

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
51(3):297–304; 4 March 2011
ISSN 0001–6209; CN 11–1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

微生物应用于纳米生物合成技术研究进展

张晓蓉

吉首大学生物资源与环境科学学院, 植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 吉首 416000

摘要: 基于发展纳米材料“绿色合成技术”重要性, 生物合成纳米材料已成为纳米合成技术研究热点。微生物具有廉价、易培养、繁殖快等优点被应用于多种纳米材料的生物合成研究, 成为生物合成纳米材料的重要生物类群。本文综述了细菌、放线菌、酵母菌以及真菌等微生物应用于纳米生物合成技术的发展; 着重评述了纳米材料微生物合成生物方法、纳米材料微生物合成相关机制、纳米材料形貌和尺寸微生物调控合成方法以及应用研究进展; 并对纳米材料微生物合成技术未来发展趋势进行了展望。

关键词: 纳米生物合成技术, 纳米材料, 微生物

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011) 03-0297-08

纳米生物合成技术 (Biosynthesis nanotechnology) 指生物利用生物活性分子细胞内或细胞外自组装具有生物分子组成的新型纳米材料, 是近年来随着纳米技术、生物技术和材料科学等学科发交叉而发展起来的。与传统的物理和化学纳米合成技术相比, 纳米生物合成技术清洁、无毒、环境友好和可持续发展, 反应条件温和可控, 不需添加任何还原剂, 效率高等优点成为纳米合成领域研究热点。由于富含蛋白质、脂类、多聚糖等生物物质, 赋予纳米材料独特的生物学特性, 使其在生物医学领域及材料科学领域具有广泛应用前景。微生物在自然界分布广, 易分离培养, 生长繁殖快, 结构简单易于操作, 已广泛用于纳米材料生物合成研究, 并取得了较大的研究进展。本文对细菌、放线菌、酵母菌以及真菌等微生物合成纳米材料的生物方法、合成机制、纳米材料形貌和尺寸微生物调控合成方法以及生物纳米材料应用进行了评述, 旨在为我国该领域的研究提供参考。

1 纳米材料微生物合成技术发展

微生物代谢类型多, 具有极强的生命力和适应性, 在自然界分布广, 最早被应用于纳米生物合成技术的生物类群。纳米材料微生物合成研究最早可追溯到 1989 年, *Nature* 杂志首先报道了光滑念珠菌 (*Candida glabrata*) 合成细胞内 CdSe 纳米材料的生物合成方法^[1]。1993 年, *Science* 杂志报道了磁细菌细胞内矿化合成磁纳米颗粒 (Fe_3O_4) 研究^[2]。2001 年, *Nano Lett* 杂志发表文章报道了尖孢镰刀霉 (*Fusarium oxysporum*) 合成细胞内 Ag 纳米颗粒的生物合成方法, 并首次提出纳米生物合成技术概念^[3]。随后, 美国化学会以及欧洲权威学术杂志也纷纷发表文章报道纳米材料生物合成技术^[4-6]。纳米生物合成技术由此引起纳米合成研究者极大兴趣, 成为纳米技术研究热点。近年来, 国内也有多个研究小组开展相关工作, 并取得了一些可喜成绩^[7-10]。目前, 细菌 (Bacteria)、酵母菌 (Yeast)、真

基金项目: 湖南省科技计划项目 (2009FJ3011); 湖南省生态学重点学科建设项目 (JDS04)

作者简介: 张晓蓉 (1969–), 女 (土家族), 湖南吉首人, 博士, 副教授, 研究方向为生物纳米技术、资源与环境微生物 Tel: +86-743-8564416; fax: +86-743-8564523; E-mail: xrzhang0743@163.com

收稿日期: 2010-08-18; **修回日期:** 2010-10-04

表 1 合成纳米材料微生物类群以及合成的纳米材料^[11-13]

Table 1 Use of various microorganisms in the production of nanoparticles

| Microorganism | Type of nanoparticle | Location | Size range/nm |
|---|---|---------------|--------------------------------------|
| Bacteria | | | |
| <i>Bacillus subtilis</i> 168 | Au | Intracellular | 5 – 25 |
| <i>Clostridium thermoaceticum</i> | CdS | Intracellular | – |
| <i>Escherichia coli</i> | Au | Intracellular | 5 – 25 |
| <i>Desulfovibrio desulfuricans</i> | CdS | Intracellular | 2 – 10 |
| <i>Lactobacillus</i> sp. | ZnS | Intracellular | 2 – 5 |
| | Pd | – | – |
| | Au | Intracellular | 20 – 50 |
| Magnetotactic bacteria | Magnetic (Fe ₃ O ₄) , | – | – |
| | Greigite (Fe ₃ S ₄) | – | – |
| <i>Klebsiella pneumonia</i> | Ag | Extracellular | 5 – 32 |
| <i>Klebsiella aerogenes</i> | CdS | Intracellular | 20 – 200 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Au | Extracellular | 10 – 20 |
| <i>Plectonema boryanum</i> UTEX | Octahedral Au platlets | Cell wall | 6000 to 10 485 (Cyanobacterium) |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> AG259 | Ag | Intracellular | 35 – 46 |
| <i>Rhodopseudomonas capsulate</i> (<i>Rhodopseudomonas capsulatus</i>) | Au | Intracellular | 10 – 30 |
| <i>Shewanella algae</i> | Au | Intracellular | 15 – 30 |
| <i>Shewanella oneidensis</i> | Uranium (IV) | Extracellular | – |
| Actinomycete | | | |
| <i>Rhodococcus</i> sp. | Au | Intracellular | 10 – 15 |
| (Alkalotolerant actinomycete) | CaCO ₃ | Extracellular | – |
| <i>Thermomonospora</i> sp. (Extremophilic actinomycete) | Au | Intracellular | 7 – 12 |
| Yeast | | | |
| | | | 200 |
| <i>Candida glabrata</i> | CdS | Intracellular | 100 |
| <i>Pichia jadinii</i> | Au | Intracellular | 1 – 1. 5 |
| <i>Schizosaccharomyces pombe</i> | CdS | Intracellular | – |
| | CdSe | Intracellular | 8 – 35 |
| <i>Sachharomyces cerevisiae</i> | TiO ₂ | Intracellular | 2 – 5 |
| <i>Torulopsis</i> sp. | PdS | Intracellular | 2 – 5 |
| Yeast strain MKY3 | Ag | Extracellular | |
| Fungi | | | |
| | | | 5 – 25 |
| <i>Aspergillus fumigates</i> | Ag | Extracellular | – |
| <i>Aspergilus niger</i> | Au | Extracellular | – |
| <i>Aspergilus satitoi</i> | Au | Extracellular | 5 – 50 |
| <i>Aspergillus oryzae</i> | Ag | Extracellular | |
| var. <i>viridis</i> | | | 20 – 40 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | Au | Extracellular | 10 – 25 |
| | Ag | Extracellular | 20 – 50 |
| | Magnetite | Extracellular | 2 – 10 |
| | Silica | Extracellular | – |
| | Zirconia | Extracellular | 4 – 5 |
| | BaTiO ₃ | Extracellular | 9 – 15 |
| | CdSe | Extracellular | 8 – 14 |
| | Au-Ag | Extracellular | than 10000 |
| | PbCO ₃ | Extracellular | length 2 – 6000 , width 100 – 300 |
| | CdCO ₃ | Extracellular | length than 12000 |
| | SrCO ₃ | Extracellular | – |
| | CaCO ₃ | Extracellular | |
| | | | 58 ± 17 |
| <i>Penicillium brevicompactum</i> | Ag | Intracellular | 25 – 38 |
| WA 2315 | Au | Intracellular | 71 – 74 |
| <i>Penicillium</i> sp. | Ag | Extracellular | 13 – 18 |
| <i>Phoma</i> sp. 3. 2883 | Ag | Extracellular | 25 ± 12 |
| <i>Trichoderma asperellum</i> | Ag | Intracellular | 20 – 150 |
| <i>Verticillium</i> sp. | Au | Extracellular | 15 – 25 |
| <i>Volvariella volvacea</i> | Ag | Extracellular | – |
| | Au-Ag | Extracellular | |

菌(Fungi)等多种微生物应用于纳米材料合成研究;包括球形、三角形、菱形、立方体以及纳米线等多种形貌的Au、Ag、磁等金属纳米材料,Silica等半导体无机纳米材料,CdSe、CdS等量子点纳米材料,以及Au-Ag、BaTiO₃等合金纳米材料可被微生物合成;粒径多分布在1-200 nm;具有单晶或多晶典型的纳米晶体结构。表1总结了近年来用于纳米生物合成技术的微生物及其合成的纳米材。

2 不同微生物合成纳米材料方法研究现状

根据微生物合成特点及纳米材料性质,已报道的微生物合成纳米材料方法主要分为三类。根据合成的纳米材料属性可分为金属纳米材料、半导体纳米材料及双金属复合纳米材料微生物合成方法;根据合成方式分为细胞内或者细胞外微生物合成方法;根据细胞活性分为活细胞生物合成与死细胞或者细胞溶解物的合成方法。目前,各类微生物合成纳米材料的应用水平不尽相同,细菌和真菌研究较为深入。

2.1 细菌

细菌生物合成纳米材料反应条件温和,产量高,纳米材料易纯化,被称为“纳米材料加工厂”。比较而言,利用活细菌合成包括金属与非金属纳米材料的生物方法研究较多。当活细菌与溶液金属或非金属离子共孵育,菌体吸收或吸附溶液金属或非金属离子,利用生物活性分子细胞内或细胞外自组装具有典型的单晶或者多晶结构特征的纳米材料。已报道细菌合成的纳米材料包括Au、Ag、Pt、磁、ZnS、CdS等。*B. subtilis* 168菌株与氯金酸溶液共孵育后,细胞可合成5-25 nm八面体Au颗粒,TEM表征发现纳米颗粒分布于细胞周质空间或包埋在细胞壁,与菌体形成Au-细菌复合体^[14]。厌氧条件下,*S. algae*与氯金酸溶液共孵育可合成细胞内纳米Au颗粒^[15]。室温条件下,*Lactobacillus* sp.与氯金酸溶液孵育可合成20-50 nm细胞内Au纳米颗粒,呈簇分布,形貌多样,产量达35%细胞干重,这为大规模生产提供了很好基础。当200℃加热Au纳米颗粒时,颗粒可被分解为Au原子,表明了生物活性物质参与Au⁺还原与纳米颗粒的组装^[16]。不添加任何稳定剂或者表面吸附剂等辅助分子条件下,*R. capsulate*(已更名为*R. capsulatus*)及菌体溶解物与Au⁺共孵育均可合成Au纳米颗粒。当改变氯金酸

与细胞溶解物浓度比,还可选择性自组装成Au纳米线,这也是首次报道Au纳米线生物组装方法^[8,17]。

趋磁细菌*M. gryphisnaldense*最早被发现可细胞内合成和组装磁性纳米颗粒(BMPS,又称磁小体),趋磁细菌可选择性吸收溶液中Fe³⁺,转入细胞后被还原,与细胞内磁小体被膜组装成5-120 nm的磁小体,主要成分为Fe₃O₄和Fe₃S₄,基本不含其他杂质;磁小体呈顺磁性,链状(单链或多链)排列;正方形、长方形、菱形、六边形和子弹头形多种形态(图1)^[18-19]。

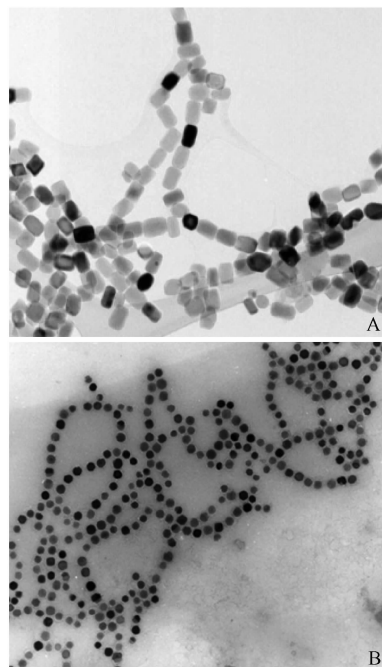


图1 *M. magnetotacticum* MV-1 磁性纳米颗粒(A)和
M. gryphisnaldense MSR-1 磁性纳米颗粒(B) TEM表征
Fig.1 TEM image of magnetosomes isolated from *M. magnetotacticum* MV-1 (A) and *M. gryphisnaldense* MSR-1 (B)

银耐受菌首先用于Ag纳米颗粒生物合成。例如,石油脱硫菌*P. stutzeri* AG259与Ag⁺溶液孵育后,细胞内合成35-46 nmAg纳米颗粒,颗粒为球形、三角形和六角形等多种形貌;EDX分析表明纳米颗粒为纯Ag组成^[20]。Silver S等报道银耐受菌与Ag⁺溶液共孵育后,细胞内还原与组装的Ag纳米颗粒产量可达25%细胞干重,为生物来源的银纳米材料大量合成提供很好方法^[21]。

最令人振奋的纳米生物合成技术之一是实现发光量子点(Quantum dots, QDs)的生物合成。量子点是一种具有独特发光性质无机半导体纳米晶体,其

发光特性与有机荧光染料和荧光蛋白相比,具有激发光谱宽、发射光谱窄且、荧光量子产率高、光稳定性好等优点,已被广泛应用于生物医学成像和样品检测。通常只能采用化学方法合成,合成条件苛刻,产量低,而且具有环境毒性。与其他微生物比较,细菌用于量子点合成种类最多。如, *C. thermoacetica* 与 CdCl_2 共培养可在其细胞壁合成 CdS 量子点纳米材料^[22]。

K. aerogenes 合成 20 – 200 nm 的 CdS 纳米材料^[23]。 *E. coli* 合成细胞内 CdS 量子点纳米材料,其合成产量受细胞周期影响^[24]。 硫还原菌合成细胞外 2 – 5 nm 单分散性 ZnS 量子点纳米颗粒^[25]。

2.2 放线菌

与细菌相比,放线菌(Actinomycete)应用于纳米生物合成研究比较晚,目前仅 *Rhodococcus* sp. 及 *Thermomonospora* sp. 用于纳米材料生物合成。*Rhodococcus* sp. 菌丝与氯金酸溶液孵育后,在细胞内合成 5 – 15 nm 球形的 Au 纳米颗粒,TEM 表征发现颗粒分布于细胞膜^[26]。 *Thermomonospora* sp. 与氯金酸溶液孵育后,在细胞外组装 7 – 12 nm Au 纳米颗粒;FTIR 分析以及生化分析表明 Au 颗粒存在至少 4 种蛋白酶,分子量为 80 – 10 kDa^[27]。

2.3 酵母菌

酵母菌用于纳米材料的生物合成研究比较早,可能受 1989 年 Dameron CT 利用酵母菌细胞合成量子点研究影响,迄今为止,酵母菌主要用于量子点纳米材料生物合成。随着研究逐渐深入,表明了以活酵母细胞作为生物反应器合成出尺寸可控、闪闪发光的量子点,为生物合成量子点提供很好材料。一般方法,将酵母菌与一定浓度 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 等离子溶液共孵育,菌体吸收或吸附溶液中离子后,生物还原与组装具有特定光谱性质的量子点纳米晶体颗粒。包括光滑念珠菌在内,已有多种酵母菌合成量子点纳米材料的生物方法报道。例如, *Torulopsis* sp. 合成 2 – 5 nm 细胞内 PbS 纳米晶,330 nm 存在紫外特征吸收峰^[28]。 *S. cerevisiae* 生物合成粒径 8 – 35 nm 细胞内 TiO_2 纳米颗粒^[29]。 室温条件下, *S. pombe* 合成 1 – 1.5 nm 细胞内 CdS ^[30]。 最新报道,利用活的酵母菌细胞作为生物发生器,生物合成了发出红、黄、绿不同荧光的量子点 CdSe ^[31–32],等等。

2.4 真菌

真菌用于合成纳米材料是近年来发展的生物合

成方法。已生物合成 Au 、 Ag 、磁、Titanium 等金属纳米材料、Silica 等半导体纳米材料以及 CdS 、 CdSe 量子点纳米材料。更有科学意义是利用真菌生物合成包括 Au-Ag 、 BaTiO_3 复合纳米材料。不仅实现了生物合成方法的重大突破,同时拓展了生物合成纳米材料种类。目前,报道用于生物合成的真菌有 *F. oxysporum*、*Verticillium* sp.、*A. oryzae* var. *viridis*、*Penicillium* sp. 以及 *P. brevicompactum* WA 2315、*Volvariella volvacea* 等。*F. oxysporum* 为真菌合成纳米材料模式菌株,已合成多种金属、半导体以及复合纳米材料。通常,将 *F. oxysporum* 与金属、非金属离子溶液共孵育后,菌体可细胞内及细胞外合成金属、半导体及量子点纳米材料。溶液同时存在 AuCl_4^+ 及 Ag^+ 时, *F. oxysporum* 分泌以 NADH 为辅酶的蛋白酶还原 AuCl_4^+ 及 Ag^+ ,并细胞外组装 Au-Ag 复合纳米颗粒,X 射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)分析表明 Au-Ag 复合纳米颗粒同时含有 Au 及 Ag 元素^[33]。此外,黄曲霉(*A. oryzae* var. *viridis*)及其菌丝溶解物用于 Ag 纳米材料的生物合成,生物效应研究还表明,生物 Ag 纳米材料颗粒同样对 *S. aureus* KCCM 12256 有较强的抑菌作用^[34]。 *P. brevicompactum* WA 2315 与 Ag^+ 共孵育可合成粒径为 58 ± 17 nm 细胞外 Ag 纳米颗粒,在 420 nm 有特征吸收峰^[35]。 *V. volvacea* 菌丝溶解物可生物合成 Au 、 Ag 纳米颗粒以及 Au-Ag 双金属复合纳米颗粒^[36]。

3 微生物合成纳米材料机制研究

目前,虽有多种微生物合成金属、非金属以及量子点和双金属复合纳米材料的方法报道,但微生物活细胞及其细胞溶解物如何实现金属、非金属、量子点以及双金属复合纳米材料的自主装的机制尚不完全清楚。普遍观点认为微生物或细胞溶解物与金属以及非金属离子共孵育后,生物活性物质包括蛋白质、还原糖、还原性谷胱甘肽等生物活性分子对金属以及非金属离子进行富集、还原并组装成具有典型纳米晶体结构的纳米材料,生物分子对纳米晶体稳定起着重要作用。而已有的研究表明,微生物合成纳米材料是一种非常复杂的生物化学过程,特别是活细胞的生物合成过程,不同的纳米材料生物合成机制各异。例如, *Magnetospirillum* sp. AMB-1 菌株细胞内组装磁小体机理研究表明,磁小体形貌、颗粒尺寸、细胞内排列方式等均受菌体基因表达调控。

趋磁细菌与 Fe^{3+} 孵育后,细胞受刺激首先合成磁小体膜囊 (Magnetosome membrane, MM),被吸收的 Fe^{3+} 在细胞内被还原为 Fe^{2+} ,然后转运入磁小体膜囊; Fe^{2+} 在此被氧化为 Fe^{3+} 离子,形成水合 Fe^{3+} (Ferrihydrite),MM 对磁小体形成与装配起着关键作用^[37]。电子断层扫描术 (Cryo-electron tomography, cryo-ET) 研究表明,MM 含有大量来源于细胞膜的磷脂酰乙醇胺和磷脂酰甘油等氨基化脂肪酸物质^[38]。同时,蛋白二维电泳、氨基酸 Edman 及串联式质谱等分析表明 MM 存在 18 种主要蛋白,占菌体总蛋白的 0.1%,MMPs 对离子转运、晶体成核和生长等非常重要。例如,分子量分布在 15–19 kDa 的 manC、mamF、mms16 蛋白在 MM 中含量高,且稳定,与 MM 松弛结合,主要稳定 MM。而 manB 和 manM 蛋白对阳离子的运输有重要调控作用。mamE 和 mamO 蛋白主要作用为促进磁小体的形成和成熟。此外,大肠杆菌细胞内合成 CdS 纳米晶体机制研究表明,细胞还原性巯基化合物 (Reduced thiols) 及谷胱甘肽 (Glutathione) 对 CdS 纳米晶体合成具有重要作用,对数期及稳定期细胞还原性巯基化合物及谷胱甘肽含量高于衰亡期细胞,因而检测表明对数期细胞合成的 CdS 产量为衰亡期产量 20 倍^[24]。光滑念珠菌 (*C. glabrata*) 合成 CdS 纳米材料机制研究表明,当细胞与 Cd^{2+} 溶液共孵育后,细胞首先合成螯合素酶 (PCs, (γ -Glu-Cys) $_n$) 生物活性物质,PC 与 Cd^{2+} 结合,形成 Cd-PC 复合物被运送到细胞内形成的囊泡,在此 Cd-PC 复合物被降解,CdS 晶体在囊泡中形成^[1]。*F. oxysporum* 细胞外合成纳米材料机制研究表明,菌体主要分泌了 4 种依赖 ATP 和 NADH 胞外酶,分子量为 80–10 kDa。蛋白酶对纳米材料成核、大小和形貌起着重要作用^[5–6]。

为探讨真菌合成纳米材料的机理,我们选用了 *Penicillium* sp.、*Aureobasidium pullulan* 及 *Fusarium* sp. 为生物材料,并以 *F. oxysporum* 为对照,研究了其细胞内 Au 纳米材料生物合成机制。发现 *Penicillium* sp. 及 *A. pullulan* 主要利用细胞还原糖为活性物质合成 Au 纳米颗粒;*Fusarium* sp. 与 *F. oxysporum* 为同属真菌,均利用细胞蛋白质为活性组分组装 Au 纳米颗粒,与报道相符^[5–7]。可见,微生物合成纳米材料机制的多样性和复杂性。

4 纳米材料微生物调控合成

众所周知,纳米材料尺寸和形貌对其光谱特性、生物学效应等多种性质有重要影响,如何实现纳米材料生物调控合成也成为纳米生物合成技术领域前沿研究课题。纳米材料生物合成在生物体系中发生,具有生物系统性特点,特别是活细胞生物合成反应,因而其调控方式不同于物理化学方法。研究结果表明,温度、离子强度、溶液 pH 等对微生物生长有重要影响的因素对微生物合成纳米材料尺寸有调控作用。例如,我们利用温度调控 *Penicillium* sp. 合成细胞内 Au 纳米颗粒研究表明,温度可实现对 Au 纳米颗粒尺寸调控 (图 2)^[8]。当 *Penicillium* sp. 在处于 4℃ 合成条件,菌体合成了 4–10 nm 单分散性球形 Au 纳米颗粒;处于 28℃ 合成温度,菌体可合成 20–37 nm 的单分散性球形 Au 纳米颗粒;而在 20–30℃ 波动的合成温度条件下,菌体合成了粒径分布为 16–110 nm 多分散性的 Au 纳米颗粒;机理研究表明,温度主要影响细胞对 AuCl_4^+ 吸收速度,从而调控 AuCl_4^+ 在细胞内还原和 Au 成核,进而可控 Au 纳米颗粒尺寸^[7]。此外,pH 值调控 *S. algae*

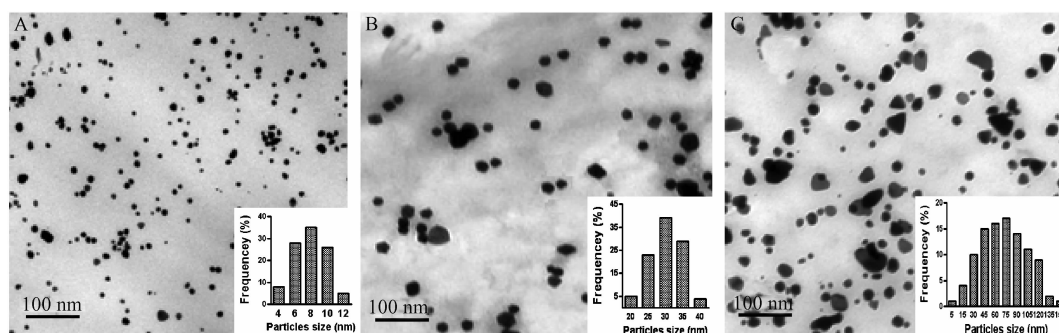


图 2 温度调控 *Penicillium* sp. 细胞内合成不同尺寸 Au 纳米颗粒 TEM 表征

Fig. 2 TEM images and size distribution of histogram (inset) of Au nanoparticles formed by live fungus *Penicillium* sp. at temperature of 4℃ (A), 28℃ (B) and 20–30℃ (C), respectively

合成 Au 纳米颗粒研究表明,溶液 pH 值对颗粒粒径有调控作用。当溶液 pH 值为 7 时,菌体可合成 10 – 20 nm 细胞内 Au 颗粒;溶液 pH 降低至 1 时,则形成 50 – 500 nm 细胞外 Au 颗粒^[15]。Ag⁺ 浓度对 *P. stutzeri* AG259 合成 Ag 纳米颗粒尺寸有重要影响,低浓度的 Ag⁺ 浓度,菌体可积累 35 – 46 nm Ag 纳米颗粒,菌体与高浓度 Ag⁺ 环境孵育,可合成 200 nm 左右或更大的 Ag 颗粒^[35]。

5 应用研究

生物合成纳米材料富含蛋白质、脂类、多聚糖等生物物质使其在生物医学领域及材料学领域具有广泛应用前景。目前,仅磁小体的应用研究相对比较成熟。人们首先发现磁小体对磁场非常敏感,可在磁细菌细胞内排列成磁阵列的特点,研制成导航装置应用于海洋导航。后来,基于磁小体生物膜包被,已有报道把磁小体修饰各种生物分子,用于磁分离、生物标记及检测技术。如磁小体表面修饰葡萄糖氧化酶和尿酶,研制成为磁化酶应用于催化反应;修饰抗体用于人血液细胞分离和酶联荧光免疫检测^[39];利用树枝改性的磁小体(Dendrimer-modified magnetosome particles)研制成分离 DNA 自动分离器,应用于 DNA 提取,效率比无机合成的磁性颗粒高 6 倍^[40],等等。最近,Du L 等将合成 Au 纳米颗粒的大肠杆菌(*E. coli* DH5a)应用于电化学研究,发现利用修饰 Au nano-*E. coli* DH5a 的玻璃电极具有很好的电信号放大作用,实现了对血红蛋白直接检测,这为蛋白质检测提供了很好的材料^[10]。

6 展望

生物纳米合成技术已步入崭新的建立在多学科交叉基础上的发展时期,利用微生物合成纳米材料方法的研究也正在不断的深入,将来会有更多的新物种用于生物材料合成纳米研究,更多的生物合成方法建立,如藻类等,拓宽纳米生物技术研究领域。纳米材料微生物合成机理涉及生物学、纳米科学等领域知识,需要借助于化学及生物方法从纳米水平、生物活性分子功能水平、基因水平全面研究揭示其形成机制及其生物组分功能,认识其多样性及复杂性的本质。纳米生物调控合成技术以及生物合成纳米材料的应用研究是随着纳米生物合成技术而发展起来,属于新的研究领域。期望纳米科学家、生物学家、化学家等共同努力实现纳米材料可设计的生

物合成,同时使具有生物物质组成新型纳米材料能尽快在生物医学、生物物质分离、疾病检测和预防以及环境问题处理等得到应用。

参考文献

- [1] Dameron CT, Reeser RN, Mehra RK, Kortan AR, Carroll PJ, Steigerwald ML, Brus LE, Winge DR. Biosynthesis of cadmium sulfide quantum semiconductor nanocrystallites, *Nature*, 1989, 338:596-597.
- [2] Delong EF, Frankel RB, Bazylinski DA. Multiple Evolutionary Origins of Magnetotaxis in Bacteria. *Science*, 1993, 259:803-806.
- [3] Mukherjee P, Ahmad A, Mandal D, Senapati S, Sainkar SR, Khan MI, Parishcha R, Ajaykumar PV, Alam M, Kumar R, Sastry M. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: A novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano Lett*, 2001, 1:515-519.
- [4] Bharde AA, Parikh RY, Baidakova M, Jouen S, Hannoyer B, Enoki T, Prasad BL, Shouche YS, Ogale S, Sastry M. Bacteria-mediated precursor-dependent biosynthesis of superparamagnetic iron oxide and iron sulfide nanoparticles. *Langmuir*, 2008, 24:5787-5794.
- [5] Mukherjee P, Roy M, Mandal BP, Dey GK, Mukherjee PK, Ghatak J, Tyagi AK, Kale SP. Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus *T. asperellum*. *Nanotechnology*, 2008, 19:075103.
- [6] Bansal V, Podder P, Ahmad A, Sastry M. Room-temperature biosynthesis of ferroelectric barium titanate nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128:11958-11963.
- [7] Zhang XR, He XX, Wang KM, Wang YH, Li HM, Tan WH. Biosynthesis of size-controlled gold nanoparticles using fungus, *Penicillium* sp.. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 2009, 9:5738-5744.
- [8] He SY, Zhang Y, Guo ZR, Gu N. Biological synthesis of gold nanowires using extract of *Rhodospseudomonas capsulate*. *Biotechnology Progress*, 2008, 24:476-480.
- [9] Fu MX, Li QB, Sun DH, Lu YH, He N, Deng X, Wang HX, Huang JL. Rapid preparation process of silver nanoparticles by bioreduction and their characterizations. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2006, 14:114-117.
- [10] Du L, Jiang H, Liu X, Wang E. Biosynthesis of gold nanoparticles assisted by *Escherichia coli* DH5a and its application on direct electrochemistry of hemoglobin. *Electrochemistry Communications*, 2007, 9:1165-1170.

- [11] Mandal D, Bolander ME, Mukhopadhyay D, Sarkar G, Mukherjee P. The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application. *Applied. Microbial Biotechnology*, 2006,69:485-492;
- [12] Mohanpuria P, Rana NK, Yadav SK. *Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. Journal of Nanoparticle Research*, 2008,10: 507-517.
- [13] Korbekandi H, Irvani S, Abbasi S. Production of nanoparticles using organisms. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2009,29:279-306.
- [14] Southam G, Beveridge TJ. The occurrence of bacterially derived sulfur and phosphorus within pseudocrystalline and crystalline octahedral gold formed *in vitro*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1996,60:4369-4376.
- [15] Konishi Y, Nomura T, Tsukiyama T, Saitoh N. Microbial preparation of gold nanoparticles by anaerobic bacterium. *Trans Mater Res Soc Jpn*, 2004,29:2341-2343.
- [16] Nair B, Pradeep T. Coalescence of nanoclusters and formation of submicron crystallites assisted by *Lactobacillus* strains. *Crystal Growth & Design*, 2002,2: 293-298.
- [17] He S, Guo Z, Zhang Y, Zhang S, Zhang S, Wang J, Gu N. *Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria Rhodopseudomonas capsulate. Materials Letters*. 2007, 61:3984-3987.
- [18] Grunberg K, Muller EC, Otto A, Reszka R, Linder D, Kube M, Reinhardt R, Schüler D. Biochemical and proteomic analysis of the magnetosome membrane in *Magnetospirillum gryphiswaldense*. *Applied and Environment Microbiology*, 2004,70:1040-1050.
- [19] Bazylnski DA, Frankel RB. Magnetosome formation in prokaryotes. *Nature Reviews Microbiology*, 2004,2: 217-230.
- [20] Klaus T, Joerger R, Olsson E, Granqvist CG. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999,96:13611-13614.
- [21] Silver S. Bacterial silver resistance: Molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003,27:341-353.
- [22] Cunningham DP, Lundie LL. Precipitation of cadmium by *Clostridium thermoaceticum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993,59:7-14.
- [23] Holmes JD, Smith PR, Evans Gowing R, Richardson DJ, Russell DA, Sodeau JR. Energy-dispersive X-ray analysis of the extracellular cadmium sulfide crystallites of *Klebsiella aerogenes*. *Archives of Microbiology*, 1995,163: 143-147.
- [24] Sweeney RY, Mao C, Gao X, Burt JL, Belcher AM, Georgiou G, Iverson BL. Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide. *Chemistry & Biology*, 2004,11:1553-1559.
- [25] Labrenz M, Druschel GK, Thomsen-Ebert T, Gilbert B, Welch SA, Kemner KM, Logan GA, Summons RE, De Stasio G, Bond PL, Lai B, Kelly SD, Banfield JF. Formation of sphalerite (ZnS) deposits in natural biofilms of sulfate-reducing bacteria. *Science*, 2000,290: 1744-1747.
- [26] Ahmad A, Senapati S, Khan MI, Ramani R, Srinivas V, Sastry M. Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus* species. *Nanotechnology*, 2003,14:824-828.
- [27] Ahmad A, Senapati S, Khan, MI, Kumar R, Sastry M. Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora* sp.. *Langmuir*, 2003,19:3550-3553.
- [28] Kowshik M, Vogel W, Urban J, Kulkarni SK, Paknikar KM. Microbial synthesis of semiconductor PbS nanocrystallites. *Advanced Materials*, 2002 a, 14: 815-818.
- [29] Jha AK, Prasad K, Kulkarni AR. Synthesis of TiO₂ nanoparticles using microorganisms. *Colloids Surf: B Biointerfaces*, 2009,71:226-229.
- [30] Kowshik MN, Deshmukh W, Vogel J, Urban J, Kulkarni SK, Paknikar KM. Microbial synthesis of semiconductor CdS nanoparticles, their characterization, and their use in the fabrication of an ideal diode. *Biotechnology & Bioengineering*, 2002 b, 78:583-588.
- [31] Cui R, Liu HH, Xie HY, Zhang ZL, Yang YR, Pang DW, Xie ZX, Chen BB, Hu B, Shen P. Living yeast cells as a controllable biosynthesizer for fluorescent quantum dots, *Advanced Functional Materials*, 2009,19:2359-2364.
- [32] Bao HF, Hao N, Yang YX, Zhao DY. Biosynthesis of biocompatible cadmium telluride quantum dots using yeast cells. *Nano Research*, 2010,3:481-489.
- [33] Senapati S, Ahmad A, Khan MI. *Extracellular biosynthesis of bimetallic Au-Ag alloy nanoparticles. Samll*, 2005,1:517-520.
- [34] Binupriya AR, Sathishkumar M, Yun SI. Myco-crystallization of silver ions to nanosized particles by live and dead cell filtrates of *Aspergillus oryzae* var. *viridis* and its bactericidal activity toward *Staphylococcus aureus* KCCM 12256. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2010,49:852-858.

- [35] Shaligrama NS, Bulea M, Bhamburea R, Singhala RS, Singh SK, Szakacs G, Pandey A. Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract from the compactin producing fungal strain. *Process Biochemistry*, 2009, 44: 939-943.
- [36] Philip D. Biosynthesis of Au, Ag and Au-Ag nanoparticles using edible mushroom extract. *Spectrochim. Acta: Part A*, 2009, 73: 374-381.
- [37] Sabrina S, Michael K, André S, Cathrin W, Udo H, Anke M, Mohamed HM, Frank M, Richard R, Dirk S, Characterization of a spontaneous nonmagnetic mutant of *Magnetospirillum gryphiswaldense* reveals a large deletion comprising a putative magnetosome island. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185: 5779-5790.
- [38] Komeili A, Li Z, Newman DK, Jensen GJ. Magentosomes are cell membrane invaginations organized by the actin-like protein MamK. *Science*, 2006, 311: 242-245.
- [39] Kuhara M, Takeyama H, Tanaka T, Matsunaga T. Magnetic cell separation using antibody binding with protein A expressed on bacterial magnetic particles. *Analytical Chemistry*, 2004, 76: 6207-6213.
- [40] Yoza B, Arakaki A, Maruyama K, Takeyama H, Matsunaga T. Fully automated DNA extraction from blood using magnetic particles modified with hyperbranched polyamidoamine dendrimer. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2003, 95: 21-26.

Application of microorganisms in biosynthesis of nanomaterials—A review

Xiaorong Zhang^{*}

College of Bio-resources and Environment Science, Key Laboratory Plant Resources Conservation and Utilization, Jishou University, Jishou 416000, China

Abstract: Biosynthesis of nanomaterials, as a novel “green synthesis technology”, has attracted increasing interests. Many microorganisms such as bacteria, actinomycetes (eukaryotes), as well as yeasts and fungi (prokaryotes) have been found to have ability to biosynthesize nanomaterials intracellularly or extracellularly. A series of metal and semiconductor nanomaterials with the excellent features of high monodispersity, stabilization, adjustable size, and biological activity, such as Au, Ag, Au-Ag, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Fe}_3\text{S}$, Titanium and CdS, CdSe, and Silica, have been biosynthesized. Here, we provided a brief overview of the current research on the use of microorganisms in the biosynthesis of nanomaterials. The biological procedures, biosynthesis mechanism, controlled biosynthesis on the shape and size, and their applications were summarized. The prospects of biosynthesis using microorganism have also been addressed.

Keywords: biosynthesis technology, nanomaterials, microorganism

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Planned Science and Technology Project of Hunan Province in China (2009FJ3011) and by the Construct Program of the Key Discipline in Hunan Province (JDS04)

^{*} Corresponding author. Tel: +86-743-8564416; Fax: +86-743-8565323; E-mail: xrzhang0743@163.com

Received: 18 August 2010 / Revised: 4 October 2010