P10539.2	77	SAKFAPYAVKAGAVVVDNTSHFRQNPDPVPLVPEVNAYAMDahn--GIIACpNCSTIQMMVALEPIRQKWGLSRVIVSTY	154
Q04797.1	79	SQALAPEAVKRGAIVIDNTSAFRMDENTPLVPEVNEADLHEHN--GIIANpNCSTIQMVALEPIRKAYGLNKVIVSTY	156
Q59291.2	81	SEKYAKFAVESGAVVIDNTSHFRMEKDVPVPECNPEIDKDWKktGIIANpNCSTIQMVQVLKPLNDAFNlKRVDVSTY	160
Query_10001		-----	
P10539.2	155	QAVSGAGQSAINETVREIKEVVNDgvdPKAVHADILPSGGDKKHYPiAFNALAQIDVFTDNDYTYEEMKMTNETKKIMEE	234
Q04797.1	157	QAVSGAGNEAVKELYSQTQAILN----KEEIEPEIMPVKGDKKHYPiAFNAIPQIDKFQDNGYTFEEMKMINETKKIMHM	232
Q59291.2	161	QAASGAGKEGMQELVEAMQSFFAF-----KLDEFEPQTFPYTLALNLIPIQIDVFMNDNYTKEELKHWNETQKILHK	231
Query_10001	1	-----AVHADILPSGGDKKHYPiAFNALAQIDVFTDNDYTYEEMKMTNETK-----	46
P10539.2	235	PELPVSATCVRVPILFSHSEAVYIE-TKDVAPIEEVKAaIAAFPGAVLEDDIKHQIYPQAA NAVGSRETFVGRIRKDLDI	313
Q04797.1	233	PDLQVAATCVRLPIQTGHSESVYIEiDRDDATVEDIKNLLKEAPGVTLQDDPSQQLYMPADAVGKNDFVGRIRKDLDR	312
Q59291.2	232	-NLEVSATCVRVPVLRSHSEAITMH- FEKEIDVKKAKEILKKAPSVIVIDDPKNKKYPMPLMTSDTNETYVGRIRADVVD	309
Query_10001		-----	
P10539.2	314	ENGIHMWVSDNLLKGAAWNSVQIAESLHERGLV[11]	358
Q04797.1	313	ANGFHLWVSDNLLKGAAWNSVQIAESLKKLNLV	346
Q59291.2	310	KKILHLWCVADQIRVGAATNAVRIAQKWLELKNK	343
Query_10001		-----	

En la figura 9, indica que con otras proteínas de la familia de la aspartato-semialdehído deshidrogenasa. Es una enzima crucial en la biosíntesis de aminoácidos. Cataliza la reducción del aspartato-semialdehído a aspartato, un paso temprano en la ramificación de la vía metabólica que conduce a la formación de aminoácidos como la lisina, metionina, leucina e isoleucina.

Figura 10.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 126 (Query_10001)

Q9X670.1	1	MTHIKFDYSKVLGKFLASHELDYIQMQVTADEALRKGTGPGAEMTGWLNLQPQNDKEEFARIKKA AEKIKSDSEVLVVI	80
P64195.1	1	MTHITFDYSKVLGQFVGEHELDYLPQVSAADAF LRQGTGPGSDFLGWMDLPENYDKEEF SRIQKAAEKIKSDSEVLVVI	80
Q02VW5.1	1	MAHIKFDYSK-LTPFVAENELYEQWQIDGAAKLLHEGKGAGSDYIGWLDLPEDYDKEEFARIQ KAAKIKSDSEVLVVI	79
Query_10001	1	----- AAEKIKSDSEVLVVI -----	15
Q9X670.1	81	GIGGSYLGARAAIDFLNSSFVNL ENKEERKAPQILYAGNSISSNYLADLVYVADKDFSVNVISKSGTTTEPAIAFRVFK	160
P64195.1	81	GIGGSYLGAKAAIDFLNNHFANLQTA EERKAPQILYAGNSISSTYLADLVYVQDKEFSVNVISKSGTTTEPAIAFRVFK	160
Q02VW5.1	80	GIGGSYLGARAAIDFLSNSFVNLQTA EERKAPRILYAGNSISSYLAADLVYVADKDFSVNVISKSGTTTEPAIAFRVFE	159
Query_10001	16	GIGGSYLGARAAIDFLNSSFVNL ENK-----	41
Q9X670.1	161	DLLVKKYGQEEANQRIYATTDKRVKGAVKVEADANGWETFVVPDVSVGGFRFTVLTAVGLLP IAASGADLDQLMAGAEARQD	240
P64195.1	161	ELLVKKYGQEEANKRIYATTDKVKGAVKVEADANNWETFVVPDVSVGGFRFSVLTAVGLLP IAASGADITALMEGANAARKD	240
Q02VW5.1	160	EMLVKKYGREEANKRIYATTDKEKGAVKVNADANNWETFVVPDVSVGGFRFSVLTAVGLLP IAASGADITALMEGANAARKE	239
Query_10001		-----	
Q9X670.1	241	YSSAELSENEAYQYAAIRNILYRKGYYTEVLANYEPSLQYFSEWKKQLAGESEGKDQKGIYPT SANFSTDLHSLGQFIQE	320
P64195.1	241	LSSDKISENIAYQYAAVRNVLRYRKGYYTEILANYEPSLQYFGEWKKQLAGESEGKDQKGIYPT SANFSTDLHSLGQFIQE	320
Q02VW5.1	240	YTSTNVHENDAYAYAALRNILYRKGKGFSEILINYPEPSLQYFSEWKKQLAGESEGKDQKGIYPT SANFSTDLHSLGQWIQE	319
Query_10001		-----	
Q9X670.1	321	GNRNLFETVIRVEKARKNILLVPEAAEDLDGLAYLQGGKDVDFVNKKATDGVLLAHTDGGVPNT FLTIPEQDEFTLGVIYF	400
P64195.1	321	GYNRNFETVVRVEKPRKNVTIPELTEDLDGLGYLQGGKDVDFVNKKATDGVLLAHTDGGVPN MFVTLPTQDAYTLGYTIYF	400
Q02VW5.1	320	GTRTVFETAIRIEKPRKNINIPELDADLDGLGYLQGGKDVDFVNKKAADGVLLAHTDGNVPM MIVTLPEQDEFTLGVIYF	399
Query_10001		-----	
Q9X670.1	401	FELAIGLSGYLNGVNPFDQPGVEAYKKNMFALLGKPGFEELGAELNARL	449
P64195.1	401	FELAIGLSGYLSVNPFDQPGVEAYKRNMFALLGKPGFEELSAELNARL	449
Q02VW5.1	400	FELAIGVSGYLNGINPFNQPGVEAYKKNMFALLGKPGFEELSKELNDRL	448
Query_10001		-----	

En la figura 10, indica que con otras proteínas de la familia de las fosfoexosa isomerasa. Es una enzima crucial en el metabolismo celular, que cataliza la isomerización reversible de glucosa-6-fosfato a fructosa-6-fosfato. Participa tanto en la glucólisis como en la gluconeogénesis.

Figura 11.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 127 (Query_10001)

Q8DUL9.1	1	MSIKVIVAGFKGRMGSTAVDMIKNDSELELAALLDPFAAEKEIDGVPVFTDKSDLVGLDAEVWVDFITPKVAYENTHFAL	80
Q5M154.1	1	MSIKVIVAGFKGRMGSTAVEMVKGDDELTLAALLDPFAAEKEVDGVPVFTDKADLVGFDADVWVDFITPAVAYENTRFAL	80
Q03M29.1	1	MSIKVIVAGFKGRMGSTAVEMVKGDDELTLAALLDPFAAEKEVDGVPVFTDKADLVGFDADVWVDFITPAVAYENTHFAL	80
Query_10001		-----	
Q8DUL9.1	81	ENGFRPVVGGTTGFTQEIQIADLMTLSADKKGGLIAPNFAIGAVLLMEFAAK ASKYFPDLEIIE LHDKKKDAPSGTAVKT	160
Q5M154.1	81	ENGFPVVGTTGFTEAQIQKLTDLKDKSIGGLIAPNFAIGAILLMKFAAE ASKYFPDLEIIE LHDKKKDAPSGTAVKT	160
Q03M29.1	81	ENGFPVVGTTGFTEAQIQKLTDLKDKSIGGLIAPNFAIGAILLMKFAAE ASKYFPDLEIIE LHDKKKDAPSGTAVKT	160
Query_10001	1	----- ASKYFPDLEIIE LHDKKKDAPSGTAVKT	29
Q8DUL9.1	161	AELIREARAYK QGAADDEETLVGARGAEFDGFRHSVRLPGLVAHQEVIFGAQGEGLTLRHDSYDRISFMSGVNLGIKE	240
Q5M154.1	161	AELIREVRESKR QGAEDEMETLAGARGAEFDGFRHSVRLPGLVAHQEVIFGAQGEGLTLRHDSYDRISFMSGVNLGIKE	240
Q03M29.1	161	AELIREVRESKR QGAEDEMETLAGARGAEFDGFRHSVRLPGLVAHQEVIFGAQGEGLTLRHDSYDRISFMSGVNLGIKE	240
Query_10001	30	AELIREARAYK -----	40
Q8DUL9.1	241	VVQREQLVYGLEHLL	255
Q5M154.1	241	VVKRDQLVYGLEHLL	255
Q03M29.1	241	VVKRDQLVYGLEHLL	255
Query_10001		-----	

En la figura 11, indica que con otras proteínas de la familia de la 4-Hidroxi-tetrahidrodipicolinato reductasa. Esta enzima pertenece a la familia de las liasas, específicamente a las amina-liasas, que rompen enlaces carbono-nitrógeno. La 4-hidroxi-tetrahidrodipicolinato sintasa es la enzima clave en la biosíntesis de lisina a través de la vía del diaminopimelato.

Figura 12.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 128 (Query_10001)

Q8CW0.1	1	MKILFVAAEGAPFAKTGGLGDVIGALPKSLVKNNEVSVILPYYDWDVDAKFGDQIEDLFYFFFTNVGWRREYVGIKHIFRD	80
A3CM04.1	1	MKILFAAAEGAPFSKTGGLGDVIGALPKSLVKAGHEVGVILPYYDMTHAKFGDQVEDLFYFEVSVGWRRQYVGVKRLVLN	80
A8AYH0.1	1	MKILFVAAEGAPFSKTGGLGDVIGALPKSLVKHGHQVGVILPYYDMTDAKFGDQVEDLFYFEVSVGWRRQYVGVKRLVLN	80
Query_10001	1	-----HIFRD	5
Q8CW0.1	81	GVDYFYIDNKHYFYRGQIYGEFDDGERFAYFQLAALAEAMEKIQFIPDILHVHDYHTAMIPYLLKEKYHWINAYHGIKTVF	160
A3CM04.1	81	GVSFYFIDNQHYFFRGHVYGDFFDDGERFAYFQLAAVELMERIDFIPDVLHVHDYHTAMIPFLVKEKYHWIQAYQNIITVL	160
A8AYH0.1	81	GVSFYFIDNQHYFFRGHVYGDFFDDGERFAYFQLAAVELMERIDFIPDVLHVHDYHTAMIPFLVKEKYHWIQAYRNIKTVL	160
Query_10001	6	GVDYFYIDNKHYFYRGQIYGEFDDGERFAYFQ-----	37
Q8CW0.1	161	TIHNIEFQGGQFNPSMLGELFGVGDERYDGTLRWNDCLNWMKAALVYADRVTTVSPSYAKEIMTPEFGKGLDQIMRMESG	240
A3CM04.1	161	TIHNLEFQGGQFPDSMLWELFGVGYERYADGTLRWNDCLNWMKAGILYADRVTTVSPSYASEIRTPFEGCNLDQILRMESG	240
A8AYH0.1	161	TIHNLEFQGGQFPDSMLWELFGVGYERYADGTLRWNDCLNWMKAGILYADRVTTVSPSYAGEIRTPFEGCNLDQILRMESG	240
Query_10001		-----	
Q8CW0.1	241	KLSGVNVGIDTDLFDPETDPLHAVHFSKDDLSGKAKNKAALQERVGLPVRDVPVGVIVSRLTDQKGFQLVVDQLNTMMQ	320
A3CM04.1	241	KLVGIVNGIDTDIYNPETDPLLAHHFDKSDLSGKLENKRALQERVGLPVRDDVPVGVIVSRLTRQKGFDLVVEELHNLQ	320
A8AYH0.1	241	KLVGIVNGIDTEIYNPETDPLLAHHFDKSDLSGKLENKRALQERVGLPVRDDVPVGVIVSRLTRQKGFDLVVEELHNLQ	320
Query_10001		-----	
Q8CW0.1	321	LDLQIVLLGTGYADFENAFWFGHAYPDKMSANITFDLELAQQIYAASDIFLMPSAFEPGCLSQMMAMRYGTLPLVHEVG	400
A3CM04.1	321	EDVQIILLGTGDPAFEQAFWFGHAYPDKLSANILFDVTLAQEIYAASDIFLMPSRFEPGCLSQMMAMRYGTLPLVHEVG	400
A8AYH0.1	321	QDVQIILLGTGDPAFEQAFWFGQAYPDKLSANILFDVGLAQEIYAASDIFLMPSRFEPGCLSQMMAMRYGTLPLVHEVG	400
Query_10001		-----	
Q8CW0.1	401	GLRDTVIPYNEFEKTGTGFGQDFSGYWLTKLEAALDVYNRKEDWKILQKNAMTTDFSWDTASQSYEHLYKELA	476
A3CM04.1	401	GLRDTVPEYNYVTGKGTGFSFNNFSGYWL TWTFKKALYADDKEAWKSLQEAMERDFSWDTASKAYS DLYQSLL	476
A8AYH0.1	401	GLRDTVPEYNYVTGQGTGFSFNNFSGYWLSWTFKALNLYTHDKEAWKSMQEAMERDFSWDTASLAYS DLYQSLL	476
Query_10001		-----	

En la figura 12, indica que con otras proteínas de la familia. Biosíntesis de metabolitos secundarios. La glucógeno sintasa es una enzima esencial para el metabolismo del glucógeno en las bacterias, contribuyendo al almacenamiento y utilización de energía, así como a la adaptación a diferentes condiciones ambientales.

Figura 13.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 129 (Query_10001),

P23504.2	863	KEPTPPTRTPDQAEPNKPTPPTYETEKPLEPAPVEPSYEAETPPTRTPDQAEPNKPTPPTYETEKPLEPAPVEPSYEA	942
P11657.1	866	KEPTPPTRTPDQAEPNKPTPPTYETEKPLEPAPVEPSYEAETPPTRTPDQAEPNKPTPPTYETEKPLEPAPVEPSYEA	945
Q9KW51.2	640	-----VETGKKPNIWYSLNGKIRAVNVPKITKENPTTP-----VEPTAPQAPTYEVEKPLNPAPVAPNYEKE	701
Query_10001		-----	
P23504.2	943	PTPPTPTPDQPEPNKPVEPTYEVIPTPPTDPVY QDLPTPPSVPTVHFHYFKLAVQPQVNKEIRNNNDINIDRTLVAKQSV	1022
P11657.1	946	PTPPTPTPDQPEPNKPVEPTYEVIPTPPTDPVY QDLPTPPSDPTVHFHYFKLAVQPQVNKEIRNNNDINIDRTLVAKQSV	1025
Q9KW51.2	702	PTPPTPTPDQPEPNKPVEPTYEAIPTPPTDPVY QNLPTPAVPTVHFHYFKLAVQPQVNKEIKNNNDVDIDKTLVAKQSV	781
Query_10001	1	----- QDLPTPPSVPTVHFHYFKLAVQPQVNKEIRNNNDINIDRTLVAKQSV	47
P23504.2	1023	VKFQLKT ADLPAGRDETTSFVLVDPLPSGYQFNPEATKAASPGFDVTDNATNTVTFKATAATLATFNADLTKSVATIYP	1102
P11657.1	1026	VKFQLKT ADLPAGRDETTSFVLVDPLPSGYQFNPEATKAASPGFDVTDNATNTVTFKATAATLATFNADLTKSVATIYP	1105
Q9KW51.2	782	VKFQLKT ADLPAGRAKTTSFVLVDPLPSGYQFNLEATKAASPGFDVSYDKATNTVTFKATAATLATFNADLTKSVATIYP	861
Query_10001	48	VKFQLKT -----	54
P23504.2	1103	TVVGQVLNDGATYKNNFTLTVNDAYGIKSNVVRVTTGPKPNDPDPNPNNYIKPTKVNKNENGVIDGKTVLAGSTNYEEL	1182
P11657.1	1106	TVVGQVLNDGATYKNNFTLTVNDAYGIKSNVVRVTTGPKPNDPDPNPNNYIKPTKVNKNENGVIDGKTVLAGSTNYEEL	1185
Q9KW51.2	862	TVVGQVLNDGATYKNNFTLTVNDAYGIKSNVVRVTTGPKPNDPDPNPNNYIKPTKVNKNENGVIDGKTVLAGSTNYEEL	941
Query_10001		-----	

En la figura 13, indica que con otras proteínas de la familia de las adhesinas. Es una proteína de adhesión que juega un papel crucial en la formación de la placa dental y la progresión de la caries.

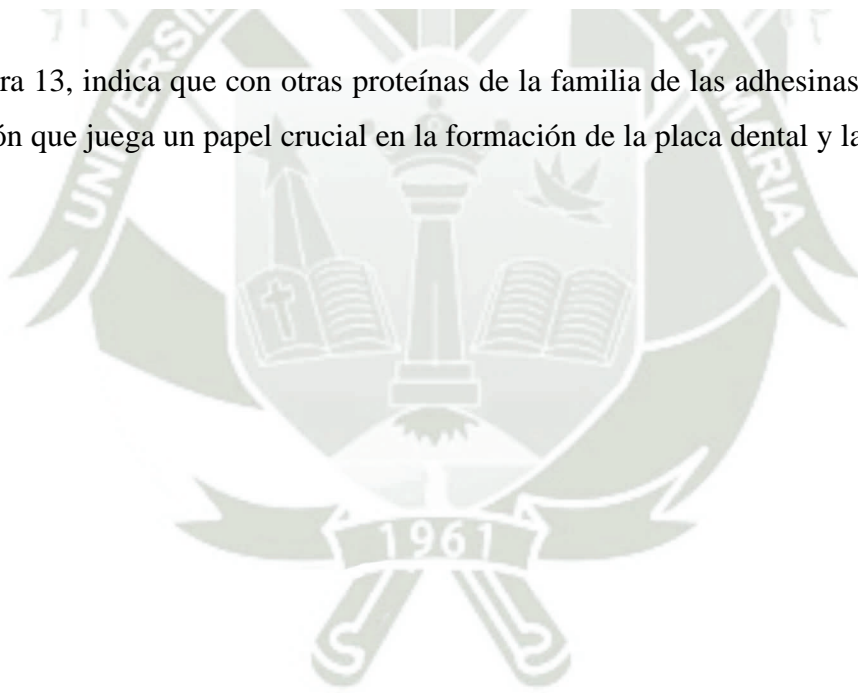


Figura 14.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 130 (Query_10001),

Q8DTS9.1	1	MSIITDVYAREVLDSRGNPTLEVEVYTESGAFGRGMVPSGASTGEHEAVELRDGDKSRYGGLGTQKAVDNVNNIIAEALI	80
Q5M0M5.1	1	MSIITDVYAREVLDSRGNPTLEVEVYTESGAFGRGMVPSGASTGEHEAVELRDGDKARYGGLGTQKAVDNVNNVIAEHII	80
Q9XDS7.1	1	MSIITDVYAREVLDSRGNPTLEVEVYTESGAFGRGMVPSGASTGEHEAVELRDGDKSRYGGLGTQKAVDNVNNIIAEAVI	80
Query_10001		-----	
Q8DTS9.1	81	GYDVRDQQAIDKAMIALDGTGNKGLGANAILGVSIAVARAAADFLEIPLYSYLGGFNTK VLPTPMNIIINGGSHSDAPI	160
Q5M0M5.1	81	GFDVRDQQGIDRAMIALDGTGNKGLGANAILGVSIAVARAAADYLEVPLYSYLGGFNTK VLPTPMNIIINGGSHSDAPI	160
Q9XDS7.1	81	GYDVRDQQAIDRAMIALDGTGNKGLGANAILGVSIAVARAAADYLEIPLYSYLGGFNTK VLPTPMNIIINGGSHSDAPI	160
Query_10001	1	----- VLPTPMNIIINGGSHSDAPI	20
Q8DTS9.1	161	AFQEFMIVPAGAPTF KEALRWGAEIFHALKKILKERGLETAVGDEGGFAPKFDGTEDAVETIIKAIETAGYKPGEEVFLG	240
Q5M0M5.1	161	AFQEFMIVPAGAPTF KEALRWGAEIFHALKKILKERGLETAVGDEGGFAPRFDGTEDGVETIIKAIIEAAGYVPGKDVFIG	240
Q9XDS7.1	161	AFQEFMIVPAGAPTF KEALRWGAEIFHALKKILKSRGLATAVGDEGGFAPRFDGTEDGVETIIAAIEAAGYVPGKDVFLG	240
Query_10001	21	AFQEFMIVPAGAPTF -----	35
Q8DTS9.1	241	FDCASSEFYD--NGVYDYTKFEGEGAKRSAAEQIDYIEELVNKYPITIEDAMDENDWDGWKAL TARLGDRVQLVGDDF	318
Q5M0M5.1	241	LDCASSEFYDAERKVVYDYTKFEGEGAARVTAEEQIDYLEELVNKYPITIEDGMDENDWDGWKAL TERLGDKVQLVGDDF	320
Q9XDS7.1	241	FDCASSEFYDKERKVVYDYTKFEGEGAARVTADEQIDYLEELVNKYPITIEDGMDENDWDGWKAL TERLGKVKQPVGDDF	320
Query_10001		-----	
Q8DTS9.1	319	FVTNTDYLARGIKEGAANSILIKVNQIGTLTETFEAIEMAKEAGYTAVVSHRSGETEDSTIADISVATNAGQIKTGSLSR	398
Q5M0M5.1	321	FVTNTAYLEKGI AEHAANSILIKVNQIGTLTETFDAIEMAKEAGYTAVVSHRSGETEDSTIADI AVATNAGQIKTGSLSR	400
Q9XDS7.1	321	FVTNTSYLEKGINEACANSILIKVNQIGTLTETFDAIEMAKEAGYTAVVSHRSGETEDSTIADI AVAANAGQIKTGSLSR	400
Query_10001		-----	
Q8DTS9.1	399	TDRIAKYNQLLRIEDQLGEVAEYRGLKSFYNLKK	432
Q5M0M5.1	401	TDRIAKYNQLLRIEDQLGEVAEYRGLKSFYNLKK	434
Q9XDS7.1	401	TDRIAKYNQLLRIEDQLGEVAEYRGLKSFYNLSK	434
Query_10001		-----	

En la figura 14, indica que con otras proteínas de la familia de las Enolasas. Cataliza la deshidratación reversible del D-2-fosfoglicerato (2PG) a fosfoenolpiruvato (PEP) y participa tanto en la glucólisis como en la gluconeogénesis.

Figura 15.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 131 (Query_10001)

P11701.2	1	-METKVRKKMYKKGKFWVATITAML----TGIGLSSVQADEANSTQVSSELAERSQVQENTTAS	SSAAENQDKTE	72
Q74K42.1	1	MLENKNHKKISLSGKSLLMGTLSTAAIVLSASTANAATINADNVNENQTVVEVTASSVNNENNKQVT[7]STSDVAEDANT		84
D3WYV9.1	1	MLENKNHKKMSLSGKSLLMGTLSTAAIVLSASTVNAATTNADNVTKNQTVAVSATTNNETNNQVS	SSSEKTADSKT	77
Query_10001		-----	-----	
P11701.2	73	VKETPSTNPAAA-----TVENTDQTTKVI	TDN---AAVESKASKTKDQAATVTKTSASTPEVggt	129
Q74K42.1	85	KKSLENTE--TTEKNTQTVVTNAPVSDVK---NTNTVTAET[5]VNNSDQKTTNAATTDTKKDDVKQVEKSDSVDKT---		158
D3WYV9.1	78	EKDTNLTSAATKEVKADAAKTTSPVNNVKTVAADTTTTTKET	TDNTEKSPVNFSAADVKKNDAVKQDEKAATAVKA---	151
Query_10001		-----	-----	
P11701.2	130	NEKAKATKEADITTPKNTIDEyglTEQARKIATEAGINLSSLTQKQVEALNKVKLTSDAQTGHQMTYQEFDKIAQTLIAQ		209
Q74K42.1	159	NAE-ENKDSVKAENATKAE--LKGQVKDIVEESGVDTSKLTNDQINELNKINFSKEAKSGTQLTYNDFKKIAKTLIEQ		235
D3WYV9.1	152	NTEVKANETSTKSASKDNKAE--LKGQIKDIVKESGVDTSKLTDDQINELNKISFSKEAKSGTQLTYSDFKKIAKTLIEQ		229
Query_10001	1	-----	-VKLTSDAQTGHQMTYQEFDKIAQTLIAQ	28
P11701.2	210	DERYAIPYFNAKAIAIKNMKAATTRDAQTGQIADLDVWDSWPVQDAKTGEVINWNGYQLVWAMMGIPNTNDNHIIYLLYNKYG		289
Q74K42.1	236	DARYAIPFFNASKIKNMPAAKTLDAQSGKVEDLEIWDSPVQDAKTGYVSNWNGYQLVIGMMGVPNVNDNHIIYLLYNKYG		315
D3WYV9.1	230	DARYAVPFFNASKIKNMPAAKTLDAQTGKVEDLEIWDSPVQDAKTGYVSNWNGYQLVIGMMGVPNTNDNHIIYLLYNKYG		309
Query_10001	29	DERYAIPYFNAKAIAIK-----		43

En la figura 15, indica que con otras proteínas de la familia de la invertasa o invertina (β -fructofuranosidasa, EC 3.2.1.26) conocida también con el nombre de sacarasa (por ser una de las sacarosas más comunes), es una enzima que cataliza la hidrólisis de los terminales no reductores β -d-fructofuranosílicos de los fructofuranósidos, rompiendo el enlace β -d-fructofuranosil.

Figura 16.

Análisis de homología secuencial deducida spot 132 (Query_10001)

Q8DW43.1	1	MAVEMLYEADV KVAALDGKKIAVIGYGSQGHAAHQNLRDSGHDV IIGVVRHGKSFDKAKEDGFDTYEVGEATKLADIIMVL	80
B8ZLL0.1	1	MTVQMEYEKDV KVAALDGKKIAVIGYGSQGHAAHQNLRDSGRDVI IIGVVRPGKSFDKAKEDGFDTYTVAEATKLADVIMIL	80
B1I9N6.1	1	MTVQMEYEKDV KVAALDGKKIAVIGYGSQGHAAHQNLRDSGRDVI IIGVVRPGKSFDKAKEDGFDTYTVEATKLADVIMIL	80
Query_10001		-----	
Q8DW43.1	81	APDEIQKDIYKDEIAPNLSAGKALGFAHGFNIHFYIKAPEDVDVFMVAPK GPGHLVRRTYTEGFGVPSLYAVYQNPTGN	160
B8ZLL0.1	81	APDEIQQELYEA EIAPNLEAGNAVGF AHGFNIHF EFIKVPADVDVFMCAPK GPGHLVRRTYEEGFGVPALYAVYQDATGN	160
B1I9N6.1	81	APDEIQQELYEA EIAPNLEAGNAVGF AHGFNIHF EFIKVPADVDVFMCAPK GPGHLVRRTYEEGFGVPALYAVYQDATGN	160
Query_10001	1	----- GPGHLVRRTYTEGFGVPSLYAVYQNPTGN	29
Q8DW43.1	161	AENIALDWAK GIG SARVGLLVTT FKEETEEDLFGEQAVLMGGLTHLIEAGFEVLTEAGYAPQLAYFEVLHEMKLIVDLIY	240
B8ZLL0.1	161	AKNIAMDWCK GVGAARVGLLETTYKEETEEDLFGEQAVLCGGLTALIEAGFEVLTEAGYAPELAYFEVLHEMKLIVDLIY	240
B1I9N6.1	161	AKNIAMDWCK GVGAARVGLLETTYKEETEEDLFGEQAVLCGGLTALIEAGFEVLTEAGYAPELAYFEVLHEMKLIVDLIY	240
Query_10001	30	AENIALDWAK -----	39
Q8DW43.1	241	EGGFKKMRQSCSNTAEFGDFVTGPRVIGPEVKENMKAA LADIQSGKFAREFVEDHDAGFPRLKAFRKEAEGLEIEKIGAE	320
B8ZLL0.1	241	EGGFKKMRQSI SNTAEYGDYVSGPRVITEQVKENMKAVLADIQNGKFANDFVNDYKAGRPKLTAYREQAANLEIEKVGAE	320
B1I9N6.1	241	EGGFKKMRQSI SNTAEYGDYVSGPRVITEQVKENMKAVLADIQNGKFANDFVNDYKAGRPKLTAYREQAANLEIEKVGAE	320
Query_10001		-----	
Q8DW43.1	321	LRKAMPFVNQND DDAFKIYN	340
B8ZLL0.1	321	LRKAMPFVGKN D DDAFKIYN	340
B1I9N6.1	321	LRKAMPFVGKN D DDAFKIYN	340
Query_10001		-----	

En la figura 16, indica que con otras proteínas de la familia de las oxidoreductasas. La cetolácido reductoisomerasa también conocida como acetohidroxiácido isomeroreductasa; es una enzima bifuncional que cataliza dos reacciones bastante diferentes, actuando como una isomerasa y como una reductasa. Los productos son precursores tanto de la valina como de la leucina.

Figura 17.

Análisis de homología secuencial deducida del spot 133 (Query_10001).

P35170.2	1	MSS[9]TSNKRVAFHELPSPTDLIAANPLTPKQASKVEQDRQDIADIFAGDDRLVWVVGPCSVHDPEAAIDYANRLAP	86
P46245.2	1	MKK TDELRTIRIDPLITPSELAKKYAITSEIMDNVIITRQNIARIMTGEDLRLLWVIGPCSVHDPIAAVEYAHRLYE	77
Q8X5W4.1	1	MNR TDELRTARIESLVTPAELALRYPVTPGVATHVTSRRRIEKILNGEDKRLLVIIIGPCSIHDLTAAMEYATRLQS	77
Query_10001		-----	
P35170.2	87	LAKRLDQDLKIVMRVYFEKPRITVIGWKGLINDPHLNETYDIPEGLRIARKVLIDVVNLDLPVGCEFLPNSPQYYADTVA	166
P46245.2	78	LRKKYQDRLEIIMRITYFEKPRTVVVGWKGLISDPDLNGSFRVNHGLAVARKLLLDINELGMPAATEFLDMVIGQFIADLIS	157
Q8X5W4.1	78	LRNQYQSRLIEIVMRTYFEKPRTVVVGWKGLISDPDLNGSYRINHGLELARKLLLQVNELGVPTATEFLDMVTGQFIADLIS	157
Query_10001		-----	
P35170.2	167	WGAI GARTTESQVHRQLASGMSMPIGFKNGTDGNIQVAVDVAVQAAQNPFFFGTSDDGALS VETAGNSNSHIILRGGTS	246
P46245.2	158	WGAI GARTTESQIHREMASALSCPVGFKNGTDGNIRIAIDAIRAAQARHLFFAPNKDGMQMTINHTSGNYPYGHII MRGGR-	236
Q8X5W4.1	158	WGAI GARTTESQIHREMASALSCPVGFKNGTDGNIRIAVDAIRAARASHMFLSPDKNGQMTIYQTSGNYPYGHII MRGGK-	236
Query_10001	1	-----NPTSGNINIMFNGIYAAQNKQSF LFNGEE-----VETSGNPTAHVILRGGVN	47
P35170.2	247	GNHDAASVEAVVEKLG ENAR---LMIDASHANSGBKDHIRQVEVVREIAEQISGGSEAVAGIMIESFLVGGAQNLD[7]G	327
P46245.2	237	TPNYHAHDINSAIEHLREFNLLLEHLMIDF SHGNCLKEHIRQKDVAKSVSKQISQGSKTI FGVMIESFLEEGFTVK E	313
Q8X5W4.1	237	KPNYHADDIAAACDTLHEFDLPEHLVWDFSHGNQCQQRHRRQLEVCEDICQQIRNGSTAIAGIMAESFLREGTKIV G	313
Query_10001	48	EYGK-----	51
P35170.2	328	GEGLVYGQSVTDKCIDIDTTIDLLAELAAAVRERR[4]	366
P46245.2	314	NQPLIYGKSITDACLNWKDSVLIKQLADAVDTRF	348
Q8X5W4.1	314	GQPLTYGQSITDPCLGWEDTERLVEKLASAVDTRF	348
Query_10001		-----	

Esta enzima pertenece a la familia de las liasas, (aldehídotiasas), que rompen enlaces carbono-carbono. Se utiliza en la vía de Entner-Doudoroff, contribuyendo a la glucólisis. Esta enzima también participa en las siguientes tres vías metabólicas: la vía de las pentosas fosfato, la interconversión de pentosas y glucuronatos, y el metabolismo de la arginina y la prolina.

DISCUSIÓN

Las infecciones microbianas orales representan un desafío significativo para la salud pública con impacto mundial. La caries dental, las enfermedades periodontales y otras enfermedades orales están asociadas con infecciones bacterianas en las cuales *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) es la bacteria más asociada con la caries dental. La hipótesis de la placa ecológica establece que *S. mutans* es una bacteria comensal anaerobia grampositiva de la cavidad oral altamente asociada con enfermedades dentales como la caries (1).

La participación de *S. mutans* en la patogénesis oral de la caries dental está bien documentada. Sus principales propiedades de virulencia incluyen: adherencia a la superficie del diente, formación de biopelículas, acidogenicidad y aciduricidad (2). La placa dental a menudo se elimina por métodos mecánicos, sin embargo, hay casos en los que este enfoque es insuficiente. Dados los desafíos asociados con la eliminación de la placa, el uso de antisépticos en la práctica dental es esencial para el tratamiento y la prevención de enfermedades bucales infecciosas (4). Además, esta bacteria también está implicada en la bacteriemia y la endocarditis infecciosa, una inflamación mortal de las válvulas cardíacas (14, 15). La característica única que hace de *S. mutans* uno de los organismos cariogénicos más potentes incluye la capacidad de *S. mutans* para metabolizar una amplia gama de carbohidratos en ácidos orgánicos (acidogenicidad) y también puede prosperar incluso en condiciones ácidas (aciduricidad) según Lemos JA, y Burne RA (16).

Aunque se han empleado enfoques genéticos y bioquímicos durante las últimas décadas para explorar la biología de *S. mutans*, la secuencia completa del genoma de la cepa UA159 de *S. mutans* se publicó recién en 2001, lo que transformó drásticamente el panorama. Actualmente, *S. mutans* se encuentra entre las bacterias Gram positivas mejor caracterizadas.

El genoma de *S. mutans* que se secuenció por primera vez (cepa UA159 del serotipo c) contenía ~2,0 Mb de ADN, que codificaba alrededor de 2000 genes (17, 18). Sin embargo, el transcriptoma y el proteoma de *S. mutans* han recibido menos atención, aunque se sabe que son significativos para comprender la patogénesis de cualquier bacteria.

El proteoma se considera una fracción funcional de la célula que fluctúa en respuesta a los estímulos impuestos externamente, como el estrés farmacológico. En condiciones de estrés, la armonía dentro de la célula bacteriana se altera y las bacterias adoptan funciones celulares alternativas simultáneamente, mientras que el proteoma media para evitar el efecto. En consecuencia, el proteoma obtenido cuando las bacterias se cultivan en condiciones estresantes

podría revelar algunas vías novedosas que adoptan las bacterias para evitar perturbaciones a su alrededor.

Además, la proteómica, junto con un enfoque bioinformático, podría ayudar a resolver dichos problemas biológicos (19, 20). La presente investigación, tiene como objetivo, intentar comprender la patogénesis de la bacteria cariogénica *S. mutans*.

Las supuestas proteínas diana preseleccionadas pueden ser candidatas prometedoras para desarrollar terapias que controlen la virulencia de *S. mutans*. El objetivo de este estudio es proporcionar datos útiles a los investigadores que exploran dianas o trabajan en el descubrimiento de fármacos, para decodificar consultas biológicas con un método computacionalmente manejable mediante la exploración, el filtrado y la ponderación de los enormes conjuntos de datos a escala del proteoma.

Se utilizan numerosos tipos diferentes de formas de dosificación farmacéutica en la prevención y el tratamiento de enfermedades bucales. Las pastas de dientes y los enjuagues bucales se encuentran entre los medicamentos dentales más populares. Sin embargo, el principal inconveniente de estos productos es su baja sustantividad farmacológica en la cavidad bucal. Esto resulta en una eficacia clínica reducida. Por el contrario, una aplicación de administración local que prolongaría la liberación del fármaco en la cavidad bucal ofrece importantes ventajas en la prevención y el tratamiento de enfermedades bucales. Se han utilizado formas de dosificación de barnices y geles de liberación sostenida. Se ha demostrado que estas formas de dosificación reducen los niveles de bacterias cariogénicas junto con mejoras clínicas. Una ventaja adicional de los dispositivos de liberación sostenida es el alto cumplimiento del paciente, que es un factor importante en el tratamiento dental (5, 6).

Más aún, algunos sitios clínicos en la cavidad bucal tienen una característica anatómica única, que el acceso a ellos no es tan factible, requiriendo medios especiales para garantizar que el medicamento esté disponible en estos sitios. Entre estos están; Bolsas periodontales, espacios interproximales y conductos radiculares (7, 8, 9). Estas localizaciones orales tienen un volumen vacío muy pequeño que presenta un desafío clínico para introducir la medicación.

En este estudio, empleamos la proteómica cuantitativa basada en la Electroforesis bidimensional 2D y la Espectrometría de Masas ESI-MS/MS, que es una potente técnica analítica, que se utiliza cada vez más para una gama variada de aplicaciones biológicas debido a sus crecientes capacidades para una amplia cobertura del proteoma, alta sensibilidad, especificidad, así como precisión en la cuantificación (21).

La Electroforesis bidimensional 2D y la Espectrometría de Masas ESI-MS/MS junto con el enfoque de la proteómica sustractiva que se ha documentado como un método poderoso para identificar secuencias únicas pero no caracterizadas como posibles objetivos terapéuticos. Además, la proteómica sustractiva in silico es la técnica más eficiente, ahorradora de tiempo y económica, siempre que tanto el proteoma del patógeno como el del huésped sean accesibles. Este enfoque implica numerosos análisis en múltiples etapas que generalmente emplean BLAST (22, 23).

S. mutans cultivada en ausencia y presencia de clorhexidina (CHX) al 2%. La clorhexidina (CHX) es un agente terapéutico de referencia contra patógenos orales clínicos. Es una molécula catiónica de bis-biguanida con un amplio espectro antiséptico, que actúa contra bacterias grampositivas, gramnegativas y hongos al alterar su membrana celular. La CHX tiene actividad antibiopelícula contra *S. mutans* a través de otros mecanismos, como interferir con la adhesión inicial, alterar la matriz extracelular e inhibir el metabolismo bacteriano. Todos estos mecanismos trabajan juntos para prevenir la formación de biopelículas y eliminar las que ya se han formado (10, 11).

Si bien la eficacia antimicrobiana de la clorhexidina, está bien establecida, su uso oral como agente terapéutico es limitado debido al sabor desagradable, la alteración de las papilas gustativas, la tinción de los dientes y las membranas mucosas (12, 13).

Al comparar el Mapa de referencia de expresión y analizar el gel de electroforesis bidimensional 2D completo en ausencia y presencia de clorhexidina (CHX) al 2%, del proteoma de *S. mutans*, se identificó un panel de trece (13) proteínas diferenciadas en el gel control (Mapa de Referencia) en relación al gel de la expresión estresante frente a la clorhexidina (CHX) al 2%.

Inicialmente, se eliminó la duplicidad en el conjunto de datos de 21 proteínas. Para ello, el panel de proteínas se sometió al análisis de imagen realizado por el software PD QuestBasic Version 8.0.1 Bio Rad USA., que agrupa aquellas proteínas que superan el umbral de similitud. En nuestros datos, se eliminaron las proteínas con un 100% de similitud de secuencia o funcional con otras proteínas de ambos geles.

Las proteínas restantes del gel bidimensional 2D control se sometieron a un análisis y estudio de secuencia por espectrometría de masas ESI-MS/MS, que implica la detección específica de secuencias peptídicas e identificación bioinformática a través del BLAST para su identificación

de posibles blancos farmacológicos frente al proteoma de tratamiento con clorhexidina (CHX) al 2%.

Los estudios de homología secuencial son extremadamente importantes en la determinación de regiones o dominios conservados asociados a las funciones biológicas de esas proteínas relacionadas con la supervivencia de la especie.

Posteriormente, se identificaron las proteínas que se expresaron en el mapa de referencia y que no se encontraron en la expresión del cultivo en condiciones estresantes en la presencia de clorhexidina (CHX) al 2%, a través diversas Base de Datos de Proteínas como Swiss-Prot.

Las trece (13) proteínas encontradas fueron: Thioredoxin peroxidase Glucosyltransferase-SI (GTF-SI) (EC 2.4.1.5), Enolasa, Formiato acetiltransferasa, Aspartate-beta-semialdehyde dehydrogenase, Phosphohexose isomerase, 4-hidroxi-tetrahidrodipicolinato reductasa, Sintasa de glucógeno, Antígeno de superficie celular I/II, 2-fosfo-D-glicerato hidrolisa, Beta-D-fructofuranosil transferasa, Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+)), y Phospho-2-keto-3-deoxyheptonate aldolase (Tabla 2).

Todas estas proteínas son extremadamente importante o necesarias para la supervivencia y la persistencia bacteriana. Estas proteínas esenciales se consideran objetivos potenciales para la identificación de estructuras químicas novedosas e innovadoras para el desarrollo de fármacos. Estas proteínas comprenden secuencias agrupadas según sus funciones biológicas, es decir, almacenamiento y procesamiento de información (metabolismo del ADN y el ARN), procesamiento, plegamiento y secreción de proteínas, procesos celulares (división celular y transporte), metabolismo energético e intermediario (glucólisis, vía de las pentosas fosfato, metabolismo lipídico, biosíntesis de cofactores y nucleótidos, producción de fuerza protónica), y están poco caracterizadas (23, 24).

Este análisis se realizó de las proteínas expresas en el proteoma de *S. mutans* en condiciones de control (mapa de referencia). De las secuencias totales de proteínas seleccionadas por el servidor KAAS, se encontró que la mayor cantidad de secuencias estaban involucradas en la biosíntesis de metabolitos secundarios, el metabolismo de la lisina, etc., como se muestra en la Tabla 2.

La idoneidad de las proteínas esenciales para ser consideradas como objetivos potenciales depende de dos criterios: de esencialidad y selectividad. Las proteínas esenciales constituyen la base del organismo, mientras que la selectividad depende de los niveles de expresión génica. La eficiencia de la traducción del ARNm a proteína depende parcialmente de la estrategia de

codificación de un ARNm y se refleja en el sesgo de uso de codones, que a menudo se mide mediante el índice de adaptación de codones.

Las trece (13) proteínas obtenidas después de una serie de métodos de proteómica sustractiva podrían ser considerados por otro lado, como objetivos terapéuticos contra la infección de caries.

Estas proteínas se sometieron además a una caracterización cualitativa para localizarlas dentro de la célula y conocer sus propiedades fisicoquímicas. La clasificación de las secuencias proteicas se encontró principalmente en la membrana celular, la matriz extracelular y los dominios citoplasmáticos. La caracterización fisicoquímica, que busca definir las propiedades físicas y químicas basadas en la composición de los residuos de aminoácidos, se calculó utilizando el software DNA Star versión 6.0.

De un total de trece (13) posibles blancos proteicos identificadas en este estudio, probablemente podrían ser expresadas alguna enzima de la familia de las sortasas, que representa una familia de transpeptidasas altamente conservadas, es crucial para la virulencia bacteriana. En *S. mutans*, las sortasas ayudan a anclar a la pared celular diversas proteínas de superficie de virulencia, como FruA, GbpC, Pac, WapA y Dex. Estas proteínas median la adherencia bacteriana a la superficie dental, lo que resulta en la formación de biopelícula. Además, las sortasas están presentes en el centro de una vía que controla numerosos factores de virulencia. Por lo tanto, es imperativo dar continuidad con el estudio de análisis proteómico en más detalle (25).

CONCLUSIONES

PRIMERA. A través de una plataforma proteómica compuesta por Electroforesis Bidimensional 2D y Espectrometría de Masas ESI-MS/MS, se identificaron trece (13) proteínas expresas diferenciadas, denominadas de 121 a la 133, en cultivo de *Streptococcus mutans* en ausencia de clorhexidina al 2%.

SEGUNDA. A través de una plataforma proteómica compuesta por Electroforesis Bidimensional 2D y Espectrometría de Masas ESI-MS/MS, se identificaron veinte (20) proteínas expresas denominadas de 101 a la 120, en cultivo de *Streptococcus mutans* en presencia de clorhexidina al 2%.

TERCERA. Se estableció una relación de supervivencia de *Streptococcus mutans* como un factor de expresión de 13 proteínas en ausencia de clorhexidina al 2% identificadas como: Thioredoxin peroxidase, Glucosyltransferase-SI (GTF-SI) (EC 2.4.1.5), Enolasa, Formiato acetiltransferasa, Aspartate-beta-semialdehyde dehydrogenase, Phosphohexose isomerase, 4-hidroxi-tetrahidrodipicolinato reductasa, Sintasa de glucógeno, Antígeno de superficie celular I/II, 2-fosfo-D-glicerato hidrolasa, Beta-D-fructofuranosil transferasa, Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+)), Phospho-2-keto-3-deoxyheptonate aldolase.

CUARTA: Existe una diferencia en los niveles de expresión en el desarrollo de *Streptococcus mutans* frente y en ausencia de clorhexidina al 2%, tal como se evidencia en el geles bidimensionales. Encontrando así proteínas diferenciadas en ambos estados de estudio.

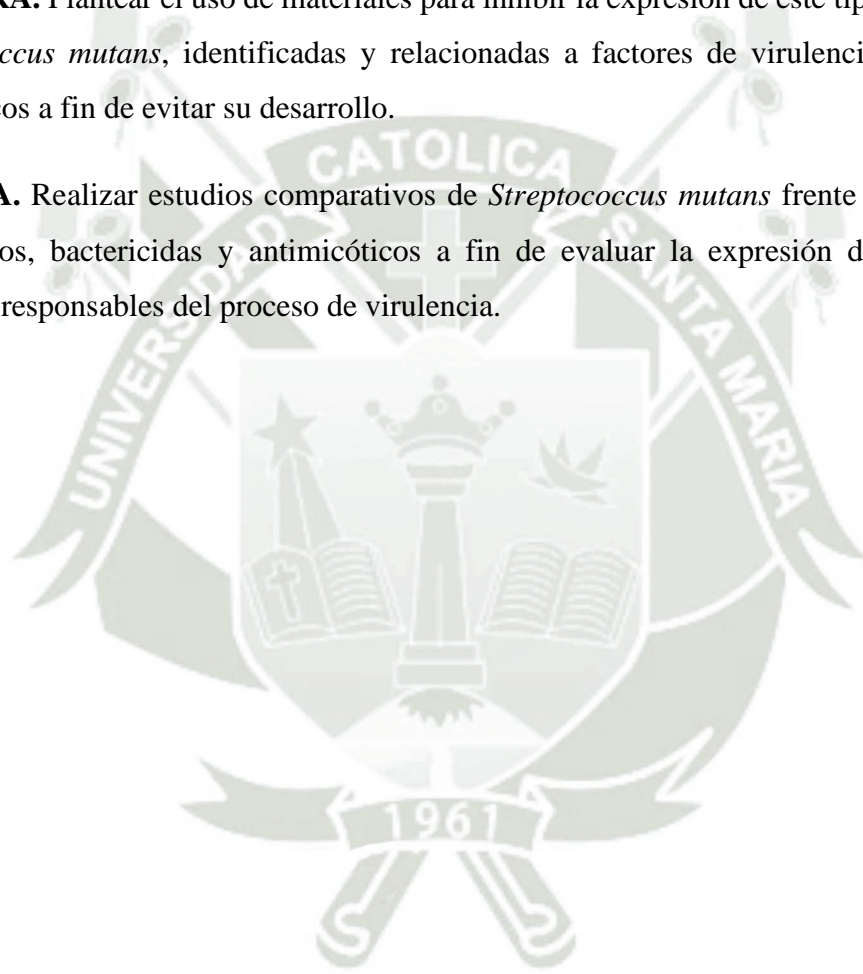
RECOMENDACIONES

PRIMERA. Realizar estudios de expresión proteómica en *Streptococcus mutans* en tiempos diferentes antes y después de la formación de biofilm.

SEGUNDA. Realizar estudios de transcriptómica de *Streptococcus mutans* a fin de evaluar los genes viables y posibles mutaciones en el proceso de transcripción.

TERCERA. Plantear el uso de materiales para inhibir la expresión de este tipo de proteínas en *Streptococcus mutans*, identificadas y relacionadas a factores de virulencia, como blancos terapéuticos a fin de evitar su desarrollo.

CUARTA. Realizar estudios comparativos de *Streptococcus mutans* frente a varios tipos de antisépticos, bactericidas y antimicóticos a fin de evaluar la expresión de mutaciones en proteínas responsables del proceso de virulencia.



REFERENCIAS

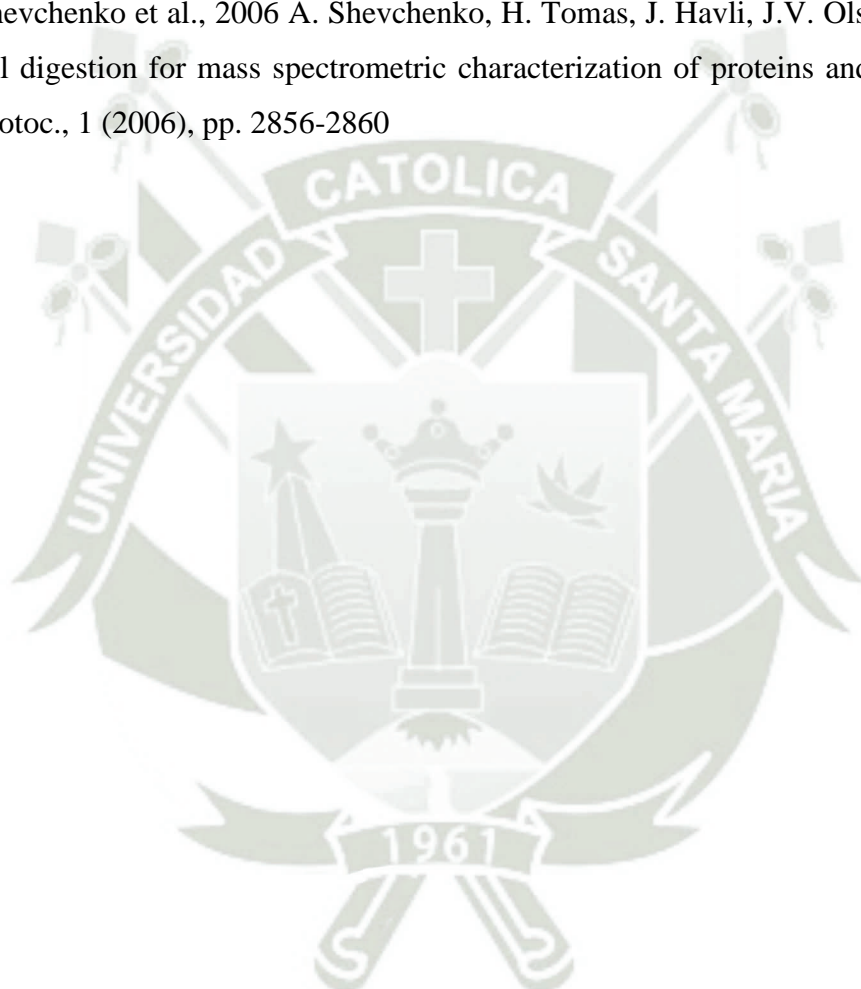
1. Friedman, J. The Role of *Streptococcus mutans* in the Formation of Dental Caries: An Ecological Perspective. The Science Journal of the Lander College of Arts and Sciences 5. 2011.
2. Jakubovics N.S., S.D. Goodman, L. Mashburn-Warren, G.P. Stafford, F. Cieplik The dental plaque biofilm matrix Periodontology, 2000 (86), 2021, pp. 32-56, 10.1111/prd.12361.
3. Patel M. Dental caries vaccine: are we there yet? Lett. Appl. Microbiol, 70, 2020, pp. 2-12, 10.1111/lam.13218.
4. Huang S., M. Wu, Y. Li, J. Du, S. Chen, S. Jiang, X. Huang, L. Zhan The dlt operon contributes to the resistance to chlorhexidine in *Streptococcus mutans* Int. J. Antimicrob. Agents, 59, 2022, Article 106540.
5. Steinberg D., M. Friedman Sustained-release delivery of antimicrobial drugs for the treatment of periodontal diseases: fantasy or already reality? Periodontol., 2000 (84) 2020, pp. 176-187, 10.1111/prd.12341.
6. Steinberg D., M. Friedman Sustained-release drug delivery of antimicrobials in controlling of supragingival oral biofilms Expert Opin. Drug Deliv., 14. 2017, pp. 571-581, 10.1080/17425247.2016.1213239.
7. Al Saffan A.D. Current approaches to diagnosis of early proximal carious lesion: a literature review Cureus. 2023, 10.7759/cureus.43489.
8. Bryniarska-Kubiak N., A. Basta-Kaim, A. Kubiak Mechanobiology of dental pulp cells Cells, 13, 2024, p. 375, 10.3390/cells13050375.
9. Hashim N.T., R. Babiker, S.P. Priya, R. Mohammed, N.C. Chaitanya, V. Padmanabhan, S. El Bahra, M.M. Rahman, B.G. Gismalla Microbial dynamics in periodontal regeneration: understanding microbiome shifts and the role of antifouling and bactericidal materials: a narrative review CIMB, 46, 2024, pp. 12196-12213, 10.3390/cimb46110724.
10. Feldman M., W.S. Moustafa Elsayed, M. Friedman, I. Gati, D. Steinberg, H. Marei Prolonged inhibition of *Streptococcus mutans* growth and biofilm formation by

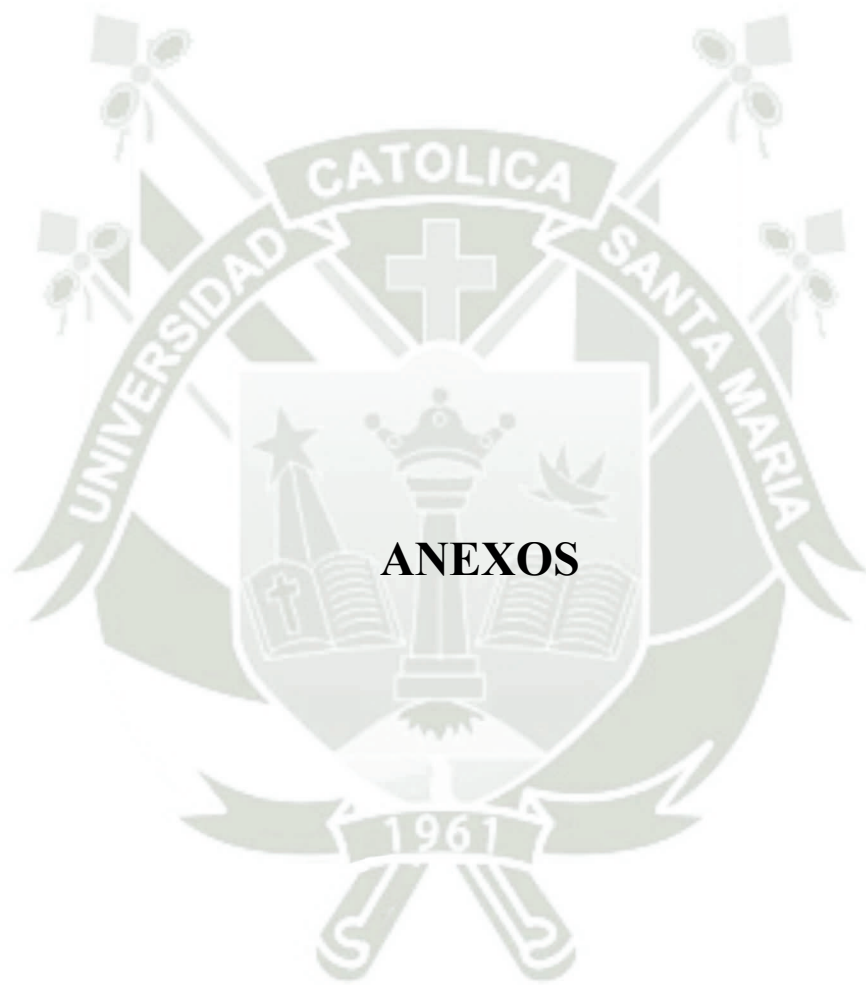
- sustained release of chlorhexidine from varnish coated dental abutments: an in vitro study Int. J. Dent., 2022, 2022, Article 7246155, 10.1155/2022/7246155.
11. Mensitieri F., M. Caggiano, G. Gaudino, B. Charlier, A. Coglianesi, A. Amato, F. Di Spirito, M. Amato, F. Dal Piaz, V. Izzo In vitro evaluation of antibacterial and antibiofilm activity of different chlorhexidine-containing mouthwash formulations against *Streptococcus mutans* Appl. Sci., 13, 2023, p. 7531, 10.3390/app13137531.
 12. Kamble A., Z. Jabin, N. Agarwal, A. Anand Effectiveness of oral probiotics in reducing *S. mutans* count in caries-active children: a comparison with chlorhexidine and herbal mouthrinse (Hiora®) Int J Clin Pediatr Dent, 15, 2022, pp. S207-S211, 10.5005/jp-journals-10005-2149.
 13. Pattnaik S., N. Anand, S.C. Chandrasekaran, L. Chandrashekar, K. Mahalakshmi, A. Satpathy Clinical and antimicrobial efficacy of a controlled-release device containing chlorhexidine in the treatment of chronic periodontitis Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 34, 2015, pp. 2103-2110, 10.1007/s10096-015-2459-x.
 14. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA. Biología de *Streptococcus mutans*. 2019. Patógenos grampositivos. 10.1128/9781683670131.ch27.
 15. Lemos JA, Quivey RG Jr, Koo H, Abranches J. *Streptococcus mutans*: ¿un nuevo paradigma grampositivo? Microbiología 159:436. 201310.1099/mic.0.066134-0.
 16. Lemos JA, Burne RA. Un modelo de eficiencia: tolerancia al estrés por *Streptococcus mutans* . Microbiología 154:3247. 2008. 10.1099/mic.0.2008/023770-0.
 17. Ajdić D, McShan WM, McLaughlin RE, Savić G, Chang J, Carson MB et al. 2002 Secuencia genómica de *Streptococcus mutans* UA159, un patógeno dental cariogénico. Proc Natl Acad Sci USA 99:14434–14439. <https://doi.org/10.1073/pnas.172501299>
 18. Nakano K, Ooshima T. Clasificación de serotipos de *Streptococcus mutans* y su detección fuera de la cavidad oral. Future Microbiol. 2009. 4:891–902. <https://doi.org/10.2217/fmb.09.64>
 19. Garcia-Seco D, Chiapello M, Bracale M, Pesce C, Bagnaresi P, Dubois E et al. El análisis del transcriptoma y el proteoma revela nuevos conocimientos sobre las respuestas proximales y distales del trigo a la infección foliar por *Xanthomonas translucens* . Sci Rep 31:1–3. 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10568-8>.

20. Guo MS, Gross CA. Remodelación del proteoma bacteriano inducida por estrés. *Curr Biol* 19:R424–R434. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.023>.
21. Xie F, Liu T, Qian WJ, Petyuk VA, Smith RD. Proteómica cuantitativa basada en cromatografía líquida-espectrometría de masas. *J Biol Chem* 286:25443–25449. 2011 <https://doi.org/10.1074/jbc.R110.199703>.
22. Bhardwaj T, Haque S, Somvanshi P. Evaluación comparativa de las dianas farmacológicas de *C. botulinum* ATCC 3502 y *C. difficile* str. 630 mediante proteómica sustractiva in silico. *J Cell Biochem* 120:16160–16184. 2019. <https://doi.org/10.1002/jcb.28897>.
23. Solanki V, Tiwari V. Proteómica sustractiva para identificar nuevas dianas farmacológicas y vaccinología inversa para el desarrollo de una vacuna quimérica contra *Acinetobacter baumannii*. *Sci Rep* 13:1–9. 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26689-7>.
24. Escano J, Stauffer B, Brennan J, Bullock M, Smith L. Biosíntesis y transporte del antibiótico mutacina 1140 producido por *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol* 197:1173–1184. 2015. <https://doi.org/10.1128/JB.02531-14>.
25. Kato C, Nakano Y, Lis M, Kuramitsu HK. Análisis genético molecular del sitio catalítico de las glucosiltransferasas de *Streptococcus mutans*. *Biochem Biophys Res Commun* 15:1184–1118. 1992. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(92\)92329-v](https://doi.org/10.1016/0006-291x(92)92329-v).
26. MASCOT. Matrix Science. Soluciones de proteómica. 2025. <http://www.matrixscience.com>
27. Lorena Porte L., Stephanie Braun J., Jeannette Dabanch P., Alicia Egaña y Daniela Andrighetti. *Streptococcus mutans*: Una bacteria que hace honor a su nombre. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071610182009000700017&script=ci_arttext
28. Antonio Bascones Martínez Fuente. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S169965852006000100004
29. Atsuko Watanabe¹, Miki Kawada-Matsuo^{2,3}, Mi Nguyen-Tra Le^{2,3}, Junzo Hisatsune. Análisis exhaustivo de bacteriocinas en *Streptococcus mutans*. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92370-1>

30. Peninsula Dental School, Plymouth University, Portland Square C506, Plymouth, PL4 8AA, UK. Usos actuales de la clorhexidina para el tratamiento de enfermedades bucales: una revisión narrativa. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030057122030244X?via%3Dihub>
31. Am J Dent. Author manuscript. El todo es mayor que la suma de sus partes: las interacciones bacterianas de la placa dental pueden afectar las propiedades de virulencia de las bacterias cariogénicas *Streptococcus mutans*. <https://scispace.com/papers/the-whole-is-greater-than-the-sum-of-its-parts-dental-plaque-219q1zbcg5>
32. J.A. Lemos, S.R. Palmer, L. Zeng, Z.T. Wen, J.K. Kajfasz, I.A. Freires, J. Abranches, and L.J. Brady. The Biology of *Streptococcus mutans*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0304416572900621?vi%3Dihub>
33. Vijaya Lakshmi Bolla, M. Jyothi¹, Shanthan Reddy Mettu¹, Mallela G. Manoj Kumar, Kakumanu Nageswara Rao, Munnangi Surendra Reddy, Pradeep Koppolu. Eficacia de tres enjuagues bucales contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*: un estudio comparativo. <http://journals.lww.com/aoambyBhDMf5ePHKav1zEoum1tQfN4a+kJLhEZgbsIH04XMi0hCywCX1AWnYQp/IlQrHD3i3D0OdRyi7TvSFI4Cf3VC4/OAVpDDa8KKGKVOYmy+78= on 08/18/2024>
34. H. Koo a–c S. Duarte a R.M. Murata a K. Scott-Anne b S. Gregoire b G.E. Watson a A.P. Singh d N. Vorsa d, e. Influencia de las proantocianidinas del arándano en la formación de biopelículas por *Streptococcus mutans* en la superficie apatítica recubierta de saliva y en el desarrollo de caries dentales in vivo. <http://karger.com/cre/article-pdf/44/2/116/2499247/000296306.pdf>
35. Zo'e L.S. Brookes; Raul Bescos, Louise A. Belfield; Kamran Ali; Anthony Roberts. Usos actuales de la clorhexidina para el tratamiento de enfermedades bucales: una revisión narrativa. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030057122030244X?via%3Dihub>
36. Zoe Brookes €; Leanne Teoh; Fabian Cieplik; Purnima Kumar. Efectos del enjuague bucal en el microbioma bucal: ¿son buenos, malos o equilibrados?. <http://dx.doi.org/10.1016/j.identj.2023.08.014>, <http://dx.doi.org/10.1016/j.identj.2023.0>

37. Ponce-Soto et al., 2007, B. Lomonte, J.M. Gutiérrez, L. Rodrigues-Simioni, J.C. Novello, S. Marangoni Structural and functional properties of BaTX, a new Lys49 phospholipase A2 homologue isolated from the venom of the snake *Bothrops alternatus* *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.*, 1770 (2007), pp. 585-593.
38. O'Farrell, 1975 P.H. O'Farrell High-resolution two-dimensional electrophoresis of proteins *J. Biol. Chem.*, 250 (1975), pp. 4007-4021.
39. Shevchenko et al., 2006 A. Shevchenko, H. Tomas, J. Havli, J.V. Olsen, M. Mann In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes *Nat. Protoc.*, 1 (2006), pp. 2856-2860





Anexo 1.

**Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas
de la UCSM**

Arequipa, 15 de julio del 2024

**Solicito: Autorización del coordinador principal del Laboratorio de Química y Proteínas
de la UCSM:**

Estimado Doctor Luis Ponce Soto, por medio de la presente yo, **Andrea Alexandra Carpio Cuayla**, identificado con el DNI N°71509899 y el código de alumno 2020814052, quiero solicitar la autorización para trabajar en el Laboratorio de Química y Proteínas de la UCSM para la realización de mi proyecto de Tesis titulado: **“Diferencia en la expresión de proteínas del *Streptococcus mutans* al tratamiento con clorhexidina al 2%. Arequipa, 2025.”** para optar por el título de Cirujano Dentista en la UCSM.

Ruego a usted acceder a mi solicitud.

Atentamente:



Andrea Alexandra Carpio Cuayla

DNI 71509899

Anexo 2

Declaración Jurada de Autorización



Vicerrectorado de
Investigación

El que suscribe *Profesor Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.* con DNI N° 29546298, Docente Investigador y Coordinador del laboratorio de Química de Proteínas del Vicerrectorado de Investigación F-401, de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

DECLARO:

Que el trabajo de Investigación denominado: “**Diferencia en la expresión de proteínas del *Streptococcus mutans* al tratamiento con clorhexidina al 2% Arequipa 2025.**”, se realizará por el Alumna: *Carpio Cuayla Andrea Alexandra* en las instalaciones del laboratorio de Química de Proteínas, bajo mi supervisión.

Se expide la presente a solicitud de los interesados para los fines debidos.

Arequipa, 01 de Abril del 2024.

Atentamente,



Professor: Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.
Coordinador del Laboratorio de Química de Proteínas
Vicerrectorado de Investigación
Universidad Católica de Santa María

ORCID: 0000-0001-5976-2913
<https://orcid.org/0000-0001-5976-2913>
Other IDs
Scopus Author ID: 8987609300
ResearcherID: B-1328-2017.

vrinvestigacion@ucsm.edu.pe
Teléfono: 382038. Anexo 1111

Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú