

Tabla de contenido

1	Motivación.....	1
2	Antecedentes	2
2.1	Enfermedad Celiaca.....	2
2.1.1	Antígeno leucocitario humano (HLA).....	2
2.1.2	Transglutaminasa Tisular (tTG).....	2
2.2	Gluten.....	4
2.2.1	Clasificación de las proteínas del gluten.....	4
2.2.2	Toxicidad del gluten	8
2.3	Masa madre.....	9
2.4	Bacterias ácido lácticas	13
2.4.1	Sistema proteolítico de las BAL	13
2.4.2	Especificidad de las proteinasas asociadas a la envoltura celular	17
3	Objetivos	20
3.1	Objetivo general.....	20
3.2	Objetivos específicos	20
4	Materiales y Metodología	21
4.1	Medios de cultivo	21
4.2	Obtención de gliadina	21
4.3	Obtención del péptido de alimentación	21
4.4	Microorganismos y condiciones de cultivo	22
4.5	Selección de microorganismos según su capacidad de utilizar PPG como fuente de nitrógeno	22
4.5.1	Por evolución artificial en cultivo continuo	22
4.5.2	Por placas en medios semi sólidos	23
4.6	Cultivo y fraccionamiento Celular	24
4.7	Ensayos de digestión.....	24
4.8	Producción recombinante del péptido inmunogénico 33-mer	25
4.9	Soluciones	25
5	Resultados y discusiones.....	27
5.1	Obtención del péptido de alimentación (PPG).....	27
5.2	Obtención del consorcio de lactobacilos de la masa madre	28
5.3	Selección de lactobacilos según capacidad de alimentarse de péptidos de gliadina	28
5.4	Capacidad proteolítica de lactobacillus seleccionados con gliadina	30

5.5	Producción recombinante de péptido inmunogénico 33-mer.	34
5.6	Hidrólisis teórica de alfa gliadina.....	37
6	Conclusiones.....	39
7	Bibliografía.....	40
8	Anexos.....	48
8.1	Anexo 1: Secuencia aminoacídica de la gliadina	48
8.1.1	Alfa gliadina (290 aa - 33.7 kDa) [101].....	48
8.1.2	Gamma gliadina (251 aa - 29 kDa) [102].....	48
8.1.3	Omega gliadina (354 aa - 38.4 kDa) [103]	48
8.1.4	Alfa-beta gliadina (307 aa - 35.3 kDa) [104].....	48
8.2	Anexo 2: Determinación de concentración de gliadina en solución alcohólica al 70% en ensayo de Bradford.....	49
8.3	Anexo 3: Medios de cultivo	50
8.3.1	Medio definido químicamente (CDM).....	50
8.3.2	Medio De Man, Rogosa y Sharpe (MRS)	52
8.3.3	Terrific Broth (TB)	52
8.4	Anexo 4: Constructos.....	53
8.4.1	Secuencia nucleotídica del constructo “33-mer fusión”.....	53
8.5	Anexo 5: Cálculo del flujo máximo de medio para cultivo continuo.	55