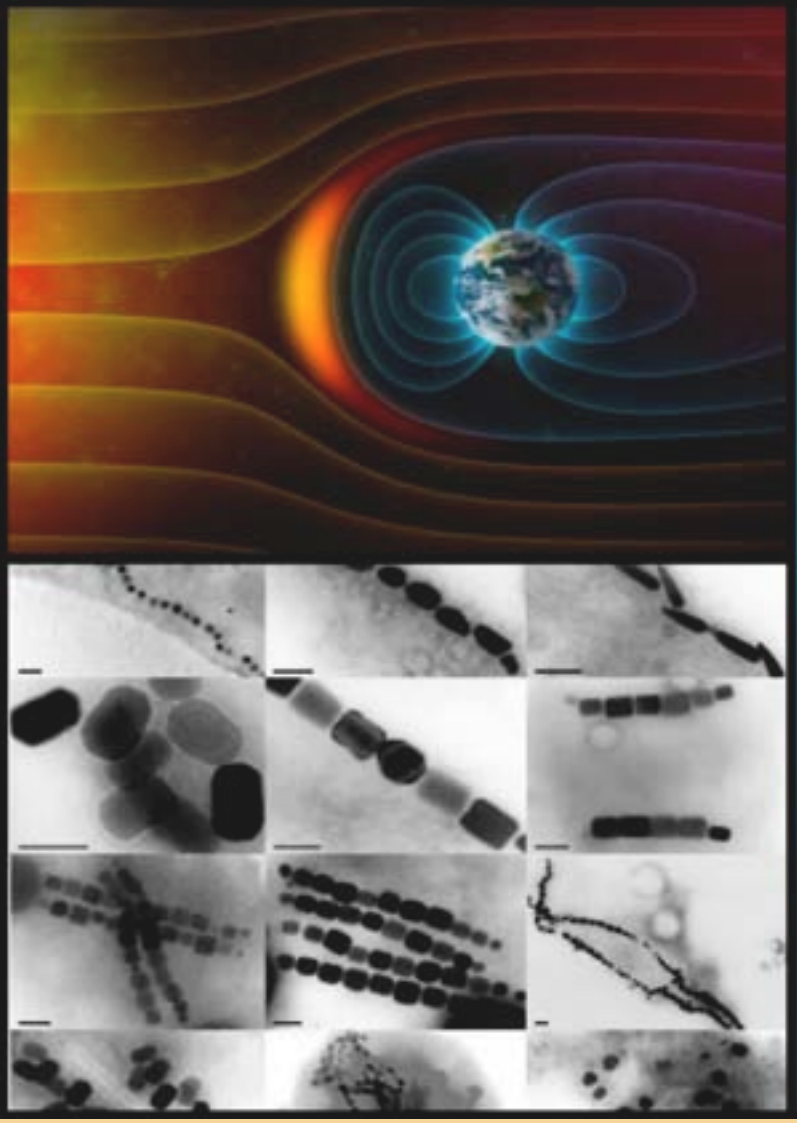

Mariana Monteiro Pereira Vieira Pinto

Bactérias Magnetotáticas e suas Aplicações

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Gabriela Jorge da Silva e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015

· U C ·

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Mariana Monteiro Pereira Vieira Pinto

Bactérias Magnetotáticas e suas Aplicações

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Gabriela Jorge da Silva e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015

· U C ·

Universidade de Coimbra

Eu, Mariana Monteiro Pereira Vieira Pinto, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o número 2010138940, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Setembro de 2015.

_____

Monografia realizada no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia de Universidade de Coimbra.

A Orientadora da Monografia,

_____

(Gabriela Conceição Duarte Jorge da Silva)

A Aluna,

_____

(Mariana Monteiro Pereira Vieira Pinto)

NÃO PODEREI DEIXAR DE DAR OS MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS...

À Professora Doutora Gabriela Silva, pelas suas orientações e conselhos na realização desta monografia, assim como por toda a disponibilidade que demonstrou;

À minha família, pelo amor, carinho e apoio incondicional que sempre me deram e que me permitiu enfrentar todas as etapas da minha vida de forma positiva e confiante. Em especial à minha madrinha Ana Raquel e ao seu marido Nicolas pela participação na minha procura pelo tema da presente Monografia;

Aos meus queridos amigos, Carolina, Inês Barejo, Inês Roldão, Cristiana, Patrícia, Sara, Sofia Jervis, Sofia Salgado e Tiago, que sempre estiveram presentes ao longo desta minha caminhada. Levarei comigo para a vida todos os momentos que passamos juntos;

A Coimbra, que tornou esta jornada ainda mais especial.

ÍNDICE

RESUMO/ ABSTRACT 2
1. O PLANETA TERRA E O SEU CAMPO MAGNÉTICO 3
2. BACTÉRIAS MAGNETOTÁTICAS 3
2.1. História da Descoberta 3
2.2. O que são 5
2.3. Características 5
2.4. Onde se encontram 7
3. MAGNETOSSOMAS 8
3.1. O que são 8
3.2. Características 8
3.3. Processo de Formação 12
4. ISOLAMENTO E CULTIVO DE BACTÉRIAS MAGNETOTÁTICAS E SEUS MAGNETOSSOMAS 14
5. APLICAÇÕES 18
5.1. Ressonância Magnética 19
5.2. Hipertermia Magnética 20
5.3. Transporte de Fármacos 20
5.4. Outros 21
5.5. Magnetossoma vs. Nanopartículas Quimicamente Sintetizadas 22
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS 23
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 25

RESUMO

Desde a descoberta da existência do campo magnético do Planeta Terra, começou-se a questionar a sua importância e influência sobre a vida e os sistemas biológicos. Apesar de já muito ter sido descoberto, ainda muito se encontra por estudar e restam muitas questões por responder sobre assunto.

Uma das grandes descobertas que veio provar a existência de uma forte relação entre o campo magnético e a vida foi a descoberta da existência de bactérias magnetotáticas.

As bactérias magnetotáticas consistem num grupo de bactérias capazes de sintetizar nanopartículas magnéticas, denominadas de magnetossomas, que lhes conferem a capacidade de se moverem não só na direção do campo magnético terrestre, mas também na direção de campos magnéticos induzidos. Estas propriedades deste grupo de bactérias fornecem-lhes características únicas que podem ser aproveitadas e com aplicabilidade em diversos campos de ação interessantes, particularmente no campo da medicina, onde estas bactérias e os seus magnetossomas podem desempenhar funções de transporte de fármacos, serem usados em ressonância magnética ou até mesmo em terapia oncológica.

Palavras-chave: bactérias magnetotáticas; magnetossomas; magnetismo; ressonância magnética; hipertermia magnética; transporte de fármacos.

ABSTRACT

Since the discovery of the existence of the Earth's magnetic field, scientists started questioning themselves about its importance and influence in life and the living systems. Though there is a good deal of things that have already been discovered, there is so much more that needs to be studied since there is still a lot questions unanswered.

One of the huge findings that proved the existence of a strong relation between the magnetic field and life was the discovery of magnetotactic bacteria.

Magnetotactic bacteria are a group of bacteria capable of synthesizing magnetic nanoparticles, known as magnetosomes that give them the ability of moving not only in the direction of the Earth's magnetic field but also in the direction of induced magnetic fields. These properties give to this group of bacteria very unique characteristics that we can take advantage of, with applicability in very diverse application fields, particularly in the medicine field, where these bacteria and their magnetosomes can perform functions as drug carriers and can be used in magnetic resonance and in oncological therapy.

Keywords: magnetotactic bacteria; magnetosomes; magnetism; magnetic resonance imaging; magnetic hyperthermia; drug delivery.

1. O PLANETA TERRA E O SEU CAMPO MAGNÉTICO

O planeta Terra é dotado de um campo magnético que o envolve e o torna numa espécie de íman gigante. Este campo, que apresenta uma inclinação de aproximadamente 11° em relação ao eixo de rotação da Terra, funciona como um dipolo magnético que possui, atualmente, o seu polo norte magnético próximo do polo norte geográfico e o seu polo sul magnético próximo do polo sul geográfico – polaridade normal. Contudo, esta situação altera-se periodicamente – inversão do campo magnético – passando o polo norte magnético a estar próximo do polo sul geográfico e o polo sul magnético próximo do polo norte geográfico – polaridade inversa.[1]

A formação deste campo magnético terrestre, que se estende por milhares de quilómetros no espaço, ocorreu cerca de 500 milhões de anos após a formação do nosso planeta. Apesar do assunto da sua formação ser controverso, a teoria atualmente tida como a mais plausível para explicar este fenómeno é a Teoria do Dínamo, elaborada pelo físico americano Walter Maurice Elsasser. Um dínamo consiste num aparelho capaz de gerar uma corrente contínua através da conversão de energia mecânica em energia elétrica. Deste modo, esta teoria defende que o campo magnético da Terra advém das correntes elétricas geradas por correntes de convecção dos materiais líquidos do núcleo externo da Terra, rico em ferro e níquel, que são induzidas pelo constante movimento de rotação do planeta.[2]

O campo magnético do nosso planeta é muito importante, funcionando como escudo protetor que nos protege do constante bombardeamento de partículas carregadas eletricamente provenientes do Sol e também tem um papel fundamental na manutenção da constituição da atmosfera tal como a conhecemos.[2] Além disso, existem estudos que abordam a existência de uma influência do campo magnético terrestre sobre a migração de vários animais. Contudo, a importância do campo magnético terrestre é muito mais vasta, tendo este também influência sobre as bactérias magnetotáticas, que utilizam este campo para se movimentarem.

2. BACTÉRIAS MAGNETOTÁTICAS

2.1. História da Descoberta

O primeiro artigo a ser publicado sobre as bactérias magnetotáticas foi escrito em 1982 pelo cientista Richard P. Blakemore, onde ele descreveu bactérias presentes numa

amostra de água da lagoa Eel em Woods Hole, no estado de Massachusetts. Ao analisar microscopicamente uma amostra da água desta lagoa, em busca de potenciais populações microbianas de interesse, Blakemore reparou na presença de bactérias que migravam quase unidireccionalmente atravessando o campo de visão do microscópio e acumulando-se na borda da lâmina de Koch.[3] Estas moviam-se sempre na mesma direção geográfica, mesmo quando se mudava a posição do microscópio, o que sugeriu uma resposta magnética por parte destas. Tal facto foi confirmado quando um íman foi trazido para as proximidades do microscópio, o que fez com que as bactérias se movessem instantaneamente na direção contrária ao final do íman, comportamento que Blakemore denominou de *magnetotaxis*. Além disto, Blakemore recorreu à microscopia electrónica, que veio revelar a presença de nanopartículas ricas em ferro no interior das células, que o cientista supôs serem as responsáveis pelo comportamento magnético destas bactérias.[4]

Contudo, mais recentemente foram descobertos dois artigos, datados de 1963, que reportavam a descoberta de bactérias aquáticas magnetossensíveis. Estes artigos, intitulados "*On a unique behaviour of fresh water bacteria*" e "*Further studies on magnetosensitive bacteria*", foram escritos por Salvatore Bellini, um médico italiano que trabalhava no Instituto de Microbiologia da Universidade de Pavia, que afirma ter descoberto bactérias magnetossensíveis, em 1958, ao analisar amostras de água dos arredores de Pavia. Bellini foi incentivado pelo diretor do instituto a continuar a investigação sobre estes procariotas, pesquisa que terminou em 1963 com a escrita dos dois artigos. Nestes Bellini descreve a observação de várias morfologias de bactérias presentes em amostras de água que nadavam persistentemente em direção ao norte geográfico, comportamento que denominou de "magnetossensibilidade". Além disso, observou que campos magnéticos produzidos por ímanes podiam sobrepor-se ao campo geomagnético e ditar a direção para a qual as bactérias se direcionavam; que bactérias mortas orientavam-se de acordo com o campo magnético, mas não migravam; e que a magnetossensibilidade era perdida em células enriquecidas com água desmineralizada, mas era restabelecida com a adição de ferro solúvel. Estas observações permitiram-lhe formular a hipótese de que as bactérias possuíam um dipolo biomagnético interno; que o dipolo magnético lhes permitia migrar em direção ao hemisfério norte; que as bactérias magnetossensíveis do hemisfério sul deviam mover-se em direção ao polo magnético sul; e que este dipolo biomagnético era consequência da presença de compostos ferrosos. Apesar de Bellini pretender publicar os seus estudos numa revista científica, tal não foi possível, uma vez que o painel sénior da faculdade responsável pela revisão de todos os artigos a serem publicados pela Universidade, não o autorizou.[3]

Visto isto, não é fácil chegar a um consenso quanto à atribuição da descoberta das bactérias magnetotáticas. Por um lado, os manuscritos de Salvatore Bellini, apesar de não terem sido publicados, mostram uma descoberta científica válida e suportam o facto de ele aclamar como sua a descoberta destes procariotas. Por outro lado, o trabalho deste cientista italiano era até há pouco tempo atrás desconhecido, não havendo nenhum trabalho por parte de outro cientista que lhe tenha dado continuidade. Deste modo, pode afirmar-se que foi a partir da publicação do artigo de Richard Blakemore que se continuou a investigação subsequente sobre as bactérias magnetotáticas, que esteve perdida durante os 12 anos que mediaram o trabalho de investigação deste dois cientistas.[3]

2.2. O que são

As bactérias magnetotáticas constituem um grupo morfológica, metabólica e filogeneticamente diverso de procariotas. Contudo, apresentam uma característica muito particular em comum, a capacidade de sintetizarem nanopartículas magnéticas de ferro delimitadas por uma membrana lipídica biológica – magnetossomas (considerados organelos intracelulares) – que lhes conferem a capacidade de migrar de acordo com a orientação das linhas do campo magnético terrestre.[5]

Todas as bactérias magnetotáticas descritas até hoje pertencem filogeneticamente ao domínio *Bacteria*, pertencendo, a maioria das espécies, ao filo *Proteobacteria*, incluindo *Alpha-*, *Delta-*, e *Gammaproteobacteria*.[6-8] Além disso, já foram descritas bactérias magnetotáticas pertencentes ao filo *Nitrospirae* e ao super-filo *Planctomycetes-Verrucomicrobia-Chlamydiae*.[9-11]

2.3. Características

As bactérias magnetotáticas são um grupo de procariotas Gram-negativo que apresentam várias morfologias, incluindo forma de bastonete, vibrião, espiralada, coco, formando até agregados multicelulares, embora a morfologia mais abundante nos meios naturais consista em cocos magnetotáticos (Fig.1).[12,13]

Este grupo de bactérias, incluindo os cocos, movimenta-se por propulsão de um flagelo em forma de elipse, e, apesar de serem de maiores dimensões e do seu flagelo ter menor quantidade de proteínas, conseguem movimentar-se cerca de duas vezes mais rápido que a *Escherichia coli*.[14] Além disso, na presença de campos magnéticos, diferentes estirpes de bactérias magnetotáticas mostram diferentes propriedades morfológicas e ajustes na forma como se deslocam, possivelmente devido a trocas no arranjo dos magnetossomas.[15]

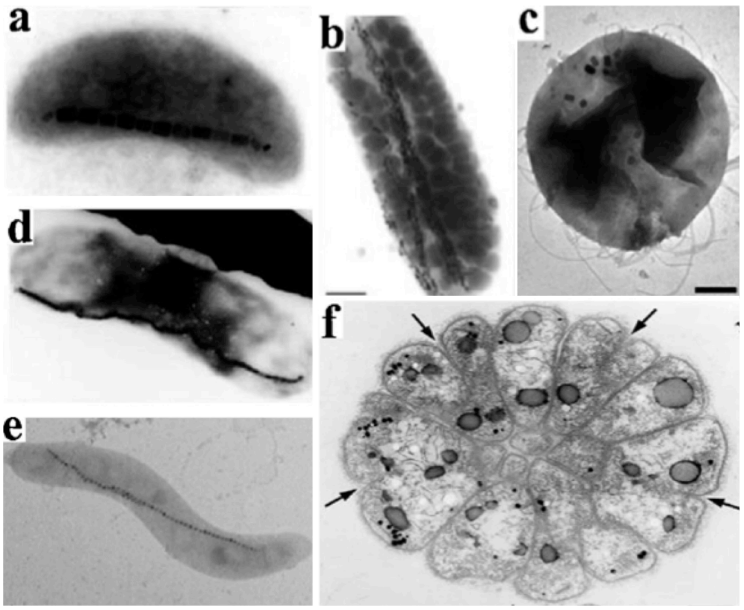

Fig. 1 – As várias morfologias das bactérias magnetotáticas: vibrião (a); bacilo (b, d); coco (c); forma espiralada (e); agregado multicelular (f). Adaptado de [16].

As bactérias magnetotáticas caracterizam-se por produzirem dois tipos de minerais, o óxido de ferro e o sulfureto de ferro.[5] Existem aquelas bactérias que apenas produzem óxido de ferro, biomineralizando magnetite (Fe_3O_4); as que apenas produzem sulfureto de ferro, biomineralizando greigite (Fe_3S_4); e, por fim, aquelas que produzem ambos, biomineralizando tanto magnetite como greigite.[17-19]

Quando estão afectadas pelo campo magnético da Terra, as bactérias magnetotáticas orientam-se para o norte quando se encontram no hemisfério norte, para sul quando se encontram no hemisfério sul e para ambos os lados quando de encontram no equador.[12,20] As bactérias do hemisfério norte ("*North-seeking*") movem-se paralelamente à componente vertical das linhas do campo geomagnético em direção ao norte. Contrariamente, as bactérias magnetostáticas do hemisfério sul ("*South-seeking*") movem-se antiparalelamente ao componente vertical do campo magnético em direção ao sul.[21]

O principal factor a influenciar a orientação das bactérias magnetotáticas de acordo com a direção do campo magnético é a energia de interação entre o momento magnético da bactéria e o campo magnético externo. A energia térmica da bactéria é o factor que faz com que a bactéria se mova aleatoriamente, e é diretamente proporcional à temperatura do meio onde esta se encontra. Para que as bactérias magnetotáticas se orientem em direção ao campo magnético, a energia de interação e o campo magnético externo devem ser superiores à energia térmica.[22]

Quanto à nutrição e metabolismo, várias bactérias magnetostáticas são quimiolitotróficas, ou seja, produzem as suas próprias substâncias alimentares a partir da energia liberada por reações químicas entre componentes inorgânicos da crosta terrestre; e quimiorganoheterotróficas, ou seja, reduzem tanto compostos orgânicos como compostos inorgânicos para produzir energia; e a maioria das espécies é capaz de fixar azoto atmosférico. Todas as espécies parecem captar ferro de forma muito eficiente e devido à síntese dos magnetossomas elas conseguem acumular cerda de 100 vezes mais ferro que outras bactérias heterotróficas não magnéticas.[23] Deste modo, as bactérias magnetotáticas desempenham um papel muito significante nos ciclos biogeoquímicos, não apenas devido à biomineralização dos magnetossomas, mas também do carbono, azoto e enxofre através da quimiolitoautotrofia.[13]

Em relação à atmosfera necessária à sua sobrevivência, praticamente todas as bactérias magnetotáticas são microaerófilas, ou seja, crescem bem a baixas concentrações de oxigénio, mas elevadas concentrações deste gás são-lhes prejudiciais; anaeróbias obrigatórias, ou seja, não fazem fosforilação oxidativa, sendo o oxigénio prejudicial uma vez que estas não produzem as enzimas responsáveis pela transformação dos radicais livres de peróxido e oxigénio produzidos durante o metabolismo na presença de oxigénio; ou anaeróbias facultativas.[12] Deste modo, a quantidade e o tipo de bactérias magnetotáticas presentes nos habitats naturais está fortemente dependente da presença de gradientes de concentração de oxigénio, assim como da presença de outros dadores de electrões como é o caso dos compostos com enxofre reduzido (ex: sulfureto).[24]

2.4. Onde se encontram

As bactérias magnetotáticas são microorganismos procarióticos geralmente ubíquos em ambientes aquáticos, tendo sido detectada uma única vez a sua presença em solos secos.[7,25] Os ecossistemas aquáticos onde estas bactérias podem ser encontradas variam desde águas doces a ambientes hipersalinos, tendo já sido documentada a sua ocorrência em sedimentos recolhidos em alto mar.[5,26]

Como a maioria das bactérias magnetotáticas são microaerófilas ou anaeróbias, elas são geralmente encontradas em números relativamente elevados, em regiões de interface oxi-anióxicas e regiões anióxicas de colunas de água e sedimentos quimicamente estratificados no meio ambiente.[12]

As bactérias magnetotáticas em águas doces produzem apenas magnetite, enquanto as presentes em lagos e águas salgadas produzem tanto magnetite como greigite.[27] Tal

acontece uma vez que as bactérias magnetotáticas produtoras de magnetite habitam geralmente na interface oxido-anióxica, enquanto as que produzem greigite habitam zonas anióxicas onde estão presentes sulfuretos.[28]

3. MAGNETOSSOMAS

3.1. O que são

Os magnetossomas são definidos como organelos intracelulares compostos por cristais minerais de ferro magnético individualizados através de uma bicamada fosfolipídica.[29] Estes cristais podem ser constituídos por óxido de ferro, magnetite (Fe_3O_4), ou sulfureto de ferro, greigite (Fe_3S_4), dependendo das espécies. Normalmente uma espécie de bactérias magnetotáticas sintetiza cristais de magnetossomas de uma composição específica, magnetite ou greigite, embora algumas espécies sintetizam ambos os minerais.[19]

Os magnetossomas organizam-se dentro da célula geralmente em uma ou mais cadeias paralelas ao eixo do movimento, que em bacilos e formas espiraladas corresponde ao eixo longitudinal da célula, e orientam o corpo da bactéria ao longo das linhas do campo geomagnético, enquanto o flagelo ativamente propele as células, resultando naquilo a que se dá o nome de magnetotaxis.[5,30,31]

A morfologia, composição, tamanho e arranjo dos cristais minerais magnéticos são objecto de um controlo químico, bioquímico e genético que varia de espécie para espécie.[32]

3.2. Características

Os magnetossomas são nanopartículas magnéticas que apresentam uma distribuição de tamanho e morfologia uniforme quando sintetizados em condições controladas, como por exemplo, a utilização de baixas concentrações de oxigénio durante o crescimento. Nestas condições, a distribuição de tamanho dos magnetossomas pode ser tão reduzida como 10nm, havendo magnetossomas com tamanhos que variam entre 45 e 55 nm (para as espécies de bactérias magnetotáticas mais estudadas).[5,33]

Foram reportadas, após análises com recurso a microscopia electrónica, diferentes morfologias para os cristais dos magnetossomas, morfologias estas que incluem cúbica octogonal, forma de bala, prisma alongado e formas rectangulares (Fig.2).[12,30]

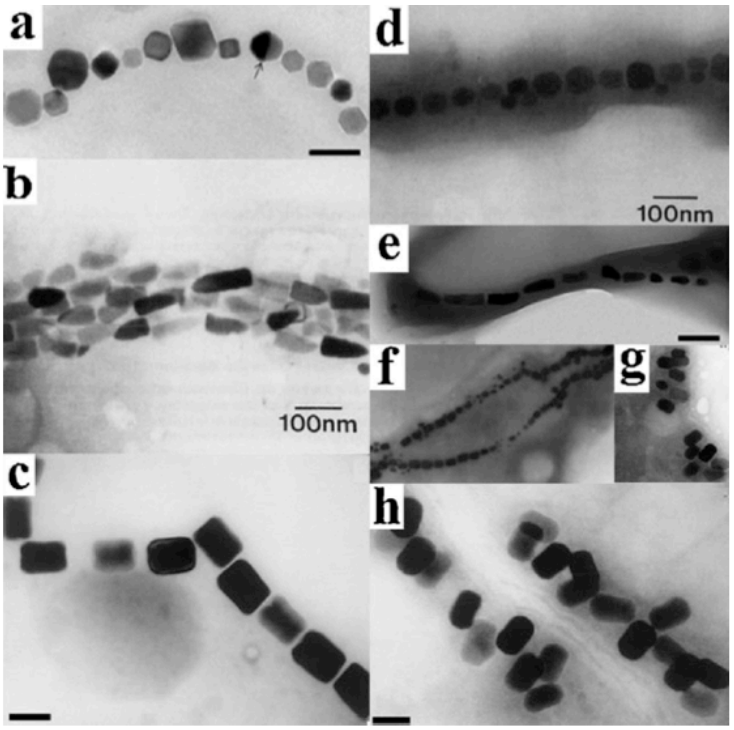

Fig. 2 – As várias morfologias dos magnetossomas: cúbica octogonal (a, d); forma de bala (b, e); prisma alongado (c, f, g); forma rectangular (h). Adaptado de [16].

A composição e morfologia dos cristais dos magnetossomas é específica de cada espécie e está fortemente relacionada com as características filogenéticas das bactérias magnetotáticas, o que evidencia um forte controlo genético envolvido na biomineralização dos magnetossomas.[34] Deste modo, a forma do cristal deve ser geralmente consistente dentro das células de uma bactéria ou de uma estirpe de bactérias, apesar de variações mínimas já terem sido observadas em cristais de espécies a crescer sob condições ambientais diferentes.[12]

O tamanho do cristal magnético varia normalmente entre 35 a 120 nm entre as diferentes espécies. Dentro desta gama de tamanhos, os cristais magnéticos são domínios magnéticos individuais, o que significa que têm um momento dipolo magnético permanente à temperatura ambiente.[34] Assim, a gama de tamanhos dos magnetossomas bacterianos tem um significado físico, que se reflete no seu magnetismo.[35]

Cada espécie controla a composição, a direção de crescimento e o tamanho e forma dos seus próprios cristais do magnetossomas. Contudo, o ambiente circundante também influencia a síntese destes organelos, uma vez que foi mostrado em cultura que, por exemplo, diferentes concentrações de oxigénio e ferro afectam a composição do magnetossoma, o tamanho do cristal e as propriedades cristalográficas.[36-38]

Pensa-se que a membrana dos magnetossomas, que recobre os cristais de magnetite, é responsável pelo controle do tamanho e forma do cristal. Esta parece ter origem na invaginação da membrana citoplasmática da bactéria, embora apresente uma composição proteica diferente.[2,35] Além disso, esta membrana pode atuar como uma barreira reguladora, permitindo uma diferenciação redox, de pH e da composição entre a vesícula e o ambiente celular.[39]

Os magnetossomas são cobertos por uma membrana de material biológico, constituída maioritariamente por lípidos, entre os quais glicolípidos, sulfolípidos e fosfolípidos, e por uma minoria de proteínas.[35,40]

Apesar de terem sido descobertas inúmeras proteínas da membrana dos magnetossomas, o seu papel exato ainda não foi bem elucidado.[41] Contudo, proteínas consideradas específicas das bactérias magnetotáticas, que se encontram localizadas na membrana do magnetossoma ou próximo desta, possuem, aparentemente, um papel importante na nucleação do cristal, no seu crescimento e na organização dos magnetossomas na célula.[42]

Os grupos funcionais à superfície dos magnetossomas foram identificados como sendo grupos carboxilos, hidroxilos e amina, o que torna estes organelos facilmente funcionalizáveis.[41,43]

Este invólucro biológico resulta em magnetossomas carregados negativamente e com uma boa dispersão aquosa.[44]

Como referido anteriormente, os magnetossomas arranjam-se normalmente em cadeias dentro da bactéria, podendo observar-se uma, duas ou múltiplas cadeias, número que varia de espécie para espécie e, dentro da mesma espécie, varia frequentemente de acordo com as condições do meio circundante.[20,35,40]

Estas cadeias encontram-se normalmente fixadas à célula, próximas da membrana plasmática, onde, em alguns casos, podem se encontrar ancoradas, e paralelas umas às outras ao longo do comprimento da cadeia, para minimizar a energia magnetotática.[5,31,35] Uma análise cromatográfica electrónica revelou a existência de um filamento que acompanha a cadeia de magnetossomas, sendo a ligação desta aos magnetossomas feita através de proteínas acídicas.[45]

Esta organização dos magnetossomas é estável o suficiente para ser conservada mesmo após a ruptura da bactéria para a extração e isolamento destas vesículas. Tal organização é apelativa uma vez que previne a agregação e permite taxas de rendimento mais elevadas de internalização destas vesículas em células humanas.[40,44]

Contudo, aglomerados dispersos de magnetossomas aparecem em algumas bactérias magnetotáticas, normalmente no final da célula, tendo-se recentemente começado a formular a teoria de que estes magnetossomas na cauda da célula consistem em novos cristais magnéticos, uma vez que são mais pequenos que aqueles que se encontram no centro da célula.[35]

Os magnetossomas são normalmente nanopartículas com um único domínio magnético, apresentando consequentemente um momento magnético termicamente estável à temperatura biológica.[46]

Descobriu-se que a citotoxicidade dos magnetossomas bacterianos depende fortemente do tipo de célula testada, assim como do tempo de incubação.[47,48] Foi também estudada a toxicidade aguda dos magnetossomas. Descobriu-se que para uma administração intravascular de magnetossomas bacterianos, as cobaias conseguiam sobreviver quando administrada uma quantidade máxima de magnetossomas de 480 mg/kg. Esta quantidade de partículas é superior às 135 mg/kg máximas que podem ser administradas de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro, que são as utilizadas atualmente.[49] A imunotoxicidade dos magnetossomas também foi relatada, tendo-se concluído que os magnetossomas não são pirogénicos quando administrados em condições específicas.[47]

No que diz respeito à biodistribuição dos magnetossomas, diferentes situações podem ocorrer. Os magnetossomas podem ser metabolizados pelo organismo e serem transformados em ferro livre, mas podem também permanecer na forma de nanopartículas cristalizadas. Em ambos os casos, o ferro livre ou as nanopartículas cristalizadas podem acumular-se no organismo ou serem eliminados através da urina ou das fezes.[46]

Por forma a compreender a biodistribuição dos magnetossomas, foi realizado um estudo onde estes organelos foram misturados com proteínas pancreáticas bovinas que simularam a atividade dos lisossomas, que permitiu sugerir que os lisossomas degradam os magnetossomas. Noutro estudo, magnetossomas administrados a cobaias foram encontrados no fígado e baço destes animais, sugerindo que o sistema reticuloendotelial remove os magnetossomas que são posteriormente transformados em ferro livre.[49,50] Neste estudo os magnetossomas não foram encontrados nem nas fezes nem na urina, contudo, noutros estudos magnetossomas formam observados nas fezes após a sua administração intratumoral ou intravenosa.[40,49,50] Assim, podemos concluir que, após a administração dos magnetossomas no organismo, uma porção destes é provavelmente

transformada em ferro livre enquanto outra porção permanece na sua forma cristalizada e é eliminada através das fezes. Contudo, são necessários mais estudos para uma melhor compreensão da biodistribuição dos magnetossomas.[46]

3.3. Processo de Formação

O mecanismo de formação dos magnetossomas é tido como um processo complexo que envolve inúmeros passos, incluindo a formação de uma vesícula, captação de ferro extracelular, transporte do ferro para o interior da vesícula e mineralização biologicamente controlada de magnetite ou greigite dentro da vesícula.[51]

A membrana do magnetossoma tem a sua origem na invaginação da membrana citoplasmática da célula e a sua formação é provavelmente o primeiro passo na biomineralização dos magnetossomas.[52] Diferentes proteínas estão envolvidas nesta etapa e o seu recrutamento altera a composição proteica da membrana dos magnetossomas.[29]

Quanto à captação de ferro, o seu transporte para o interior da vesícula e a biomineralização do cristal sabe-se que são passos cronologicamente sequenciados. Contudo, é ambíguo se a formação da vesícula precede a biomineralização do cristal, se ocorre após esta ou se estas etapas ocorrem simultaneamente. Um estudo recente a duas espécies de bactérias magnetotáticas usando um microscópio electrónico revelou a presença de vesículas vazias ou parcialmente cheias, o que sugere que aparentemente as vesículas existem *a priori* à fase de biomineralização do cristal.[5,16,53]

Contudo, a formação dos magnetossomas não é um processo completamente percebido ao detalhe, existindo vários modelos hipotéticos para o seu mecanismo de formação, que têm como base a informação obtida através de fisiologia, genética molecular e citoquímica estrutural.[16]

Deste modo, Schüler[54] assume que a formação dos magnetossomas compreende três grandes etapas. A primeira etapa corresponde à captação do ião ferro extracelular através de um passo redutivo. O ferro é então reoxidado para formar óxido hidratado de baixa densidade que é desidratado para formar ferridrita de alta densidade. O passo final na formação dos magnetossomas é a biomineralização da magnetite, que engloba todas as reações envolvendo um terço da redução dos iões ferro e outras desidratações para formar a magnetite.

Segundo Jogler and Schuler[55] a biomineralização do magnetossoma é precedida pela formação da vesícula. Neste modelo, a captação e transporte dos iões ferro ou dos iões ferrosos externos é feito por um processo que depende de energia, via um sistema de

captação ainda desconhecido. A captação do ferro está associado à formação de magnetite. Uma concentração supersaturante de ião ferroso é transportado do citoplasma para as vesículas através de um sistema de proteínas. Alternativamente, o ferro é diretamente transportado do espaço periplasmático para as vesículas por um sistema de proteínas. Pensa-se que o ferro intravesicular é parcialmente reoxidado para formar um óxido de ferro de elevada atividade, que pode reagir com os iões ferrosos dissolvidos e produzir magnetite. Adicionalmente, muitas outras proteínas associadas à membrana dos magnetossomas podem desempenhar papéis funcionais envolvidos na nucleação e crescimento dos cristais de magnetite, controlo redox e de pH e ligação e estabilização das vesículas de magnetossomas maduros.

Por fim, Arakaki et al.[56] propõem que são três as etapas principais na biomineralização dos magnetossomas. A primeira etapa envolve uma alteração na conformação do citoplasma para formar uma bolsa que originará a membrana do magnetossomas, com a ação de uma GTPase, e a organização destas vesículas ao longo de uma linha para formar a fibra que suporta os magnetossomas. A segunda etapa envolve o transporte de ferro para dentro da célula através da ação de proteínas transportadoras e sideróforos, que são moléculas orgânicas, de relativamente baixo peso molecular, que formam ligações estáveis com o ferro, solubilizando-o e transportando-o. Estes são excretados pelas bactérias no ambiente envolvente, e formam um composto solúvel com o ferro, que em seguida é absorvido para o interior da bactéria, sendo posteriormente transportado para a região de interesse. A recolha deste composto para as vesículas é feita numa fase posterior, através de transportadores de membrana. O ferro dentro da célula é controlado estritamente por mecanismos de oxidação-redução, uma vez que o excesso deste composto é prejudicial à célula. A última etapa diz respeito à formação da magnetite dentro do magnetossoma e à organização da morfologia destes organelos. Pensa-se que várias proteínas dos magnetossomas estão relacionadas com a captação de concentrações saturantes de ferro, com a formação dos minerais e com a continuação das condições redutivas.

A síntese dos magnetossomas é feita através de um processo geneticamente controlado, onde a bactéria consegue controlar a composição dos cristais, a sua direção de crescimento e o seu tamanho e forma. Como resultado deste controlo, os magnetossomas têm uma distribuição de tamanho uniforme, propriedades magnéticas e cristalinas relativamente específicas e encontram-se envolvidos por uma membrana biológica, características não passiveis de ser observadas em nanopartículas magnéticas produzidas

por processos não biológicos. Tal faz com que os magnetossomas sejam de grande interesse no campo da biotecnologia.[13]

Foi demonstrado que a formação dos magnetossomas é muito sensível a mudanças nas condições físicas e químicas da solução. A concentração de oxigénio é um dos fatores ambientais mais importante, influenciando não só a biomineralização dos magnetossomas como também o crescimento das bactérias magnetotáticas.[19]

Nas bactérias magnetotáticas a formação da magnetite dá-se assim em condições microaerófilas e anaeróbias, uma vez que concentrações elevadas de oxigénio têm um efeito inibitório neste processo. Contudo, a relação entre a formação de magnetite e baixas concentrações de oxigénio ainda não é clara.[16]

Apesar da relação entre a formação dos magnetossomas e as fontes de ferro ainda não estar esclarecida, sabe-se que o ferro é o elemento base para a produção dos magnetossomas. As bactérias magnetotáticas necessitam de mais ferro do que a maioria as outras bactérias para a biomineralização dos cristais de magnetite. Apesar da saturação para a formação e crescimento da magnetite ter sido observada a uma concentração de ferro de 15-20 μM, concentrações de ferro acima dos 20 μM aumentam ligeiramente o rendimento da célula e o conteúdo dos magnetossomas. Deste modo, o nível máximo para o crescimento e formação da magnetite acontece à concentração extracelular de 100 μM de ferro. Pelo contrário, concentrações de ferro acima dos 200 μM mostram um efeito inibitório no crescimento.[23]

A fonte de azoto é um factor adicional para o crescimento das bactérias magnetotáticas e para a biomineralização da magnetite do magnetossoma.[16] Por fim, é de acrescentar que praticamente não é necessário nenhum carbono para a formação de magnetite no magnetossoma.[57]

4. ISOLAMENTO E CULTIVO DE BACTÉRIAS MAGNETOTÁTICAS E SEUS MAGNETOSSOMAS

Apesar da diversidade filogenética e morfológica, da aparição ubíqua das bactérias magnetotáticas e da sua elevada abundância em sedimentos de várias águas doces e habitats marinhos, o isolamento e cultivo destas bactérias é difícil como consequência do seu estilo de vida.[58]

A maioria das bactérias magnetotáticas que existem hoje em cultura foram isoladas a partir de amostras de água doce ou de sedimentos de águas salobras à temperatura

ambiente, apesar da sua distribuição ecológica incluir ambientes salinos, hipersalinos, polares, termais e extremamente alcalinos.[24] Há evidências de que a riqueza e diversidade das bactérias magnetotáticas nos diferentes ambientes é fortemente influenciada pela salinidade, apesar da temperatura, disponibilidade de ferro e concentração de compostos de azoto e enxofre também ser importante na distribuição destas bactérias.[58-62]

A maioria das baterias magnetotáticas parecem ser organismos gradiente-dependentes e que crescem razoavelmente bem em culturas com um gradiente de concentração médio em oxigénio e a baixa concentração de nutrientes. Tais culturas, especialmente concebidas para organismos quimiolitoautotróficos, têm sido usadas com sucesso para isolar novas estirpes de bactérias magnetotáticas, uma vez que os organismos heterotróficos de crescimento rápido competem e vencem as bactérias magnetotáticas fastidiosas em meios de cultura mais ricos e que contenham fontes orgânicas de carbono.[24]

O isolamento das estirpes de bactérias magnetotáticas cultivadas pode ser feito através da formação de colónias; de ciclos seguidos de séries de diluições; e por enriquecimento magnético.[24] Uma vez que uma estirpe específica de bactérias magnetotáticas é isolada, o crescimento pode por vezes ser aumentado através da utilização de meios heterotróficos mais ricos com diferentes substratos orgânicos e inorgânicos e vários aceitadores de electrões. As taxas de crescimento, bem como de produção de magnetossomas, variam bastante mesmo dentro da mesma estirpe, dependendo se a estirpe é cultivada autotrófica ou heterotroficamente, aeróbia ou anaerobiamente, e se são usadas diferentes fontes de carbono e ferro. Desta forma, condições de cultura específicas são requeridas para a produção em massa destas bactérias e dos seus magnetossomas com vista à sua utilização em biotecnologia.[13,16,36,63]

Dependendo do tipo de aplicação, diferentes tipos de suspensões, contendo tanto bactérias magnetotáticas como magnetossomas isolados, podem ser preparadas. Por exemplo, para o "*targeting*" de tumores, foi sugerido que se utilizassem bactérias magnetotáticas vivas, administradas intravenosamente, que seriam naturalmente atraídas pelo ambiente anióxico do tumor.[28] Contudo, a utilização de bactérias vivas na área da medicina é pouco provável de ser aceite por parte das agências reguladoras *European Medicines Agency* e *Food and Drug Administration* (EMA e FDA).[46] Para o tratamento de tumores recorrendo à hipertermia magnética, sugeriu-se que se usassem suspensões contendo cadeias de magnetossomas extraídas das bactérias magnetotáticas.[40,44,64] Para outras aplicações, os magnetossomas que foram usados foram isolados de bactérias

magnetotáticas e tratados para remover o material biológico que os rodeava. Posteriormente foram cobertas com lípidos para estabilização.[65]

Visto isto, na maioria dos casos é necessário extrair e purificar os magnetossomas para poderem ser usados nas respectivas aplicações biotecnológicas. Os magnetossomas já foram purificados com sucesso a partir de bactérias magnetotáticas usando diferentes processos. O primeiro passo para a purificação dos magnetossomas consiste na lise das bactérias magnetotáticas. A ruptura das células pode ser alcançada por ultrassonificação, lise alcalina (por exemplo com o tratamento com hidróxido de sódio) ou através do recurso ao processo francês ou a um homogeneizador de alta-pressão. O importante é a bicamada lipídica que rodeia os cristais magnéticos permanecer com uma estrutura coerente com a utilização destas técnicas. Após a lise das células, os magnetossomas podem ser separados dos restos celulares e das células que não sofreram lise explorando as suas propriedades magnéticas através da utilização de magnetos relativamente fortes. A remoção da membrana lipídica é possível com o recurso a detergentes como o dodecil sulfato de sódio, permitindo a purificação dos cristais de magnetite dos magnetossomas que tendem a aglomerar-se devido às interações magnetotáticas entre as partículas após o tratamento com detergente.[66]

Lavagens extensas aos magnetossomas ou aos cristais de magnetite dos magnetossomas após a sua separação é um passo crucial para obter material limpo adequado a utilizações posteriores, uma vez que restos celulares, incluindo proteínas celulares electrostaticamente carregadas, podem associar-se com a membrana lipídica dos magnetossomas, sendo difíceis de remover, e poderão interferir com a atividade dos magnetossomas nas suas aplicações específicas.[13]

Os avanços feitos na cultura em massa de bactérias magnetotáticas e na produção em massa de magnetossomas, e a necessidade generalizada de grandes quantidades de material para aplicações específicas, conduziu ao desenvolvimento de procedimentos de contínua purificação de magnetossomas a larga escala. Estas técnicas envolvem a lise de grandes quantidades de células, recorrendo à homogeneização a alta-pressão, seguida da separação dos magnetossomas dos restos celulares através da passagem do lisado por uma coluna magnética composta por material fortemente magnético quando colocado num campo magnético muito forte. Nesta técnica os magnetossomas permanecem na coluna, podendo ser lavados repetidamente, enquanto os outros materiais passam através da coluna. Os magnetossomas são posteriormente recolhidos da coluna através da remoção do campo magnético externo e da passagem de solução tampão ou água para lavar os

magnetossomas. Tratamentos adicionais são realizados para purificar os magnetossomas após a sua extração, recorrendo-se à sonificação a baixa-intensidade, ao uso de ureia e proteinase K para remoção das proteínas de superfície, ao uso de fluoreto de fenilmetilsulfonil para inibir a ação das protéases e ao uso de DNAse I para remover o DNA.[67] Este processo é fundamental para aplicações *in vivo* das nanopartículas magnéticas, como é o caso de sistemas transportadores de fármacos, onde estritos padrões de pureza são necessários para evitar respostas imunológicas e toxicológicas à membrana do magnetossoma. Posteriormente, os magnetossomas podem ser estabilizados em água.[46,68]

Para aplicações biotecnológicas onde é necessário preservar a membrana dos magnetossomas e as proteínas de superfície dos magnetossomas funcionalizados, o tratamentos destes com ureia e proteinase K podem ser suprimidos. Alternativamente, as células podem ser lisadas com recurso a uma célula de pressão francesa, seguida da purificação dos magnetossomas.[69] O método mais comum usado para a esterilização das suspensões de magnetossomas são os raios Gama.[67]

Por fim, e antes de serem administrados nos humanos, todas as suspensões de magnetossomas necessitam de ser caracterizadas. O material biológico que rodeia os magnetossomas pode ser caracterizado com recurso à cromatografia, espectroscopia de infravermelhos, electroforese em gel de poliacrilamida e espectroscopia de massa.[70] Recorrendo à microscopia de transmissão electrónica é possível medir o tamanho dos magnetossomas e verificar o nível de cristalinidade do seu core. Medições magnéticas também podem ser realizadas com o objectivo de detectar a transição de Verwey, que pode revelar a presença de magnetite nos magnetossomas.[48] Deve ainda referir-se que é possível a obtenção de suspensões de magnetossomas individualizados, isolados das bactérias magnetotáticas onde a maior parte do material biológico foi removido por aquecimento das suspensões de magnetossomas durante 5h a 90° Celsius na presença de 1% de Dodecil Sulfito de Sódio.[40,44]

A maior dificuldade na aplicabilidade dos magnetossomas é a necessidade que existe de grandes quantidades de material através da cultura em massa das bactérias magnetotáticas. Apesar de na generalidade as bactérias magnetotáticas serem fastidiosas no que diz respeito às necessidades para o seu crescimento, o cultivo em grandes reatores já foi estabelecido para algumas estirpes de bactérias magnetotáticas de água doce. O grande desafio é aumentar a produção de magnetossomas ao mesmo tempo que se diminui o custo do cultivo das bactérias que os produzem. Um forma de tentar contornar este problema é transferir a capacidade genética de biomineralizar os magnetossomas para

bactérias não-magnetotáticas de mais fácil crescimento. Uma estratégia para rentabilizar a viabilidade da produção industrial dos magnetossomas é a co-produção de compostos de elevado valor acrescentado no processo uma vez que as propriedades magnéticas dos nano-cristais facilitar a sua posterior separação.[13]

5. APLICAÇÕES

Com a descoberta da existência do magnetismo, vários cientistas questionaram-se acerca da possibilidade da sua aplicação em diversos campos da ciência, tendo um deles sido o campo da medicina.

Hoje em dia o magnetismo é utilizado na medicina fundamentalmente em técnicas de diagnóstico, como é o caso da ressonância magnética, em sistemas de transporte de fármacos, e no tratamento de cancros através de hipertermia magnética.

Nos dias de hoje, utilizam-se para estas funções nanopartículas magnéticas quimicamente sintetizadas, constituídas por um núcleo magnético (que pode ser constituído por magnetite) revestido (existem vários revestimentos possíveis). Para a síntese destas moléculas são utilizados solventes orgânicos assim como outros compostos, o que pode acarretar riscos para saúde, por isso seria preferível a utilização se compostos de origem mais "natural". Deste modo, quando se deu a descoberta dos magnetossomas, e se reparou que eles possuíam características magnéticas, físicas e óticas, começou-se a estudar cada vez mais a sua potencial utilização[22] nestas aplicações, assim como em outras aplicações tecnológicas e científicas.

As aplicações práticas destes organelos baseiam-se no seu ferromagnetismo, tamanho na escala dos nanómetros, distribuição restrita do tamanho, capacidade de dispersão e na estrutura membranar que os reveste.[22]

Estudos de toxicidade e biodistribuição publicados revelam que os magnetossomas podem ser usados com segurança desde que preparados em condições específicas. Nestes estudos, as propriedades vantajosas dos magnetossomas são realçadas e comparadas com as nanopartículas quimicamente produzidas de composição similar.[46]

Apesar de ainda não se ter conseguido um método de produção rentável, alguns estudos realizados à escala laboratorial revelam as potencialidades de aplicação em várias áreas da medicina e biotecnologia.

5.1. Ressonância Magnética

A ressonância magnética consiste numa tecnologia de imagem não invasiva que produz imagens anatómicas detalhadas a três dimensões sem o recurso a radiações prejudiciais.

Esta técnica toma partido das propriedades magnéticas naturais do corpo que, dada a sua elevada quantidade de água e gordura, apresenta uma abundância em núcleos de hidrogénio (que são constituídos por um único protão).

A técnica de ressonância magnética consiste na aplicação de um forte campo magnético que faz com que os protões, inicialmente alinhados aleatoriamente, passem a estar alinhados de acordo com o campo magnético aplicado. Posteriormente, aplica-se uma radiofrequência que faz com que os protões sejam estimulados, e consequentemente deixem de estar orientados de acordo com o campo magnético. Quando se deixa de aplicar a radiofrequência, os protões realinham-se com o campo magnético, libertando energia que é detectada pelos sensores do aparelho. O tempo que demora a que os protões se realinhem com o campo, assim como a quantidade de energia libertada, depende do ambiente em que o protão se encontra, uma vez que tecidos diferentes relaxam a velocidades diferentes, o que torna possível a identificação diferenciada dos tecidos.

Com vista à obtenção de uma imagem mais definida, podem ser administrados ao paciente agentes de contraste, que irão aumentar a velocidade a que os protões se realinham com o campo magnético aplicado.[71,72]

Alguns estudos relatam a utilização de magnetossomas bacterianos como agentes de contraste positivos ou negativos.[73]

Mais particularmente no caso da utilização na ressonância magnética de detecção de tumores, os magnetossomas mostraram ser, quando administrados intravenosamente, uma mais-valia uma vez que apresentam uma tendência natural a marcar tumores. Além disso, observou-se que pequenos magnetossomas, de tamanho médio de aproximadamente 25 nm, produzem um contraste positivo maior que os magnetossomas de tamanho médio, de aproximadamente 50 nm.[27]

A estas características, junta-se o facto dos magnetossomas apresentarem resultados mais promissores comparativamente às nanopartículas quimicamente sintetizadas que são as atualmente testadas e aprovadas clinicamente como agentes de contraste para ressonância magnética.[73]

5.2. Hipertermia Magnética

Os magnetossomas são bons candidatos para o tratamento de cancros recorrendo à hipertermia magnética. A hipertermia magnética consiste numa técnica onde partículas nanomagnéticas são administradas ou enviadas aos tumores, sendo posteriormente aquecidas através da aplicação de campos magnéticos alternantes. O calor gerado pelas nanopartículas é o responsável pela indução da atividade antitumoral.[46]

Para que as nanopartículas sejam eficientes neste processo, elas precisam de produzir uma quantidade elevada de calor. Desta forma, os magnetossomas são bons candidatos, uma vez que possuem boas propriedades de aquecimento, especialmente devido ao seu elevado tamanho, ao seu comportamento ferromagnético à temperatura fisiológica e ao seu elevado grau de cristalinidade.[46]

Existem dois mecanismos através dos quais os magnetossomas, quando expostos a um campo magnético alternante, produzem calor. Esta energia térmica pode dever-se à reversão do momento magnético do magnetossoma ou então à rotação física do magnetossoma sob a aplicação do campo alternante.[74]

Ainda não foi possível decidir, de entre as cadeias de magnetossomas e os magnetossomas individuais, qual é o melhor candidato para os tratamentos antitumorais por hipertermia magnética *in vivo*.[74] Contudo, estudos apontam para uma maior eficácia das cadeias de magnetossomas, uma vez que a internalização das cadeias pelas células tumorais permite uma maior destruição celular, como consequência da sua distribuição homogénea no tumor, que resulta do seu reduzido grau de agregação.[46]

5.3. Transporte de Fármacos

Devido à presença de vários grupos químicos na superfície dos magnetossomas, é possível conjugar fármacos na sua superfície. Estudos realizados utilizando uma conjugação de Doxorrubicina com magnetossomas como agentes antitumorais no tratamento do cancro hepático mostraram que esta conjugação permitia aumentar a atividade da Doxorrubicina de 79%, que se verificava quando esta era usada isoladamente, para 87%. A vantagem da utilização dos magnetossomas deve-se sobretudo devido à diminuição da toxicidade. Enquanto a Doxorrubicina é altamente tóxica quando usada isoladamente, com uma mortalidade de 80% em muranos, a Doxorrubicina quando usada conjugada com magnetossomas é muito menos tóxica, causando uma mortalidade de apenas 20% em muranos.[68,75,76] Desta forma, há um aumento muito significativo da relação risco-benefício, o

que mostra o potencial que a conjugação de fármacos a magnetossomas tem no tratamento de cancros.[46]

Além disso, o facto das bactérias magnetostáticas poderem ser direcionadas para um local pretendido através da aplicação de um campo magnético induzido potencia a possibilidade destes organelos entregarem fármacos a tumores. O desenvolvimento de capilares deformados, de um fluxo de sangue heterogéneo, da elevada pressão entre as células e de outros parâmetros do microambiente do tumor afecta o transporte dos fármacos até ao tumor. Microorganismos que atuam como microtransportadores ajudam a distribuir os fármacos mesmo nas condições acima referidas.[77]

5.4. Outros

Além das potenciais aplicações supracitadas, os magnetossomas podem ser utilizados com outras funções, não só no campo da saúde, mas também nos campos da geologia, paleontologia e astrobiologia.[16]

É possível recorrer à utilização de magnetossomas como transportadores de genes e na sequenciação de ácidos nucleicos. Além disso, estes organelos já foram usados na extração de DNA. Para tal, eles foram modificados e revestidos com compostos que se ligam ao DNA e depois separados, fazendo os complexos formados entre o DNA e os magnetossomas correr numa coluna magnética. O pressuposto desta separação é que os complexos de DNA com magnetossomas ligam-se à coluna, enquanto que os outros eluem sem interrupção, deste modo separam-se os complexos do resto do material, que são posteriormente colectados fazendo passar pela coluna um tampão fosfato.[68]

Os magnetossomas também podem ser utilizados na detecção de DNA e até mesmo em detecção de polimorfismos de nucleótidos, o que é útil no diagnóstico de doenças como o cancro, a hipertensão ou a diabetes.[68]

Adicionalmente, os magnetossomas já foram usados em *immunoassays*, por exemplo, para detectar pequenas moléculas como poluentes, hormonas ou detergentes tóxicos, através da ligação destes compostos aos magnetossomas, por intermédio de anticorpos ligados à superfície destes organelos, formando um complexo que é posteriormente detectado. A dispersão destas partículas magnéticas permite o desenvolvimento de *immunoassays* quimioluminescentes enzimáticos de elevada sensibilidade através do emparelhamento químico de anticorpos aos magnetossomas. Outro caso de aplicabilidade dos magnetossomas é na separação de células.[68,78]

Aclama-se que, através de processos de separação magnética, os magnetossomas podem separar metais pesados e radionuclídeos. Outra aplicação dos magnetossomas é no campo da nanorrobótica.[79-81]

Por fim, é de salientar que os magnetossomas fossilizados mostraram ser importantes informadores da origem das propriedades geomagnéticas do campo da Terra, da história das placas magnéticas e das inversões do campo magnético terrestre.[51]

5.5. Magnetossoma vs. Nanopartículas Quimicamente Sintetizadas

Como podemos ver, estas aplicações exigem características muito particulares para que haja a obtenção de melhores resultados.

Conforme o acima mencionado acerca dos magnetossomas, estes apresentam características muito atrativas e que se sobrepõem às evidenciadas pelas nanopartículas de óxido de ferro quimicamente sintetizadas.

Em primeiro lugar, enquanto os magnetossomas são cobertos por uma membrana de material biológico, as nanopartículas quimicamente sintetizadas não são revestidas por compostos naturais, necessitando de ser estabilizadas, por exemplo, através de um revestimento com moléculas de dextrano ou PEG. Tal, faz com que a sua síntese seja mais complicada que a extração dos magnetossomas.[46]

Em segundo lugar, como os magnetossomas apresentam um momento magnético termicamente estável à temperatura biológica, possuem melhores propriedades magnéticas comparativamente àquelas encontradas em nanopartículas de óxido de ferro quimicamente sintetizadas, que normalmente são superparamagnéticas, e possuem um momento magnético termicamente instável. Os magnetossomas apresentam também valores mais rentáveis e elevados de coercividade (propriedade que alguns metais têm de conservarem as características magnéticas que lhes tenham sido induzidas), de ratio entre magnetização remanescente (magnetismo que uma substância ferromagnética conserva após a intensidade do campo que a magnetizou ter sido anulado) e magnetização de saturação (estado alcançado quando o aumento da aplicação de um campo magnético externo não aumenta a magnetização do material sob o qual é aplicado o campo). Em condições específicas, estas propriedades magnéticas podem resultar, por exemplo, numa maior capacidade de aquecimento e num melhor contraste dos magnetossomas em ressonância magnética comparativamente às nanopartículas quimicamente sintetizadas.[46,48,82]

Por fim, é de acrescentar, que os magnetossomas produzidos por processos biológicos apresentam características únicas que são difíceis de obter através da síntese química de

nanocristais magnéticos. Estas características incluem uma gama de tamanho uniforme e de único domínio magnético, um forte grau de perfeição cristalográfica, uma magnetização permanente e a presença de uma camada dupla lipídica biocompatível em torno de cada partícula mineral, o que se traduz numa elevada biocompatibilidade e baixa toxicidade. Todas estas características são de extrema importância para a aplicação biotecnológica destas nanopartículas magnéticas. Isto contrasta com a utilização de produtos tóxicos frequentemente utilizados na preparação das nanopartículas quimicamente sintetizadas.[27,35,46]

Quando se fala de hipertermia magnética, as nanopartículas de óxido de ferro quimicamente sintetizadas, as atualmente utilizadas, apresentam características superparamagnéticas e ferromagnéticas à temperatura normal do corpo humano. Contudo, quando colocadas num campo magnético apresentam ratio de absorção específica muito inferior ao dos magnetossomas. Por esta razão, aclama-se que será muito mais vantajoso a utilização de magnetossomas.[44]

No caso da separação de células, quando comparados os magnetossomas com esférulas magnéticas e nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas concluiu-se que estes últimos dois tipos de partículas magnéticas revelam ter alguns inconvenientes. As esférulas magnéticas são grandes e consequentemente evitam que as células se dividam e proliferem corretamente, enquanto as nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas apresentam um fraco magnetismo devido ao seu momento magnético instável à temperatura fisiológica e ambiente, o que faz com que tenham um desempenho pobre na separação de células. Pelo contrário, os magnetossomas são mais pequenos que as esférulas magnéticas e apresentam maior força magnética que as nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas devido às suas propriedades ferromagnéticas. Assim, os magnetossomas são os candidatos ideais para a utilização na separação de células.[68]

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Desde cedo, durante o processo de descoberta e investigação das bactérias magnetotáticas, observou-se um elevado potencial de aplicabilidade nestes organismos e nos seus magnetossomas. Este potencial deve-se às propriedades magnéticas únicas que este grupo de bactérias apresenta, e que podem ser aproveitadas para aplicações tão variadas como a ressonância magnética, o transporte de fármacos, os tratamentos

oncológicos, a sequenciação genética, a extração de DNA, os *immunoassays* e também a separação de células e de diferentes compostos.

Contudo, ainda muitos avanços são necessários nesta área para que se possa usufruir mais inteiramente das vantagens que as bactérias magnetotáticas nos têm para oferecer. Tal, irá permitir não só melhorar a sua função nas aplicações já citadas, como também favorecer a descoberta de novas aplicações onde as bactérias magnetotáticas e os seus magnetossomas poderão ser de extrema importância.

Deste modo, é necessário que existam avanços no cultivo e isolamento das bactérias magnetotáticas, que permitam ultrapassar as dificuldades causadas pelo seu crescimento fastidioso. Como consequência desse crescimento, ainda só foi possível o cultivo de algumas espécies, sendo que até à data nenhuma das bactérias magnetotáticas produtoras greigite foi cultivada em laboratório.[16] Só após uma evolução no sentido de contrariar a situação atual será possível realizar o *scale up* necessário à produção a grande escala destes organismos, de modo a dar resposta às quantidades necessárias às diferentes aplicações.

Além disto, será fundamental um conhecimento mais profundo sobre a função dos vários genes das bactérias magnetotáticas e das diferentes proteínas envolvidas no processo de formação dos magnetossomas. Só então será possível o recurso à engenharia genética, que poderá abrir caminho para a obtenção de rendimentos mais elevados de magnetossomas com características mais vantajosas e com um processo de produção mais viável.[16]

Por fim, é de salientar que um conhecimento mais profundo sobre estas bactérias irá permitir um conhecimento mais aprofundado sobre outros seres vivos superiores e sobre o passado da Terra. Em primeiro lugar, porque uma variedade de seres mais evoluídos, como as abelhas, algas, pombos, enguias e humanos, também são capazes de sintetizar magnetite intracelularmente, embora a formação e função fisiológica dos cristais de magnetite nesses organismos ainda não seja suficientemente conhecida. Deste modo, a compreensão da formação dos magnetossomas destas bactérias irá servir de modelo para desvendar o mecanismo de formação e funcionamento dos magnetossomas nas outras espécies.[83] Em segundo lugar, os magnetossomas fossilizados permitem-nos estudar o passado magnético da Terra, permitindo-nos conhecer melhor o passado do planeta onde habitamos.[16]

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SILVA, A.D., FERNANDES, A.M., GRAMAXO, F., SANTOS, M.E. – **Terra, Universo de Vida - Geologia 10.º Ano**. Lisboa: Porto Editora, 2010. ISBN 978-972-0-42170-8.
2. NELSON, O.R., MEDEIROS, J.R. – **Assim na Terra como no céu: a teoria do dínamo como uma ponte entre o geomagnetismo e o magnetismo estelar**. Rev. Bras. Ensino Fís. vol.34, no.4, São Paulo Oct./Dec. (2012). [Acedido a 13 de Julho de 2015]. Disponível na internet: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-11172012000400022&script=sci_arttext.
3. FRANKEL, R.B. – **The discovery of magnetotactic/magnetosensitive bacteria**.
4. BLAKEMORE, R.P. – **Magnetotactic Bacteria**. Science 190, 4212 (1975), 377-9.
5. BAZYLINSKI, D.A., FRANKEL, R.B. – **Magnetosome formation in prokaryotes**. Nat. Rev. Microbiol. 2 (2004), 217-230.
6. JOGLER, C., SCHÜLER, D. – **Genomics, genetics, and cell biology of magnetosome formation**. Annu. Rev. Microbiol. 63 (2009), 501-521.
7. LEFÈVRE, C.T., BAZYLINSKI, D.A. – **Ecology, diversity, and evolution of magnetotactic bacteria**. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 77 (2013), 497-526.
8. SIMMONS, S.L., SIEVERT, S.M., FRANKEL, R.B., BAZYLINSKI, D.A., EDWARDS, K.J. – **Spatiotemporal Distribution of Marine Magnetotactic Bacteria in a Seasonally Stratified Coastal Salt Pond**. Appl. Environ. Microbiol. 70 (2004), 6230-6239.
9. VALI, H., FÖRSTER, O., AMARANTIDIS, G., PETERSEN, N. – **Magnetotactic bacteria and their magnetofossils in sediments**. Earth Planet. Sci. Lett. 86 (1987), 389-400.
10. LEFÈVRE, C.T., ABREU, F., SCHMIDT, M.M.L., LINS, U., FRANKEL, R.B., HEDLUND, B.P., BAZYLINSKI, D.A. – **Moderately thermophilic magnetotactic bacteria from hot springs in Nevada**. Appl. Environ. Microbiol. 76 (2010), 3740-3743.
11. KOLINKO, S., JOGLER, C., KATZMANN, E., WANNER, G., PEPLIES, J., SCHÜLER, D. – **Single-cellanalysis reveals a novel uncultivated magnetotactic bacterium within the candidate division OP3**. Environ. Microbiol. 14 (2012), 1709-1721.
12. BAZYLINSKI, D., WILLIAMS, T. – **Ecophysiology of magnetotactic bacteria**. Micro Monogr. 3, 9 (2007), 37-75.
13. ARAUJO, A.C.V., ABREU, F., SILVA, K.T., BAZYLINSKI, D.A., LINS, U. – **Magnetotactic Bacteria as Potential Sources of Bioproducts**. Marine Drugs. 13 (2015), 389-430.

14. SHARMA, M., HASIJA, V., NARESH, M., MITTAL, A. – **Functional control by codon bias in magnetic bacteria**. J Biomed Nanotechnol. 4 (2008), 44-51.
15. SHARMA, M., NARESH, M., MITTAL, A. – **Morphological changes in magnetotactic bacteria in presence of magnetic fields**. J Biomed Nanotechnol. 3, 1 (2007), 75-80.
16. YAN, L., ZHANG, S., CHEN, P., LIU, H., YIN, H., LI H. – **Magnetotactic bacteria, magnetosomes and their application**. Microbiological Research. 167 (2012), 507-519.
17. FRANKEL, R.B., BLAKEMORE, R.P., WOLFE, R.S. – **Magnetite in freshwater magnetotactic bacteria**. Science. 203, 4387 (1979), 1355-6.
18. HEYWOOD, B.R., BAZYLINSKI, D.A., GARRATT-REED, A., MANN, S., FRANKEL, R.B. – **Controlled biosynthesis of greigite (Fe_3S_4) in magnetotactic bacteria**. Naturwissenschaften. 77, 11 (1990), 536-8.
19. BAZYLINSKI, D.A., FRANKEL, R.B., HEYWOOD, B.R., MANN, S., KING, J.W., DONAGHAY, L., HANSON, A.K. – **Controlled biomineralization of magnetite (Fe_3O_4) and greigite (Fe_3S_4) in a magnetotactic bacterium**. Appl. Environ. Microbiol. 61 (1995), 3232-3239.
20. LEFÈVRE, C.T., ABREU, F., LINS, U., BAZYLINSKI, D.A. – **A bacterial backbone: magnetosomes in magnetotactic bacteria**. In: Rai M, Duran N, editors. Metal nanoparticles in microbiology. Berlin: Springer-Verlag. (2011), 75-102.
21. BALKWILL, D.L., MARATEA, D., BLAKEMORE, R.P. – **Ultrastructure of a magnetotactic spirillum**. J Bacteriol. 141 (1980), 1399-1408.
22. DASDAG, S., BEKTAS, H. – **Magnetotactic Bacteria and their Application in Medicine**. Physical Chemistry & Biophysics. 4 (2014), 141.
23. SCHÜLER, D., BAEUERLEIN, E. – **Iron-limited grow thand kinetic sofiron uptake in *Magnetospirillum gryphiswaldense***. Arch. Microbiol. 166 (1996), 301-307.
24. BAZYLINSKI, D.A., LEFÈVRE, C.T., SCHÜLER, D. – **Magnetotactic Bacteria**. In The Prokaryotes – Prokaryotic Physiology and Biochemistry, 4th ed.; ROSENBERG, E., DELONG, E.F., LORY, S., STACKEBRANDT, E., THOMPSON, F., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, (2013), pp. 453-494.
25. FASSBINDER, J.W.E., STANJEK, H., VALI, H. – **Occurrence of magnetic bacteria in soil**. Nature. 343 (1990), 161-163.
26. PETERMANN, H., BLEIL, U. – **Detection of live magnetotactic bacteria in South Atlantic deep-sea sediments**. Earth Planet. Sci. Lett. 117 (1993), 223-228.

27. FAIVRE, D., SCHÜLER, D. – **Magnetotactic Bacteria and Magnetosomes**. Chem. Rev. 108 (2008), 4875-4898.
28. MOSKOWITZ, B.M., BAZYLINSKI, D.A., EGLI, R., FRANKEL, R.B., EDWARDS, K.J. – **Magnetic properties of marine magnetotactic bacteria in a seasonally stratified coastal pond (Salt Pond, MA, USA)**. Geophys J Int. 174, 1 (2008), 75-92.
29. GORBY, Y.A., BEVERIDGE, T.J., BLAKEMORE, R.P. – **Characterization of the bacterial magnetosome membrane**. J. Bacteriol. 170 (1988), 834-841.
30. FRANKEL, R.B., BAZYLINSKI, D.A. – **Structure and function of magnetosomes in magnetotactic bacteria**. In Design and Processing of Materials by Biomimetics; SARIKAYA, M., AKSAY, I., Eds. American Institute of Physics: New York, NY, USA, (1994), pp. 199-216.
31. SCHULER, D. – **Genetics and cell biology of magnetosome formation in magnetotactic bacteria**. FEMS Microbiol. Rev. 32 (2008), 654-672.
32. KOMEILI, A., VALI, H., BEVERIDGE, T.J., NEWMAN, D.K. – **Magnetosome vesicles are present before magnetite formation, and MamA is required for their activation**. PNAS. 101, 11 (2004), 3839-44.
33. TAYLOR, A.P., BARRY, J.C. – **Magnetosomal matrix: ultrafine structure may template biomineralization of magnetosomes**. J. Microscopy. 213 (2004), 180-197.
34. LEFÈVRE, C.T.1., TRUBITSYN, D., ABREU, F., KOLINKO, S., DE ALMEIDA, L.G., DE VASCONCELOS, A.T., LINS, U., SCHÜLER, D., GINET, N., PIGNOL, D., BAZYLINSKI. D,A. – **Monophyletic origin of magnetotaxis and the first magnetosomes**. Environ. Microbiol. 15 (2013), 2267-2274.
35. BAZYLINSKI, D.A., GARRATT-REED, A.J., FRANKEL, R.B. – **Electron Microscopic Studies of Magnetosomes in Magnetotactic Bacteria**. Microsc. Res. Tech. 27 (1994), 389-401.
36. LI, J., PAN, Y. – **Environmental Factors Affect Magnetite Magnetosome Synthesis in *Magnetospirillum magneticum* AMB-1: Implications for Biologically Controlled Mineralization**. Geomicrobiol. J. 29 (2012), 362-373.
37. FAIVRE, D., MENGUY, N., PÓSFAI, M., SCHÜLER, D. – **Environmental parameters affect the physical properties of fast-growing magnetosomes**. Am. Mineral. 93 (2008), 463-469.
38. BLAKEMORE, R.P., SHORT, K.A., BAZYLINSKI, D.A., ROSENBLATT, C., FRANKEL, R.B. – **Microaerobic Conditions Are Required for Magnetite Formation within *Aquaspirillum magnetotacticum***. Geomicrobiol. J. 4 (1985), 53-71.

39. SCHÜLER D. – **Formation of magnetosomes in magnetotactic bacteria**. J Mol Microbiol Biotechnol. 1, 1 (1999), 79-86.
40. ALPHANDÉRY, E., FAURE, S., SEKSEK, O., GUYOT, F., CHEBBI, I. – **Chains of magnetosomes extracted from AMB-1 magnetotactic bacteria for application in alternative magnetic field cancer therapy**. ACS Nano. 5 (2011b), 6279-6296.
41. HAN, L., LI, S., YANG, Y., ZHAO, F., HUANG, J., CHANG, J. – **Comparison of magnetite nanocrystal formed by biomineralization and chemosynthesis**. J Magn. Magn. Mater. 313(1) (2007), 236-42.
42. KOMEILI, A. – **Molecular mechanisms of compartmentalization and biomineralization in magnetotactic bacteria**. FEMS Microbiol. Rev. 36 (2012), 232-255.
43. SUN, J., LI, Y., LIANG, X.J., WANG, P.C. – **Bacterial magnetosome: a novel biogenetic magnetic targeted drug carrier with potential multifunctions**. J. Nano-mater. 2011 (2011), 13.
44. ALPHANDÉRY, E., GUYOT, F., CHEBBI, I. – **Preparation of chains of magnetosomes, isolated from *Magnetospirillum magneticum* strain AMB-1 magnetotactic bacteria, yielding efficient treatment of tumors using magnetic hyperthermia**. Int. J. Pharm. 434 (2012a), 444-452.
45. THANBICHLER, M., SHAPIRO, L. – **Getting organized – how bacterial cells move proteins and DNA**. Nat Rev Microbiol. 6 (2008), 28-40.
46. ALPHANDÉRY, E. – **Applications of magnetosomes synthesized by magnetotactic bacteria in medicine**. Bioengineering and Biotechnology. 2, 5 (2014).
47. SUN, J.1., TANG, T., DUAN, J., XU, P.X., WANG, Z., ZHANG, Y., WU, L., LI, Y. – **Biocompatibility of bacterial magnetosomes: acute toxicity, immunotoxicity and cytotoxicity**. Nanotoxicology. 4 (2010), 271-283.
48. ALPHANDÉRY, E., NGO, A.T., LEFÈVRE, C., LISIECKI, I., WU, L.F., PILENI, M. P. – **Difference between the magnetic properties of the magnetotactic bacteria and those of the extracted chains of magnetosomes: influence of the distance between the chains of magnetosomes**. J. Phys. Chem. C 112 (2008), 12304-12309.
49. LIU, R.T., LIU, J., TONG, J.Q., TANG, T., KONG, W.C., WANG, X.W., LIB, Y., TANG, J.T. – **Heating effect and biocompatibility of bacterial magnetosomes as potential materials used in magnetic fluid hyperthermia**. Prog. Nat. Sci. Mater. Int. 22 (2012), 31-39.

50. SUN, J.B.1., WANG, Z.L., DUAN, J.H., REN, J., YANG, X.D., DAI, S.L., LI, Y. – **Targeted distribution of bacterial magnetosomes isolated from *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 in healthy Sprague-Dawley rats**. J. Nanosci. Nanotechnol. 9 (2009), 1881-1885.
51. BAZYLINSKI, D.A., SCHÜBBE, S. – **Controlled biomineralization by and applications of magnetotactic bacteria**. Adv Appl Microbiol. 62, 7 (2007), 21-62.
52. KOMEILI, A., LI, Z., NEWMAN, D.K., JENSEN, G.J. – **Magnetosomes are cell membrane invaginations organized by the actin-like protein MamK**. Science. 311 (2006), 242-245.
53. SCHEFFEL, A., GRUSKA, M., FAIVRE, D., LINAROUDIS, A., PLITZKO, J.M., SCHÜLER, D. – **An acidic protein aligns magnetosomes along a filamentous structure in magnetotactic bacteria**. Nature. 440, 7080 (2005), 110-4.
54. SCHÜLER D. – **The biomineralization of magnetosomes in *Magnetospirillum gryphiswaldense***. Int. Microbiol. 5, 4 (2002), 209-14.
55. JOGLER, C., SCHÜLER, D. – **Genetic analysis of magnetosome biomineralization**. Micro Monogr. 3, 10 (2006), 133-61.
56. ARAKAKI, A., NAKAZAWA, H., NEMOTO, M., MORI, T., MATSUNAGA, T. – **Formation of magnetite by bacteria and its application**. J Roy Soc. Interface. 5, 26 (2008), 977-99.
57. FAIVRE, D., BÖTTGER, L.H., MATZANKE, B.F., SCHÜLER, D. – **Intrazelluläre Magnetitbiomineralisation in Bakterien: ein eigener Stoffwechselweg unter Beteiligung von membrangebundenem Ferritin und einer Fe^{2+} – Spezies**. Angew Chem. 46, 44 (2007), 8495-9.
58. POSTEC, A.1., TAPIA, N., BERNADAC, A., JOSEPH, M., DAVIDSON, S., WU, L.F., OLLIVIER, B., PRADEL, N. – **Magnetotactic bacteria in microcosms originating from the French Mediterranean Coast subjected to oil industry activities**. Microb. Ecol. 63, 1 (2012), 1-11.
59. MARTINS, J.L., SILVEIRA, T.S., SILVA, K.T., LINS, U. – **Salinity dependence of the distribution of multicellular magnetotactic prokaryotes in a hypersaline lagoon**. Int. Microbiol. 12 (2009), 193-201.
60. LIN, W., WANG, Y., LI, B., PAN, Y. – **A biogeographic distribution of magnetotactic bacteria influenced by salinity**. ISME J. 6 (2012), 475-479.
61. LIN, W., WANG, Y., GORBY, Y., NEALSON, K., PAN, Y. – **Integrating niche-based process and spatial process in biogeography of magnetotactic bacteria**. Sci. Rep. 3 (2013).

62. LIN, W., PAN, Y. – **Temporal variation of magnetotactic bacterial communities in two freshwater sediment microcosms**. FEMS Microbiol. Lett. 302 (2010), 85-92.
63. MOISESCU, C., ARDELEAN, I.I., BENNING, L.G. – **The effect and role of environmental conditions on magnetosome synthesis**. Front. Microbiol. 5 (2014).
64. ALPHANDÉRY, E., CHEBBI, I., GUYOT, F., DURAND-DUBIEF, M. – **Use of bacterial magnetosomes in the magnetic hyperthermia treatment of tumours: a review**. Int. J. Hyperthermia. 29 (2013), 801-809.
65. YOSHINO, T., HIRABE, H., TAKAHASHI, M., KUHARA, M., TAKEYAMA, H., MATSUNAGA, T. – **Magnetic cell separation using nano-sized bacterial magnetic particles with reconstructed magnetosome membrane**. Biotechnol. Bioeng. 101 (2007), 470-477.
66. ALPHANDÉRY, E., DING, Y., NGO, A.T., WANG, Z.L., WU, L.F., PILENI, M.P. – **Assemblies of aligned magnetotactic bacteria and extracted magnetosomes: What is the main factor responsible for the magnetic anisotropy?**. ACS Nano. 3 (2009), 1539-1547.
67. GUO, F., LIU, Y., CHEN, Y., TANG, T., JIANG, W., LI, Y., LI, J. – **A novel rapid and continuous procedure for large-scale purification of magnetosomes from *Magnetospirillum gryphiswaldense***. Appl. Microbiol. Biotechnol. 90 (2011), 1277-1283.
68. SUN, J.B., DUAN, J.H., DAI, S.L., REN, J., ZHANG, Y.D., TIAN, J.S., LI, Y. – **In vitro and in vivo antitumor effects of doxorubicin loaded with bacterial magnetosomes (DBMs) on H22 cells: The magnetic bio-nanoparticles as drug carriers**. Cancer Lett. 258 (2007), 109-117.
69. YANG, C.D., TAKEYAMA, H., TANAKA, T., MATSUNAGA, T. – **Effects of growth medium composition, iron sources and atmospheric oxygen concentrations on production of luciferase-bacterial magnetic particle complex by a recombinant *Magnetospirillum magneticum* AMB-1**. Enzym. Microb. Technol. 29 (2001), 13-19.
70. GRÜNBERG, K.I., MÜLLER, E.C., OTTO, A., RESZKA, R., LINDER, D., KUBE, M., REINHARDT, R., SCHÜLER, D. – **Biochemical and proteomic analysis of the magnetosome membrane in *Magnetospirillum gryphiswaldense***. Appl. Environ. Microbiol. 70 (2004), 1040-1050.

71. WEISHAUPT, D., KÖCHLI, V.D., MARINCEK, B. – **How Does MRI Work? An Introduction to the Physics and Function of Magnetic Resonance Imaging**. 2ª Ed. Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. 2008. ISBN 978-3-540-30067-0.
72. BERGER, A. - **Magnetic resonance imaging**. BMJ. 324 (2002), p 35.
73. BENOIT, M.R.I., MAYER, D., BARAK, Y., CHEN, I.Y., HU, W., CHENG, Z., WANG, S.X., SPIELMAN, D.M., GAMBHIR, S.S., MATIN, A. – **Visualizing implanted tumors in mice with magnetic resonance imaging using magnetotactic bacteria**. Clin. Cancer Res. 15 (2009), 5170-5177.
74. ALPHANDÉRY, E., FAURE, S., RAISON, L., DUGUET, E., HOWSE, P.A., BAZYLINSKI, D.A. – **Heat production by bacterial magnetosomes exposed to an oscillating magnetic field**. J. Phys. Chem. C 115 (2011a), 18-22.
75. SUN, J.B.I., DUAN, J.H., DAI, S.L., REN, J., GUO, L., JIANG, W., LI, Y. – **Preparation and anti-tumor efficiency evaluation of doxorubicin-loaded bacterial magnetosomes: magnetic nanoparticles as drug carriers isolated from *Magnetospirillum gryphiswaldense***. Biotechnol. Bioeng. 101 (2008b), 1313-1320.
76. LEE, N.I., KIM, H., CHOI, S.H., PARK, M., KIM, D., KIM, H.C., CHOI, Y., LIN, S., KIM, B.H., JUNG, H.S., KIM, H., PARK, K.S., MOON, W.K., HYEON, T. – **Magnetosome-like ferromagnetic iron oxide nanocubes for highly sensitive MRI of single cells and transplanted pancreatic islets**. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 108 (2011), 2662-2667.
77. FELFOUL, O., MARTEL, S. – **Assessment of navigation control strategy for magnetotactic bacteria in microchannel: toward targeting solid tumors**. Biomed Microdevices. 15 (2013), 1015-1024.
78. MATSUNAGA, T., OKAMURA, Y. – **Molecular mechanism of bacterial magnetite formation and its application**. Biological Biomimetic Materials-Properties To Function. 724 (2002), 11-24.
79. BAHAJ, A.S., CROUDACE, I.W., JAMES, P.A.B., MOESCHLER, F.D., WARWICK, P.E. – **Continuous radionuclide recovery from wastewater using magnetotactic bacteria**. J Magn Mater. 184 (1998), 241-244.
80. ARAKAKI, A., TAKEYAMA, H., TANAKA, T., MATSUNAGA, T. – **Cadmium recovery by a sulfate-reducing magnetotactic bacterium, Desulfovibrio magneticus RS-1, using magnetic separation**. Appl Biochem Biotechnol. 98 (2002), 833-40.

81. MARTEL, S., TREMBLAY, C.C., NGAKENG, S., LANGLOIS, G. – **Controlled manipulation and actuation of micro-objects with magnetotactic bacteria**. Appl. Phys. Lett. 89, 233 (2006), 904-906.
82. PAN, Y., PETERSEN, N., WINKLHOFER, M., DAVILA, A.F., LIU, Q., FREDERICHS, T., HANZLIKE, M., ZHUA, R. – **Rock magnetic properties of uncultured magnetotactic bacteria**. Earth Planet. Sci. Lett. 237 (2005), 311-325.
83. LIU, Y.1., LI, G.R., GUO, F.F., JIANG, W., LI, Y., LI, L.J. – **Large-scale production of magnetosomes by chemostat culture of *Magnetospirillum gryphiswaldense* at high cell density**. Microb. Cell Fact. 9 (2010), 99.