

# 1. ÍNDICE

1. ÍNDICE	ii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
2. RESUMEN	1
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1. Contaminación por metales pesados, el caso de México	3
3.2 Riesgos por el contacto con metales pesados	5
3.3 Métodos utilizados para la remoción de metales pesados	6
3.4 Bioremediación	8
3.5 Papel de la vacuola en la acumulación de metales	11
3.6 La familia de intercambiadores catión/H <sup>+</sup> CAX	14
3.7 La levadura como un sistema modelo para expresar heterológamente proteínas de transporte de plantas	18
4. OBJETIVOS	20
4.1 Objetivo general	20
4.2 Objetivos específicos	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS	21
5.1 Cepas de levadura, Vectores y Manipulaciones al DNA	21
5.2 Ensayo de crecimiento que demuestra la tolerancia de las cepas de levadura a calcio y metales pesados	21
5.3 Aislamiento de las vesículas de levadura ricas en membrana vacuolar	22
5.4 Determinación de proteína	25

5.5 Ensayos de transporte	25
5.6 Cálculo de la cinética del transporte de metales	27
6. RESULTADOS	28
6.1 Crecimiento de cepas de levadura en medio selectivo	28
6.2 Crecimiento de cepas de levadura en calcio y metales pesados	29
6.3 Purificación de las vesículas vacuolares de levadura usando el método de ficoll o de sacarosa	31
6.4 Actividad del transporte de metales en las cepas de levadura	32
6.5 Cinética del transporte de metales dependiente del gradiente de protones	34
7. DISCUSIÓN	38
8. CONCLUSIONES	44
9. REFERENCIAS	45
10. APÉNDICE	50

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 6.1** Actividad del transporte de  $H^+$  por la V-ATPasa en vesículas de vacuola de levadura aisladas con los gradientes de densidad de sacarosa o de ficoll

32

**Tabla 7.1** Distribución de electrones en el último subnivel de energía

41