

PŘEHLED BAKTERIÍ POUŽÍVANÝCH K PŘÍPRAVĚ NANOČÁSTIC KOVŮ

ANNA MIŠKOVSKÁ a ALENA ČEJKOVÁ

Ústav biotechnologie VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28
Praha 6
miskovsa@vscht.cz

Došlo 18.1.21, přijato 12.3.21.

Klíčová slova: nanočástice kovů, biosyntéza, biologický činitel, mikroorganismy, bakterie

Obsah

1. Úvod
2. Biologická syntéza nanočástic kovů
3. Syntéza nanočástic kovů pomocí mikroorganismů
4. Syntéza nanočástic pomocí bakterií
 - 4.1. Rod *Pseudomonas*
 - 4.2. Rod *Bacillus*
 - 4.3. Rod *Lactobacillus*
 - 4.4. Kmen *Actinobacteria*
 - 4.5. Ostatní
5. Závěr

1. Úvod

Kovové nanočástice se v posledních desetiletích těší velkému vědeckému i komerčnímu zájmu. Jedná se o kovové objekty tvořící pomyslný most mezi makromateriály a molekulárními či atomárními strukturami¹. Jejich atraktivita spočívá v jedinečných vlastnostech, které jsou výsledkem jejich rozměru (1–100 nm) (cit.²). Pro částice nano-rozměrů je totiž charakteristické, že se jejich fyzikální, chemické i biologické vlastnosti liší od větších struktur materiálu se stejným chemickým složením. Odlišné chování je důsledkem rozdílného specifického povrchu ($m^2 g^{-1}$) částic³.

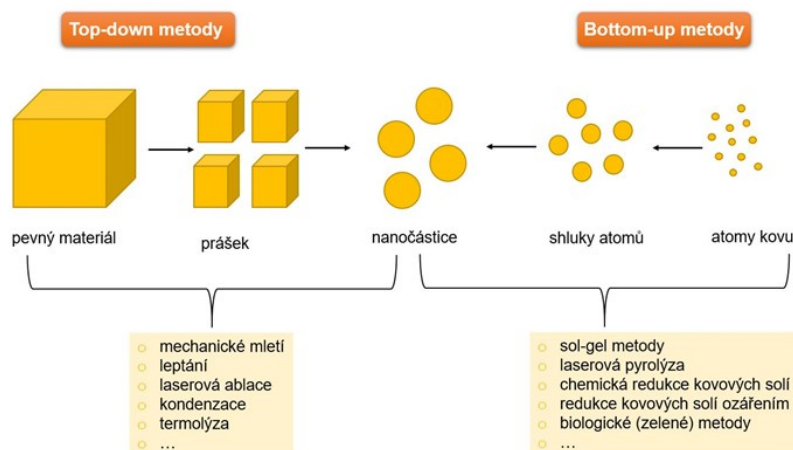
V současné době mají kovové nanostruktury celou škálu využití, uplatňují se například v biomedicíně, kde jsou často využívány nanočástice ušlechtilých kovů, které mají zajímavé optické a biologické vlastnosti. Konkrétně nanočástice zlata disponují dobrou biokompatibilitou, zvýšenou schopností absorpce a rozptylu světla a možností vázat na svůj povrch řadu látek (protilátky, léčiva, ligandy biomolekul). Zmíněných vlastností zlatých nanočástic je pak využíváno např. při cílení léčiv, buněčném a biologickém zobrazování či diagnostice⁴. V souvislosti s biomedicínskými aplikacemi by nemělo být opomenuto použití nanočástic kovů (např. Au, Ag, Cu, Pt, Pd, Zn) coby antimikrobiálních látek⁵. Nejznámější a nejpožíva-

nější jsou v tomto ohledu nanočástice stříbra, u kterých byly prokázány excelentní antimikrobiální a antiprotozoální účinky vůči celé řadě původců infekčních onemocnění. Díky těmto vlastnostem můžeme nanočástice stříbra nalézt jako součást topických mastí, krémů, obvazů na rány, chirurgických implantátů nebo kostních cementů⁶. Kovové nanočástice však nalézají uplatnění i v mnoha dalších oblastech jako např. v chemii, elektronice, kosmetice či v obalovém průmyslu¹.

Syntéza nanočástic kovů patří mezi aktivní oblasti aplikačního výzkumu nanotechnologií. Metody přípravy nanočástic kovů můžeme obecně rozdělit do tří skupin, a to na fyzikální, chemické a biologické⁷. Chemické a biologické postupy obvykle spadají pod tzv. „bottom-up“ metody, při kterých nanočástice vznikají shromažďováním atomů, molekul či jejich shluků do větších celků (obr. 1)⁶. Naproti tomu fyzikální metody patří mezi tzv. „top-down“ přístupy, při kterých jsou nanočástice připravovány z makromateriálů např. mletím či pyrolýzou. Fyzikální přístupy jsou obvykle náročné na spotřebu energie v důsledku používání vysokého tlaku a teploty, s čímž jsou spojené také vysoké náklady. V současné době se proto nanočástice kovů nejčastěji připravují chemickými postupy. Ve srovnání s metodami fyzikálními jsou méně nákladné, ale přesto mají své nevýhody, jako je např. používání toxických látek a vznik nebezpečných vedlejších produktů. V poslední době proto vzrostl zájem o vývoj takových metod syntézy nanočástic, které by byly nízkonákladové a zároveň byly šetrné k životnímu prostředí. Tyto požadavky splňují postupy biologické, které pro syntézu nanočástic využívají biologické činitele zahrnující mikroorganismy, rostliny a rostlinné extrakty¹. Klíčovou výhodou biologických postupů oproti tradičním (chemickým a fyzikálním) je schopnost biologických činitelů katalyzovat vznik nanočástic za normálního tlaku a teploty, a to i ve vodném prostředí. Ve prospěch biologických metod syntézy hraje také fakt, že vznikající nanočástice bývají ve srovnání s těmi abiotickými stabilnější a biokompatibilnější⁸. I přes mnohé výhody biologických přístupů jsou prozatím pro výrobu nanočástic často voleny tradiční metody, pomocí kterých je možné lépe řídit morfologii (velikost, tvar) vznikajících nanočástic⁹.

2. Biologická syntéza nanočástic kovů

Biologické či tzv. „zelené“ metody jsou považovány za budoucí alternativu konvenčních metod přípravy nanočástic kovů. Proto jsou v současné době mapovány vhodné biologické materiály, pomocí kterých by bylo možné dosáhnout bezpečné, jednoduché, šetrné a levné přípravy se snadným zvětšováním měřítko procesu (tzv. „scale-up“). Pro biosyntézu nanočástic kovů byla doposud použita celá

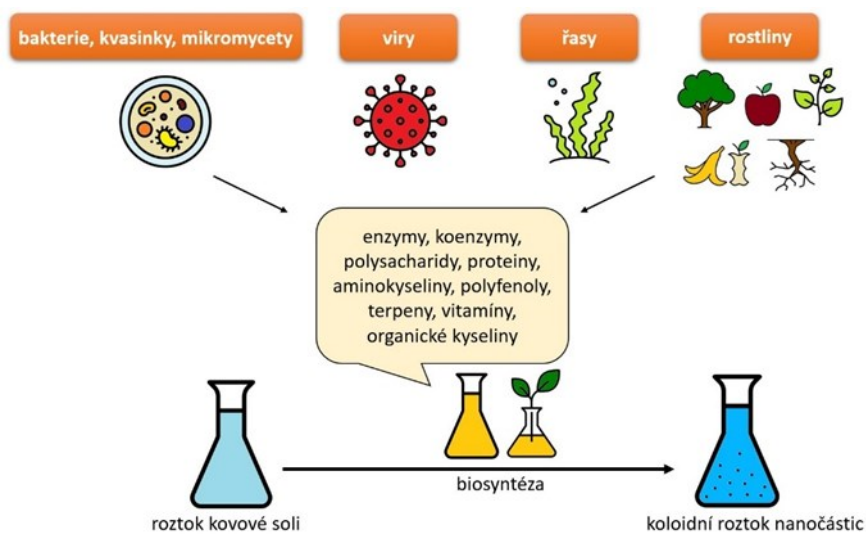


Obr. 1. Top-down a bottom-up metody syntézy nanočástic kovů

řada biologických činitelů: bakterie, mikromycety, kvasinky, viry, řasy, rostliny a rostlinné extrakty¹⁰. Výchozí látkou pro biosyntézu nanočástic je sůl obsahující příslušný kov v iontové formě (např. AgNO_3 , AuCl_4^-). K redukci kovových iontů a stabilizaci vznikajících nanočástic slouží biomolekuly přirozeně obsažené v biologických materiálech (obr. 2)⁷. Jako indikátor vznikajících nanočástic působí v první řadě změna barvy směsného roztoku, která je pro přípravu nanočástic kovů charakteristická¹¹. Samotnou biosyntézu lze řídit změnami reakčních podmínek, jako jsou pH, koncentrace kovového prekursoru, teplota, doba reakce nebo expozice nějakému světelnému zdroji. Zmíněné faktory ovlivňují nukleaci, růst, aglomeraci a stabilizaci vznikajících částic a jejich pozměněním můžeme dosáhnout

změny klíčových vlastností, jakou jsou velikost, tvar či krystalinita syntetizovaných nanočástic¹². Schopnost účelně manipulovat s těmito vlastnostmi je velmi důležitá, jelikož rozdílné aplikace vyžadují kovové nanočástice s rozdílnou morfologií¹³.

Pro přípravu nanočástic kovů definovaných vlastností je důležitý pečlivý výběr biologického činitele. Ne každý totiž disponuje schopností syntetizovat jednotlivé částice. Zda je daný biologický činitel vhodný pro syntézu nanočástic kovů, závisí především na jeho enzymovém vybavení a jeho metabolických drahách. Obecně platí, že pro syntézu nanočástic kovů mají dobré předpoklady především ti z nich, kteří jsou schopni akumulace těžkých kovů¹⁰.



Obr. 2. Schéma biologické syntézy nanočástic kovů

3. Syntéza nanočástic kovů pomocí mikroorganismů

Ukázalo se, že mikroorganismy, někdy také přezdívané jako „žijící ekologické nanotovárny“, mají obrovský potenciál pro šetrnou a nízkonákladovou přípravu nanočástic^{14,15}. Jejich schopnost interagovat s kovy je v současné době využívána např. v oblasti bioremediací¹⁶. Mikroorganismy mohou akumulovat a detoxikovat těžké kovy díky širokému spektru enzymů s reduktasovou aktivitou, které jim umožňují redukovat kovové ionty na nanočástice s úzkou distribucí velikostí a nízkou polydisperzitou¹⁷.

Biosyntézu nanočástic pomocí mikroorganismů lze provádět jak intracelulárně, tak extracelulárně¹⁵. Intracelulární metody spočívají v redukcí kovových iontů uvnitř mikrobiální buňky. Tento mechanismus zahrnuje elektrostatickou interakci kladně nabitého iontu kovu s negativně nabitým povrchem buněk, přičemž k samotné bioredukci a vzniku nanočástice dochází v intracelulárním prostoru pomocí enzymů¹⁸. Podrobný mechanismus vzniku nanočástic uvnitř buněk je však závislý na druhu použitého mikroorganismu¹⁹. Obvyklým postupem při intracelulární syntéze je kultivace organismu za optimálních podmínek (složení média, pH, teplota a další faktory), a poté oddělení buněk od média odstředěním. Následně se mikrobiální biomasa řádně promývá sterilní vodou a až posléze se inkubuje s roztokem kovových iontů^{20,21}.

Extracelulární metody biosyntézy nanočástic jsou často prováděny v bezbuněčném prostředí, kdy je k redukcí kovových iontů využito biomolekul (především enzymů), které byly biomasou produkovány do mimobu-

něčného prostoru. Výhoda těchto postupů spočívá v absenci nákladných a zdlouhavých „down-stream“ procesů nutných k rozrušení buněk (sonikace) a oddělení nanočástic od buněčných komponent (násobná centrifugace)¹⁷. Pro přípravu nanočástic je možné použít supernatant/filtrát získaný oddělením buněk z kultivačního média^{22–24}. Jinou z často volených možností je biosyntéza nanočástic pomocí vodného bezbuněčného extraktu, který je získáván extrakcí narostlé buněčné populace do destilované vody. Výhodou použití vodných extraktů buněk je absence složek nespoteřovaného média, a tedy minimalizace jejich vlivu na průběh biosyntézy^{25,26}.

4. Syntéza nanočástic pomocí bakterií

Bakterie jsou z hlediska biosyntézy nanočástic kovů studovány ze všech mikroorganismů nejintenzivněji¹⁴. Výhodou využití prokaryot je především jejich schopnost rychlého růstu a přizpůsobení se extrémním podmínkám, a také snazší manipulace ve srovnání s eukaryoty^{1,13}. Navíc lze při kultivaci bakterií snadno měnit růstové podmínky, které mohou ovlivnit velikost či tvar vznikajících nanočástic. Naopak možné nevýhody využití bakterií a potažmo všech mikroorganismů mohou zahrnovat bezpečnostní riziko (patogenita některých zástupců), vysoké nároky na asepticitu bioproduktu nebo složité přípravné či tzv. „up-stream“ operace^{27,28}. Dosavadní výzkum bakteriemi zprostředkované biosyntézy nanočástic kovů zmiňuje rody *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Streptomyces*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Rhodospseudomonas*, ale i mnoho dalších¹⁷.

Tabulka I

Syntéza nanočástic kovů pomocí bakterií rodu *Pseudomonas* (NP – nanočástice z angl. nanoparticle)

Bakterie	Intracelulární/ Extracelulární	Typ NP	Velikost (tvar)	Aplikace	Lit.
<i>Pseudomonas stutzeri</i> (AG259)	intracelulární	Ag	200 nm a více	–	30
<i>P. rhodesiae</i>	extracelulární	Ag	20–100 nm (sférické)	antimikrobiální	63
<i>P. aeruginosa</i>	extracelulární	Ag	8–24 nm	antimikrobiální	35
<i>P. aeruginosa</i>	extracelulární	Au	25 nm ± 8 nm (sférické)	–	37
<i>P. aeruginosa</i>	–	CdSe	10, 70–100 nm (sférické)	–	36
<i>Pseudomonas</i> sp. (půdní izolát)	extracelulární	Ag	10–40 nm (nepravidelný)	antimikrobiální	31
<i>P. fragi</i> (GC01)	intracelulární	CdS	–	–	33
<i>P. fluorescens</i>	extracelulární	Cu	49 nm (sférické, hexagonální)	–	32
<i>P. veronii</i>	extracelulární	Au	5–25 nm (nepravidelný)	antibakteriální	64

4.1. Rod *Pseudomonas*

Jedny z prvních studií zabývajících se touto problematikou věnují pozornost bakterii *Pseudomonas stutzeri* AG259 izolované ze stříbrných dolů v americkém Utahu, která je rezistentní ke stříbru. U tohoto kmene byly v periplazmatickém prostoru nalezeny akumulované stříbrné nanočástice o velikosti 35–45 nm (cit.^{1,29}). Později Klaus a spol.³⁰ kultivovali *P. stutzeri* AG259 v laboratorních podmínkách na pevném substrátu obsahujícím AgNO₃ v koncentraci 50 mM. V této studii došlo ke vzniku částic stříbra o velikosti přibližně 200 nm a více. Zmíněné experimenty dokazují, že morfologie vznikajících nanočástic závisí na podmínkách kultivace buněk. Jiné experimenty zkoumají extracelulární biosyntézu nanočástic za použití bezbuněčných extraktů různých kmenů rodu *Pseudomonas*. Například ve studii z roku 2018 izolovali autoři bakterii *Pseudomonas* z půdy (Jižní Korea) a za pomoci kultivačního média, ze kterého byla odstraněna biomasa, se jim podařilo připravit nanočástice stříbra o velikosti 10–40 nm (cit.³¹). Pomocí bakterií rodu *Pseudomonas* jsou však připravovány také nanočástice dalších kovů (tab. I). Konkrétně pomocí nepatogenní *P. fluorescens* byly např. připraveny nanočástice mědi. V této studii byl pro syntézu nanočástic použit bezbuněčný supernatant a byly získány nanočástice o průměrné velikosti 49 nm (cit.³²). Dále byly některé druhy *Pseudomonas* použity k syntéze polovodičových nanočástic tzv. kvantových teček (CdSe, CdS). Pomocí psychrotolerantní *P. fragi* GC01 izolované z Antarktidy byly připraveny nanočástice CdS, přičemž výhodou tohoto postupu je, že biosyntéza probíhala i za nízké reakční teploty (15 °C)³³.

Řada autorů použila k přípravě nanočástic kovů také druh *Pseudomonas aeruginosa*, který je velmi hojně zastoupen v přírodě (půda, voda, aj.)^{34–37}. Nevýhodou tohoto

druhu je jeho zařazení mezi časté oportunní patogeny rezistentní k mnohým antibakteriálním látkám³⁸.

4.2. Rod *Bacillus*

Rod *Bacillus* patří mezi nejvýznamnější biotechnologické producenty řady chemických látek (enzymy, vitaminy, antibiotika, toxiny...). Jeho zástupci produkují mnoho enzymů, což z nich činí zajímavé kandidáty pro biosyntézu nanočástic kovů (tab. II)³⁹. Průmyslově hojně využívaný *B. subtilis* byl použit k syntéze nanočástic kovů a jejich oxidů, jako jsou např. stříbro (Ag), zlato (Au) a železo (Fe₃O₄)^{40–42}. Zhao a spol.⁴³ ve své studii připravili nanočástice stříbra (~ 20 nm) pomocí lipopeptidu iturinu, biosurfaktantu získaného z *B. subtilis*. Pozornost přitahují také zástupci rezistentní k těžkým kovům. Pomocí chromrezistentního *B. subtilis* byly připraveny nanočástice chromu Cr(III) o velikosti 4–50 nm, u kterých byla pozorována antimikrobiální aktivita vůči bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*⁴⁴.

Pro biosyntézu nanočástic kovů byl použit také například *B. amyloliquefaciens*. Ghiuță a spol.⁴⁵ připravili pomocí bezbuněčného extraktu zmíněného druhu *Bacillus* nanočástice stříbra, u kterých potvrdili antimikrobiální aktivitu vůči několika lidským patogenům. Taran a spol.⁴⁶ připravili pomocí síranu měďnatého a bezbuněčného extraktu bakterie *Bacillus* (FU4) nanočástice oxidu mědi (CuO) o velikosti 2–41 nm.

Velmi perspektivním přístupem k biosyntéze nanočástic kovů jsou metody využívající odpadní produkty, které obvykle nemají žádná další využití. Tento přístup zaujali ve své studii také Momin a spol.⁴⁷, kteří použili k přípravě stříbrných nanočástic bezbuněčný supernatant zbylý po produkci arginasy fermentací *B. licheniformis* M09. Supernatant byl (1:1 v/v) smíchán s vodným rozto-

Tabulka II
Syntéza nanočástic kovů pomocí bakterií rodu *Bacillus*

Bakterie	Intracelulární/ Extracelulární	Typ NP	Velikost (tvar)	Aplikace	Lit.
<i>Bacillus subtilis</i>	intracelulární/ extracelulární	Au	7,6 ± 1,8 nm/ 7,3 ± 2,3 nm	–	40
<i>B. subtilis</i> (půdní izolát)	extracelulární	Fe ₃ O ₄	60–80 nm (sférické)	–	41
<i>B. subtilis</i>	extracelulární	Ag	10–20 nm	antibakteriální	42
<i>B. subtilis</i>	intracelulární	Cr(III)	4–50 nm	antibakteriální/ cytotoxicita	44
<i>B. licheniformis</i>	extracelulární	Ag	10–30 nm (sférické)	katalýza, antimikrobiální, protirakovinné	47
<i>B. amyloliquefaciens</i>	extracelulární	Ag	polydisperzní	antimikrobiální	45
<i>Bacillus</i> sp. (FU4)	extracelulární	CuO	2–41 nm	antibakteriální	46
<i>B. indicus</i>	extracelulární	Ag	2,5–13,3	–	65
<i>B. cecembensis</i>	extracelulární	Ag	2,8–18,2	–	65

kem dusičnanu stříbrného a ponechán reagovat při pokojové teplotě 36 h. Tímto postupem se podařilo připravit sférické nanočástice stříbra o velikosti 10–30 nm s aplikačním potenciálem v nanomedicině.

4.3. Rod *Lactobacillus*

Lactobacillus patří mezi běžné zástupce lidské mikroflóry a díky rychlému růstu, spíše výjimečné patogenitě a produkci různých enzymů patří mezi mikroorganismy zkoumané z hlediska schopnosti biosyntézy nanočástic kovů (tab. III)^{39,48}. Kikuchi a spol.⁴⁹ připravili nanočástice zlata pomocí *L. casei*. Navázali na předchozí znalost schopnosti této bakterie syntetizovat zlaté nanočástice a jako biokatalyzátor ve své studii použili buňky izolované z kultivačního média promyté destilovanou vodou. Připravené buňky byly smíchány s roztokem kyseliny chlorozlatité a takto byly syntetizovány nanočástice zlata o velikosti 7–56 nm. Dále se studie zaměřila na odhalení biomolekul zodpovědných za reakci a bylo zjištěno, že se na redukci zlatých iontů z velké části podílí glykolipidy, pravděpodobně přítomné v cytoplazmatické membráně. Identifikace klíčových molekul podílejících se na syntéze nanočástic kovů je důležitá z hlediska možných genetických modifikací s cílem vytvoření rekombinantních kmenů se schopností efektivnější výroby nanočástic.

Garmasheva a spol.⁵⁰ provedli rozsáhlou studii schopnosti 22 různých kmenů *Lactobacillus* syntetizovat nanočástice stříbra. Pro biosyntézu použili buňky promyté deionizovanou vodou smíchané s 1mM roztokem AgNO₃. Zjistili, že schopnost redukovat stříbrné ionty je specifická pro jednotlivé kmeny a ke tvorbě stříbrných nanočástic došlo jen u deseti ze zvolených zástupců.

4.4. Kmen *Actinobacteria*

Aktinobakterie (Aktinomycety) jsou grampozitivní vláknité bakterie přirozeně se vyskytující jak v suchozemském, tak ve vodním prostředí. Jedná se o průmyslově významný kmen, který je zdrojem velké části komerčně využívaných biotechnologických produktů (antibiotika, aminokyseliny, enzymy, protinádorová léčiva...). Nejvýznamnějším rodem je *Streptomyces*, produ-

cent většiny komerčně důležitých bioaktivních látek – antibiotik, protirakovinných preparátů a imunosupresiv (vyráběných biotechnologicky)³⁹. Současná literatura nabízí mnoho záznamů o úspěšné intra- i extracelulární syntéze nanočástic kovů pomocí aktinobakterií (tab. IV)^{9,51}. Velká část výzkumu této problematiky soustřeďuje pozornost na biosyntézu nanočástic coby antimikrobiálních látek s aplikačním potenciálem v medicíně. Například pomocí *Streptomyces* sp. (MA30) byly připraveny nanočástice oxidu zinečnatého (ZnO) o velikosti 15–30 nm, u kterých byla potvrzena antibakteriální aktivita vůči několika lidským patogenům – *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella abony*, *Enterobacter aerogenes* a *Proteus vulgaris*⁵². Ve zmíněné studii byly nanočástice ZnO připraveny pomocí kultivačního média, ze kterého byly před samotnou biosyntézou odstraněny buňky. Pomocí aktinobakterií byly připraveny také nanočástice stříbra, které jsou známé svými výbornými antimikrobiálními účinky. Například pomocí média zbylého po kultivaci *Sinomonas mesophila* byly připraveny nanočástice stříbra o velikosti 4–50 nm, které inhibovaly růst multirezistentního *S. aureus*⁵³. Nanočástice stříbra (5 až 50 nm) byly připraveny také pomocí kultury *Rhodococcus* sp. a ukázaly velmi dobré inhibiční účinky vůči *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* a *Enterococcus faecalis*⁵⁴. Eid a spol.⁵⁵ připravili nanočástice stříbra pomocí vodného bezbuněčného extraktu *Streptomyces laurentii* s aplikačním potenciálem v textilním průmyslu. Ve své studii aplikovali biofabrikané nanočástice na bavlněnou textilii a jejich výsledky potvrdily antibakteriální aktivitu ošetřené tkaniny i po 10 pracích cyklech.

Zlaté nanočástice byly úspěšně připraveny pomocí rodů *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Nocardia*, *Thermomonospora* a *Thermoactinomyces*^{51,56}.

4.5. Ostatní

Mimo uvedených druhů bakterií by neměli být opomenuti i někteří z dalších členů říše prokaryot schopných syntetizovat nanočástice kovů. Jedním z nich je např. gramnegativní, fakultativně anaerobní bakterie rodu *Shewanella*. Někteří zástupci tohoto rodu, zejména *She-*

Tabulka III
Syntéza nanočástic kovů pomocí bakterií rodu *Lactobacillus*

Bakterie	Intracelulární/ Extracelulární	Typ NP	Velikost (tvar)	Aplikace	Lit.
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	intracelulární/ extracelulární	Ag	25–50 nm (sférické)	–	48
<i>L. casei</i>	–	Au	7–56 nm	–	49
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	–	CuO	40–110 nm (sférické)	antibakteriální, protirakovinné	66
<i>Lactobacillus</i> sp.	extracelulární	TiO ₂	8–35 nm	–	67
<i>L. plantarum</i>	–	Ag	13–28 nm	antibakteriální	50
<i>L. acidophilus</i> ncs	–	Ag	25–57 nm	antibakteriální	50

Tabulka IV
Syntéza nanočástic kovů pomocí bakterií kmene Actinobacteria

Bakterie	Intracelulární/ Extracelulární	Typ NP	Velikost (tvar)	Aplikace	Lit.
<i>Streptomyces</i> sp.	extracelulární	ZnO	15–30 nm	antimikrobiální, cytotoxicita	52
<i>Streptomyces laurentii</i>	extracelulární	Ag	7–28 nm	antibakteriální, protirakovinné, textil	55
<i>Sinomonas mesophila</i>	extracelulární	Ag	4–50 nm	antibakteriální	53
<i>Rhodococcus</i> sp.	intracelulární	Ag	5–50 nm	antibakteriální	54
<i>Corynebacterium</i>	intracelulární	Ag	10–15 nm	–	68
<i>Thermomonospora</i> sp.	extracelulární	Au	9–10 nm (sférické)	–	69
<i>Nocardia farcinica</i>	extracelulární	Au	15–20 nm (sférické)	–	70
<i>Streptomyces</i> sp.	extracelulární	Au	5–50 nm	antimalarické	71
<i>Streptomyces zaomyceticus</i>	extracelulární	CuO	Polydisperzní	antimikrobiální, antilarvální	72
<i>Streptomyces pseudogriseolus</i>	extracelulární	CuO	polydisperzní	antimikrobiální, antilarvální	72
<i>Streptomyces minutiscleroticus</i>	–	Se	10–250 nm	antimikrobiální, cytotoxicita	73

wanella oneidensis, disponují schopností respirace prostřednictvím široké škály kovů (včetně Fe, Mn, Cr a U), tedy spojením oxidace organických kyselin (donor elektronů) a redukce anorganických kovů, polokovů či radionuklidů jako akceptorů elektronů⁵⁷. Mimořádné respirační všestrannosti tohoto rodu lze využít jak při vývoji nových bioremediačních strategií, tak pro syntézu nanomateriálů. Členové rodu *Shewanella* byli použiti k produkci nanočástic kovů, jako jsou zlato, stříbro, měď, palladium, železo a mangan či polokovů selenu a telur^{58,59}. Jako konkrétní příklad je možné uvést použití *S. oneidensis* MR-1 k přípravě biogenních nanočástic stříbra⁶⁰.

Zajímavé je také využití magnetotaktických bakterií (např. rod *Magnetospirillum*) ke tvorbě nanočástic železa.

Tato prokaryota totiž přirozeně obsahují ve svém intracelulárním prostoru tzv. magnetosomy – magnetitové krystaly (Fe_3O_4), jejichž morfologie a velikost jsou druhově specifické⁶¹. Jednou z nadějných biomedicinských aplikací těchto útvarů je jejich použití coby magneticky cílených nosičů léčiv. V jedné ze studií byly např. magnetosomy získané izolací z *Magnetospirillum gryphiswaldense* úspěšně konjugovány s doxorubicinem, látkou používanou v terapii rakoviny⁶².

Úspěšná syntéza nanočástic kovů byla však uskutečněna i u mnoha dalších rodů bakterií, jako jsou např. *Escherichia*, *Rhodopseudomonas*, *Desulfovibrio* či *Klebsiella*⁵⁹. Vybrané syntézy nanočástic pomocí uvedených prokaryot uvádí tab. V.

Tabulka V
Syntéza nanočástic kovů pomocí ostatních prokaryot

Bakterie	Intracelulární/ Extracelulární	Typ NP	Velikost (tvar)	Aplikace	Lit.
<i>Shewanella oneidensis</i>	–	Ag	2–11 nm (sférické)	antibakteriální	60
<i>Shewanella oneidensis</i>	–	Pd	5–25 nm	katalýza	74
<i>Shewanella algae</i>	intracelulární	Au	10–20 nm	–	75
<i>Shewanella oneidensis</i>	intracelulární	Cu	20–40 nm	katalýza	76
<i>Magnetospirillum magnetotacticum</i>	intracelulární	Fe_3O_4	~ 47 nm	–	77
<i>E. coli</i>	extracelulární	Au-Ag	14–18 nm	biomedicína	78
<i>E. coli</i> (GMO)	intracelulární	CdS	15–50 nm	detekce	79

5. Závěr

Zelené metody biosyntézy nanočástic kovů se stávají významnou součástí moderních nanobiotechnologií. Ve srovnání s konvenčními přístupy přináší tyto metody mnoho výhod, jako jsou jednoduchý „scale-up“ či nízké náklady. Jedním z nadějných směrů je využití mikroorganismů, zejména pak bakterií, pomocí kterých lze připravovat nanočástice kovů s rozmanitými tvary a velikostmi, které bývají stabilní a biokompatibilní. Výzkum a vývoj biologických metod přípravy kovových nanočástic však stále představuje výzvu, zejména co se týče zajištění reprodukovatelnosti. Do budoucna by proto měla být těmto metodám nadále věnována pozornost, zvláště pak tam, kde nalézají vznikající nanočástice uplatnění v biomedicině.

LITERATURA

- Thakkar K. N., Mhatre S. S., Parikh R. Y.: *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 6, 257 (2010).
- ČSN P CEN ISO/TS 27687: *Nanotechnologie – Termíny a definice nanoobjektů – Nanočástice, nanovlákná a nanodeska* (březen 2011).
- Kato Y., Suzuki M.: *Crystals* 10, 589 (2020).
- Jain P. K., Lee K. S., El-Sayed I. H., El-Sayed M. A.: *J. Phys. Chem. B* 110, 7238 (2006).
- Jeyaraj M., Gurunathan S., Qasim M., Kang M.-H., Kim J.-H.: *Nanomaterials* 9, 1719 (2019).
- Dauthal P., Mukhopadhyay M.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 55, 9557 (2016).
- Adil S. F., Assal M. E., Khan M., Al-Warthan A., Siddiqui M. R. H., Liz-Marzán L. M.: *Dalton Trans.* 44, 9709 (2015).
- Schröfel A., Kratošová G., Šafařík I., Šafaříková M., Raška I., Šor L. M.: *Acta Biomater.* 10, 4023 (2014).
- Sivasankar P., Poongodi S., Seedeve P., Kalaimurugan D., Sivakumar M., Loganathan S.: *Curr. Pharm. Des.* 25, 2626 (2019).
- Shah M., Fawcett D., Sharma S., Tripathy S. K., Poinern G. E. J.: *Materials* 8, 7278 (2015).
- Ali M., Ahmed T., Wu W., Hossain A., Hafeez R., Islam Masum M., Wang Y., An Q., Sun G., Li B.: *Nanomaterials* 10, 1146 (2020).
- Chaudhary R., Nawaz K., Khan A. K., Hano C., Abbasi B. H., Anjum S.: *Biomolecules* 10, 1498 (2020).
- Prasad R., Pandey R., Barman I.: *Wiley Interdiscip. Rev.: Nanomed. Nanobiotechnol.* 8, 316 (2016).
- Mandal D., Bolander M. E., Mukhopadhyay D., Sarkar G., Mukherjee P.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 69, 485 (2006).
- Soni M., Mehta P., Soni A., Goswami G. K.: *IOSR-JBB* 4, 78 (2018).
- Klaus-Joerger T., Joerger R., Olsson E., Granqvist C.-G.: *Trends Biotechnol.* 19, 15 (2001).
- Singh P., Kim Y.-J., Zhang D., Yang D.-C.: *Trends Biotechnol.* 34, 588 (2016).
- Ovais M., Khalil A. T., Ayaz M., Ahmad I., Nethi S. K., Mukherjee S.: *Int. J. Mol. Sci.* 19, 4100 (2018).
- Hulkoti N. I., Taranath T.: *Colloids Surf., B* 121, 474 (2014).
- Mukherjee P., Ahmad A., Mandal D., Senapati S., Sainkar S. R., Khan M. I., Ramani R., Parischa R., Ajayakumar P., Alam M.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 40, 3585 (2001).
- Kalishwaralal K., Deepak V., Pandian S. R. K., Kottaisamy M., BarathManiKanth S., Kartikeyan B., Gurunathan S.: *Colloids Surf., B* 77, 257 (2010).
- Husseiny M., Abd El-Aziz M., Badr Y., Mahmoud M.: *Spectrochim. Acta, Part A* 67, 1003 (2007).
- Jo J. H., Singh P., Kim Y. J., Wang C., Mathiyalagan R., Jin C.-G., Yang D. C.: *Artif. Cells, Nanomed., Biotechnol.* 44, 1576 (2016).
- Singh P., Kim Y. J., Singh H., Wang C., Hwang K. H., Farh M. E.-A., Yang D. C.: *Int. J. Nanomed.* 10, 2567 (2015).
- AbdelRahim K., Mahmoud S. Y., Ali A. M., Almaary K. S., Mustafa A. E.-Z. M., Husseiny S. M.: *Saudi J. Biol. Sci.* 24, 208 (2017).
- Kaler A., Nankar R., Bhattacharyya M. S., Banerjee U. C.: *J. Bionanosci.* 5, 53 (2011).
- Jamkhande P. G., Ghule N. W., Bamer A. H., Kalaskar M. G.: *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 53, 101174 (2019).
- Ahmed S., Ahmad M., Swami B. L., Ikram S.: *J. Adv. Res.* 7, 17 (2016).
- Slawson R. M., Van Dyke M. I., Lee H., Trevors J. T.: *Plasmid* 27, 72 (1992).
- Klaus T., Joerger R., Olsson E., Granqvist C.-G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 13611 (1999).
- Singh H., Du J., Singh P., Yi T. H.: *J. Pharm. Anal.* 8, 258 (2018).
- Shantkriti S., Rani P.: *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3, 374 (2014).
- Gallardo C., Monrás J., Plaza D., Collao B., Saona L., Durán-Toro V., Venegas F., Soto C., Ulloa G., Vásquez C.: *J. Biotechnol.* 187, 108 (2014).
- Srivastava S. K., Constanti M.: *J. Nanopart. Res.* 14, 831 (2012).
- Kumar C. G., Mamidyala S. K.: *Colloids Surf., B* 84, 462 (2011).
- Ayano H., Kuroda M., Soda S., Ike M.: *J. Biosci. Bioeng.* 119, 440 (2015).
- Quinteros M. A., Bonilla J. O., Alborés S. V., Villegas L. B., Páez P. L.: *Colloids Surf., B* 184, 110517 (2019).
- WHO (2017): WHO priority pathogens list for R&D of new antibiotics: <https://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> (staženo 5.10.2020).
- Goldman E., Green L. H.: *Practical handbook of microbiology*, 3. vyd. CRC press, Boca Raton 2015.
- Reddy A. S., Chen C.-Y., Chen C.-C., Jean J.-S., Chen H.-R., Tseng M.-J., Fan C.-W., Wang J.-C.: *J. Nanosci. Nanotechnol.* 10, 6567 (2010).
- Sundaram P. A., Augustine R., Kannan M.: *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 17, 835 (2012).
- Velmurugan P., Iydroose M., Mohideen M. H. A. K., Mohan T. S., Cho M., Oh B.-T.: *Bioprocess Biosystems Eng.* 37, 1527 (2014).

43. Zhao X., Yan L., Xu X., Zhao H., Lu Y., Wang Y., Jiang C., Shao D., Zhu J., Shi J.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **103**, 6319 (2019).
44. Kanakalakshmi A., Janaki V., Shanthi K., Kamala-Kannan S.: *Artif. Cells, Nanomed., Biotechnol.* **45**, 1304 (2017).
45. Ghiuță I., Cristea D., Croitoru C., Kost J., Wenkert R., Vyrides I., Anayiotos A., Munteanu D.: *Appl. Surf. Sci.* **438**, 66 (2018).
46. Taran M., Rad M., Alavi M.: *Pharm. Sci.* **23**, 198 (2017).
47. Momin B., Rahman S., Jha N., Annapure U. S.: *Bioprocess Biosyst. Eng.* **42**, 541 (2019).
48. Korbekandi H., Irvani S., Abbasi S.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **87**, 932 (2012).
49. Kikuchi F., Kato Y., Furihata K., Kogure T., Imura Y., Yoshimura E., Suzuki M.: *Sci. Rep.* **6**, 34626 (2016).
50. Garmasheva I., Kovalenko N., Voychuk S., Ostapchuk A., Livins'ka O., Oleschenko L.: *BioImpacts: BI* **6**, 219 (2016).
51. Salem S. S., Fouda A.: *Biol. Trace Elem. Res.* **2020**, 1.
52. Shanmugasundaram T., Balagurunathan R.: *Artif. Cells, Nanomed., Biotechnol.* **45**, 1521 (2017).
53. Manikprabhu D., Cheng J., Chen W., Sunkara A. K., Mane S. B., Kumar R., Hozzein W. N., Duan Y.-Q., Li W.-J.: *J. Photochem. Photobiol., B* **158**, 202 (2016).
54. Otari S., Patil R., Ghosh S., Thorat N., Pawar S.: *Spectrochim. Acta, Part A* **136**, 1175 (2015).
55. Eid A. M., Fouda A., Niedbała G., Hassan S. E.-D., Salem S. S., Abdo A. M., F Hetta H., Shaheen T. I.: *Antibiotics* **9**, 641 (2020).
56. Edison L. K., Pradeep N., v knize: *Green Nanoparticles. Nanotechnology in the Life Sciences* (Patra J., Fraceto L., Das G., Campos E., ed.), kap. 20 str. 371. Springer, Cham 2020.
57. Tiedje J. M.: *Nat. Biotechnol.* **20**, 1093 (2002).
58. Kim T.-Y., Kim M. G., Lee J.-H., Hur H.-G.: *Front. Microbiol.* **9**, 2817 (2018).
59. Narayanan K. B., Sakthivel N.: *Adv. Colloid Interface Sci.* **156**, 1 (2010).
60. Suresh A. K., Pelletier D. A., Wang W., Moon J.-W., Gu B., Mortensen N. P., Allison D. P., Joy D. C., Phelps T. J., Doktycz M. J.: *Environ. Sci. Technol.* **44**, 5210 (2010).
61. Lang C., Schüler D.: *J. Phys.: Condens. Matter* **18**, S2815 (2006).
62. Sun J.-B., Duan J.-H., Dai S.-L., Ren J., Zhang Y.-D., Tian J.-S., Li Y.: *Cancer Lett.* **258**, 109 (2007).
63. Hossain A., Hong X., Ibrahim E., Li B., Sun G., Meng Y., Wang Y., An Q.: *Molecules* **24**, 2303 (2019).
64. Baker S., Satish S.: *Spectrochim. Acta, Part A* **150**, 691 (2015).
65. Shivaji S., Madhu S., Singh S.: *Process Biochem.* **46**, 1800 (2011).
66. Kouhkan M., Ahangar P., Babaganjeh L. A., Allahyari-Devin M.: *Curr. Nanosci.* **16**, 101 (2020).
67. Jha A. K., Prasad K., Kulkarni A.: *Colloids Surf., B* **71**, 226 (2009).
68. Zhang H., Li Q., Lu Y., Sun D., Lin X., Deng X., He N., Zheng S.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **80**, 285 (2005).
69. Sastry M., Ahmad A., Khan M. I., Kumar R.: *Curr. Sci.* **85**, 162 (2003).
70. Oza G., Pandey S., Gupta A., Kesarkar R., Sharon M.: *J. Microbiol. Biotechnol.* **2**, 511 (2012).
71. Karthik L., Kumar G., Keswani T., Bhattacharyya A., Reddy B. P., Rao K. B.: *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* **9**, 951 (2013).
72. Hassan S. E.-D., Fouda A., Radwan A. A., Salem S. S., Barghoth M. G., Awad M. A., Abdo A. M., El-Gamal M. S.: *JBIC, J. Biol. Inorg. Chem.* **24**, 377 (2019).
73. Ramya S., Shanmugasundaram T., Balagurunathan R.: *J. Trace Elem. Med Biol.* **32**, 30 (2015).
74. Xiong L., Zhang X., Huang Y.-X., Liu W.-J., Chen Y.-L., Yu S.-S., Hu X., Cheng L., Liu D.-F., Yu H.-Q.: *ACS Appl. Nano Mater.* **1**, 1467 (2018).
75. Konishi Y., Tsukiyama T., Tachimi T., Saitoh N., Nomura T., Nagamine S.: *Electrochim. Acta* **53**, 186 (2007).
76. Kimber R. L., Lewis E. A., Parmeggiani F., Smith K., Bagshaw H., Starborg T., Joshi N., Figueroa A. I., van der Laan G., Cibir G.: *Small* **14**, 1703145 (2018).
77. Philipse A. P., Maas D.: *Langmuir* **18**, 9977 (2002).
78. Jiang X., Fan X., Xu W., Zhang R., Wu G.: *ACS Biomater. Sci. Eng.* **6**, 680 (2019).
79. Zhang D., Yamamoto T., Tang D., Kato Y., Horiuchi S., Ogawa S., Yoshimura E., Suzuki M.: *Talanta* **195**, 447 (2019).

A. Mišková and A. Čejková (*Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology Prague*): **Bacteria Used for Metal Nanoparticles Synthesis – an Overview**

During the last decades, metal nanoparticles have become very popular due to their unique optical, electronic, catalytic, antimicrobial, anti-cancer, and other properties. Traditionally, metal nanoparticles are synthesized through physical and chemical methods, but these approaches have various drawbacks, such as high cost, high working pressure and temperature or the use of toxic substances. Nowadays, attention is paid increasingly to biological methods (also called "green"), which use biological agents for the synthesis of nanoparticles. Advantages of these methods are cost-effectiveness and environmental friendliness. One of the promising directions is the use of microorganisms – especially bacteria. This review discusses the methods and benefits of using prokaryotes to biosynthesize metal nanoparticles and summarizes current knowledge in the field. It also aims to provide the reader with a clear list of the promising representatives of prokaryotes used for the nanoparticle synthesis of various metals.

Keywords: metal nanoparticles, biosynthesis, biological agent, microorganisms, bacteria