



BIOSORCIÓN DE CROMO (VI) POR *Escherichia coli* DH5 α F GENÉTICAMENTE MODIFICADA CON EL GEN DE LA METALOTIONEINA 1 DE *Mus musculus*

Arlette Yuliana Garza Ramírez, Isaías Balderas Rentería, Guadalupe Rojas Verde, Verónica Almaguer Cantú
Laboratorio L10, Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León,
Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. C.P. 66451, veronica.almaguerct@uanl.edu.mx.

Palabras clave: Biosorción, Cromo VI (Cr VI), Metalotioneína.

Introducción. El Cromo (VI) es un metal con efectos negativos potenciales sobre la salud humana. Métodos biológicos tales como la biosorción/bioacumulación para la remoción de iones de metales pesados pueden proveer una atractiva alternativa a los métodos fisicoquímicos.¹ El Cr (VI) usualmente se encuentra como iones cromato (CrO₄²⁻) o dicromato (Cr₂O₇²⁻), los cuales atraviesan fácilmente la membrana plasmática al ser capturados erróneamente por el sistema de transporte de sulfato.² Las metalotioneínas (MTs) son una familia de proteínas ricas en cisteína, que tienen la capacidad de unir metales pesados a través de los grupos tiol (-SH) de sus residuos de cisteína.³ Es por ello que en este trabajo se plantea el uso de *E. coli* genéticamente modificada con el gen de la metalotioneína 1 de *Mus musculus*, como material biosorbente de cromo (VI), ya que provee un alto potencial para utilizarse como biorremediadores.

Metodología. La obtención de RNA total se llevó a cabo por la técnica de trizol a partir de hígado de ratón, se procedió a la síntesis de cDNA por medio de una RT-PCR, para poder proseguir con la amplificación del gen de la metalotioneína 1 y llevar a cabo la transformación de las bacterias utilizando el plásmido pThioHis. Las células transformadas fueron inducidas con IPTG, el cual induce la expresión de la proteína. Mediante un SDS-PAGE se pudo confirmar la proteína. Se realizaron cinéticas de crecimiento tanto de las células transformadas así como las nativas durante 24 h a 37°C para monitorear el crecimiento de ambas, posteriormente se realizó una cinética de biosorción de Cr(VI) con las mismas condiciones, con la cepa modificada, para conocer su capacidad de sorción en una solución de cromo a 50ppm.

Resultados. Se obtuvo la proteína recombinante por medio de la transformación de la bacteria con el plásmido pThioHis (Figura 1).

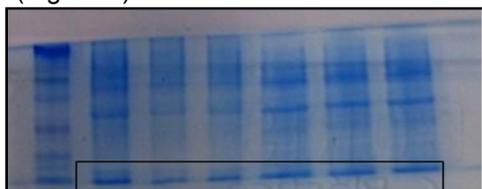


Fig. 1. SDS-PAGE, expresión de la proteína MT1 a diferentes tiempos en *Escherichia coli* DH5 α F

Los datos obtenidos a partir de este experimento fueron analizados en el modelo matemático de pseudo segundo orden de acuerdo a la siguiente ecuación

$$\frac{t}{C} = \frac{1}{k_2 C_e^2} + \frac{1}{C_e} t$$

donde k_2 representa la constante de velocidad y C_e y C_t las concentraciones de cromo en equilibrio y a diferentes tiempos respectivamente, aquí (ver tabla 1).

Con estos resultados se puede decir que la cepa de *Escherichia coli* DH5 α F transformada e inducida tiene la capacidad de biosorber cromo (VI) de un medio acuoso logrando concentraciones en equilibrio de hasta 4 mg·L⁻¹ arriba de lo que presentan las cepas nativa y sin inducir. El ajuste de los datos obtenidos al modelo de cinética de pseudo segundo orden refiere que el proceso que ocurre es un fenómeno de transferencia en superficie de la bacteria y el cual se ve favorecido en la cepa productora de la proteína recombinante. La velocidad en la cual se lleva a cabo dicho proceso oscila entre los valores de 0.0127 a 0.0178 para los tres sistemas.

| Células | Nativa | Transformada | Inducida |
|--|---------|--------------|----------|
| C_e (mg/L) | 17.8571 | 16.949 | 21.2765 |
| k_2 (L·mg ⁻¹ ·min ⁻¹) | 0.0162 | 0.0178 | 0.0127 |
| %R ² | 96.5 | 98.0 | 94.8 |

Tabla 1. Parámetros de la cinética ajustada al modelo de pseudosegundo orden para la biosorción de Cr (VI) con biomasa activa de *Escherichia coli* DH5 α F

Conclusiones. Los resultados muestran que *Escherichia coli* DH5 α F transformada e inducida a la expresión de la MT1 es capaz de remover Cr (VI) de medio acuoso.

Agradecimiento. Este trabajo fue apoyado con los recursos del proyecto PROMEP/103.5/12/3585.

Bibliografía.

1. Tsezos M., Keller M. (1983). *Biotechnology and Bioengineering*. (25), 201-215
2. Ramirez-Díaz M, Riveros-Rosas H, Campos-García J, Cervantes C. (2009) *Revista de Educación Bioquímica*. Vol 28(3), 73-79.
3. Dávila H. (2005). Expresión de la metalotioneína 1 de ratón en *Escherichia coli* y su aplicación en la remoción de metales. Tesis de Químico Farmacéutico Biólogo, Facultad de Ciencias Químicas, UANL.