

Tabla de contenido

1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. Generalidades de las lectinas	10
1.2. Evaluación de la interacción entre lectinas y carbohidratos	14
1.2.1. Estudio de la interacción lectina-nanopartícula glicosilada	15
1.3. Roles biológicos de las lectinas	16
1.4. Aplicaciones de lectinas	18
1.4.1. Aplicación en el estudio de isoformas de glicoproteínas	20
1.4.2. Aplicaciones de lectinas como agentes antimicrobianos	24
1.4.3. Aplicaciones de las lectinas inmovilizadas	26
1.5. Lectinas fúngicas: propiedades y aplicaciones	28
2. OBJETIVOS	31
2.1. Objetivo general	31
2.2. Objetivos específicos	31
3. MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1. Hongos basidiomicetes	32
3.2. Preparación de extractos acuosos	32
3.3. Análisis de los extractos fúngicos	34
3.3.1. Ensayo de actividad hemaglutinante (HAG)	34
3.3.2. Ensayos de inhibición de HAG	36
3.3.3. Determinación de la concentración de proteínas	37
3.3.4. Electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE)	38
3.3.5. Determinación de pI	38
3.4. Purificación de las lectinas	39
3.4.1. Purificación de la lectina de <i>Punctularia atropurpurascens</i> (PAL)	39
3.4.2. Purificación de la lectina de <i>Pycnoporus sanguineus</i>	40

3.4.3.	Purificación de la lectina de <i>Gymnopilus spectabilis</i>	44
3.5.	Especificidad de GSL por carbohidratos	45
3.6.	Contenido en carbohidratos de la lectina	45
3.7.	Inmovilización de lectinas fúngicas	45
3.8.	Interacciones entre glicoproteínas y lectinas fúngicas inmovilizadas	47
3.9.	Interacciones entre gliconanopartículas y GSL	47
3.10.	Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> de las lectinas fúngicas	48
3.10.1.	Microorganismos evaluados y condiciones de cultivo	49
3.10.2.	Estudios de actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> mediante ensayo de difusión en agar	49
3.10.3.	Concentración inhibitoria mínima (CIM _m)	50
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1	Relevamiento de lectinas en hongos basidiomicetes	51
4.2	Especificidad por carbohidratos	56
4.3	Aislamiento y purificación de la lectina de <i>Punctularia atropurpurascens</i> (PAL) a partir de micelio.	62
4.3.1	Condiciones de cultivo	62
4.3.2	Purificación de la lectina	62
4.4	Aislamiento y purificación de la lectina de <i>Pycnoporus sanguineus</i> (PSL)	67
4.4.1	Condiciones de cultivo	67
4.4.2	Purificación de PSL por cromatografía de afinidad	69
4.4.3	Purificación de PSL por cromatografía de intercambio iónico	73
4.4.4	Purificación de PSL con nanopartículas magnéticas (MNPs) funcionalizadas con Gal	76
4.5	Aislamiento y purificación de la lectina de <i>Gymnopilus spectabilis</i> (GSL)	85
4.5.1	Purificación de la lectina	85
4.5.2	Especificidad por carbohidratos	89
4.5.3	Contenido en carbohidratos de la lectina	90
4.5.4	Estabilidad a pH	90
4.5.5	Estabilidad a temperatura	91

4.6	Interacción entre lectinas fúngicas y glicocompuestos	91
4.6.1	Síntesis de adsorbentes de afinidad	92
4.6.2	Interacciones de afinidad entre lectinas y glicoproteínas modelo	95
4.6.3	Estudios de interacción glico-nanopartícula- GSL	111
4.7	Actividad antimicrobiana de las tres lectinas fúngicas	118
4.7.1	<i>Punctularia atropurpurascens</i>	119
4.7.2	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	120
4.7.3	<i>Gymnopilus spectabilis</i>	121
5.	CONCLUSIONES	125
6.	PERSPECTIVAS	128
7.	BIBLIOGRAFÍA	131