

# Ispitivanje tolerancije soja *Pseudomonas aeruginosa* san ai na kadmijum, bakar i živu

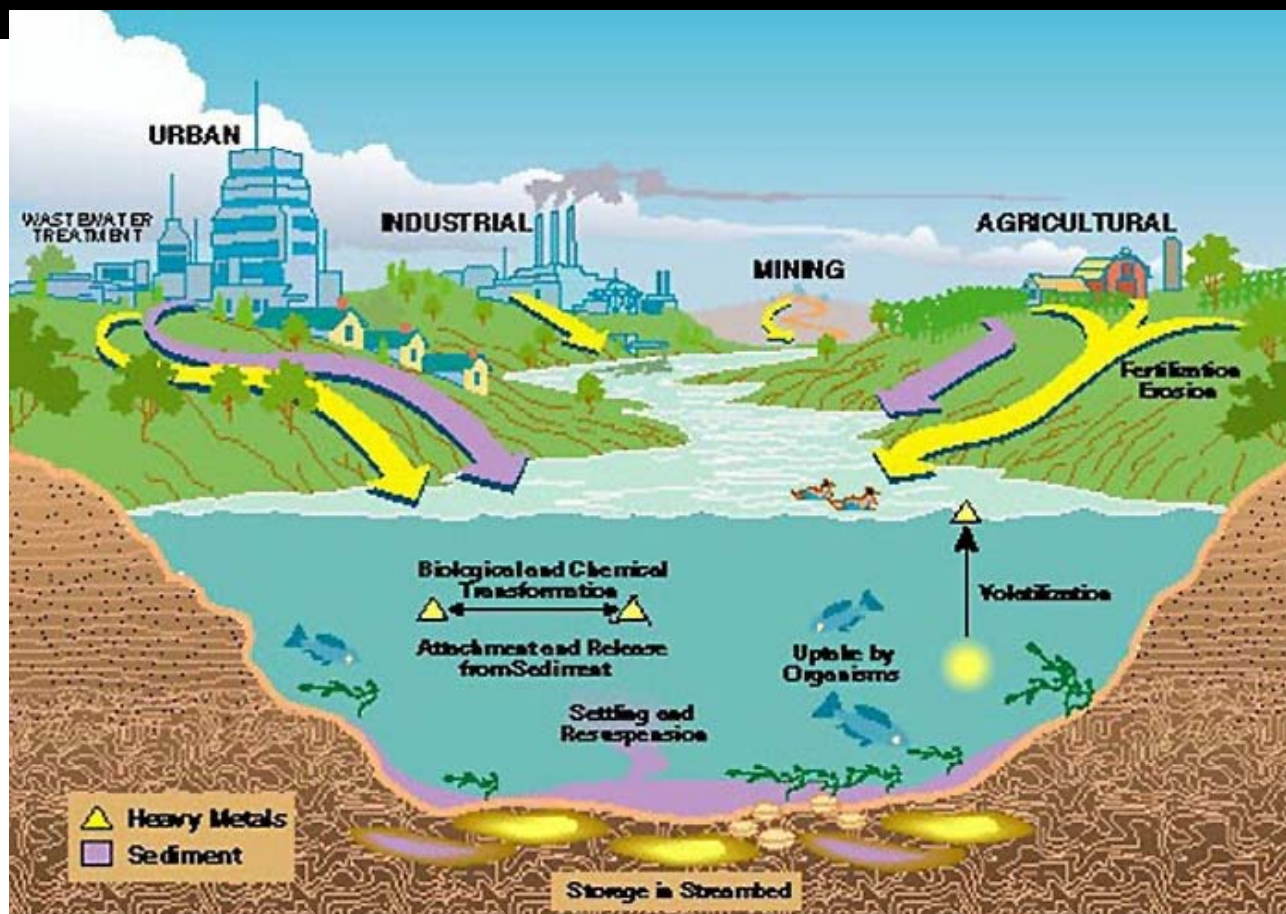
Milena Rikalović, Gordana Gojgić-Cvijović\*,  
Miroslav M. Vrvić i Ivanka Karadžić\*\*

Hemijski fakultet u Beogradu

\*Centar za hemiju, IHTM

\*\*Institut za hemiju, Medicinski fakultet u Beogradu

# Životna okolina & težki metali



- Zagadenje okoline teškim metalima se širi paralelno sa razvojem industrije



- Toksični efekat metala se može podeliti u tri grupe
- blokiranje esencijalnih bioloških funkcionalnih grupa na biomolekulima
- zamena esencijalnih metalnih jona u biomolekulima
- modifikovanje aktivne konformacije biomolekula
- % zastupljenosti u kontaminiranoj sredini i forma u kojoj se metal nalazi

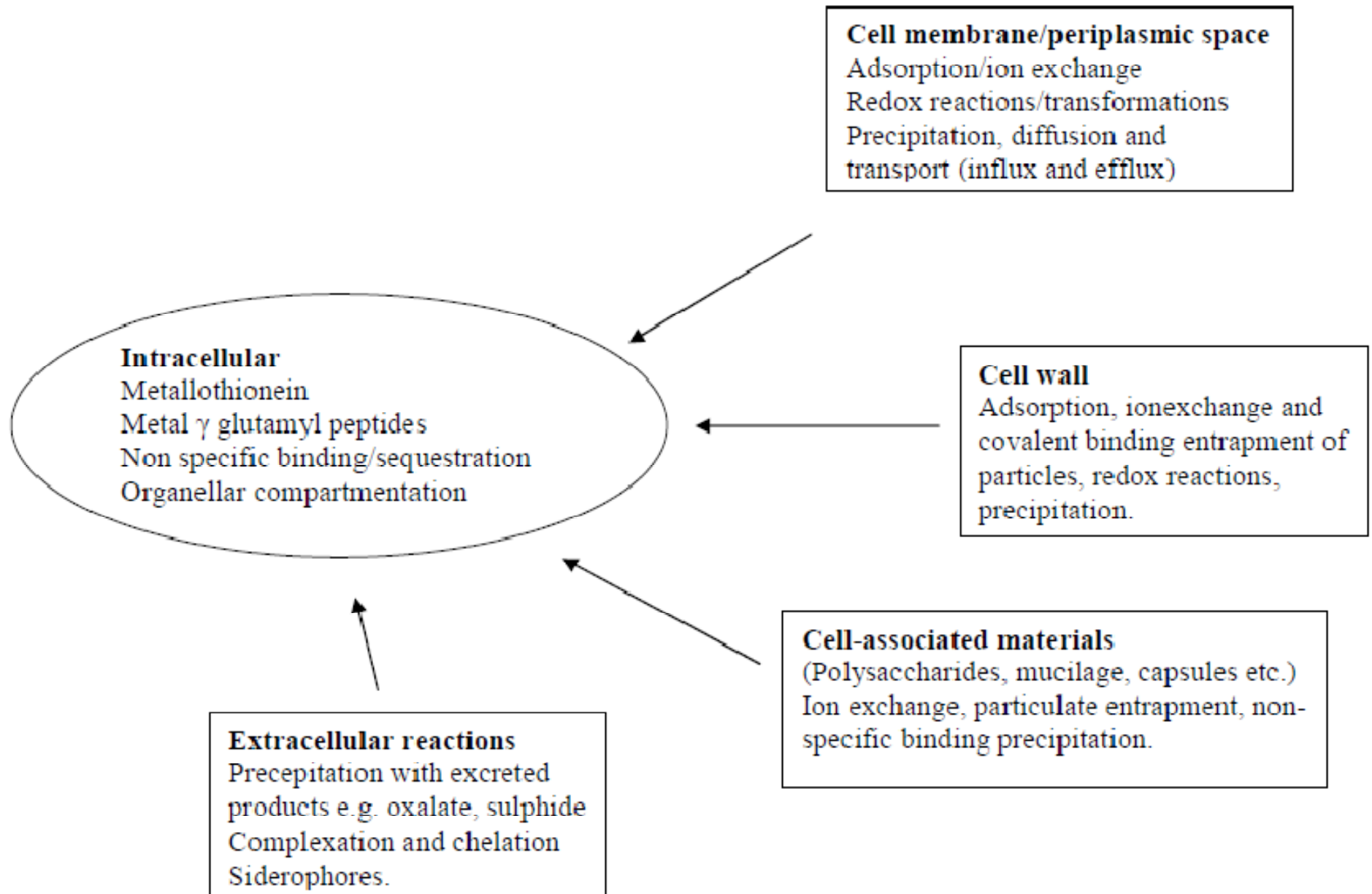


- Na osnovu fizioloških efekata i toksičnosti Cu pripada grupi srednje toksičnosti zajedno sa Zn, Ni, Co, W, V, Cr, dok Cd and Hg spadaju u visiko toksičnu grupu uz As, Ag, Sb, Pb i U
- Alternativa - **BIOREMEDIJACIJA** - vijabilna ili mrtva biomasa bakterija, algi, gljiva ili fitoremedijacija

# Mehanizmi koje koriste mikroorganizmi



- Biosorpcija na površini ćelije
- Intracelularno usvajanje
- Biohemijske transformacije
- Biosorpcija
- Bioakumulacija



# Eksperimentalni deo



- 1. Gajenje mikroba *P. aeruginosa* san ai
- 2. MIK za Hg, Cu i Cd
- 3. Dinamika usvajanja kadmijuma
- 4. Praćenje promene elektroforetskog profila proteina fermentacione tečnosti (FT) i biomase (BM)

# 1. *P. aeruginosa* san ai

- *Pseudomonas* sp. Gram -, rasprostranjeni, sposobni su da metabolišu širok spektar supstrata (aromatični i alifatični ugljovodonici, industrijski otpad)
- Soj san ai izolovan iz industrijskog mineralnog ulja za sečenje metala, specifično prirodno okruženje (alkalno, redukovana voda, bogato ugljovodonicima)
- Malobrojne publikacije vezane za Cr, Cd, Cu, Zn i Pb





# Uslovi kultivacije



- Soj je aktiviran na hranljivom agaru (Torlak, Srbija) na 30 °C, 24 h.
- Predfermentacija LB medijum ( 5 g/l NaCl, 10 g/l pepton I i ekstrakt kvasca 5 g/l), na 30 °C, 250 tresaka/min, 24 h.
- Fermentacija LB medijum sa 100 mM CdCl<sub>2</sub>, na 30 °C, 250 tresaka/min, 5 dana

## 2. Određivanje MIK za Cd, Cu i Hg

Metal	MIK*	Literatura**
Cd	2 mM	0.95 do 6 mM
Cu	4 mM	2 do 10 mM
Hg	< 0.5 mM	< 0.5 mM

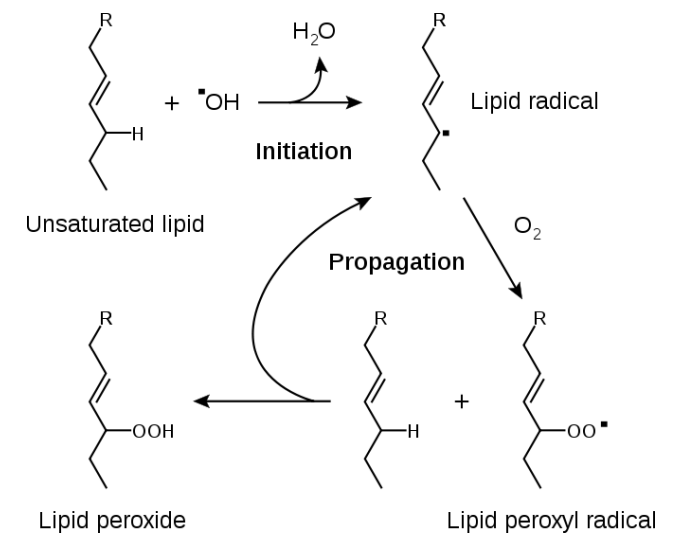
\*24 h, 30 stepeni, 550 nm, colorimetar Selecta, Spain

\*\*nativni sojevi

# Cd 2+



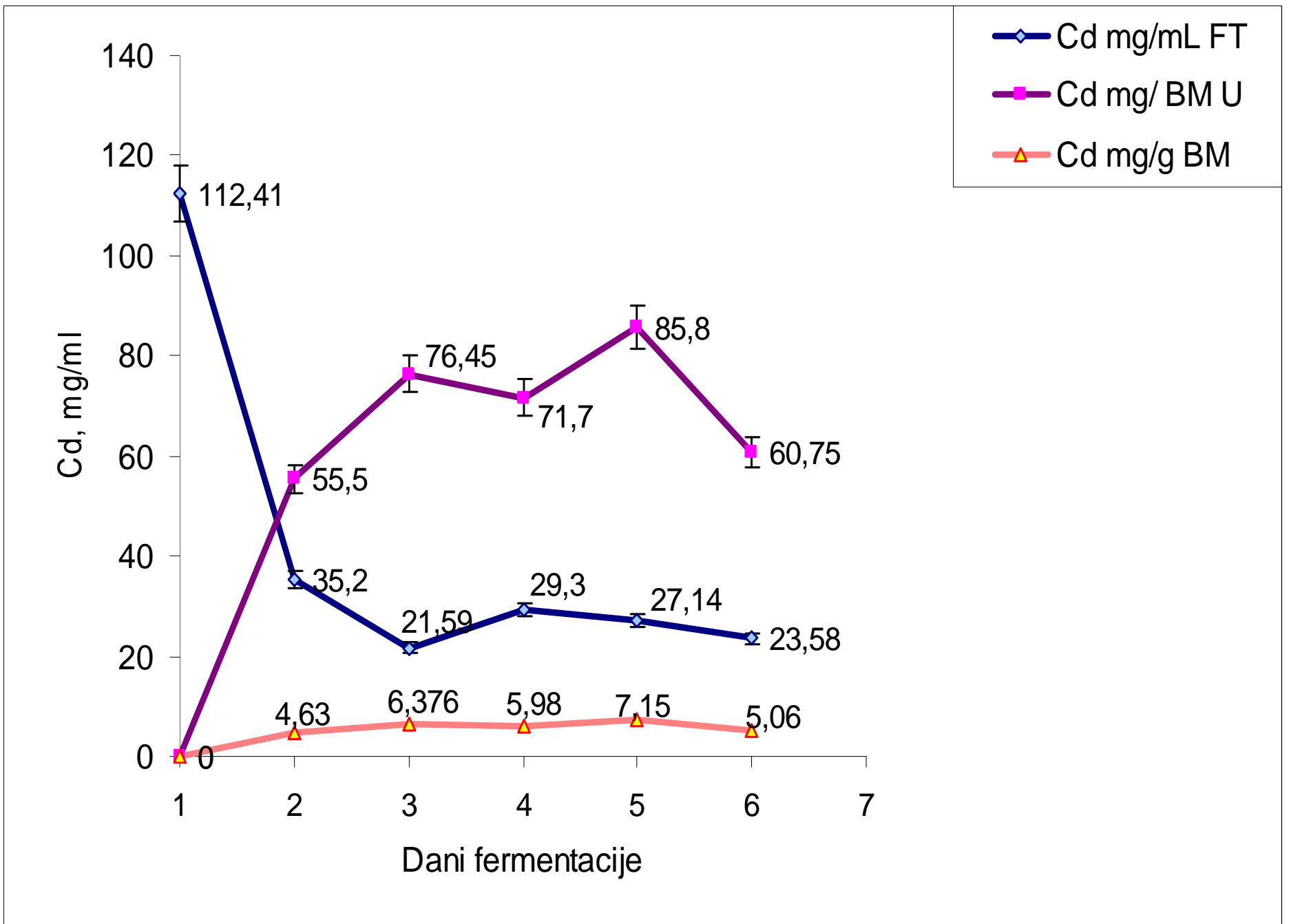
- humani karcinogen
- zamenom Fe<sup>2+</sup> ili Zn<sup>2+</sup> jona
- Oslobađanje Fe koji generiše OH radikale
- Peroksidacija lipida
- **OKSIDATIVNI STRES**
- CBT tip hemosmotskih antiportera, P-ATPaze i CDF



## 2. Dinamika usvajanja Cd



- Praćenje promene koncentracije Cd u FT i BM
- Koncentracija metala određivana je atomskom apsorpcionom spektrometrijom



Sl. 1. Dinamika usvajanja kadmijuma

Original Article

Differential proteomic analysis of psychrotolerant *Pseudomonas putida* 710A and alkaliphilic *Pseudomonas monteilli* 97AN for cadmium stress

Sourabh Jain<sup>a</sup>, Anju Rani<sup>a</sup>, Soma S. Marla<sup>b</sup>, Reeta Goel<sup>a\*</sup>



- *komparativni proteomiks, zatim In silico identifikacija proteina u gelu*
- up regulacija enzima koji su uključeni u: metaboličke putanje transporta e-, **metabolizam histidina**, sinteza amino kiselina, **metabolizam purina** i pirimidina i sintezu kofaktora (obezbeđivanje ATP)

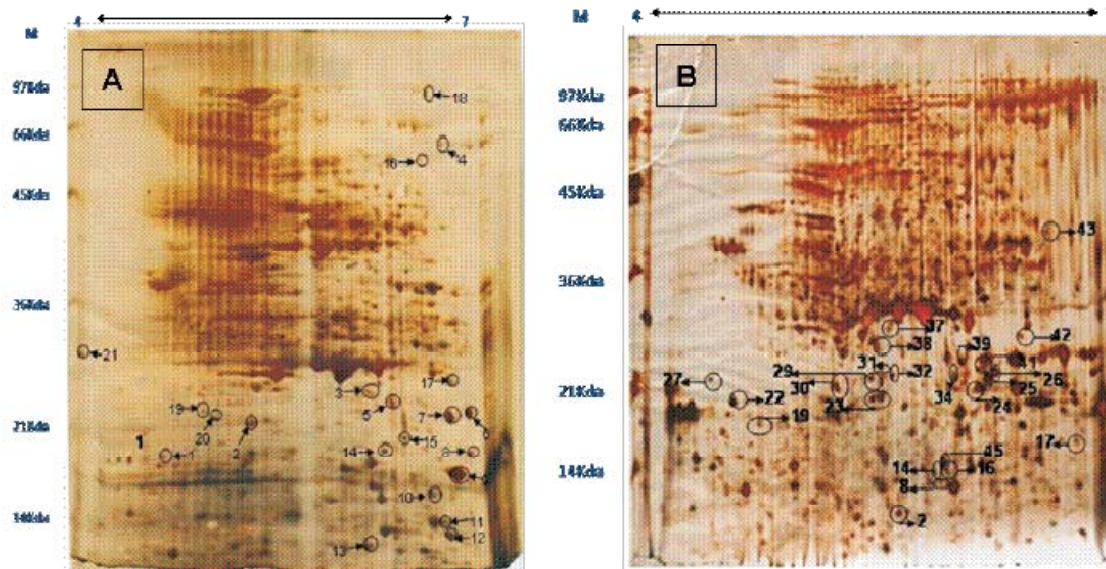
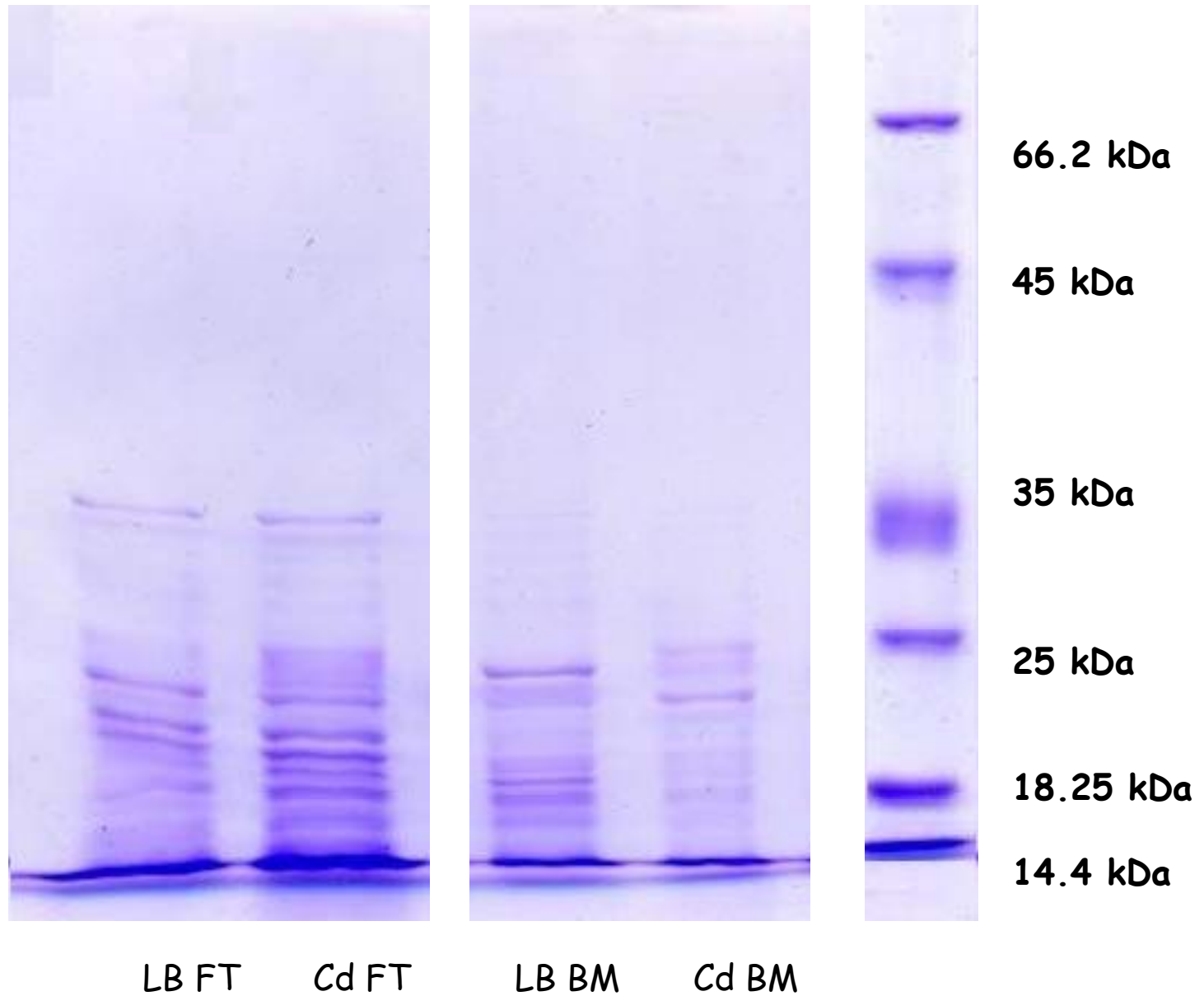


Figure 2. Metabolic pathway that can probably be taking part or has some role in exhibiting resistance to cadmium in *Pputida* strain 710A. The enzymes which are differentially expressed in 2D gel when the strain was induced with cadmium are shown. Most of the enzymes are mainly involved in Histidine and Purine metabolism. The enzymes expressed are shown alongside arrows in a reaction mediated.

# 3.SDS



Sl. 2. SDS elektroforeza proteina FT i BM *P. aeruginosa* san ai (10% gel, bojeno CBB-om)

# Usvajanje teških metala



- Odgovor MO ne mora da bude identičan, bezobzira na vrstu, pa očekujemo specifičnosti vezane i za soj san ai
- Usvajanje metala zavisi od nutrijentata koji su dostupni (LB i MM različita ekspresija)
- Prilikom optimizacije procesa bioremedijacije moraju se uzeti u obzir i fiziološki aspekti i mehanizmi



# Zaključak na osnovu eksperimentalnih rezultata



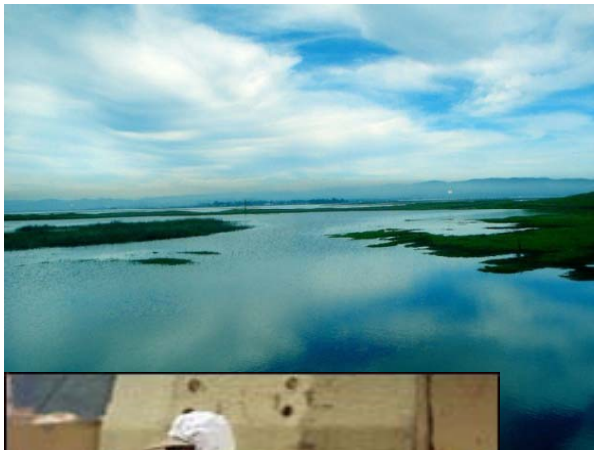
- *P. aeruginosa* san ai je tolerantan na Cd, Cu , Hg sa MIK vrednostima 2, 4, 0.5 mM redom, u poredjenju sa ostalim nativnim sojevima je na sredini (literatura)
- Dinamika sa Cd pokazala je da je najintenzivnija faza usvajanja metala tokom prvih 24h.
- Smanjenje koncentracije Cd<sup>2+</sup> u fermetacionoj tečnosti 4 puta. Soj ima potencijal da bude primenjen u procesima bioremedijacije



- Elektroforetski profil proteina FT i BM mikroba gajenog na LB medijumu sa i bez Cd pokazuje značajne razlike
- Dalje eksperimente usmeriti na distribuciju metala i odgovor MO na nivou proteoma, tj. praćenje efekta stresa teškim metalima na proteinsku ekspresiju [\\*www.emsl.pnl.gov](http://www.emsl.pnl.gov) (Environmental Molecular Sciences Laboratory, US)



- Ovaj rad je podržan od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj republike Srbije projekat No. III 43004
- Autori su zahvalni dr N. Fujiwara sa TRI (Technology Research Institute), Osaka, Japan, na ljubaznoj donaciji soja i B. Potkonjaku sa IHTM-a na AAS analizi.



HVALA NA PAŽNJI

