

BV3. Caracterización de metalotioneínas de algas para su uso en biorremediación de metales pesados

Burdisso, M.L. (1)*; Petrich, J. (1).; Palacios, O. (2); Albalat, R. (3); Capdevila, M. (2); Gomez-Casati, D.F. (1); Pagani, M.A. (1).

(1) CEFOSI-CONICET. FCByF-UNR, Rosario, Argentina. (2) Facultat de Química, UAB, Bellaterra, España (3) Facultat de Biología, UB, Barcelona, España. *burdisso@cefobi-conicet.gov.ar

Las metalotioneínas (MTs) constituyen una superfamilia grande y heterogénea de proteínas citosólicas de baja masa molecular compuestas por alrededor de 30-100 aminoácidos. Se caracterizan por un alto contenido de residuos de cisteína (Cys) localizados en motivos CC, CxC y CxxC altamente conservados. Esto les confiere una gran capacidad para coordinar iones metálicos mono o divalentes a través de enlaces metal-tiolato, constituyendo así clusters metálicos. Las MTs suelen ser la principal respuesta primaria de los organismos frente a un aporte de tipo/dosis inadecuado de metales pesados, operando mediante quelación e inmovilización.

En el caso de las algas sólo se han encontrado y caracterizado MTs de dos especies. Considerando la ubicua presencia de MTs en todos los organismos eucariotas, resulta extraño que no se hayan identificado estas proteínas en un mayor número de algas, siendo estas especies altamente resistentes a metales, y con una gran capacidad de acumularlos. En este trabajo utilizamos diferentes enfoques bioinformáticos para descubrir nuevas MTs de algas. Nuestros objetivos son establecer relaciones filogenéticas entre MTs de los diferentes taxones de algas y caracterizar algunas de ellas para su uso en la biorremediación de metales pesados.

Identificamos 124 secuencias potenciales de MTs de algas, correspondientes 26 a *Chlorophytas*, 51 a *Rodophytas* y 47 a *Ochrophytas*. Las estructuras de MTs algales son muy heterogéneas. La mayoría de las estructuras primarias de MTs de *Rodophytas* y *Ochrophytas* son similares a las de plantas superiores, con dos dominios ricos en Cys y una región linker desprovista de este aminoácido. Las estructuras primarias de las *Chlorophytas* contienen residuos de Cys a lo largo de toda la secuencia.

Actualmente estamos trabajando en la caracterización de dos MTs de la macroalga parda *Ectocarpus siliculosus* (EsilMT1 y EsilMT2). EsilMT1 tiene una estructura primaria similar a la de plantas superiores, mientras que EsilMT2 tiene una secuencia más corta, con un solo dominio rico en Cys. Los ensayos de complementación en levaduras deficientes en MTs mostraron que las dos MTs conferían, en diversos grados, resistencia a la presencia de peróxido de hidrógeno, Zn, Cu y Cd. Cuando esas MTs se expresaron en *E. coli*, mejoraron el crecimiento en medios con alto contenido de Zn, Cu y Cd. La caracterización mediante ICP-AES y ESI-MS de las MTs sintetizadas en *E. coli* mostró que tienen

afinidad para Cu y Cd, y que unen 4-6 metales divalentes y hasta 13 metales monovalentes.

Presentamos estas MTs de algas como herramientas prometedoras para la biorremediación de metales pesados teniendo como perspectivas expresarlas de forma heteróloga en la pared de algas de crecimiento rápido, inmovilizar esta biomasa en columnas, y realizar estudios de adsorción para la eliminación de iones metálicos de soluciones acuosas.