

**©ВИЗНАЧЕННЯ ГЕНОТОКСИЧНОСТІ НАНОКОМПОЗИТІВ З
ВИКОРИСТАННЯМ БІОСЕНСОРА SOS-ТИПУ**

М. В. САВЧУК, молодший науковий співробітник
М. І. ФЕДЕЛЕШ-ГЛАДИНЕЦЬ, кандидат сільськогосподарських наук, доцент
кафедри молекулярної біології, мікробіології та біобезпеки
М. Ф. СТАРОДУБ, доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри
молекулярної біології, мікробіології та біобезпеки
**Національний університет біоресурсів і природокористування
України**

E-mail: TaranMaruna@gmail.com, nfstarodub@gmail.com

Анотація. *Останніми роками в Україні та світі спостерігається стрімкий розвиток нової галузі науки – нанотехнології. Завдяки своїм розмірам, формам і властивостям наночастинки широко використовуються в медицині, харчовій промисловості, машинобудуванні, сільському господарстві. Хоча наноматеріали мають багато позитивних властивостей, учені попереджають і про їхню небезпечність для живих організмів, тому перед використанням наноматеріалів обов'язковим є вивчення їхніх біологічних ефектів. Біосенсорні методи діагностики набули великої популярності, оскільки ці прилади можуть швидко і без великих затрат оцінити рівень токсичності чужорідних агентів. У роботі досліджено генотоксичність наноконкомпозитів на основі сапоніту за допомогою біосенсора SOS-типу на основі волоконної оптики. SOS-біосенсор працює на основі реєстрації пошкоджень бактеріальних ДНК, які відновлюються репараційними системами біолюмінесцентних бактерій. Результати досліджень показують, що новосинтезовані наноконкомпозити на основі сапоніту не є генотоксичними в діапазоні концентрацій 300-600 мг/л. Нанорозмірний SiO₂, який є складовою наноконкомпозитів, виявив генотоксичність відносно референтної культури в діапазоні концентрацій 300-600 мг/л.*

Ключові слова: *наноконкомпозити, наночастинки, біосенсор, генотоксичність.*

Актуальність. Ми живемо в столітті нанотехнологій. Наноматеріали завдяки своїм нанорозмірам, формам і високій біологічній дії використовуються місце в різних галузях виробництва. Наноматеріали застосовують у сільському господарстві, промисловості, медицині, косметології, важкій промисловості. На сьогодні описано понад 800 продуктів, які виготовлено на основі наноматеріалів та нанотехнологій [1, с. 3-7].

Аналіз останніх джерел та публікацій. Разом із вивченням корисних властивостей наноматеріалів відбувається оцінювання їхнього негативного впливу і способів запобігання ризикам їх використання [2, с. 436]. Таким чином, розроблення нових видів наноматеріалів потребує детального вивчення їхнього біологічного впливу на навколишнє середовище, оскільки

багато вчених довели токсичність наноматеріалів щодо живих організмів [3, с. 622-627; 4, с. 477-491].

Експрес-оцінку токсичності наноматеріалів можна отримати за допомогою різних видів біотестів. Ефективного і швидкого визначення токсичності в онлайн-режимі можна досягти лише застосуванням нового покоління інструментальних аналітичних засобів, заснованих на принципах біосенсорних технологій. На сьогодні відомі бактеріальні тести на основі реєстрації пошкоджень ДНК, залежних від індукції системи репарації SOS: SOS-Chromo [5, с. 235-279], Umu [6, с. 219-229], Lux-Fluoro [7, с. 51-60], VitoTOX [8, с. 240-248] та деякі інші варіанти [9, с. 305-311]. Таким чином, завдяки новітнім методам діагностики можна швидко, в режимі он-лайн визначати токсичність новостворених хімічних речовин.

Метою роботи було оцінити рівень генотоксичності новостворених нанокompatитів за допомогою біосенсора SOS-типу.

Матеріали і методи дослідження. У роботі досліджували новостворені Nb-вмісні нанокompatити, а саме: Saponite (H); Nb-Saponite (Cl) і Nb-Saponite (Et) та наночастинку SiO₂. Новостворені наноматеріали було надано в межах НАТО-проекту №NUKR.SFP 984481 науково-дослідним інститутом молекулярних технологій м. Мілана, Італія.

Зразки нанокompatиту Saponite (H) є пористими агломератами, які складаються з наноматеріалів. Розміри пор агломерату рівні становлять близько 100нм, що свідчить про значну площу їхньої активної поверхні. Нанокompatит на основі сапоніту Nb-Saponite (Et) – це агломерат, який має вигляд лусочок, розміром у межах 40-80нм. Нанокompatит на основі сапоніту Nb-Saponite (Cl), аналогічно до попередніх двох, є пористим матеріалом, який при розчиненні агломерує в більші структури; він складається з компонентів, розміри яких коливаються в межах 50-100нм. Цей композит, окрім великої площі активної поверхні, має утворення фрактальних кристалів, що може пояснюватися наявністю в ньому іонів Cl⁻ [10, с. 5-7], наночастинки SiO₂ комерційні матеріали (Sigma Aldrich) з розмірами 20 нм.

Генотоксичність новостворених нанокompatитів і наночастинок оксиду кремнію оцінювали за допомогою біосенсора SOS-типу на основі волоконної оптики [11, с. 123-130].

Результати дослідження та їх обговорення. Установлено, що наночастинки SiO₂ в діапазоні концентрацій 300-600мг/л збільшують сигнал фотолюмінесценсії біосенсора, що означає порушення генетичного апарату референтної культури і ввімкнення репараційних систем фотолюмінесцентних бактерій. Таким чином, можна стверджувати про генотоксичність досліджуваного нами матеріалу (рис. 1.). Згідно з нашою гіпотезою, відхилення цього параметра пов'язане з концентрацією наночастинок та особливостями їх проникнення в клітини, які залежать від розмірів та форм наноматеріалу. Збільшення концентрацій нанорозмірного матеріалу SiO₂ (до 600 мг/л) призвело до зміни динаміки сигналу фотолюмінесценсії біосенсора: він збільшувався при збільшенні концентрацій наноматеріалу. Отримані результати добре узгоджуються з тими, які показують інші автори на основі використання різних підходів, а також існуючі дані, щодо загальної генотоксичності наноматеріалів [11].

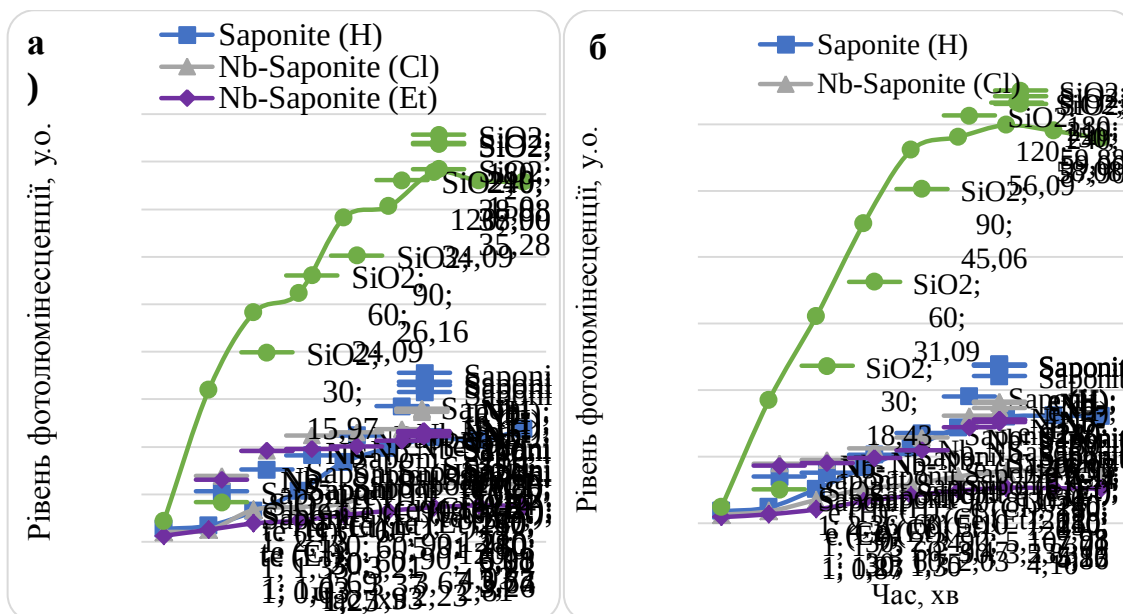


Рис. 1. Динаміка змін рівня фотолюмінесценції біосенсора після додавання наноматеріалів у концентрації: а) 300мг/л; б) 600мг/л

Зразки наноконкомпозитів на основі мінералу не виявляли генотоксичності, особливо ті, що містили оксиди ніобію. Незначне збільшення сигналу фотолюмінесценції, а значить і вияв генотоксичності, було зареєстровано в разі використання наноконкомпозиту Saponite (H). Це пов'язано зі зміною величини рН-середовища референтної культури. Експериментальні результати, отримані за допомогою цього інноваційного пристрою, показують, що наноконкомпозитам на основі сапоніту не властива генотоксичність і їх можна використовувати в безпечному стані у вигляді твердих речовин для потреб сільського господарства.

Висновки і перспективи. Експериментальні результати, отримані за допомогою біосенсора SOS-типу показують, що наночастинки SiO_2 , які входять до складу наноконкомпозитів у діапазоні концентрацій 300-600мг/л, збільшують сигнал фотолюмінесценції біосенсора, отже, свідчать про генотоксичність досліджуваного матеріалу. Наноконкомпозити на основі сапоніту не є генотоксичними. Такий ефект можна пояснити різними концентраціями наноматеріалів, розмірами та формами. Таким чином, наноконкомпозитам на основі сапонітів не властива генотоксичність і їх можна використовувати для потреб сільського господарства.

Список використаних джерел

1. Нанотоксикологія: напрямки досліджень (огляд) / І. С. Чекман, А. М. Сердюк, Ю. І. Кундієв, І. М. Трахтенберг [та ін.] // Довкілля та здоров'я. – 2009. – №1 (48). – С. 3–7.
2. Наноматериалы и нанотехнологии в ветеринарной практике / В. Б. Борисевич, В. Г. Каплуненко, Н. В. Косинов [и др.]: под редакцией В. Б. Борисевича, В. Г. Каплуненко. – К.: ВД «Авіцена», 2012. – 512 с.
3. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel / [A. Nel, T. Xia, L. Madler, N. Li]. Science – 2006. 311. P.622–627.
4. Yah C. S. Nanoparticles toxicity and their routes of exposure / C. S. Yah, G. S. Simate, S. E. Iyuke Pak// J. Pharm Sci. – 2012. – №25. – P. 477-491.

5. Quillardet P. The SOS chromotest: a review / P. Quillardet, M. Hofnung // *Mutat. Res.* – 1993. – P. 235-279.
6. Oda Y. Evaluation of the new system (umu-test) for the detection of environmental mutagens and carcinogens / Y. Oda, S. Nakamura, I. Oki // *Mutat. Res.* – 1985. – P. 219-229.
7. Baumstark-Khan C. Bacterial Lux-Fluoro test for biological assessment of pollutants in water samples from urban and rural origin / C. Baumstark-Khan, R. A. Khan, P. Rettberg, G. Horneck // *Anal. Chim. Acta*, 2003; P. 51-60.
8. Verschaeve L. VITOTOX bacterial genotoxicity and toxicity test for the rapid screening of chemicals / L. Verschaeve, J. Van Gompel, L. Thilemans // *Environ. Mol. Mutagen.* – 1999. – Vol. 33/ - P.240-248.
9. Polyak B. Optical fiber bioluminescent whole-cell microbial biosensors to genotoxicants / B. Polyak, E. Bassis, A. Novodvoretz // *Water Sci. Technol.* – 2000. – P. 305–311.
10. Савчук М. В., Стародуб М. Ф. Вплив Nb-вмісних наноконкомпозитів на основі сапонітів на посівні якості насіння кукурудзи / М. В. Савчук, М. Ф. Стародуб // *Карантин і захист рослин.* – 2017. – №4 (6). – С. 5–7.
11. Starodub N. F. Fiber optic SOS-type biosensor for the control of the genotoxicity of some environmental objects / Starodub N. F., Taran M. V., Shpirka N. F., Shavanova K. E. // *World journal of engineering research and technology.* – 2016. – Vol. 2. – P.123-130.

References

1. Chekman, I. S., Serdiuk, A. M., Kundiev, Iu. I., Trakhtenberh, I. M., Kaplinskyi, S. P., & Babii, V. F. (2009). Nanotoksykologiya: napriamky doslidzhen (ohliad) [Nanotoxicology: Research Areas (Review)]. *Environment and Health*, 48 (1), 3-7.
2. Borysevykh, V. B., & Kaplunenko, V. H. (2012). Nanomaterialy y nanotekhnolohyy v veterynarnoi praktyke [Nanomaterials and nanotechnologies in veterinary practice]. K.: VD «Avicenna», P. 512.
3. Nel, A., Xia, T., Mädler, L., & Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *science*, 311(5761), 622-627.
4. Yah, C. S., Simate, G. S., & Iyuke, S. E. (2012). Nanoparticles toxicity and their routes of exposures. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 25(2).
5. Quillardet, P., & Hofnung, M. (1993). The SOS chromotest: a review. *Mutat. Res*, 297, 235-279.
6. Oda, Y., Nakamura, S. I., Oki, I., Kato, T., & Shinagawa, H. (1985). Evaluation of the new system (umu-test) for the detection of environmental mutagens and carcinogens. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 147(5), 219-229.
7. Baumstark-Khan, C., Khan, R. A., Rettberg, P., & Horneck, G. (2003). Bacterial Lux-Fluoro test for biological assessment of pollutants in water samples from urban and rural origin. *Analytica Chimica Acta*, 487(1), 51-60.
8. Verschaeve, L., Van Gompel, J., Thilemans, L., Regniers, L., Vanparys, P., & Van der Lelie, D. (1999). VITOTOX® bacterial genotoxicity and toxicity test for the rapid screening of chemicals. *Environmental and molecular mutagenesis*, 33(3), 240-248.
9. Polyak, B., Bassis, E., Novodvoretz, A., Belkin, S., & Marks, R. S. (2000). Optical fiber bioluminescent whole-cell microbial biosensors to genotoxicants. *Water Science and Technology*, 42(1-2), 305-311.
10. Savchuk M. V., Starodub M. F. (2017). Vplyv Nb-vmisnykh nanokompozitiv na osnovi saponitiv na posivni yakosti nasinnia kukurudzy [Effect of Nb-containing nano-compositions on the basis of saponite on the seed quality of corn seeds]. *Quarantine and plant protection*, 4 (6), 5-7.

11. Starodub N. F., Taran M. V., Shpirka N. F., Shavanova K. E. (2016). Fiber optic SOS-type biosensor for the control of the genotoxicity of some environmental objects. *World journal of engineering research and technology*, Vol. 2, 123-130.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ НАНОКОМПОЗИТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОСЕНСОРА SOS-ТИПА

М. В. Савчук, М. И. Феделеш-Глади́нец, М. Ф. Стародуб

Аннотация. В последние годы в Украине и мире наблюдается стремительное развитие новой отрасли науки - нанотехнологии. Благодаря своим размерам, формам и свойствам наночастицы широко используются в медицине, пищевой промышленности, машиностроении, сельском хозяйстве. Но несмотря на многие положительные свойства наноматериалов, ученые предупреждают и об их опасности относительно живых организмов, поэтому обязательной задачей перед использованием наноматериалов является изучение их биологических эффектов. Биосенсорные методы диагностики приобрели большую популярность, поскольку эти приборы могут быстро и без больших затрат оценить уровень токсичности чужеродных агентов. В работе исследованы генотоксичность нанокomпозитов на основе сапонита с помощью биосенсора SOS-типа на основе волоконной оптики. SOS-биосенсор работает на основе регистрации повреждений бактериальных ДНК, которые восстанавливаются репарационными системами биолюминесцентных бактерий. Результаты исследований показывают, что новосинтезированные нанокomпозиты на основе сапонита не обладают генотоксичностью в диапазоне концентраций 300-600 мг/л. Наноразмерный SiO₂, являющийся составной нанокomпозитов, продемонстрировал генотоксичность относительно референтной культуры в диапазоне концентраций 300-600 мг/л.

Ключевые слова: нанокomпозиты, наночастицы, биосенсор, генотоксичность.

DETERMINATION OF GENOTOXICITY OF NANOCOMPOSITES USING SOS- TYPE BIOSENSOR

M. Savchuk, M. Fedelelesh-Gladinets, M. Starodub

Abstract. In recent years in Ukraine and the world there has been a rapid development of a new branch of science – nanotechnology. Due to their size, shape and properties, nanoparticles have received a great demand in medicine, food industry, machine building, agriculture. But along with many positive aspects of nanomaterials, scientists also warn about their danger with respect to living organisms, so studying the biological effects of nanomaterials is a must before using them. Biosensor diagnostic methods have become very popular, since these devices can quickly and easily estimate the level of toxicity of foreign agents. The genotoxicity of nanocomposites based on saponite with the help of SOS-type biosensors based on fiber optics was investigated. SOS – the biosensor operates on the basis of recording the damage of bacterial DNA,

restored by the reparation systems of bioluminescent bacteria. According to the results of the research it was shown that newly synthesized nanocomposites based on saponite do not possess genotoxicity in the concentration range of 300-600mg/l. Nano-sized SiO₂, which is a composite nanocomposite, demonstrated genotoxicity relative to the reference culture in the concentration range of 300-600mg/l.

Keywords: nanocomposites, nanoparticles, biosensor, genotoxicity.