



EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS INTRACELULARES EN *T. ASPERELLUM* H15 DURANTE UN PROCESO DE BIODEGRADACIÓN CON PIRENO.

NUVIA SOSA DIAZ¹ y DIANA VERONICA CORTÉS ESPINOSA ¹

¹ CIBA-IPN Tlaxcala. nuviawolke@hotmail.com

Los hongos filamentosos tienen una pared celular fuerte que a menudo dificulta el proceso de ruptura celular para la liberación de proteínas intracelulares, y su posterior separación en electroforesis 1-D, que es una técnica que permite conocer los cambios de expresión en el perfil proteico, cuando se encuentra el microorganismo en situaciones de estrés. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estandarizar y establecer un protocolo para extraer proteínas de *T. asperellum* H15 en fermentación sólida, usando como soporte inerte espuma de poliuretano, en un proceso de biodegradación con pireno. Para esto, se montó una cinética de cinco días en botellas serológicas. Se propusieron tres métodos diferentes, el primero es un protocolo de Chourey et al., 2010 que se basa en la solubilización de la pared con un tampón de lisis alcalina SDS, y la posterior precipitación con TCA, el segundo fue propuesto por Gonzalez-Fernandez y Jorin, 2013 que usa TCA en combinación con acetona que involucra la partición con fenol y la precipitación con acetato de amonio, el tercer protocolo es el de Kim et al., 2014, se basa en la utilización de un buffer Mg/Tritón X, y sonicación por 20 minutos y la precipitación de las proteínas con acetona. Cada tratamiento se realizó por triplicado, se sacaron fotografías en el microscopio, se cuantificó proteína por el método de BCA y por último se corrió el gel. En nuestro ensayo de los tres protocolos realizados, el que mejor se obtuvo una mejor eficiencia de extracción, fue el desarrollado por Gonzalez-Fernandez y Jorin, 2013, al tener mayor cantidad de proteína 50 µg/ml de proteína en presencia de pireno y 58 µg/ml en ausencia de pireno, además se observó un mayor fraccionamiento de bandas presentes y definidas en comparación a los dos tratamientos antes descritos.