

Estudio del patrón de expresión de proteínas totales en la degradación de Metil tert-Butil Éter (MTBE) y tert-Butil Alcohol (TBA).

Verónica Nava*, Marcia Morales[†], Patricia Olguín* y Angélica Rodríguez*

*Instituto Mexicano del Petróleo. Eje Central Lázaro Cárdenas No. 152, Col. San Bartolo Atepehuacán C.P. 07730, México, D.F. Fax. (55) 9175 8000 mail: vnavar@imp.mx

[†] Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Cuajimalpa

*Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN

Degradación de MTBE, Mineralización, Patrón de expresión.

Introducción. Recientemente se ha cuestionado el uso de MTBE como oxigenante de las gasolinas por la evidente contaminación de los mantos freáticos y sus probables efectos carcinógenos en humanos (1 y 2). La biorremediación de agua contaminada con MTBE es posible e incluso económicamente más atractiva que los métodos tradicionales, sin embargo pocas cepas reportadas son capaces de mineralizarlo, en la mayoría de los casos se tiene acumulación de TBA (2). En el IMP se obtuvo a partir de suelos contaminados con gasolinas un consorcio (M1-P) constituido por tres cepas del género *Pseudomonas*, capaz de mineralizar al MTBE en cometabolismo con pentano sin acumulación de intermediarios (3). A la fecha existen pocos estudios de las enzimas involucradas en la mineralización del oxigenante, una monoxigenasa ha sido relacionada pero existe muy poca evidencia de otras proteínas asociadas (2).

El objetivo de este trabajo fue analizar los patrones de expresión de proteína total de la cepa M1-P1, aislada del consorcio M1-P que conservó la capacidad de mineralizar al MTBE, para caracterizar las diferencias en la expresión proteica cuando se encuentra en presencia de MTBE o TBA con o sin pentano, y profundizar en el conocimiento de las proteínas asociadas a la mineralización del MTBE.

Metodología. La cepa *Pseudomonas aeruginosa* M1-P1 adaptada durante un mes en MTBE y pentano, se inoculó en el medio mineral simple (3), utilizando como fuente de carbono al MTBE (67.3 mg/L) ó TBA (92.7 mg/L) con y sin pentano (147 mg/L), en frascos de 125 mL y tapones de acetónitrilo, que se inocularon con 20 mg proteína inic/L, en agitación continua a 100 RPM y 30°C. La degradación del sustrato y co-sustrato, así como la producción de CO₂ se siguieron por cromatografía de gases (3).

La biomasa final de los microcosmos se recuperó por centrifugación, se resuspendió en buffer de fosfatos 10 mM a pH 7 y se lisó con lisozima. Para la obtención de los patrones de expresión totales se utilizó la técnica "SDS-PAGE" de Laemmli, con geles de acrilamidamida-bisacrilamida 30%:0.8%. Los geles se revelaron según la técnica de tinción de plata y las imágenes documentadas se analizaron con la ayuda del software BioCapt (Vilbert-. Lourmant, Marne LaValle, France).

Resultados y discusión. La cepa M1-P1 demostró la degradación significativa de MTBE y TBA en presencia de pentano (Tabla 1).

Tabla 1. Tasas y eficiencias de remoción de MTBE y TBA.

	MTBE+ pentano	MTBE solo	TBA+ pentano	TBA solo
Tasa de degradación (mg/g _{proteína} /h)	18.7	33.5	32.6	3.3
% Remoción	99.1	28.5	82.7	3.8
% TBA acum	7.6	80.3		

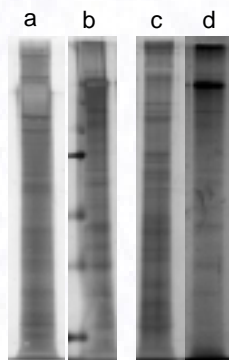


Fig. 1. Patrones de expresión proteica total de la cepa M1-P1 en presencia de MTBE o TBA con o sin pentano, y profundizar en el conocimiento de las proteínas asociadas a la mineralización del MTBE.

En cuanto a los resultados de la electroforesis, se encontraron diferencias no sólo en número sino también en coloración de las bandas (relacionada con los aminoácidos presentes) en los patrones de expresión proteica de la cepa M1-P1. En el caso del MTBE, se evidenciaron 32 polipéptidos cuando se adicionó pentano contra 25 cuando se agregó el oxigenante solo; para el TBA se contaron 36 polipéptidos en presencia del pentano y 14 cuando dicho alcohol se puso solo. En la Fig. 1 se muestran los patrones de expresión obtenidos en los cuatro casos.

Conclusiones. La cepa M1-P1 oxida al MTBE hasta CO₂ sin acumulación de intermediarios, y es capaz de degradar al TBA en presencia del mismo alcano. Existen claras diferencias en la expresión proteica cuando el pentano esta presente, indicio de la inducción de algunas enzimas. La presencia del MTBE o TBA como única fuente de carbono reprime la expresión proteica, en el último caso con mayor impacto sobre el núm. de péptidos registrados.

Agradecimientos. A la Dra. Julieta Luna Herrera de la ENCB-IPN por facilitarnos el software BioCapt para el análisis de los geles, al CONACYT y al IMP por el financiamiento para el desarrollo de este proyecto.

Bibliografía.

- EPA. 2000. Advance Notice of Proposed Rulemaking. EPA. Part VII. Vol. 65 No. 58
- Nava V., Morales M. y Revah S. (2007). Cometabolism of methyl tert-butyl ether (MTBE) with alkanes. *Rev Environ Sci Biotechnol*. Publicación en línea: 1572-9826
- Morales M., Vezlázquez E., Jan J., Revah S., González U. y Razo-Flores E. (2004). Methyl tert-butyl ether biodegradation by microbial consortia obtained from soil samples of gasoline-polluted sites in Mexico. *Biotech.Letters*. 26: 269-275.