



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias

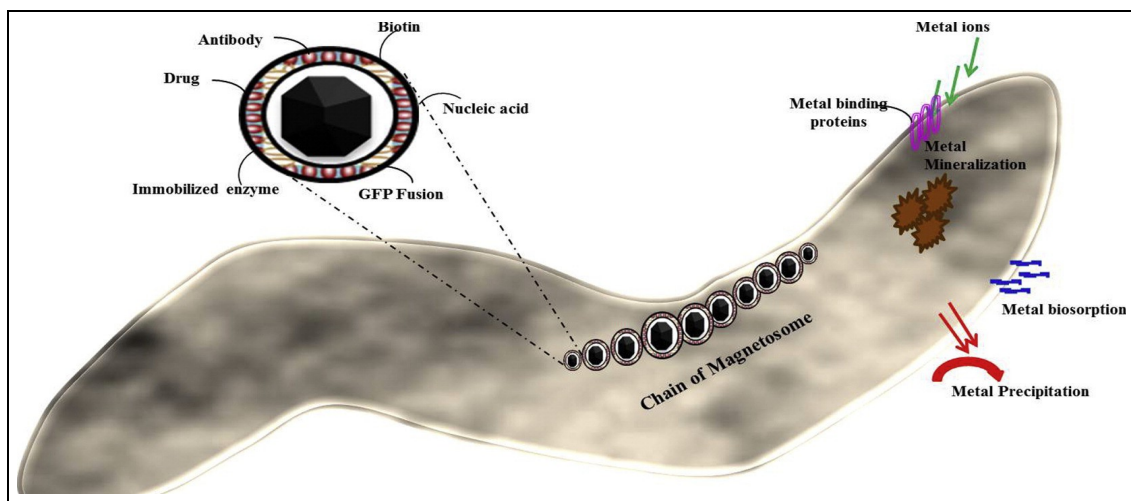
Grao en Bioloxía

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

Bacterias magnetotácticas. Aplicaciones biotecnológicas y nanotecnológicas.

Bacterias magnetotácticas. Aplicacións biotecnolóxicas y nanotecnolóxicas.

Magnetotactic bacteria. Biotechnological and nanotechnological applications.



Jennifer Lago Grille

Curso: 2020 - 2021. Convocatoria: Julio

Director 1: Concepción Herrero López

ABSTRACT

Magnetotactic bacteria (MTB) biomineralize magnetosomes, which are defined as intracellular nanocrystals of the magnetic minerals magnetite (Fe_3O_4) or greigite (Fe_3S_4) surrounded by a bilayer phospholipid membrane. Magnetosome synthesis is controlled by a specific set of protein-encoding genes, some of which are found exclusively in the magnetosome membrane (MM) of the cell. During the last decades, interest in nanoscale technology (nanotechnology) and biotechnology has increased significantly due to the development and establishment of new commercial, medical and scientific processes and applications using nanomaterials, some of which are of biological origin. An excellent example of a biological nanomaterial that shows great promise for use in a large number of commercial and medical applications is bacterial magnetite magnetosomes. Unlike chemically synthesized magnetite nanoparticles, magnetosome magnetite crystals are stable single magnetic domains (SD) and therefore are permanently magnetic at room temperature, are of high chemical purity and show a narrow size range and a consistent crystalline morphology. These physicochemical characteristics are important for its use in biotechnological and nanotechnological applications. Applications using magnetite-producing MTBs, magnetite magnetosomes and/or magnetosome magnetite crystals include and / or involve bioremediation and environmental engineering, cell separation, DNA and antigen recovery/detection, drug delivery, gene delivery, food safety, enzyme immobilization, magnetic hyperthermia and enhancement of magnetic resonance imaging contrast. The ultimate objective of this review is to promote the applications of MTB and magnetosomes in the fields of biotechnology and nanotechnology.

RESUMEN

Las bacterias magnetotáticas (MTB) biomineralizan los magnetosomas, que se definen como nanocristales intracelulares de los minerales magnéticos magnetita (Fe_3O_4) o greigita (Fe_3S_4) envueltos por una membrana bicapa de fosfolípidos. La síntesis de magnetosomas está controlada por un conjunto específico de genes que codifican proteínas, algunas de las cuales se encuentran exclusivamente en la membrana del magnetosoma (MM) de la célula. Durante las últimas décadas, el interés en la tecnología a nanoescala (nanotecnología) y la biotecnología ha aumentado significativamente debido al desarrollo y establecimiento de nuevos procesos y aplicaciones comerciales, médicos y científicos que utilizan nanomateriales, algunos de los cuales son de origen biológico. Un excelente ejemplo de un nanomaterial biológico que se muestra muy prometedor para su

uso en un gran número de aplicaciones comerciales y médicas son los magnetosomas de magnetita bacteriana. A diferencia de las nanopartículas de magnetita sintetizadas químicamente, los cristales de magnetita de magnetosoma son dominios magnéticos únicos estables (SD) y, por lo tanto, son permanentemente magnéticos a temperatura ambiente, son de alta pureza química y muestran un rango de tamaño estrecho y una morfología cristalina consistente. Estas características físico-químicas son importantes para su uso en aplicaciones biotecnológicas y nanotecnológicas. Las aplicaciones que utilizan MTB productoras de magnetita, magnetosomas de magnetita y/o cristales de magnetita de magnetosomas incluyen y/o involucran la biorremediación e ingeniería ambiental, separación celular, recuperación/detección de ADN y antígenos, administración de fármacos, administración de genes, seguridad alimentaria, inmovilización de enzimas, hipertermia magnética y mejora del contraste de las imágenes por resonancia magnética. El objetivo último de esta revisión es promover las aplicaciones de MTB y magnetosomas en los campos de la biotecnología y nanotecnología.

PALABRAS CLAVE

Bacterias magnetotácticas (MTB); magnetosoma; greigita; magnetita; bioaplicación; biotecnología; nanotecnología.

ABREVIATURAS

MTB: bacteria/s magnetotáctica/s.

PVC: *Planctomyces* – *Verrucomicrobia* – *Chlamydiae*.

MC: membrana citoplasmática.

MM: membrana del magnetosoma.

ME: membrana externa.

SD: dominio/s magnético/s único/s.

SP: superparamagnéticos.

MCB: mineralización controlada biológicamente.

MIB: mineralización inducida biológicamente.

CDF: difusión facilitadora de cationes.

BacMP: partícula/s de magnetita bacteriana/s.

OAI: interfaz óxica-anóxica.

MAI: isla del magnetosoma.

MS-1: cepa de *Magnetospirillum magnetotacticum*.

MO-1: cepas de cocoides magnetotácticos.

MC-1: cepa de *Magnetococcus marinus*.

IT-1: cepa de *Magnetofaba australis*.

MV-1: cepa de *Magnetovibrio blakemorei*.

MMS-1: cepa de *Magnetospira thiophila*.

QH-2: cepa de *Magnetospira sp.*

RS-1: cepa de *Desulfovibrio magneticus*.

BW-1: cepa de *Candidatus desulfamplus magnetomortis*.

BW-2: cepa de *Gammaproteobacteria*.

SS-5: cepa de *Gammaproteobacteria*.

RBC: glóbulos rojos de la sangre.

M-IPCR: inmuno-PCR.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

IRM: imágenes de resonancia magnética.

MPI: imágenes de partículas magnéticas.

SION: nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas.

ÍNDICE

1	Introducción	1 - 3
2	Objetivos	3
3	Metodología	3
3.1	Diseño	3
3.2	Estrategia de búsqueda	4
3.3	Criterios de inclusión y exclusión	4
3.4	Extracción de datos	4
4	Bacterias magnetotácticas: el magnetosoma	4
4.1	Composición y estructura del magnetosoma	4 - 6
4.2	Biogénesis del magnetosoma	6 - 7
4.2.1	Formación de la membrana del magnetosoma	7 - 8
4.2.2	Clasificación de proteínas del magnetosoma	8 - 9
4.3	Biom mineralización de nanocristales magnéticos	9
4.3.1	Transporte de hierro	9 - 10
4.3.2	Inicio de la cristalización y maduración de los nanocristales	10
4.3.3	Control de la forma del cristal	11
4.4	Formación de cadenas de magnetosomas	11
5	Aplicaciones biotecnológicas y nanotecnológicas de las bacterias magnetotácticas	12
5.1	Biorremediación e ingeniería ambiental	12
5.1.1	Eliminación de metales pesados de aguas residuales	12
5.1.2	Eliminación de radionucleidos de las aguas residuales	12 - 13
5.1.3	Eliminación de contaminantes orgánicos de las aguas residuales	13

5.1.4	Otras aplicaciones medioambientales	13
5.2	Administración de fármacos	13
5.3	Administración de genes	13 - 14
5.4	Separación celular	14
5.5	Seguridad alimentaria	14
5.6	Ensayos de detección /recuperación de ADN y antígenos	14 - 15
5.7	Agentes de contraste de resonancia magnética	15
5.8	Hipertermia magnética	15 - 16
5.9	Inmovilización de enzimas	16
6	Discusión y análisis crítico	16 – 17
7	Conclusiones	18
7.1	Conclusiones	18
7.2	Conclusions	19
8	Bibliografía	20 - 25

1 INTRODUCCIÓN

Las bacterias magnetotácticas (MTB) son procariotas acuáticas cuya dirección de motilidad está dirigida por los campos geomagnéticos de la Tierra (Bazylinski y Frankel, 2004). Estos microorganismos ubicuos representan un grupo morfológica, filogenética y metabólicamente diverso de Bacterias gram-negativas que biomineralizan orgánulos únicos llamados magnetosomas (Figura 1), responsables del comportamiento magnetotáctico de las células, que se conoce como magnetotaxis (Blakemore, 1975), que es la alineación pasiva y la motilidad a lo largo de las líneas del campo magnético (Lower y Bazylinski, 2013).

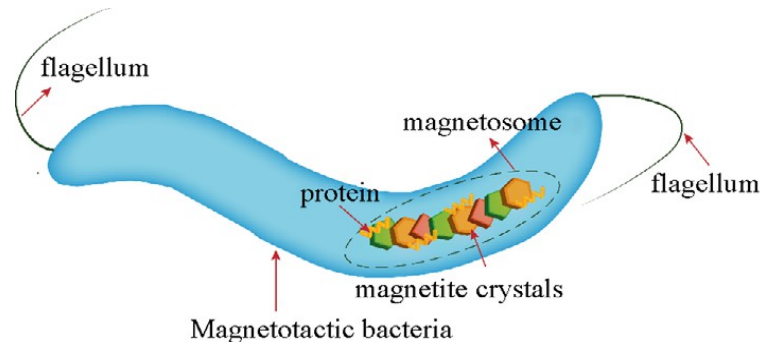


Figura 1. Estructura típica de una bacteria magnetotáctica (Lower y Bazylinski, 2013).

Las MTB fueron descritas por primera vez por Salvatore Bellini en 1963 a partir de agua recolectada de diferentes ambientes de agua dulce cerca de Pavía, Italia. En su estudio observó un gran número de bacterias nadando en una dirección única y constante hacia el norte y especuló que el comportamiento magnético de las células se debía a una "brújula magnética" interna (Bellini, 2009). Pero no fue hasta 1975 que se demostró la "brújula magnética" de Bellini, los magnetosomas, de la mano de Dick Blakemore quién observó las bacterias que colonizaban el lodo de las lagunas salobres de Woods Hole (en Cape Cod, al sureste del estado de Massachusetts) y demostró que las bacterias estaban dirigidas por el campo magnético de la Tierra (Blakemore, 1975).

Las MTB se distribuyen en todo el mundo y son ubicuas en sedimentos de hábitats de agua dulce, salobre, marinos e hipersalinos, así como en columnas de agua estratificadas químicamente de estos entornos (Bazylinski y Frankel, 2004). Sorprendentemente, la aparición de MTB parece no depender de concentraciones particularmente altas de hierro en el medio ambiente, sino de la presencia de una interfaz óxica-anóxica (OAI) (Figura 2) que representa, en la mayoría de los ambientes, gradientes opuestos de oxígeno de la superficie y compuestos reducidos (generalmente especies de azufre reducidas) en sedimentos o columnas de agua (Frankel *et al.*, 1997).

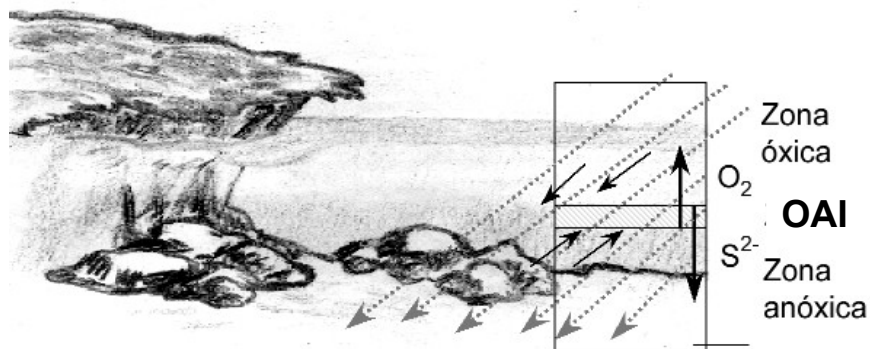


Figura 2. Interfaz óxica-anóxica (OAI) en una columna de agua. El campo geomagnético está representado por las flechas discontinuas. Las bacterias magnetotácticas se alinearían con el campo magnético y nadarían hacia arriba o hacia abajo para alcanzar la concentración óptima de oxígeno próxima a la zona OAI (flechas inclinadas) (Guerrero y Berlanga, 2000).

La mayor cantidad de MTB se encuentra típicamente en o ligeramente por debajo de la OAI de sedimentos o columnas de agua estratificadas químicamente (Moskowitz *et al.*, 2008). Además, dentro de la propia OAI, diferentes especies de MTB ocupan diferentes posiciones que representan diferentes condiciones químicas específicas a esa profundidad. Los estudios biogeográficos indican que algunos parámetros ambientales como la salinidad, la temperatura, los nitratos o los compuestos de azufre podrían explicar la abundancia de MTB o las diferencias entre comunidades (Lin *et al.*, 2013). En general, los MTB productores de magnetita se encuentran en o muy cerca de la OAI, mientras que los productores de greigita están presentes en los biotopos reductores, por debajo de la OAI, en la zona anóxica sulfídica (Moskowitz *et al.*, 2008; Lefèvre *et al.*, 2011).

La primera bacteria magnetotáctica cultivada en cultivo axénico fue un *spirillum* productor de magnetita denominado *Magnetospirillum magnetotacticum* cepa MS-1 (Blakemore, 1975). Aproximadamente, hay 25 especies de MTB en cultivo axénico (Lefèvre y Bazylinski, 2013). La mayoría de las especies de MTB descritas hasta ahora pertenecen a varias clases del filo de las *Proteobacterias*, incluidas las *Alfa*, *Delta* y *Gamma-Proteobacterias* (Lefèvre y Bazylinski, 2013). También se han descrito varias MTB no cultivadas pertenecientes al filo *Nitrospirae* y al superfilo *Planctomycetes-Verrucomicrobia-Chlamydiae* (PVC) (Lefèvre *et al.*, 2010; Kolinko *et al.*, 2012).

Los morfotipos celulares de MTB que se observan con mayor frecuencia incluyen células cocoides a ovoides, bastoncillos, vibriones, espirales de diversas dimensiones e incluso multicelulares (Figura 3) (Lefèvre *et al.*, 2011). Independientemente de su morfología, todas las MTB cultivadas y no cultivadas estudiadas hasta ahora son móviles por medio de flagelos, cuya disposición difiere entre MTB y puede ser polar, bipolar o en mechones (Cox *et al.*, 2002; Freitas *et al.*, 2003); tienen una estructura de pared celular característica de las bacterias gram-negativas típicas, con una excepción: algunas MTB de agua dulce no cultivadas pertenecientes al filo *Nitrospirae* parecen tener una estructura de pared celular más compleja (Lefèvre *et al.*, 2011; Jogler *et al.*, 2011).

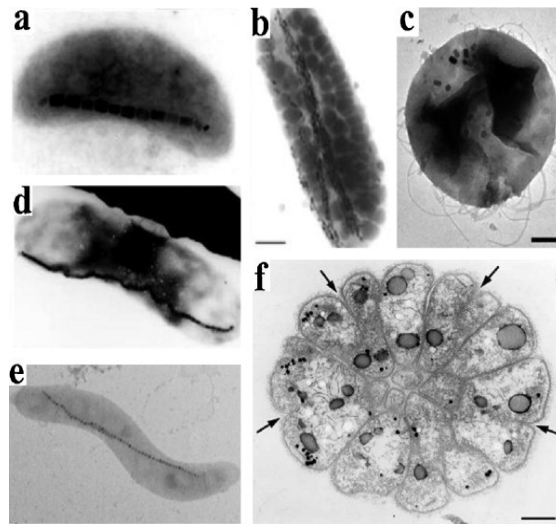


Figura 3. Varias morfologías de MTB. a) vibrios; b y d) varillas; c) cocoide; e) espirilla; f) organismo multicelular (Lefèvre *et al.*, 2011).

Otro rasgo que muestra una diversidad considerable es la disposición de los magnetosomas dentro de la célula. En la mayoría de las MTB, los magnetosomas están alineados en una o más cadenas paralelas al eje de motilidad (en la mayoría de los casos es el eje longitudinal de la célula) (Figura 4), que es la disposición más eficiente magnéticamente (Lefèvre *et al.*, 2011; Yan *et al.*, 2012). Sin embargo, en algunas MTB se encuentran agregados, dispersos o en grupos, por lo general en un lado de la célula, que a menudo corresponde al sitio de inserción flagelar (Cox *et al.*, 2002; Freitas *et al.*, 2003). Solo la alineación de varios magnetosomas en una cadena o cadenas crea un momento dipolar. El dipolo de la cadena del magnetosoma permite la rotación de la bacteria en la dirección del campo geomagnético y permite su movimiento de acuerdo con las líneas del campo utilizando sus flagelos (Barber-Zucker y Zarivach, 2017).

2 OBJETIVOS

- Organizar y resumir los principales conocimientos actuales sobre las MTB y su biomineralización.
- Conocer las aplicaciones biotecnológicas y nanotecnológicas actuales y futuras de las MTB.

3 METODOLOGÍA

3.1 DISEÑO

La realización de este trabajo es el resultado de la revisión bibliográfica realizada a través de diferentes bases de datos, como Web of Science, NCBI y Google académico, con el objetivo de recopilar artículos científicos de distintas revistas y periódicos así como información de libros y páginas web.

3.2 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Se utilizó la base de datos NCBI para realizar una primera búsqueda sin restricciones de fechas de publicación ni de tipo de documento. La búsqueda se realizó principalmente en inglés aunque también se consideraron los artículos escritos en español. Se utilizaron palabras clave como “bacterias magnetotácticas” y “aplicaciones de bacterias magnetotácticas”. En este caso tuvimos en cuenta los artículos con mayor número de citas, ya que serían los más relevantes en el tema.

Una vez hecha esta selección y debido a la abundancia de artículos se realizó una segunda búsqueda. Esta fue más específica, limitándola por fecha y tipo de documento pero teniendo en cuenta información general. Los artículos considerados más importantes fueron los más recientes, pues el contenido estaría más actualizado, y los de revisión bibliográfica, ya que recopilarían información de diferentes publicaciones.

Por último, se realizó una búsqueda más concreta centrada en aspectos más específicos utilizando palabras clave como “biogénesis del magnetosoma”, “biomineralización del magnetosoma”, “genética de las bacterias magnetotácticas”, “aplicaciones biotecnológicas” y “aplicaciones nanotecnológicas”.

3.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Los criterios de inclusión o de exclusión fueron en un primer momento el número de citas de los artículos, debido a su relevancia. Seguidamente en una segunda búsqueda se incluyeron las revisiones y se excluyeron el resto de los documentos. También se excluyeron los artículos más antiguos por fecha de publicación ya que estos estarían más obsoletos.

3.4 EXTRACCIÓN DE DATOS

El método de selección de datos se basó en la revisión de los resúmenes de los diferentes artículos para decidir si estos serían adecuados para abordar el tema del trabajo a realizar.

4 BACTERIAS MAGNETOTÁCTICAS: EL MAGNETOSOMA

4.1 COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DEL MAGNETOSOMA

Los magnetosomas son orgánulos magnéticos compuestos de nanocristales de óxido de hierro, magnetita (Fe_3O_4), o de sulfuro de hierro, greigita (Fe_3S_4), dependiendo de la especie. Por lo general, una especie de MTB sintetiza cristales magnéticos de una composición específica, magnetita o greigita, aunque varias especies sintetizan ambos minerales (Lins *et al.*, 2007). Cada magnetosoma consta de un cristal nanométrico envuelto por una bicapa lipídica que se origina de la membrana citoplasmática (MC) celular y está compuesta principalmente de proteínas, ácidos grasos, glicolípidos, sulfolípidos y fosfolípidos. Dicha bicapa lipídica se denomina membrana del magnetosoma (MM) (Lefèvre *et al.*, 2011).

La morfología, composición, tamaño y disposición del cristal magnético están sujetos a un control químico, bioquímico y genético específico de la especie. El rango de tamaño de los magnetosomas bacterianos tiene un significado físico que se refleja en sus magnetismos (Lefèvre *et al.*, 2011). Los cristales maduros de magnetita normalmente se encuentran dentro de un rango de tamaño estrecho de aproximadamente 35-120 nm, excepto los cristales de magnetita muy grandes con longitudes de hasta 250 nm. Los magnetosomas bacterianos en este rango son dominios magnéticos únicos (SD) estables y permanentemente magnéticos a temperatura ambiente. Los cristales dentro del rango de tamaño SD están magnetizados uniformemente y tienen el momento dipolar magnético máximo. Los cristales magnéticos más pequeños que el rango de tamaño SD son superparamagnéticos (SP) a temperatura ambiente, lo que significa que no tienen magnetizaciones remanentes persistentes (Lefèvre y Bazylinski, 2013). Por el contrario, las partículas con longitudes superiores a 120 nm se magnetizan de manera no uniforme debido a la formación de paredes de dominio, las cuales, tenderán a formar múltiples dominios magnéticos de orientación magnética opuesta, reduciendo así la remanencia magnética total de los cristales (Albrecht *et al.*, 2005). Por lo tanto, al controlar el tamaño de los cristales magnéticos, las MTB han optimizado el momento dipolar magnético por magnetosoma (Yan *et al.*, 2012).

Se han observado tres tipos de morfologías de las nanopartículas magnéticas: cubo-octahédrica, prismática alargada, en forma de bala y rectangular (Figura 4). Generalmente, la forma de los cristales es estable dentro de las células de una sola especie o cepa bacteriana, aunque se han encontrado variaciones menores en los cristales de algunas especies cultivadas en diferentes condiciones (Guerrero y Berlanga, 2000).

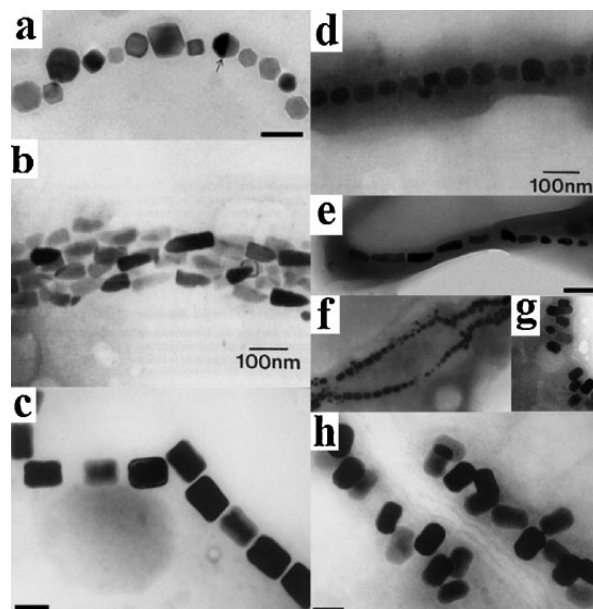


Figura 4. Morfologías cristalinas y disposición de los magnetosomas. (a y d) forma cubo-octahédrica; (b y e) en forma de bala; (c, f y g) prismáticos alargados; (h) morfologías rectangulares. (a), (c), (d) y (e): dispuestos en una cadena; (b): dispuestos en múltiples cadenas; (f): dispuestos en dos cadenas; (g) y (h): dispuestos de forma irregular (Yan *et al.*, 2012).

Las cadenas de magnetosomas a menudo se encuentran al lado o cerca de la MC celular donde, en algunos casos, parecen estar ancladas. El número de cadenas y de magnetosomas en una cadena varía de una especie a otra y en la misma especie, a menudo según las condiciones ambientales (Yan *et al.*, 2012). Los agregados dispersos de magnetosomas se encuentran en algunas MTB, generalmente en un extremo de la célula (Cox *et al.*, 2002).

Mediante la biomineralización de nanocristales de SD, las MTB producen el tamaño de cristal óptimo para un momento dipolar magnético permanente máximo por magnetosoma (Vargas *et al.*, 2018).

4.2 BIOGÉNESIS DEL MAGNETOSOMA

La síntesis de un magnetosoma es un proceso complejo y escalonado que está controlado tanto bioquímica como genéticamente: la bacteria tiene control sobre la composición, dirección del crecimiento del cristal y el tamaño y la forma del cristal mineral; con la intervención y ayuda de un conjunto único de proteínas que se encuentran mayormente codificadas en un segmento genómico conservado (de 130 Kb en MSR-1) denominado isla del magnetosoma (MAI) (Komeili, 2012; Werckmann *et al.*, 2017). Como resultado de este control, los magnetosomas tienen rangos de tamaño estrechos y uniformes, propiedades magnéticas y cristalinas relativamente específicas y una membrana biológica envolvente. Estas características no se observan en partículas magnéticas producidas abióticamente y, por lo tanto, los magnetosomas son de gran interés en biotecnología y nanotecnología (Yoshino *et al.*, 2010; Müller *et al.*, 2020).

Aquí nos centraremos principalmente en la síntesis de magnetosomas de magnetita, ya que se sabe poco sobre la formación de los magnetosomas de greigita a nivel molecular, excepto que se han identificado genes y proteínas ortólogas a las involucradas en la formación de magnetita en dos genomas de MTB productoras de greigita (Müller *et al.*, 2020; Lefèvre *et al.*, 2011).

Prácticamente toda la información sobre la síntesis de magnetita en MTB se basa en estudios que involucran a dos especies de *Magnetospirillum*: *M. gryphiswaldense* y *M. magneticum*, que biomineralizan los magnetosomas de magnetita en forma cubo-octaédrica. Esto se debe principalmente al hecho de que estos organismos son relativamente fáciles de cultivar, existen sistemas genéticos manejables para estos organismos y sus secuencias genómicas están disponibles (Lefèvre y Bazylinski, 2013).

Para la mayoría de las especies de MTB, el mecanismo de formación del magnetosoma consta de varios pasos (Figura 5):

- Primero, la síntesis de la MM: se origina mediante la invaginación de la MC celular para dar lugar a vesículas. Así se crea un entorno separado del citoplasma celular.
- En segundo lugar, se clasifica un conjunto de proteínas específicas del magnetosoma en la MM.
- En tercer lugar, la absorción de hierro extracelular por la MTB y su posterior transporte a la vesícula del magnetosoma a través de la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} .
- En cuarto lugar, la mineralización de magnetita o greigita biológicamente controlada dentro de la vesícula del magnetosoma.
- En quinto lugar, una cadena de magnetosomas se ensambla, se coloca y se divide durante la división celular (Müller *et al.*, 2020).

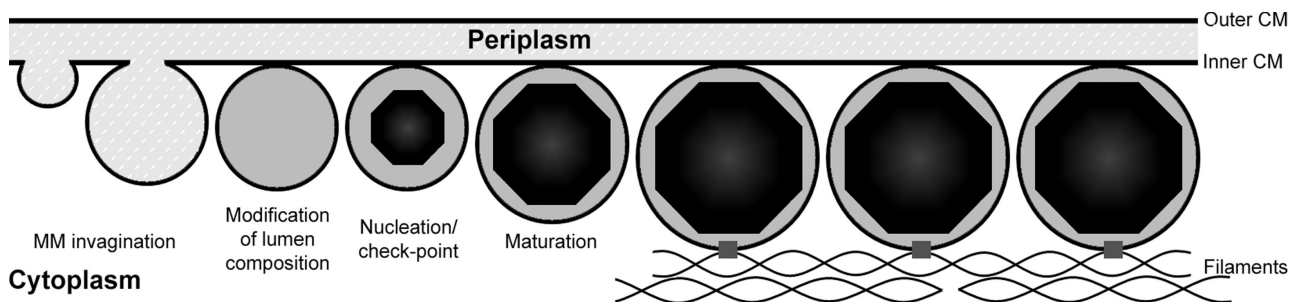


Figura 5. Esquema de formación de magnetosomas. Magnetosomas de izquierda a derecha: (1–2) La membrana del magnetosoma se invagina desde la membrana celular interna. (3) Se modifica la composición del lumen. (4) Nucleación de partículas magnéticas. (5) MM y crecimiento de partículas magnéticas. (6–8) Alineación de magnetosomas en cadenas (Barber-Zucker y Zarivach, 2017).

4.2.1 Formación de la membrana del magnetosoma

El primer paso es la invaginación de la MC celular para dar lugar a una vesícula de membrana realmente desprendida de la MC (en *M. gryphiswaldense*) o en una invaginación permanente en la MC (en *M. magneticum*), una cuestión importante que sigue aún sin resolverse (Lefèvre y Bazylnski, 2013; Müller *et al.*, 2020).

Sin embargo, los estudios ultraestructurales de algunas especies de MTB han llevado a la sorprendente sugerencia de que, en algunos casos, una membrana puede no rodear los cristales de magnetita (Byrne *et al.*, 2010).

La formación de la MM es independiente de la biomineralización de la magnetita, como lo demuestra la presencia de vesículas vacías en células carentes de hierro o mutantes con biomineralización defectuosa. Asimismo, se forman vesículas vacías cuando las células se cultivan en condiciones aeróbicas que suprimen la biomineralización de la magnetita, probablemente debido a condiciones redox inapropiadas (Müller *et al.*, 2020).

Al igual que otros orgánulos celulares, se cree que la compartimentación por la MM proporciona el entorno químico adecuado para la biomineralización y

protege a la célula de los subproductos potencialmente tóxicos de esta actividad (Komeili, 2012).

4.2.2 Clasificación de proteínas del magnetosoma

La MM tiene una composición lipídica similar a la de la MC celular, pero contiene un conjunto único de proteínas codificadas en la MAI y con funciones en la biomineralización de la magnetita (Müller *et al.*, 2020). El MAI se encuentra en todas las especies de MTB y contiene algunos operones: el operón más conservado y esencial es *mamAB*, que se puede encontrar en todas las MTB identificadas, mientras que otros operones, como *mamGFDC*, *mamXY* y *mms6* en MSR-1, son específicos de *Alphaproteobacteria* (Lefèvre y Bazylinski, 2013; Werckmann *et al.*, 2017). El operón *mamAB* es esencial en el proceso de formación del magnetosoma; el operón *mamGFDC* codifica la pequeña proteína *MamGFDC* involucrada en la maduración de los cristales de los magnetosomas, y el operón de *mms6* y *mamXY* maneja principalmente la forma y el tamaño de los magnetosomas (Barber-Zucker y Zarivach, 2017).

Las proteínas codificadas por estos operones se denominan proteínas asociadas a la MM (*Mam*) y proteínas específicas de la membrana de partículas magnéticas (*Mms*). Las proteínas *Mam* y *Mms* se pueden clasificar aproximadamente en varios grupos según sus funciones durante los procesos de formación de magnetosomas, como la invaginación de la membrana, la clasificación de proteínas, la biomineralización, el control de la forma y el tamaño de los cristales minerales, y la alineación del magnetosoma en cadenas (Murat *et al.*, 2010; Werckmann *et al.*, 2017).

Otros conjuntos de genes relacionados con el magnetosoma son los genes *Deltaproteobacteria* (*mad*) asociados al magnetosoma en las cepas *Deltaproteobacteria*, *Nitrospirae* y *Omnitrophica*, y los genes del magnetosoma en *Nitrospirae* (*Man*), cuyas proteínas codificadas se cree que tienen un papel paralelo a algunas de las proteínas *Mam* y *Mms*, pero en diferentes cepas (Lefèvre y Bazylinski, 2013; Kolinko *et al.*, 2016; Lefèvre *et al.*, 2013).

Las cuatro proteínas *MamB*, *MamI*, *MamL* y *MamQ* (Figura 6) fueron reconocidas como factores clave en la biogénesis de la MM (Müller *et al.*, 2020; Murat *et al.*, 2010).

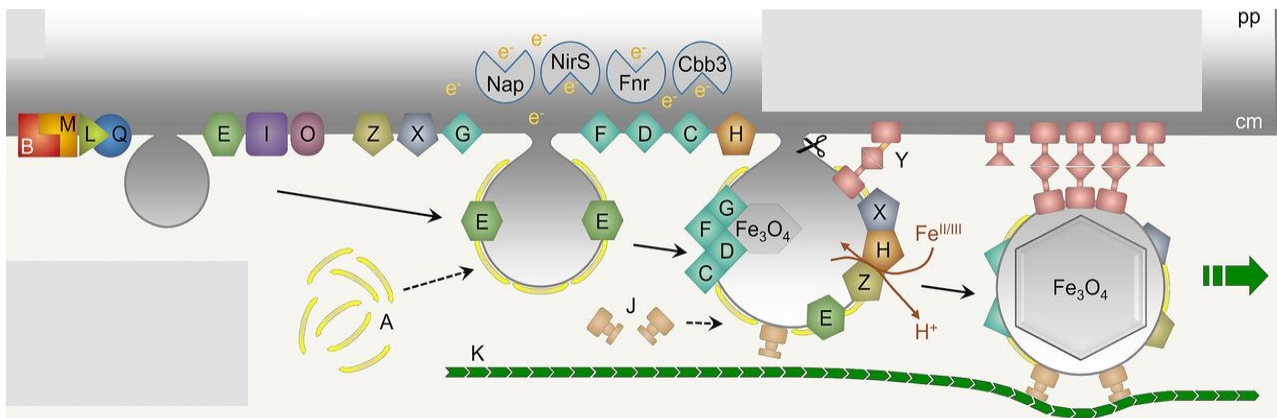


Figura 6. Pasos y algunas proteínas clave de la biogénesis del magnetosoma. Se cree que las proteínas *Mam* esenciales unidas a la membrana (etiquetadas con las letras respectivas) interactúan estrechamente en la MC y, finalmente, facilitan la formación y el crecimiento de vesículas. Posteriormente, se reclutan más proteínas que funcionan en el transporte de hierro, el control redox y la precipitación de magnetita. Las proteínas solubles están asociadas con la periferia de las vesículas y juegan un papel en el ensamblaje de la MM, por ejemplo, *MamA*, o están involucradas en el posicionamiento y movilidad de las vesículas, por ejemplo, *MamJ* y *MamK*. La precipitación de magnetita y el crecimiento de cristales requieren no solo vesículas de magnetosomas equipadas con proteínas *Mam* y *Mms* como un “nano-reactor”, sino también condiciones celulares redox apropiadas, dependiendo de la respiración de nitrato y oxígeno controlada por Nap, NirS, Fnr y Cbb3 que actúan en el espacio periplasmático (pp) o la MC (cm). En *M. gryphiswaldense*, las vesículas eventualmente se desprenden de la MC por un mecanismo desconocido (Müller *et al.*, 2020).

4.3 BIOMINERALIZACIÓN DE NANOCRISTALES MAGNÉTICOS

Podemos dividir la biomineralización en cuatro etapas separadas:

4.3.1 Transporte de hierro

La absorción de hierro por parte de la célula es absolutamente necesaria para la síntesis de magnetosomas y es probable que se produzca de forma continua siempre que esté disponible (Komeili, 2012). Parece que tanto Fe (II) como Fe (III) pueden ser absorbidos por células de MTB para la síntesis de magnetita (Katzmann *et al.*, 2010). Hay dos tipos de mecanismos de absorción de hierro: uno depende de los portadores de hierro y el otro es el uso de Fe³⁺ reductasa para restaurar Fe³⁺ a Fe²⁺ (Chen *et al.*, 2010).

Posteriormente, el hierro debe entrar en la vesícula del magnetosoma. Si realmente se forman nanocristales de magnetita en invaginaciones permanentes de la MC, el hierro solo tendría que ser transportado a través de la membrana externa (ME) y entrar al periplasma, ya que cualquier invaginación de la MC quedaría abierta al periplasma. Sin embargo, esta situación podría ser solo temporal si se forman verdaderas vesículas independientes. En este caso, es posible que el hierro deba transportarse a través de la MC y luego a través de la MM para ingresar a las vesículas. Para que todo este proceso tenga lugar se cuenta con la implicación de varias proteínas de la MM (Lefèvre y Bazylinski, 2013).

Según Müller *et al.* (2020) (Figura 7 - i y ii), en *Magnetospirillum magneticulum* los transportadores de iones, FeoB1 y FeoB2, participan en el transporte de hierro al citoplasma y, posteriormente, a los magnetosomas, o directamente a los magnetosomas. Los iones de Fe^{2+} importados están encapsulados por una membrana, que es la precursora de las partículas de magnetita bacteriana (BacMP). La reducción de Fe^{2+} a Fe^{3+} se produce por contacto de las vesículas que contienen iones Fe^{2+} con los filamentos citoesqueléticos, y el electrón liberado se transporta a la reserva de electrones celulares a través de la cadena de transporte del magnetosoma (Quin *et al.*, 2020).

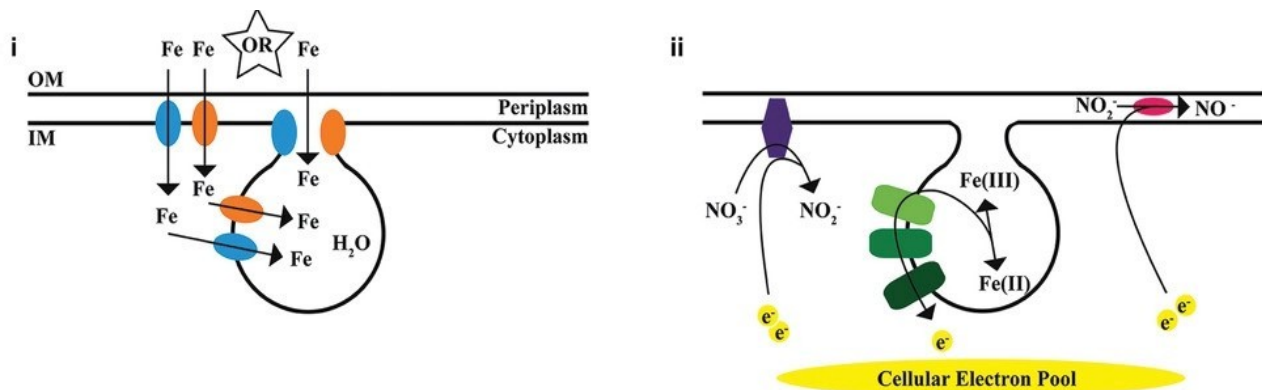


Figura 7. Mineralización de hierro intracelular por una bacteria magnetotáctica como *Magnetospirillum magneticulum*. i) Los transportadores de hierro como FeoB1 (azul) y FeoB2 (naranja) transportan hierro para la síntesis de magnetita. El hierro atraviesa la membrana interna hacia el citoplasma y posteriormente hacia la invaginación del magnetosoma, o se transporta directamente desde el periplasma al magnetosoma. ii) Los miembros de la cadena de transporte de magnetocromo (verde) movilizan electrones hacia/desde el hierro. Nap (violeta) y Nir (agenta) ayudan a reducir el nitrato/nitrito (Quin *et al.*, 2020).

Aunque muchas MTB son en realidad microaerófilas, de modo que pueden prosperar con niveles bajos de oxígeno, la absorción de hierro y, a su vez, la formación de magnetita no se inicia hasta que se alcanzan condiciones casi anaeróbicas en el medio circundante (Komeili, 2012).

4.3.2 Inicio de la cristalización y maduración de los cristales

Una vez que el hierro entra en la vesícula del magnetosoma, hay nucleación y maduración controlada del nanocristal de magnetita (Lefèvre y Bazylinski, 2013). Según Quin *et al.* (2020), las proteínas unidas al BacMP (Figura 8 - iii) inician la nucleación y también regulan la morfología de los cristales de magnetita.

La especificidad del hierro en el nanocristal mineral del magnetosoma parece ser muy alta. Sin embargo, hay varios informes de la presencia de otros iones de metales de transición en los nanocristales de magnetita y greigita en las MTB tanto cultivadas como sin cultivar, como son el titanio, el cobalto, el manganeso y el cobre (Lefèvre y Bazylinski, 2013).

4.3.3 Control de la forma del cristal

Las diferentes formas que se ven en varias especies de MTB implican que proteínas específicas, quizás dispuestas en una matriz definida, controlan la morfología final del mineral (Komeili, 2012).

Las proteínas relacionadas como *mms6*, *mamGFDC*, *msmS*, *mamT*, *mamR*, *mmsF* y *mamP* (Figura 8 - iii) promueven y regulan el crecimiento de los cristales de magnetita a su forma y tamaño correctos (Quin *et al.*, 2020).

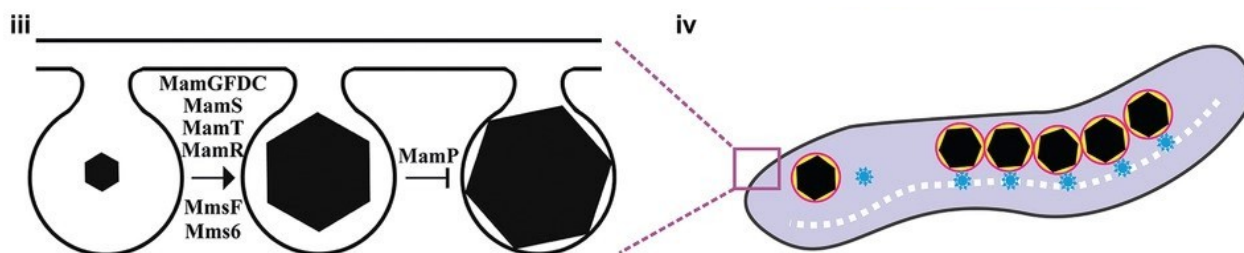


Figura 8. Mineralización de hierro intracelular por una bacteria magnetotáctica como *Magnetospirillum magneticulum*. iii) Diferentes proteínas con actividad redox participan en la regulación del tamaño y la forma de los cristales de magnetita. iv) Liberación de magnetosomas en el citoplasma y su alineación en cadenas mediante la interacción de *MamJ* (estrella azul) en la MM con un filamento *MamK* polimerizado (línea discontinua blanca) dentro del citoplasma (Quin *et al.*, 2020).

Una vez que los nanocristales de magnetita alcanzan un tamaño superior a 35 nm, se transforman en nanocristales magnéticos de SD. Este estado es fundamental para la capacidad de la cadena del magnetosoma para reorientar las células en los campos magnéticos (Komeili, 2012).

4.4 FORMACIÓN DE CADENAS DEL MAGNETOSOMA

Para funcionar como una brújula y orientar a la célula en los campos magnéticos, los magnetosomas individuales deben organizarse en cadenas en el citoplasma celular. En la mayoría de las MTB, los magnetosomas se organizan en una, dos o múltiples cadenas dentro de la célula, paralelas al eje de motilidad, que en la mayoría de los casos es el eje longitudinal de la célula (Lefèvre *et al.*, 2011; Yan *et al.*, 2012). Los agregados dispersos de magnetosomas se encuentran en algunas MTB, generalmente en un extremo de la célula (Cox *et al.*, 2002).

La literatura actual indica que la formación del ensamblaje de cadenas está mediada principalmente por dos proteínas, *MamK* y *MamJ* (Figura 8 – iv). *MamJ* (estrella azul) en la MM interacciona con un filamento *MamK* polimerizado (línea discontinua blanca) dentro del citoplasma (Quin *et al.*, 2020).

5 APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS Y NANOTECNOLÓGICAS DE LAS BACTERIAS MAGNETOTÁCTICAS

Las MTB y sus magnetosomas se han evaluado como herramientas biotecnológicas y nanotecnológicas en muchas aplicaciones (Vargas *et al.*, 2018). A continuación, describiremos brevemente los estudios en los que se emplearon:

5.1 BIORREMEDIACIÓN E INGENIERÍA AMBIENTAL

La contaminación del agua es una preocupación importante entre los problemas ambientales en todo el mundo (Yang *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2019). Más recientemente, la nanotecnología ha recibido una atención considerable debido a su alta eficiencia y bajo costo en la remediación de metales pesados, radionúclidos y contaminantes orgánicos (de Castro Alves *et al.*, 2019; Ranjan *et al.*, 2019). Las grandes áreas de superficie y las propiedades magnéticas de las nanopartículas magnéticas facilitan la adsorción de contaminantes y la separación de las aguas residuales, respectivamente (Ranjan *et al.*, 2019). Las MTB y los magnetosomas también pueden encontrar una amplia gama de posibles aplicaciones ambientales, debido a que las MTB muestran características prometedoras como alta abundancia, gran área de superficie específica, fácil operación y simple separación del contaminante del agua (Wang *et al.*, 2020).

5.1.1 Eliminación de metales pesados de aguas residuales:

Los metales pesados liberados en aguas naturales representan una amenaza tanto para los organismos como para los seres humanos (Nguyen *et al.*, 2019; Ranjan *et al.*, 2019). Mientras tanto, la creciente demanda de metales pesados conduce a su escasez en el entorno natural (Yang *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2019). Por tanto, es de gran importancia recuperar metales pesados de las aguas residuales para atenuar el efecto tóxico y reciclar elementos metálicos valiosos (Yang *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2019; Ranjan *et al.*, 2019). Varias tecnologías como la adsorción de carbón activado, el tratamiento electroquímico, el tratamiento fisicoquímico y los métodos biológicos se han aplicado ampliamente para abordar las aguas residuales de metales pesados (Jiang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2019). No obstante, la baja tasa de recuperación, las necesidades de reactivos tóxicos y costosos y la dificultad en el procesamiento restringen sus aplicaciones (Liu *et al.*, 2019).

Las MTB tienen una gran capacidad de bioadsorción de una amplia variedad de metales pesados en las aguas residuales (Tanaka *et al.*, 2009; Cai *et al.*, 2011): Au^{3+} , Cr^{6+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} y Hg^{2+} . Varios trabajos se enfocaron en evaluar la capacidad de remoción en aguas residuales que contienen más de un metal pesado (Wang *et al.*, 2020; Parisi *et al.*, 2019; Sannigrahi y Suthindhiran, 2019; Yang *et al.*, 2019).

5.1.2 Eliminación de radionúclidos de las aguas residuales:

Se ha demostrado que MTB con una alta afinidad por acumular radionúclidos elimina el radionúclido de las aguas residuales (Jacob y Suthindhiran, 2016; Wang y Zhuang, 2019). Las grandes superficies de

sulfuro de hierro producidas por MTB proporcionan una superficie de almacenamiento adecuada para radionúclidos (p. ej., Pu, Mn y Te) (Yan *et al.*, 2012; Wang y Zhuang, 2019).

5.1.3 Eliminación de contaminantes orgánicos de las aguas residuales:

Las MTB tiene una afinidad de unión natural hacia las materias orgánicas y pueden eliminar los contaminantes en el agua bajo un campo magnético (Ambashta y Sillanpaa, 2010; Vargas *et al.*, 2018). Por ejemplo, Ginet *et al.* (2011) utilizaron magnetosomas bacterianos funcionalizados extraídos de MTB para degradar el etilparaoxón, un pesticida organofosforado de uso común. Honda *et al.* (2015) inmovilizaron dos enzimas de proximidad (p. ej., endoglucanasa y b-glucosidasa) y un dominio de unión a celulosa en el magnetosoma para la degradación de la celulosa.

5.1.4 Otras aplicaciones medioambientales:

Otras aplicaciones ambientales relevantes relacionadas con MTB incluyen la detección de contaminantes, la recuperación química y la eliminación de patógenos (Tanaka *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2017). Por ejemplo, Tanaka *et al.* (2016) empleó *M. magnetum* AMB-1 para acumular y recuperar selenio elemental amorfo (Se) en un campo magnético externo. En otro estudio, *M. gryphiswaldense* fue manipulado genéticamente para sobreexpresar la polifosfato quinasa que aumenta la eliminación de fosfato de las aguas residuales (Zhou *et al.*, 2017).

5.2 ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS

En una revisión reciente, Martel (2017) analiza el uso de MTB cargadas de fármaco como “agentes terapéuticos inteligentes” para un sistema de administración eficiente que se dirige a un sitio u órgano específico del cuerpo. La ventaja de usar MTB para la administración de fármacos es que se puede usar un campo magnético aplicado para hacer que el fármaco alcance el objetivo específico en el organismo sin afectar otros tejidos (Vargas *et al.*, 2018). Los magnetosomas parecen ser probados y utilizados preferentemente en cualquier aplicación biomédica porque estas estructuras no podrán multiplicarse, causar infección ni producir una respuesta inmunológica severa, ya que la MM no tiene el lipopolisacárido de la ME de la pared celular gram-negativa conocida por actuar como endotoxina (Lüderitz *et al.*, 2016; Wang y Quinn, 2010).

5.3 ADMINISTRACIÓN DE GENES

También se han empleado magnetosomas en la administración de genes para mejorar el tratamiento del cáncer mediado por fármacos. Wang *et al.* (2018) describieron recientemente una estrategia para el tratamiento del carcinoma hepatocelular humano (células HepG2) en la que los magnetosomas se funcionalizaron con el plásmido pVAX1-VA que codifica dos moléculas antitumorales, cecropina B y apoptina. Este enfoque dio como resultado la administración eficiente de pVAX1-VA en las células HepG2 y aumentó la inhibición

tumoral *in vivo* al mejorar la permeabilidad de la membrana y la regulación positiva de las caspasas.

5.4 SEPARACIÓN CELULAR

En 1987, Matsunaga y Kamiya demostraron que los magnetosomas podían introducirse en los glóbulos rojos de la sangre (RBC) mediante fusión celular utilizando polietilenglicol. La MTB también se ha utilizado para separar leucocitos en función de su perfil de fagocitosis (Matsunaga *et al.*, 1989).

También se ha logrado la separación de células magnéticas mediante magnetosomas y anticuerpos específicos. Por ejemplo, Yoshino *et al.* (2008) diseñaron magnetosomas reconstruidos que expresan la proteína A de unión a anticuerpos en su superficie para la separación celular.

Takahashi *et al.* (2010) desarrollaron una nanopartícula magnética multifuncional con la introducción de un puente polipeptídico que consta de unidades repetidas de residuos de asparagina y serina (polipéptido NS) y el dominio A de la proteína de unión a Ig G. El polipéptido se unió a la superficie de los magnetosomas mediante la fusión genética del gen que codifica el polipéptido con el gen *mamC*, así como el que codifica la proteína G. El polipéptido NS funcionó como una barrera para evitar la interacción entre los magnetosomas que podría conducir a su agregación. Además, esta barrera polipeptídica previno interacciones inespecíficas entre magnetosomas y células del sistema inmunológico, por ejemplo, macrófagos y linfocitos T. En última instancia, los magnetosomas se unieron a anticuerpos para separar magnéticamente las células de la sangre periférica. El nuevo complejo mostró características superiores de especificidad y dispersabilidad (Takahashi *et al.*, 2010).

5.5 SEGURIDAD ALIMENTARIA

Se han utilizado magnetosomas funcionalizados para detectar eficazmente patógenos en los alimentos. Por ejemplo, Xu *et al.* (2014) construyeron un sistema de captura con el magnetosoma recombinante aislado de células de la cepa MSR-1 de *M. gryphiswaldense* en el que el gen de la proteína A se fusionó con el gen *mamC*. El complejo se unió a un anticuerpo específico para capturar *Vibrio parahaemolyticus*, un patógeno que causa muchas enfermedades gastrointestinales transmitidas por los alimentos.

En una aplicación similar, Li *et al.* (2010) crearon un complejo magnetosoma-anticuerpo policlonal para capturar células de especies de *Salmonella* de los alimentos. Sin embargo, en lugar de utilizar técnicas de ingeniería genética, se empleó el reactivo de reticulación bis (sulfosuccinimidil) suberato (BS3) para la unión de anticuerpos específicos sobre la superficie de los magnetosomas.

5.6 ENSAYOS DE DETECCIÓN /RECUPERACIÓN DE ADN Y ANTÍGENOS

Los magnetosomas se utilizaron con éxito como componente en ensayos de detección de proteínas. Los grupos de biotina acoplados a la MM se utilizaron para la unión de la proteína estreptavidina. Estas partículas compuestas semisintéticas

con una capacidad de unión a biotina específica podrían usarse para unir varias biomoléculas funcionales, como oligonucleótidos de ADN biotinilados o anticuerpos biotinilados. Esta tecnología puede ser importante para mejorar el diagnóstico inmunológico y la investigación de proteomas (Liu *et al.*, 2010). Siguiendo esta tecnología, se creó una modificación en una inmuno-PCR de alta sensibilidad (M-IPCR) automatizable utilizando magnetosomas funcionalizados con anticuerpos en un inmunoensayo independiente de la superficie para la inmovilización de HBsAg (antígeno de la hepatitis B) en suero humano y la mejora de la señal generada por el complejo de detección mediante concentración magnética (Vargas *et al.*, 2018).

5.7 AGENTES DE CONTRASTE DE RESONANCIA MAGNÉTICA

Herborn *et al.* (2003) caracterizaron los magnetosomas como agentes de contraste SP para la formación de imágenes por resonancia magnética (IRM) en cultivos celulares y modelos animales. Después de esto, el uso potencial de magnetosomas como agentes de contraste de IRM se demostró en varios modelos celulares, incluidas células pancreáticas (Lee *et al.*, 2010), células cerebrales (Orlando *et al.*, 2016; Boucher *et al.*, 2017), células de mamíferos (Goldhawk *et al.*, 2017), células de tumores de xenoinjerto (Boucher *et al.*, 2017; Xiang *et al.*, 2017) y células de cáncer de mama (Xiang *et al.*, 2017). En casi todos los casos, los magnetosomas demostraron ser herramientas muy prometedoras para la detección y el tratamiento de tumores mediante hipertermia. Las principales ventajas del uso de magnetosomas fueron que se podía usar una dosis relativamente baja (Mériaux *et al.*, 2015) y la alta afinidad de los magnetosomas por las células diana debido a proteínas específicas unidas a la superficie de los magnetosomas (Xiang *et al.*, 2017).

Recientemente, Kraupner *et al.* (2017) compararon el uso de magnetosomas como un material trazador magnético en una nueva tecnología de diagnóstico por imagen llamada imágenes de partículas magnéticas (MPI), para el uso del oro trazador comercial estándar Resovist®. Los resultados mostraron un aumento significativo en la detección de partículas y, en consecuencia, una mejora en la resolución de la técnica cuando se aplicaron magnetosomas (Kraupner *et al.*, 2017).

5.8 HIPERTERMIA MAGNÉTICA

El uso de la hipertermia en el tratamiento de cánceres es atractivo porque no tiene los efectos secundarios tóxicos y, por lo tanto, es menos restrictivo que la quimioterapia y la radioterapia, e incluso podría usarse en combinación con estas terapias aumentando así la eficiencia del tratamiento (Moroz *et al.*, 2002). En el procedimiento de hipertermia, las células tumorales se destruyen y el tumor se reduce de tamaño o se elimina por completo aumentando la temperatura dentro del tumor, típicamente dentro del rango de 37 a 45 °C (Cheng *et al.*, 2016; Alphandéry *et al.*, 2017; Mathuriya, 2016). Las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas (SION) son nanopartículas sintetizadas artificialmente que se utilizan para la hipertermia y, a menudo, tienen una eficacia limitada por la incapacidad de colocarlas específica y exclusivamente dentro del tejido tumoral objetivo. Como resultado, SION conlleva un alto riesgo de efectos secundarios cuando se introduce en un organismo (Alphandéry *et al.*, 2018). Debido a la membrana lipídica que rodea a los magnetosomas es posible unir proteínas que

reconocen células y tejidos específicos en el organismo. Por lo tanto, cualquier tratamiento que utilice magnetosomas como sistemas de administración o en la hipertermia podría ser selectivo para los tejidos dañados o cancerosos (Mathuriya, 2016; Yoshino *et al.*, 2018). Por tanto, los magnetosomas se consideran una excelente alternativa a la SION en las terapias de hipertermia. Además, el uso de un campo magnético alterno también tiene el potencial de controlar la liberación de fármacos de los magnetosomas funcionalizados (Alphandéry *et al.*, 2018).

5.9 INMOVILIZACIÓN DE ENZIMAS

Las nanopartículas magnéticas, incluidos los magnetosomas, se han empleado como material de soporte para la inmovilización de enzimas, principalmente debido a la simplicidad del proceso de recuperación por separación magnética (Johnson *et al.*, 2011).

Ginet *et al.* (2011) informaron de la expresión de una organofosfohidrolasa de *Flavobacterium sp* fusionado con *MamC* para la degradación del paraoxon, un pesticida tóxico pero de uso común. Este complejo de proteínas mostró que tenía una tasa de actividad de degradación de paraoxón similar a la de la organofosfohidrolasa purificada.

Honda *et al.* (2015) exploraron el uso potencial de complejos enzimáticos magnetosomas en la producción de biocombustibles. En este trabajo, se construyó un complejo de múltiples enzimas en la superficie de los magnetosomas. El complejo comprendía péptidos de adherencia fusionados genéticamente a *MamC* a través de un puente peptídico, que, a su vez, se usaba para unir las enzimas endoglucanasa y beta-oxidasa.

6 DISCUSIÓN Y ANÁLISIS CRÍTICO

Varios años después del descubrimiento y descripción de las MTB y sus magnetosomas por Blakemore (1975), muchos investigadores se interesaron en su uso potencial en aplicaciones biotecnológicas y nanotecnológicas debido a sus propiedades magnéticas, físicas y ópticas. Los resultados obtenidos en muchos de los estudios, algunos narrados aquí, demuestran varias ventajas del uso de magnetosomas y cristales de magnetita en una serie de aplicaciones biotecnológicas y nanotecnológicas. Estas ventajas incluyen: (i) forma y tamaño uniformes de las partículas; (ii) alta pureza química; (iii) propiedades magnéticas únicas (son dominios magnéticos únicos, SD); (iv) una aparente baja toxicidad; y (v) la posibilidad de bioingeniería y funcionalización debido a la MM. Los avances en la comprensión de la biomineralización de la magnetita y el desarrollo de diferentes métodos para su funcionalización han aumentado enormemente el potencial de los magnetosomas en muchas aplicaciones adicionales. Los avances en la biología molecular y la genética implicados en la biomineralización de la magnetita dieron como resultado numerosos protocolos y tecnologías de ADN recombinante para funcionalizar los magnetosomas, mejorando así su uso en biomedicina, biorremediación e ingeniería ambiental. Además, muchos avances recientes en el cultivo de MTB, particularmente después de 2013, parecen haber tenido un impacto significativo en el uso de magnetosomas en aplicaciones biotecnológicas. Asimismo, la capacidad de transferir los

genes para la biomineralización de la magnetita a otros microorganismos muy probablemente conducirá a métodos de producción y purificación de magnetosomas más baratos y menos costosos, promoviendo así el uso de magnetosomas en aplicaciones biotecnológicas y nanotecnológicas (Vargas *et al.*, 2018). Por último, las mejoras en la modificación química de los magnetosomas probablemente también darán lugar al desarrollo de nuevas nanopartículas basadas en magnetosomas útiles en medicina, como sensores, y en la formación de imágenes. Dado que ahora hemos llegado al punto en el que MTB y magnetosomas se están probando en numerosas aplicaciones biomédicas, biotecnológicas y nanotecnológicas como se muestra y describe en esta revisión (Figura 9), ahora es necesario comprender completamente los efectos de la introducción de MTB y magnetosomas en células y organismos hospedadores. Otras áreas que deben investigarse son las funciones de MTB en la absorción de metales pesados y el procesamiento de metales en la biomineralización de magnetita para evaluar completamente el potencial y el impacto de MTB en la biorremediación. Ahora está muy claro que las MTB no solo han demostrado tener un impacto significativo en la biogeoquímica ambiental, sino también en la biotecnología aplicada, la nanotecnología y la medicina.

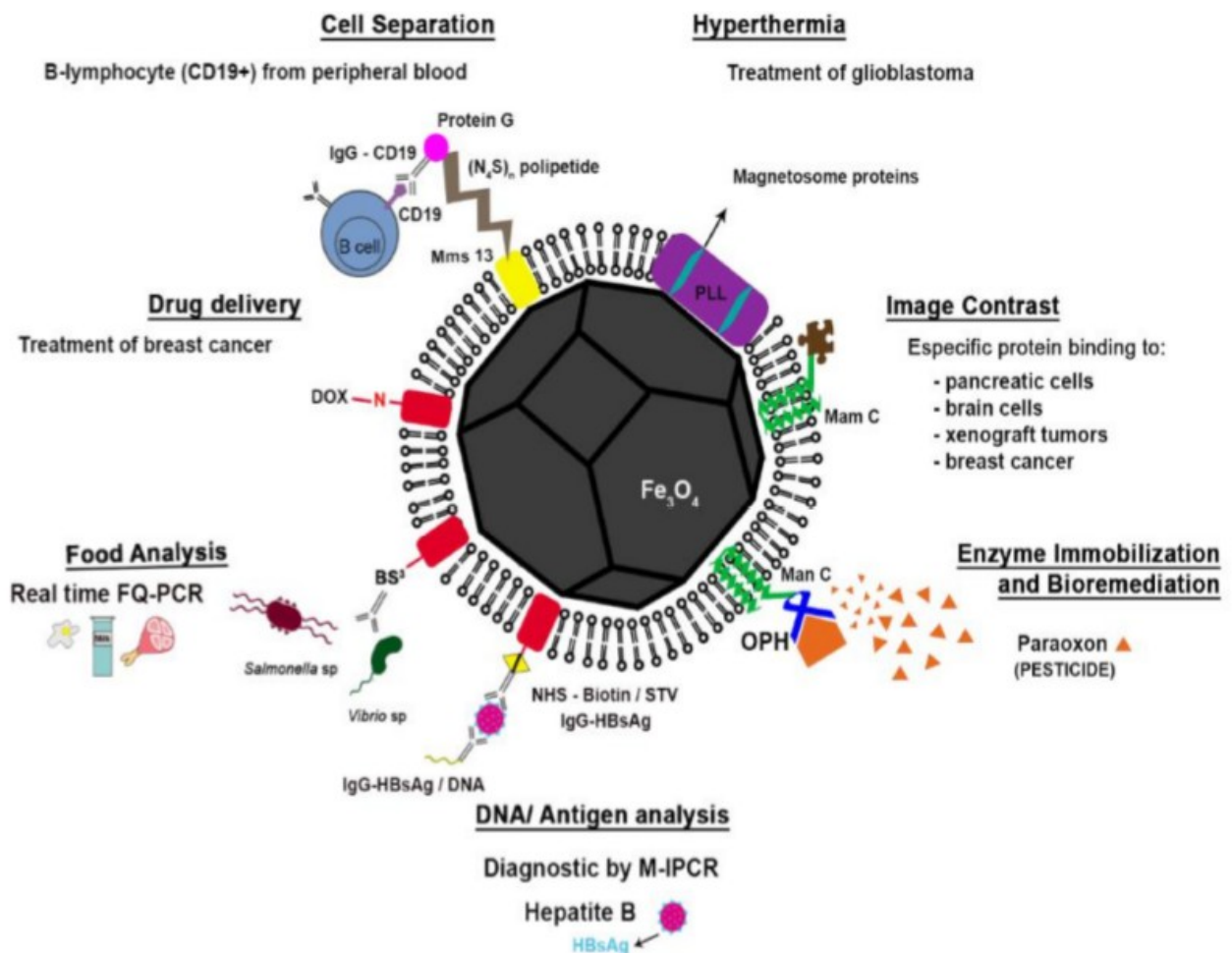


Figura 9. Representación esquemática de un magnetosoma funcionalizado de acuerdo con cada aplicación descrita en esta revisión (biorremediación e ingeniería ambiental, separación celular; hipertermia magnética, administración de fármacos y de genes, contraste de imágenes por resonancia magnética, seguridad alimentaria, inmovilización de enzimas y recuperación/detección de ADN y antígenos) (Vargas *et al.*, 2018).

7 CONCLUSIONES

Las MTB, procariotas acuáticas dirigidas por los campos geomagnéticos de la Tierra, son las responsables de la biomineralización de unos orgánulos únicos y especiales denominados magnetosomas. Estos orgánulos magnéticos están compuestos de nanocristales de óxido de hierro, magnetita (Fe_3O_4), o de sulfuro de hierro, greigita (Fe_3S_4), dependiendo de la especie.

El empleo de magnetosomas y de sus cristales de magnetita conlleva una serie de ventajas en una serie de aplicaciones biotecnológicas y nanotecnológicas: la forma y el tamaño uniformes de las partículas, su alta pureza química, las propiedades magnéticas únicas (son dominios magnéticos únicos, SD), una aparente baja toxicidad, y la posibilidad de bioingeniería y funcionalización debido a la MM.

Las aplicaciones que utilizan MTB productoras de magnetita, magnetosomas de magnetita y/o cristales de magnetita incluyen e/o involucran la biorremediación e ingeniería ambiental, separación celular, recuperación/detección de ADN y antígenos, administración de fármacos, administración de genes, seguridad alimentaria, inmovilización de enzimas, hipertermia magnética y mejora del contraste de las imágenes por resonancia magnética.

Por último, los avances en la biología molecular y la genética implicados en la biomineralización de la magnetita, y las mejoras en la modificación química de los magnetosomas darán lugar al desarrollo de nuevas nanopartículas magnéticas y seguir promoviendo así el uso de magnetosomas en aplicaciones biomédicas, biotecnológicas y nanotecnológicas.

7.1 CONCLUSIÓN

Os MTB, procariotas acuáticas dirixidos polos campos xeomagnéticos da Terra, son responsables da biomineralización de orgánulos únicos e especiais chamados magnetosomas. Estes orgánulos magnéticos están compostos por nanocristais de óxido de ferro, magnetita (Fe_3O_4) ou de sulfuro de ferro, greigita (Fe_3S_4), dependendo da especie.

O uso de magnetosomas e os seus cristais de magnetita implica unha serie de vantaxes en varias aplicacións biotecnolóxicas e nanotecnolóxicas: a forma e tamaño uniformes das partículas, a súa alta pureza química, as propiedades magnéticas únicas (son dominios magnéticos únicos, SD), unha aparente baixa toxicidade e a posibilidade de bioenxeñaría e funcionalización debido a MM.

As aplicacións que utilizan MTB que producen magnetita, magnetosomas de magnetita e / ou cristais de magnetita inclúen e / ou implican bioremediación e enxeñaría ambiental, separación celular, recuperación / detección de ADN e antíxenos, entrega de medicamentos, entrega de xenos, seguridade alimentaria, inmovilización de encimas, hipertermia magnética e mellora do contraste das imaxes de resonancia magnética.

Finalmente, os avances en bioloxía molecular e xenética implicados na biomineralización da magnetita e as melloras na modificación química dos magnetosomas levarán ao desenvolvemento de novas nanopartículas magnéticas e, así, seguirán promovendo o uso de magnetosomas en aplicacións biomédicas, biotecnoloxía e nanotecnoloxía.

7.2 CONCLUSIONS

MTBs, aquatic prokaryotes directed by the Earth's geomagnetic fields, are responsible for the biomineralization of unique and special organelles called magnetosomes. These magnetic organelles are composed of nanocrystals of iron oxide, magnetite (Fe_3O_4), or of iron sulfide, greigite (Fe_3S_4), depending on the species.

The use of magnetosomes and their magnetite crystals entails a number of advantages in a number of biotechnological and nanotechnological applications: the uniform shape and size of the particles, their high chemical purity, the unique magnetic properties (they are unique magnetic domains, SD), an apparent low toxicity, and the possibility of bioengineering and functionalization due to MM.

Applications using magnetite producing MTBs, magnetite magnetosomes and / or magnetite crystals include and / or involve bioremediation and environmental engineering, cell separation, DNA and antigen recovery / detection, drug delivery, gene delivery, food safety, immobilization of enzymes, magnetic hyperthermia and enhancement of the contrast of magnetic resonance images.

Finally, advances in molecular biology and genetics involved in the biomineralization of magnetite, and improvements in the chemical modification of magnetosomes will lead to the development of new magnetic nanoparticles and thus continue to promote the use of magnetosomes in biomedical applications, biotechnology and nanotechnology.

8 BIBLIOGRAFÍA

- Alphandéry, E., Abi Haidar, D., Seksek, O., Guyot, F., & Chebbi, I. (2018). Fluorescent magnetosomes for controlled and repetitive drug release under the application of an alternating magnetic field under conditions of limited temperature increase (< 2.5° C). *Nanoscale*, 10 (23), 10918-10933.
- Ambashta, R. D., & Sillanpää, M. (2010). Water purification using magnetic assistance: a review. *Journal of hazardous materials*, 180 (1-3), 38-49.
- Barber-Zucker, S., & Zarivach, R. (2017). A look into the biochemistry of magnetosome biosynthesis in magnetotactic bacteria. *ACS chemical biology*, 12 (1), 13-22.
- Bazylinski, D. A., & Frankel, R. B. (2004). Magnetosome formation in prokaryotes. *Nature Reviews Microbiology*, 2 (3), 217-230.
- Bellini S. (2009). Further studies on “magnetosensitive bacteria.” *Revista China de Oceanología y Limnología*, 27:6–12.
- Blakemore, R. (1975). Magnetotactic bacteria. *Science*, 190(4212), 377-379.
- Boucher, M., Geffroy, F., Prévéral, S., Bellanger, L., Selingue, E., Adryanczyk-Perrier, G., ... & Mériaux, S. (2017). Genetically tailored magnetosomes used as MRI probe for molecular imaging of brain tumor. *Biomaterials*, 121, 167-178.
- Byrne, M. E., Ball, D. A., Guerquin-Kern, J. L., Rouiller, I., Wu, T. D., Downing, K. H., ... & Komeili, A. (2010). *Desulfovibrio magneticus* RS-1 contains an iron-and phosphorus-rich organelle distinct from its bullet-shaped magnetosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107 (27), 12263-12268.
- Cheng, L., Ke, Y., Yu, S., & Jing, J. (2016). Co-delivery of doxorubicin and recombinant plasmid pHSP70-Plk1-shRNA by bacterial magnetosomes for osteosarcoma therapy. *International journal of nanomedicine*, 11, 5277.
- Cai, F., Li, J., Sun, J., & Ji, Y. (2011). Biosynthesis of gold nanoparticles by biosorption using *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1. *Chemical Engineering Journal*, 175, 70-75.
- Cox, B. L., Popa, R., Bazylinski, D. A., Lanoil, B., Douglas, S., Belz, A., ... & Nealson, K. H. (2002). Organization and elemental analysis of P-, S-, and Fe-rich inclusions in a population of freshwater magnetococci. *Geomicrobiology Journal*, 19 (4), 387-406.
- de Castro Alves, L., Yáñez-Vilar, S., Piñeiro-Redondo, Y., & Rivas, J. (2019). Novel magnetic nanostructured beads for cadmium (II) removal. *Nanomaterials*, 9 (3), 356.
- Felfoul, O., Mohammadi, M., Taherkhani, S., De Lanauze, D., Xu, Y. Z., Loghin, D., ... & Martel, S. (2016). Magneto-aerotactic bacteria deliver drug-containing nanoliposomes to tumour hypoxic regions. *Nature nanotechnology*, 11 (11), 941-947.
- Frankel, R. B., Bazylinski, D. A., Johnson, M. S., & Taylor, B. L. (1997). Magnetoaerotaxis in marine coccoid bacteria. *Biophysical journal*, 73 (2), 994-1000.

- Freitas, F., Keim, C. N., Kachar, B., Farina, M., & Lins, U. (2003). Envelope ultrastructure of uncultured naturally occurring magnetotactic cocci. *FEMS microbiology letters*, 219 (1), 33-38.
- Ginet, N., Pardoux, R., Adryanczyk, G., Garcia, D., Brutesco, C., & Pignol, D. (2011). Single-step production of a recyclable nanobiocatalyst for organophosphate pesticides biodegradation using functionalized bacterial magnetosomes. *PLoS One*, 6 (6), e21442.
- Goldhawk, D. E., Gelman, N., Thompson, R. T., & Prato, F. S. (2017). Forming magnetosome-like nanoparticles in mammalian cells for molecular MRI. In *Design and applications of nanoparticles in biomedical imaging* (pp. 187-203). Springer, Cham.
- Guerrero, R., & Berlanga, M. (2000). Bacterias magnetotáticas, hoy y hace 3800 millones de años. *Actualidad SEM* (29), 29, 14-20.
- Herborn, C. U., Papanikolaou, N., Reszka, R., Grünberg, K., Schüler, D., & Debatin, J. F. (2003). Magnetosomes as biological model for iron binding: relaxivity determination with MRI. In *RöFo-Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren* (Vol. 175, No. 6, pp. 830-834). Thieme.
- Honda, T., Tanaka, T., & Yoshino, T. (2015). Stoichiometrically controlled immobilization of multiple enzymes on magnetic nanoparticles by the magnetosome display system for efficient cellulose hydrolysis. *Biomacromolecules*, 16 (12), 3863-3868.
- Jacob, J. J., & Suthindhiran, K. (2016). Magnetotactic bacteria and magnetosomes—Scope and challenges. *Materials Science and Engineering: C*, 68, 919-928.
- Jiang, Q., Chen, J., Yang, C., Yin, Y., & Yao, K. (2019). Quorum sensing: a prospective therapeutic target for bacterial diseases. *BioMed Research International*, 2019.
- Katzmann, E., Scheffel, A., Gruska, M., Pitzko, J. M., & Schüler, D. (2010). Loss of the actin-like protein MamK has pleiotropic effects on magnetosome formation and chain assembly in *Magnetospirillum gryphiswaldense*. *Molecular microbiology*, 77 (1), 208-224.
- Kolinko, S., Richter, M., Glöckner, F. O., Brachmann, A., & Schüler, D. (2016). Single-cell genomics of uncultivated deep-branching magnetotactic bacteria reveals a conserved set of magnetosome genes. *Environmental microbiology*, 18 (1), 21-37.
- Komeili, A. (2012). Molecular mechanisms of compartmentalization and biomineralization in magnetotactic bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 36 (1), 232-255.
- Krapfner, A., Eberbeck, D., Heinke, D., Uebe, R., Schüler, D., & Briel, A. (2017). Bacterial magnetosomes—nature's powerful contribution to MPI tracer research. *Nanoscale*, 9 (18), 5788-5793.
- Lefèvre, C. T., Abreu, F., Schmidt, M. L., Lins, U., Frankel, R. B., Hedlund, B. P., & Bazylinski, D. A. (2010). Moderately thermophilic magnetotactic bacteria from hot springs in Nevada. *Applied and environmental microbiology*, 76 (11), 3740-3743.

- Lefèvre, C. T., & Bazylinski, D. A. (2013). Ecology, diversity, and evolution of magnetotactic bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77 (3), 497-526.
- Lefèvre, C. T., Frankel, R. B., Abreu, F., Lins, U., & Bazylinski, D. A. (2011). Culture independent characterization of a novel, uncultivated magnetotactic member of the Nitrospirae phylum. *Environmental Microbiology*, 13 (2), 538-549.
- Lefèvre, C. T., Menguy, N., Abreu, F., Lins, U., Pósfai, M., Prozorov, T., ... & Bazylinski, D. A. (2011). A cultured greigite-producing magnetotactic bacterium in a novel group of sulfate-reducing bacteria. *Science*, 334 (6063), 1720-1723.
- Lefèvre, C. T., Trubitsyn, D., Abreu, F., Kolinko, S., Jogler, C., de Almeida, L. G. P., ... & Ginet, N. (2013). Comparative genomic analysis of magnetotactic bacteria from the D eltaproteobacteria provides new insights into magnetite and greigite magnetosome genes required for magnetotaxis. *Environmental microbiology*, 15 (10), 2712-2735.
- Li, Q., Chen, H., Feng, X., Yu, C., Feng, F., Chai, Y., ... & Yao, L. (2019). Nanoparticle-Regulated Semiartificial Magnetotactic Bacteria with Tunable Magnetic Moment and Magnetic Sensitivity. *Small*, 15 (15), 1900427.
- Li, A., Zhang, H., Zhang, X., Wang, Q., Tian, J., Li, Y., & Li, J. (2010). Rapid separation and immunoassay for low levels of Salmonella in foods using magnetosome-antibody complex and real-time fluorescence quantitative PCR. *Journal of separation science*, 33 (21), 3437-3443.
- Lin, W., Wang, Y., Gorby, Y., Nealson, K., & Pan, Y. (2013). Integrating niche-based process and spatial process in biogeography of magnetotactic bacteria. *Scientific reports*, 3 (1), 1-9.
- Lins, U., Keim, C. N., Evans, F. F., Farina, M., & Buseck, P. R. (2007). Magnetite (Fe₃O₄) and greigite (Fe₃S₄) crystals in multicellular magnetotactic prokaryotes. *Geomicrobiology Journal*, 24 (1), 43-50.
- Liu, L. X., Chen, W., Zhang, H. B., Wang, Q. W., Guan, F., & Yu, Z. Z. (2019). Flexible and multifunctional silk textiles with biomimetic leaf-like MXene/silver nanowire nanostructures for electromagnetic interference shielding, humidity monitoring, and self-derived hydrophobicity. *Advanced Functional Materials*, 29 (44), 1905197.
- Liu, Y., Li, G. R., Guo, F. F., Jiang, W., Li, Y., & Li, L. J. (2010). Large-scale production of magnetosomes by chemostat culture of *Magnetospirillum gryphiswaldense* at high cell density. *Microbial cell factories*, 9 (1), 1-8.
- Lower, B. H., & Bazylinski, D. A. (2013). The bacterial magnetosome: a unique prokaryotic organelle. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 23 (1-2), 63-80.
- Lüderitz, O. T. T. O., Westphal, O. T. T. O., Staub, A. M., & Nikaido, H. I. R. O. S. H. I. (2016). Isolation and chemical and immunological characterization of bacterial lipopolysaccharides. *Microbial toxins*, 4, 145-233.
- Martel, S. (2017). Dirigirse a las células cancerosas activas con balas inteligentes. *Entrega terapéutica*, 8 (5), 301-312.

- Mathuriya, A. S. (2016). Magnetotactic bacteria: nanodrivers of the future. *Critical reviews in biotechnology*, 36 (5), 788-802.
- Matsunaga, T., & Kamiya, S. (1987). Introduction of bacterial magnetic particles into red blood cells with cell fusion. In *Proceedings of the 6th International Conference on Biomagnetisms, Toyko, Japan* (pp. 27-30).
- Matsunaga, T., Hashimoto, K., Nakamura, N., Nakamura, K., & Hashimoto, S. (1989). Phagocytosis of bacterial magnetite by leucocytes. *Applied microbiology and biotechnology*, 31 (4), 401-405.
- Mériaux, S., Boucher, M., Marty, B., Lalatonne, Y., Prévéral, S., Motte, L., ... & Ginet, N. (2015). Magnetosomes, biogenic magnetic nanomaterials for brain molecular imaging with 17.2 T MRI scanner. *Advanced healthcare materials* 4 (7), 1076-1083.
- Moroz, P., Jones, S. K., & Gray, B. N. (2002). Magnetically mediated hyperthermia: current status and future directions. *International Journal of Hyperthermia*, 18 (4), 267-284.
- Moskowitz, B. M., Bazylinski, D. A., Egli, R., Frankel, R. B., & Edwards, K. J. (2008). Magnetic properties of marine magnetotactic bacteria in a seasonally stratified coastal pond (Salt Pond, MA, USA). *Geophysical Journal International*, 174 (1), 75-92.
- Murat, D., Quinlan, A., Vali, H., & Komeili, A. (2010). Comprehensive genetic dissection of the magnetosome gene island reveals the step-wise assembly of a prokaryotic organelle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107 (12), 5593-5598.
- Müller, F. D., Schüler, D., & Pfeiffer, D. (2020). A compass to boost navigation: cell biology of bacterial magnetotaxis. *Journal of Bacteriology*, 202 (21), e00398-20.
- Nguyen, N. T., Nguyen, T. H., Pham, T. N. H., Huy, N. T., Bay, M. V., Pham, M. Q., ... & Ngo, S. T. (2019). Autodock vina adopts more accurate binding poses but autodock4 forms better binding affinity. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 60 (1), 204-211.
- Orlando, T., Mannucci, S., Fantechi, E., Conti, G., Tambalo, S., Busato, A., ... & Sbarbati, A. (2016). Characterization of magnetic nanoparticles from *Magnetospirillum gryphiswaldense* as potential theranostics tools. *Contrast media & molecular imaging*, 11 (2), 139-145.
- Parisi, G. I., Kemker, R., Part, J. L., Kanan, C., & Wermter, S. (2019). Continual lifelong learning with neural networks: A review. *Neural Networks*, 113, 54-71.
- Qin, W., Wang, C. Y., Ma, Y. X., Shen, M. J., Li, J., Jiao, K., ... & Niu, L. N. (2020). Microbe-Mediated Extracellular and Intracellular Mineralization: Environmental, Industrial, and Biotechnological Applications. *Advanced Materials*, 32 (22), 1907833.
- Ranjan, S., Polash, S. A., Boath, J., Kandjani, A. E., Poddar, A., Dekiwadia, C., ... & Bhargava, S. K. (2019). Functionalization of elongated tetrahedral Au nanoparticles and their antimicrobial activity assay. *ACS applied materials & interfaces*, 11 (14), 13450-13459.

- Raschdorf, O., Forstner, Y., Kolinko, I., Uebe, R., Pitzko, J. M., & Schüler, D. (2016). Genetic and ultrastructural analysis reveals the key players and initial steps of bacterial magnetosome membrane biogenesis. *PLoS genetics*, *12* (6), e1006101.
- Takahashi, M., Yoshino, T., & Matsunaga, T. (2010). Surface modification of magnetic nanoparticles using asparagines-serine polypeptide designed to control interactions with cell surfaces. *Biomaterials*, *31* (18), 4952-4957.
- Tanaka, M., Knowles, W., Brown, R., Hondow, N., Arakaki, A., Baldwin, S., ... & Matsunaga, T. (2016). Biomagnetic recovery and bioaccumulation of selenium granules in magnetotactic bacteria. *Applied and environmental microbiology*, *82* (13), 3886-3891.
- Vargas, G., Cypriano, J., Correa, T., Leão, P., Bazylnski, D. A., & Abreu, F. (2018). Applications of magnetotactic bacteria, magnetosomes and magnetosome crystals in biotechnology and nanotechnology: mini-review. *Molecules*, *23* (10), 2438.
- Wang, X., Li, Y., Zhao, J., Yao, H., Chu, S., Song, Z., ... & Zhang, W. (2020). Magnetotactic bacteria: Characteristics and environmental applications. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, *14* (4), 1-14.
- Wang, X., & Quinn, P. J. (2010). Endotoxins: lipopolysaccharides of gram-negative bacteria. In *Endotoxins: structure, function and recognition* (pp. 3-25).
- Wang, X., Wang, J. G., Geng, Y. Y., Wang, J. J., Zhang, X. M., Yang, S. S., ... & Liu, W. Q. (2018). An enhanced anti-tumor effect of apoptin-cecropin B on human hepatoma cells by using bacterial magnetic particle gene delivery system. *Biochemical and biophysical research communications*, *496* (2), 719-725.
- Wang, J., & Zhuang, S. (2019). Removal of cesium ions from aqueous solutions using various separation technologies. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *18* (2), 231-269.
- Werckmann, J., Cypriano, J., Lefèvre, C. T., Dembelé, K., Ersen, O., Bazylnski, D. A., ... & Farina, M. (2017). Localized iron accumulation precedes nucleation and growth of magnetite crystals in magnetotactic bacteria. *Scientific reports*, *7* (1), 1-10.
- Xiang, Z., Yang, X., Xu, J., Lai, W., Wang, Z., Hu, Z., ... & Fang, Q. (2017). Tumor detection using magnetosome nanoparticles functionalized with a newly screened EGFR/HER2 targeting peptide. *Biomaterials*, *115*, 53-64.
- Xu, J., Hu, J., Liu, L., Li, L., Wang, X., Zhang, H., ... & Li, J. (2014). Surface expression of protein A on magnetosomes and capture of pathogenic bacteria by magnetosome/antibody complexes. *Frontiers in microbiology*, *5*, 136.
- Yang, Y., He, S., & Gu, N. (2019). The operons and genes related to magnetosome biogenesis in magnetotactic bacteria. *Chinese Science Bulletin*, *65* (6), 463-474.
- Yan, L., Zhang, S., Chen, P., Liu, H., Yin, H., & Li, H. (2012). Magnetotactic bacteria, magnetosomes and their application. *Microbiological research*, *167* (9), 507-519.

- Yoshino, T., Hirabe, H., Takahashi, M., Kuhara, M., Takeyama, H., & Matsunaga, T. (2008). Magnetic cell separation using nano-sized bacterial magnetic particles with reconstructed magnetosome membrane. *Biotechnology and bioengineering*, 101 (3), 470-477.
- Yoshino, T., Maeda, Y., & Matsunaga, T. (2010). Bioengineering of bacterial magnetic particles and their applications in biotechnology. *Recent patents on biotechnology*, 4 (3), 214-225.
- Yoshino, T., Shimada, T., Ito, Y., Honda, T., Maeda, Y., Matsunaga, T., & Tanaka, T. (2018). Biosynthesis of thermoresponsive magnetic nanoparticles by magnetosome display system. *Bioconjugate chemistry*, 29 (5), 1756-1762.
- Zhou, Y., Lisowski, W., Zhou, Y., Jern, N. W., Huang, K., & Fong, E. (2017). Genetic improvement of *Magnetospirillum gryphiswaldense* for enhanced biological removal of phosphate. *Biotechnology letters*, 39 (10), 1509-1514.