

БІОІНФОРМАТИЧНИЙ ПОШУК ПРОБІОТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ДЛЯ БІОГЕНЕЗУ НАНОЧАСТИНОК

Гуменюк А.С., Горобець С.В.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, humenyuk.anastasia@iit.kpi.ua

Abstract

Research shows probiotics' potential for nanoparticle biosynthesis, though mechanisms remain unclear. Bioinformatic analysis of 199 probiotic proteomes identified homologs of key biomineralization proteins from Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1. Most probiotics used for green NP synthesis possess genetic mechanisms based on homologous proteins from MSR-1 magnetotaxis bacteria.

Keywords: nanoparticles, biogenic magnetic nanoparticles, biomineralization, probiotics, green synthesis, bioinformatics

Вступ. У час бурхливого розвитку нанотехнологій, майже усі передові технології потребують використання різноманітних НЧ (НЧ), зокрема їх використовують у медицині, фармацевтиці, косметології, харчовій промисловості, електроніці, зеленій енергетиці, агропромисловості тощо. Однак, їх хімічний чи фізичний синтез потребує багато коштів та ресурсів, а також призводить до забруднення навколишнього середовища. Бактерії є ідеальним біологічним об'єктом для синтезу зелених НЧ завдяки їхній різноманітності та здатності адаптуватися до різних умов навколишнього середовища.

Одними із найбільш перспективних мікроорганізмів для синтезу НЧ є пробіотики [1-4]. Порівняно з іншими мікроорганізмами, пробіотики не є токсичними, їх метаболізм і вплив на організм людини добре вивчений, а також добре відомі і відпрацьовані оптимальні режими культивування. Окрім цього, саме на пробіотиках показаний позитивний вплив постійного магнітного поля та додавання хелатів заліза у середовище на приріст біомаси [5, 6].

Зелений синтез НЧ мікроорганізмами створює виклик у виявленні штамів бактерій, архей, грибів, дріжджів і мікроводоростей, які мають природний механізм біомінералізації біогенних магнітних НЧ (БМН), заснований на білках-гомологах основного набору білків біомінералізації БМН (mamA, mamB, mamM, mamE, mamO) магнітотаксисної бактерії *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, механізм біомінералізації для якої вивчено докладно [7]. Пропонується використовувати для «зеленого» синтезу НЧ мікроорганізми, що мають генетичний механізм біомінералізації БМН, тим більше, що білки-переносники іонів металів (mamB, mamM) транспортують не тільки іони заліза, а і іони інших металів (Zn, Cu, Ni, Mn тощо), що пояснює різноманітність синтезованих мікроорганізмами і рослинами НЧ [1, 2, 7, 9]. Біоінформатичний аналіз значно скоротить підбір мікроорганізмів для «зеленого» синтезу НЧ, оскільки на відміну від рослин та тварин, не всі одноклітинні організми мають генетичний механізм біомінералізації БМН.

Метою нашої роботи був біоінформатичний пошук гомологів білків біомінералізації *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 у пробіотичних мікроорганізмах, що за літературними даними вже використовуються для біосинтезу НЧ [1, 2, 4].

Матеріали та методи. Вирівнювання проводили у програмі “BLASTp” бази даних NCBI. Mam-білки з основного набору (mamA, mamB, mamM, mamE, mamO) *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 вирівнювали із протеомами 199 пробіотиків. Усього було досліджено 199 штамів 31 виду пробіотиків.

Результати та обговорення. Здатність утворювати наночастинки виявлено експериментально у багатьох організмів, зокрема у еукаріотів, прокаріотів та архей [8-11], показано єдиний механізм біомінералізації БМН для всіх царств організмів [7]. Процес біомінералізації біогенних магнітних НЧ (БМН) докладно досліджено для магнітотаксисної бактерії *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, у якої на генетичному рівні за цей процес відповідає магнітосомний «острівець», що кодує усі необхідні білки біомінералізації, серед яких основними є mamA, mamB, mamM, mamE, mamO, без яких біомінералізація БМН у *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 не відбувається [7,12]. Біоінформатичний аналіз наявності механізму біомінералізації у певного організму полягає у вирівнюванні його протеому із основними білками біомінералізації БМН *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 [7, 13].

Проведено біоінформатичний пошук гомологів основних білків біомінералізації у тих пробіотиках, які за літературними даними вже використовуються для «зеленого» синтезу магнітних та/або немагнітних НЧ [1, 2, 4]. Для кожного виду досліджували різні штами, що були наявні у базі даних NCBI. Так, за отриманими результатами переважна більшість штамів пробіотичних мікроорганізмів, досліджених в роботі [2], мали гомологи принаймні 2 із 5 білків біомінералізації магнітотаксисної бактерії *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 (191 штам із 199), а саме гомологи білків mamB та mamM. Серед штамів певного виду наявні також штами (*Lactobacillus acidophilus* 30SC, *Lactocaseibacillus casei* W56, *Lactocaseibacillus casei* M36), що не мали жодного гомологу mam білків. Імовірно саме у цих штамів відсутній механізм біомінералізації, і вони не є перспективними для подальшого застосування у даних дослідженнях. Оскільки різні види пробіотичних бактерій синтезують НЧ різної форми (кристалічна чи аморфна) та різної локалізації в клітині (позаклітинна чи внутрішньоклітинна) [2, 8], то наступним етапом досліджень буде біоінформатичне передбачення форми та локалізації НЧ, що є надзвичайно важливим у виборі продуценту для їх синтезу для різних застосувань НЧ.

Висновки. Використання біоінформатичних методів є ключовим етапом у пошуку перспективних мікроорганізмів для синтезу НЧ [2]. У ході досліджень виявлено, що ті штами пробіотичних мікроорганізмів, які використовуються для зеленого синтезу НЧ, мають гомологи основних білків біомінералізації МТБ. Подальші дослідження в цій галузі сприятимуть не лише визначенню наявності чи відсутності процесу біомінералізації, що значно скоротить підбір мікроорганізмів для «зеленого» синтезу НЧ, а й дозволить прогнозувати тип та локалізацію утворюваних НЧ. Такий підхід надасть можливість точно і швидко обирати штами, в яких наявні процеси біомінералізації НЧ, оптимізуючи їхнє використання в нанобіотехнологіях. Інтеграція обчислювального моделювання з

геномним аналізом дозволить глибше зрозуміти біомагнітні ефекти в майбутньому. Глибоке розуміння цих ефектів може привести до нових клінічних застосувань, зокрема в магнітотерапії та магнітогенетиці [14].

Список використаної літератури:

1. Lei Qiao, Xina Dou, Xiaofan Song, Chunlan Xu. Green synthesis of nanoparticles by probiotics and their application // *Advances in Applied Microbiology*, V. 119, 2022, P. 83-128. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2022.05.003>
2. O. Gorobets, S. Gorobets, Dual Synthesis of Green Magnetic and Nonmagnetic Nanoparticles by Microorganisms for Wastewater Treatment, in *Green Magnetic Nanoparticles (GMNPs)* (Elsevier, 2024), кількість авт. арк: 2.65, pp. 127–173. Scopus (розділ у монографії) <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-21895-8.00007-2>.
3. Ramendra Pati Pandey, Gunjan, Himanshu, Riya Mukherjee & Chung-Ming Chang. Nanocarrier-mediated probiotic delivery: a systematic meta-analysis assessing the biological effects // *Nature Scientific Reports*, volume 14, Article number: 631 (2024) <https://www.nature.com/articles/s41598-023-50972-x>
4. Sougata Ghosh, Bishwarup Sarkar, Ajeet Kaushik, Ebrahim Mostafavi. Nanobiotechnological prospects of probiotic microflora: Synthesis, mechanism, and applications // *Science of The Total Environment*, V. 838, Part 3, 10 2022, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156212>
5. S. Gorobets, O. Gorobets, I. Sharai, T. Polyakova, V. Zablotskii, Gradient Magnetic Field Accelerates Division of *E. coli* Nissle 1917, *Cells*. 12 (2023) 315. <https://doi.org/10.3390/cells12020315>
6. S. Gorobets, O. Gorobets, L. Kuzminykh Control of magnetic susceptibility of probiotic strain *Lactobacillus Rhamnosus* GG Nova Biotechnologica et Chimica 2023 Vol/ 22, №1, e13846 p. 1-11 DOI: <https://doi.org/10.34135/nbc.1384>
7. Gorobets O.Yu. Biogenic magnetic nanoparticles: Biomineralization in prokaryotes and eukaryotes / O. Yu. Gorobets, S.V. Gorobets, Yu.I. Gorobets // *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, Third Edition. – CRC Press: New York. – 2014. – P. 300-308. https://www.researchgate.net/publication/271136207_Biogenic_Magnetic_Nanoparticles_Biomineralization_in_Prokaryotes_and_Eukaryotes_Biogenic_Magnetic_Nanoparticles_Biomineralization_in_Prokaryotes_and_Eukaryotes
8. Gorobets O.Yu. Biomineralization and synthesis of biogenic magnetic nanoparticles and magnetosensitive inclusions in microorganisms and fungi / O.Yu. Gorobets, S.V. Gorobets, L.V. Sorokina // *Functional Materials*. – 2014. – No4. – P. 15-21. <http://dx.doi.org/10.15407/fm21.04.427>
9. Gorobets O, Gorobets S, Koralewski M. Physiological origin of biogenic magnetic nanoparticles in health and disease: from bacteria to humans. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:4371-4395, <https://doi.org/10.2147/IJN.S130565>
10. Blakemore R. Magnetotactic Bacteria. *Science*. 1975. V. 190. P. 377–379. <https://doi.org/10.1126/science.170679>
11. Kobayashi A., Yamamoto N., Kirschvink J. Study of inorganic crystalline solids in biosystems-magnetite in the human body. *J. Soc. Powder and Powder Metall.* 1996. 43(11): 1354–60. <http://doi.org/10.2497/jjspm.43.1354>
12. Peiyu Liu, Yue Zheng, Rongrong Zhang, et al. Key gene networks that control magnetosome biomineralization in magnetotactic bacteria, *National Science Review*, Volume 10, Issue 1, January 2023, <https://doi.org/10.1093/nsr/nwac238>
13. Sun J, Li Y, Liang XJ, Wang PC. Bacterial Magnetosome: A Novel Biogenetic Magnetic Targeted Drug Carrier with Potential Multifunctions. *J Nanomater.* 2011; <https://doi.org/10.1093/nsr/nwac238>
14. V. Zablotskii, O. Gorobets, S. Gorobets, et al. Effects of Static and Low-Frequency Magnetic Fields on Gene Expression. *Journal of Magnetic Resonance* January 2025 <https://doi.org/10.1002/jmri.29726>