

## BIOREMOCIÓN DE CADMIO(II) UTILIZANDO LA PROTEÍNA QUIMÉRICA METALOTIONEÍNA-TIORREDOXINA EXPRESADA EN *E. coli*

Verónica Almaguer Cantú, Lilia H. Morales Ramos, Isaías Balderas Rentería

Laboratorio L1, Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL Ave. Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L., Tel/fax (81) 8376 4537, email: veroalcan@yahoo.com.mx

Palabras clave: *Biorremoción, Metalotioneína, E. coli.*

**Introducción.** Las metalotioneínas (MT) son proteínas intracelulares, de bajo peso molecular, ricas en cisteínas, las cuales les confieren la capacidad de unir metales. Actualmente, en muchas investigaciones se ha demostrado la capacidad de la MT1 de ratón para remover metales pesados en solución.<sup>1,2</sup> La MT1 de ratón ha demostrado que es capaz de remover metales como mercurio, zinc<sup>3</sup> y en mejores rendimientos cadmio 90% de soluciones sintéticas durante las primeras 4 horas de contacto.<sup>4</sup>

El objetivo de este trabajo fue obtener una cepa recombinante capaz de producir la proteína quimérica metalotioneína-tiorredoxina y encontrar condiciones óptimas de remoción de cadmio en solución acuosa.

**Metodología.** Se extrajo el tejido hepático de un ratón previamente intoxicado para inducir la expresión de la MT. Se prosiguió a extraer el RNA y por RT se obtuvo el cDNA el cual se amplificó por PCR utilizando primers específicos con el fin de tener sitios de reconocimiento para las enzimas de restricción KpnI y XbaI. Una vez que se obtuvo el gen amplificado se digirió con las enzimas KpnI y XbaI al igual que se hizo con el vector pThioHis A. Finalmente ambos el gen y el vector se ligaron utilizando la enzima ligasa para obtener el plásmido recombinante pThioMT1. Se prosiguió con la transformación de la cepa de *E. coli* insertando el plásmido a través de choques térmicos, para confirmar la transformación se sembró en caja con LB-amp, se aisló y creció en medio LB-amp induciendo la expresión con IPTG, la cual se confirmó en PAGE-SDS. Las pruebas de remoción de Cd se realizaron con *E. coli*, pThioMT1 sin inducir e inducida la expresión de la proteína con IPTG. En el exp 1 después de 2 h de la inducción se agregó Cd teniendo como concentración inicial 100 mg/L. En el exp 2 después de 24 h de la inducción se retiró el la biomasa y se puso en contacto con la solución de 100 mg/L de Cd. En ambos se monitoreo durante 24 h y se determino por EAA.

**Resultados y discusión.** Para la amplificación del gen de la MT1 se realizó un gradiente de temperatura para la alineación y encontrando el óptimo en 56°C (figura 1a). Después de transformar e inducir la expresión de la proteína se monitoreo la producción de la misma durante 24 h, en la figura 1b se demuestra el aumento en la producción de la proteína de fusión que corresponde a un peso aproximado 31 KDa. La remoción de Cd(II) se realizó con mayor eficiencia en la cepa de pThioMT1

previamente inducida a la expresión de la proteína de fusión después de 24 h de crecimiento. (Tabla 1)

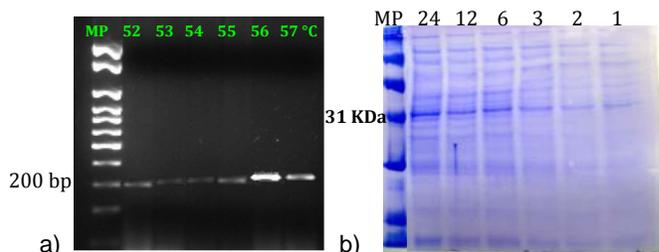


Fig. 1. a) Gradiente de temperatura aplicado en PCR del gen de la MT1 obtenido b) Electroforesis en PAGE-SDS de la proteína de fusión durante 24 h.

Tabla 1. Capacidad de sorción (mg/g) en *E. coli*, pMt-Thio sin inducir e inducida a la expresión en diferentes condiciones.

t (h)	Exp1			Exp2		
	E coli	pMt-Thio S/I	pMt-Thio Ind	E coli	pMt-Thio S/I	pMt-Thio Ind
1	4.208	6.637	8.473	18.138	11.202	23.891
2	10.41	0.000	5.776	33.003	26.413	39.243
3	9.077	0.371	4.518	32.416	35.684	45.944
4	13.18	2.349	2.254	37.032	30.990	40.684
12	16.42	0.000	0.000	34.178	36.013	43.187
24	13.93	0.000	0.000	25.981	36.524	39.702

**Conclusiones.** La cepa recombinante fue capaz de producir la proteína metalotioneína-tiorredoxina y remover Cd en solución bajo diferentes condiciones.

**Agradecimiento.** Al la FCQ UANL por las facilidades otorgadas para la obtención de la cepa modificada y las lecturas en el equipo de EAA.

### Bibliografía.

- Ren L, Shi D, Dal J, Ru B. 1998. Expression of mouse metallothionein-I gene conferring cadmium resistance in a transgenic cyanobacterium. *FEMS Microbiol Lett.* Jan1;158(1):127-32.
- Cols N, Roepstorff K, Gonzalez-Duarte R, Atrian S. 2001. Secretion of mouse-metallothionein by engineered *E. coli* cells in metal-enriched culture media. *J. Mol Microbiol Biotechnol.* Oct;3(4):507-12.
- Liu Y, Jiang GQ, Ru BG, Xu ZL, Guo JH. 2002. Quantification of metallothionein induced with selenium by using competitive ELISA (Shanghai). *Mar*;34(2):245-7.
- Dávila, H. 2006. Tesis de Licenciatura. Expresión de la metalotioneína I de ratón en *E. coli* y su aplicación en la remoción de metales. FCQ, UANL. Septiembre 2006. pp 26-54