بررسی مدل حرکتی باکتری مگنتوسپریلیوم گریفیس‌والدنس

جدی ، شیما[۱] ؛ روشنی ، فریناز[۲] ؛ فضل‌الله ، موسوی[۳]

[۱]دانشکده فیزیک دانشگاه الزهرا، ده ونک، تهران

[۲]گروه فیزیک دانشگاه الزهرا، ده ونک، تهران

[۳]گروه میکروب‌شناسی انستیتو پاستور، میدان پاستور، تهران

چکیده

باکتری‌های مغناطیسی گروهی از پروکاریوت‌های گرم منفی کم‌هوازی یا بی‌هوازی هستند، که در جهت میدان مغناطیسی جهت‌گیری می‌کنند. جهت‌گیری آن‌ها به دلیل ساختار فرومغناطیس درون‌سلولی ویژه‌ای به نام مگنتوزوم است. مگنتوزوم‌ها در مقایسه با نانوذرات مصنوعی، به دلیل پایداری بالا، شکل کنترل‌شده و خاصیت مغناطیسی بالاتر، کاربردهای بیشتری دارند. با توجه به اینکه بسیاری از این کاربردها در حضور میدان مغناطیسی است، حرکت، جهت‌گیری و رفتار جمعی آن‌ها در حضور میدان مغناطیسی در شرایط محیطی مختلف دارای اهمیت است. در این پژوهش هدف بررسی رفتار حرکتی و مقایسه آن با حرکت‌های تصادفی برای گونه‌ای از این باکتری به نام مگنتوسپریلیوم گریفیس‌والدنس در حضور میدان مغناطیسی یکنواخت است. ابتدا باکتری در شرایط پیشنهادی DSMZ در غلظت‌های مشخصی از آهن و اکسیژن کشت داده شد سپس سوسپانسیون باکتری‌ها رشد کرده در میدان‌های مغناطیسی یکنواخت با مقداری مشخص قرار گرفت و از نمونه‌ها فیلم تهیه شد. فیلم‌های تهیه‌شده توسط نرم‌افزار متلب تجزیه و تحلیل‌شده و رفتارهای حرکتی باکتری موردبررسی قرار گرفت.

Investigation of motion model of *Magnetospirillum gryphiswaldense*

Jeddi, Shima[1] ; Roshani, Farinaz[2] ; Mousavi, Fazlollah[3]

[1]Department of physics, Alzahra University, Tehran
[2]Department of physics, Alzahra University, Tehran
[3]Department of microbiology, Institute of Pasteur, Tehran

Abstract

Magnetotactic bacteria is a group of anaerobic or microaerobic gram negative prokaryotes that align and swim along magnetic field lines due to paramagnetic intracellular structure called magnetosome. Compared to artificial magnetic nanoparticle, magnetosomes have more applications because they have controlled morphology, high stability and high paramagnetic property. Considering that most of these applications must be in present of magnetic field, hence the guidance and movement of these cells and acquaintance of their collective behavior in various environmental conditions is important. In this study we investigated the motion properties of a group of magnetotactic bacteria called Magnetospirillum gryphiswaldense in presence of uniform magnetic field and compared the model of this motion with random motion. First the bacteria were cultured in suggested medium culture of DSMZ with specified concentrations of Iron and Oxygen. Then the suspension of them was placed in a different uniform magnetic fields. Films were recorded from their movement. The recorded films were analyzed by image processing toolbox of MATLAB. In this analysis, their dynamical and movement properties were investigated.

PACS No. 87

مقدمه

باکتری‌ها متنوع‌ترین و مهم‌ترین میکروارگانیسم‌ها هستند که برخی از آن‌ها مفید و برخی مضرند. اکثر باکتری‌ها با تحرک فعال خود به طیف گسترده‌ای از سیگنال‌های زیست‌محیطی پاسخ می‌دهند. در علم فیزیک مطالعات بسیاری روی موجودات و ذرات متحرک در ابعاد بزرگ صورت گرفته است و بسیاری از پارامترهای سینماتیکی و دینامیکی آن‌ها بررسی‌شده است. باکتری‌ها در ابعاد میکرون هستند و این فیزیک‌دانان را علاقه‌مند می‌سازد تا رفتارهای حرکتی و پارامترهای فیزیکی را در ابعاد میکرون برای این موجودات

بررسی کنند. باکتری‌های مغناطیسی که گروهی از باکتری‌های گرم منفی هستند، به‌عنوان یک مدل مناسب برای کنترل از طریق میدان مغناطیسی که یکی از عوامل مهم و اثرگذار بر حرکت آن‌ها است، در نظر گرفته‌شده‌اند. این باکتری‌ها در جهت میدان مغناطیسی به‌صورت غیرفعال جهت‌گیری و به‌صورت فعال شنا می‌کنند (۱).

این میکروارگانیسم‌ها اولین بار توسط سالوادور بلینی و یازده سال بعدازآن، توسط بلک مور به‌طور مستقل کشف شدند. این باکتری‌ها آهن‌رباهای زنده‌ای هستند که به‌طور طبیعی تحت تأثیر میدان مغناطیسی زمین قرار می‌گیرند و با به‌کارگیری یک میدان مغناطیسی نیرومندتر می‌توان بر جهت حرکت آن‌ها تأثیر گذاشت. این باکتری‌ها به دلیل وجود تاژک در یک سر یا دو سرخود توانایی حرکت را دارند. همچنین زنجیره‌های خطی از ذرات فرومغناطیس در سایز نانو که مگنتوزوم نامیده می‌شوند، تولید می‌کنند. این زنجیره‌ها در باکتری‌های مغناطیسی به‌صورت کریستال‌های معدنی به‌صورت اکسید آهن که شامل کریستال‌های مگنتیت (Fe_3O_4) و یا سولفید آهن که شامل کریستال‌های گریگیت (Fe_3S_4) است، وجود دارند. تولید مگنتوزوم‌ها به دلیل توانایی این باکتری‌ها در جذب آهن موجود در محیط است. ابعاد تقریبی مگنتوزوم‌ها بین ۳۰ تا ۱۲۰ نانومتر و تعداد آن‌ها در هر سلول متغیر بوده و به‌طور متوسط بین ۱۰ تا ۲۰ تا در هر سلول است. این نانوذرات مغناطیسی در زنجیره‌ها طوری قرارگرفته‌اند که گشتاور مغناطیسی آن‌ها هم‌جهت و جمع شده و در حضور میدان موجب جهت‌گیری صحیح باکتری‌ها شوند. این خواص باکتری‌های مغناطیسی و نانوذرات موجود در آن‌ها باعث شده که در زمینه‌ها مختلف کاربردهای فراوان داشته باشند (۲-٤).

تعدادی از کاربردهای آن‌ها، به شرح زیر است:

جداسازی فلزات سنگین و رادیونوکلوئیدها از آب فاضلاب‌ها از طریق جداسازی مغناطیسی، تشخیص کبالت از طریق نانو ذرات مغناطیسی، بیوسنتز ذرات طلا، تجزیه‌وتحلیل و تشخیص در پزشکی، هایپرترمی مغناطیسی در درمان تومور، حامل دارویی برای درمان‌های ضد توموری، حامل آنزیم و پروتئین، استفاده در زمین‌شناسی، دیرین‌شناسی و نجوم، جداسازی و خالص‌سازی DNA و RNA، تشخیص سرطان (٤-٦).

اکثر کاربردهای نام‌برده شده نیاز به جهت‌دهی باکتری در مسیرهای مخصوص و رساندن آن‌ها به هدف موردنظر دارند که این مستلزم وجود یک میدان مغناطیسی خارجی است. ازآنجایی‌که بسیاری از این کاربردها حساس هستند و کوچک‌ترین خطا در آن‌ها ممکن است موجب اتفاقاتی جبران‌ناپذیر شود لذا دانستن رفتارهای فردی و جمعی و پارامترهای فیزیکی این باکتری در حضور میدان مغناطیسی با مقادیر مختلف، هنگام استفاده از این باکتری‌ها الزامی است. ما در این مطالعه قصد داریم مدل حرکتی سویه‌ای از باکتری-های مغناطیسی به نام مگنتوسپریلیوم گریفیس‌والدنس را موردمطالعه قرار دهیم. این سویه که ابعاد آن ۱تا ۳ میکرومتر است، در مقایسه با دیگر باکتری‌های مغناطیسی توانایی بیشتری در جذب آهن و درنتیجه ساخت مگنتوزوم دارد. به‌طورمعمول ۱۵ تا ۲۰ مگنتوزوم در امتداد خط مرکزی سلول در جهت افقی دارد (۱, ٤).

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ابتدا باکتری مگنتوسپریلیوم گریفیس‌والدنس که از شرکت DSMZ خریداری شده بود در محیط و شرایط پیشنهادی این شرکت، کشت داده شد. این کشت در غلظت ۰/۱ گرم در لیتر فریک سیترات و غلظت اکسیژن ۳٪ انجام شد. بعد از گذشت ٦ روز و با حصول اطمینان از وجود مگنتوزوم در باکتری‌ها، از آن‌ها نمونه تهیه شد. این نمونه‌ها در نوعی لام تو گود ریخته شد و زیر میکروسکوپ نوری و تحت میدان مغناطیسی یکنواخت خارجی افقی ۲۵ گوس مورد بررسی قرار گرفت. سپس از حرکت باکتری تحت تأثیر میدان مغناطیسی فیلم تهیه شد. برای تهیه فیلم از نمونه‌ها از دوربین نیکون ۵۲۰۰ استفاده گردید. فیلم‌های تهیه‌شده توسط جعبه‌ابزار پردازش تصویر نرم‌افزار متلب پردازش‌شده و تحلیل گردید. در تحلیل فیلم‌ها، پس از رسم مسیر حرکت تمام باکتری‌ها و تعیین مختصات مسیر، مقدار واریانس برای این مسیرها در بازه زمانی معین محاسبه گردید. فاصله زمانی هر قاب با قاب دیگر در فیلم‌ها و در نتیجه تحلیل‌ها $\frac{۱}{۲۵}$ ثانیه است. واریانس مسیر حرکت برای هر ۳ قاب متوالی از فیلم با توجه به مکان مربوط به باکتری در هر قاب از رابطه ۱ محاسبه گردید.

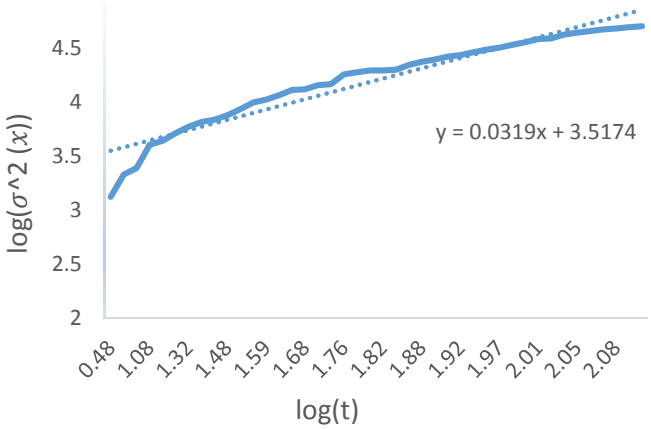
$$< \sigma^2(x) >= ((x_2 - x_1)^2 + (x_3 - x_2)^2 + \cdots)) \quad (۱)$$

این آزمایش‌ها و محاسبات با چهار بار تکرار برای شرایط یکسان انجام شد. تمام این آزمایش‌ها برای مقایسه صحیح، بدون حضور میدان مغناطیسی خارجی و در حضور میدان مغناطیسی زمین نیز انجام گرفت. با توجه به اینکه برای حرکت‌های کاتوره‌ای مانند حرکت براونی رابطه‌ای به‌صورت رابطه ۲ برقرار است و شیب خط نمودار لگاریتم واریانس مسیر حرکت برحسب لگاریتم زمان یک است، برای بررسی مدل حرکتی باکتری و نوع جهت‌گیری آن در حضور میدان و بدون حضور میدان مغناطیسی خارجی، این نمودار رسم گردید و شکل نمودار و شیب به‌دست‌آمده از آن بررسی شد (۹ و ۱۰).

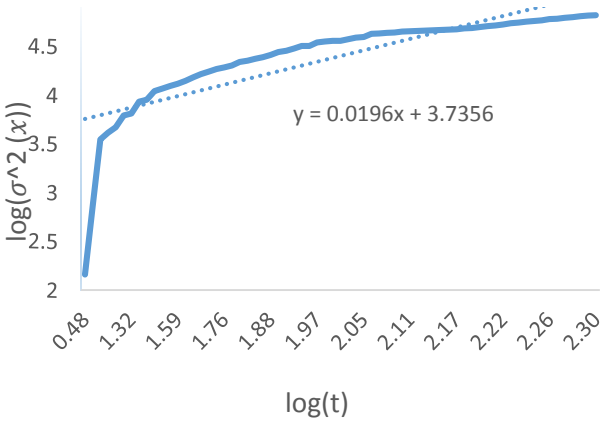
$$< x^2(t) > \cong t \quad (۲)$$

بحث و نتیجه‌گیری

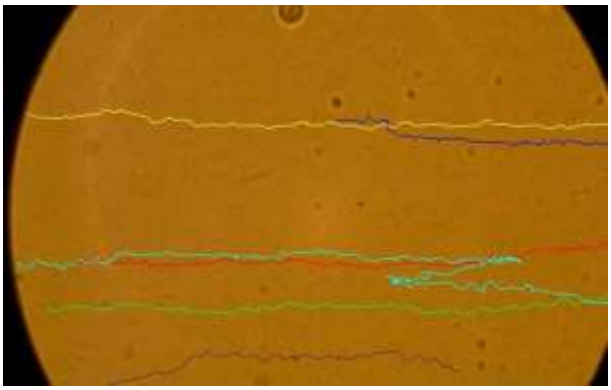
نمودار لگاریتم واریانس مسیر بر حسب لگاریتم زمان برای باکتری بدون حضور میدان مغناطیسی خارجی و در حضور میدان مغناطیسی خارجی به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ آمده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، نمودار به‌دست‌آمده برای شرایط مذکور نموداری خطی نبوده و منحنی‌هایی با شیب غیر از یک است. برای به دست آوردن شیب مربوط به هر نمودار، روی نمودارهای به‌دست‌آمده خطی برازش شد و معادله مربوط به هر خط به دست آمد. شیب تقریبی مربوط به نمودار در حضور میدان مغناطیسی ۰/۰۱۹٦ است و شکل نمودار از حالت خطی بسیار دور است که این نتیجه نشان‌دهنده وجود یک مانع یا اجبار برای جلوگیری از حرکت کاتوره‌ای است و این مانع، همان میدان مغناطیسی خارجی یکنواخت است. همچنین مقدار تقریبی شیب خط برازش شده بر نمودار بدون حضور میدان مغناطیسی خارجی ۰/۰۳۱۹ است. در این مورد شکل نمودار به حالت خطی کمی نزدیک‌تر شده و همچنین مقدار شیب نیز نسبت به حالت قبل بیش‌تر و به یک نزدیک‌تر است. این موضوع نشان‌دهنده آن است که باکتری حرکت جهت‌دار در حضور میدان مغناطیسی را تا اندازه‌ای از دست داده است اما هنوز حرکت تصادفی نداشته و به دلیل نیرو و یا مانعی مجبور به حرکت در جهت تقریباً مشخصی است و این نتیجه نشان می‌دهد که این سویه از باکتری‌های مغناطیسی، میدان مغناطیسی زمین را حس می‌کنند و به همین دلیل حرکت آن‌ها در جهت‌های تقریباً مشخص است. لازم به ذکر است با مقایسه نمودارها و شیب آن‌ها مشخص می‌شود که حرکت در میدان‌های مغناطیسی بزرگ‌تر منظم‌تر بوده و در میدان‌های کوچک‌تر مثل میدان مغناطیسی زمین تصادفی‌تر است. برای اثبات این موضوع، مسیر حرکت باکتری و جهت‌گیری مربوط به آن در حضور میدان مغناطیسی ۲۵ گوس و بدون حضور میدان مغناطیسی خارجی که از طریق پردازش تصویر در نرم‌افزار متلب رسم شده است، در شکل‌های ۳ و ٤ قابل‌مشاهده است. همان‌طور که در مسیرهای حرکت هم مشخص است باکتری‌ها در حضور میدان افقی، حرکت‌های تقریباً موازی و افقی داشته‌اند و بدون حضور میدان مغناطیسی این مسیرها نامنظم و در جهت‌های مختلف است. لازم به ذکر است که در این حالت نیز حرکت کاملاً کاتوره‌ای نیست و جهت‌گیری کمی دارد (۱۰).



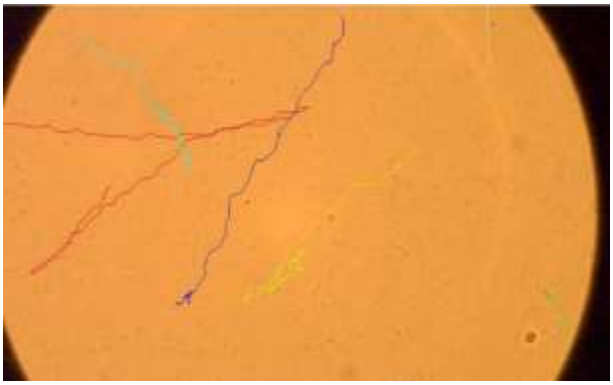
شکل ۱ : نمودار لگاریتم واریانس مسیر حرکت برحسب لگاریتم زمان برای باکتری بدون حضور میدان مغناطیسی خارجی و در حضور میدان مغناطیسی زمین، شیب‌خط برازش شده بر این نمودار ۰/۰۳۱۹ است.



شکل ۲ : نمودار لگاریتم واریانس مسیر حرکت برحسب لگاریتم زمان برای باکتری در حضور میدان مغناطیسی خارجی ۲۵ گوس، شیب خط برازش شده بر این نمودار ۰/۰۱۹٦ است.



شکل ۳ : مسیرهای حرکت باکتری در حضور میدان مغناطیسی خارجی ۲۵ گوس



شکل ٤ : مسیرهای حرکت باکتری بدون حضور میدان مغناطیسی خارجی و در حضور میدان مغناطیسی زمین

منابع

1. Ērglis K, Wen Q, Ose V, Zeltins A, Sharipo A, Janmey PA, et al. Dynamics of magnetotactic bacteria in a rotating magnetic field. *Biophysical journal*. 2007**;93(4):1402-12**.

2. Bellini S. Further studies on "magnetosensitive bacteria". *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 2009**;27(1):6-12**.

3. Nadkarni R, Barkley S, Fradin C. A Comparison of Methods to Measure the Magnetic Moment of Magnetotactic Bacteria through Analysis of Their Trajectories in External Magnetic Fields. *PloS one*. 2013**;8(12):e82064**.

4. Sun J-B, Zhao F, Tang T, Jiang W, Tian J-s, Li Y, et al. High-yield growth and magnetosome formation by Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1 in an oxygen-controlled fermentor supplied solely with air. *Applied microbiology and biotechnology*. 2008**;79(3):389-97**.

5. Safarik I, Safarikova M. Magnetic techniques for the isolation and purification of proteins and peptides. *BioMagnetic Research and Technology*. 2004**;2(1):1**.

6. Horak D, Babič M, Mackova H, Beneš MJ. Preparation and properties of magnetic nano-and microsized particles for biological and environmental separations. *Journal of separation science*. 2007**;30(11):1751-72**.

7. Alphandéry E, Amor M, Guyot F, Chebbi I. The effect of iron-chelating agents on Magnetospirillum magneticum strain AMB-1: stimulated growth and magnetosome production and improved magnetosome heating properties. *Applied microbiology and biotechnology*. 2012**;96(3):663-70**.

8. Joshi PP, Yoon SJ, Hardin WG, Emelianov S, Sokolov KV. Conjugation of antibodies to gold nanorods through Fc portion: *synthesis and molecular specific imaging. Bioconjugate chemistry.* 2013;**24(6):878-88**.

9. Schultheiss D, Schüler D. Development of a genetic system for Magnetospirillum gryphiswaldense. *Archives of microbiology*. 2003**;179(2):89-94.**

10. Ralf Metzler, ab Jae-Hyung Jeon,bc Andrey G. Cherstvya and Eli Barkai, Anomalous diffusion models and their properties: non-stationarity, non-ergodicity, and ageing at the centenary of single particle tracking, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2014**,16, 24128-24164**.