

微生物微纳米生物制造的前沿与展望

石志军^{1,2}, 史续典^{1,2}, 孙臻^{1,2}, 杨光^{1,2}

1 华中科技大学生命科学与技术学院 生物医学工程系, 湖北 武汉 430074

2 华中科技大学生命科学与技术学院 国家纳米药物工程技术中心, 湖北 武汉 430074

石志军, 史续典, 孙臻, 等. 微生物微纳米生物制造的前沿与展望. 生物工程学报, 2013, 29(2): 131-140.

Shi ZJ, Shi XD, Sun Z, et al. Frontier and prospect of micro/nano biofabrication based on microbes. Chin J Biotech, 2013, 29(2): 131-140.

摘要: 自然界中微生物种类极为丰富, 尺寸涵盖了纳米级与微米级。微生物细胞培养成本低廉, 生长繁殖迅速, 具有丰富的遗传表现型, 因此微生物是可用于纳米、微米以及多层次跨尺度加工的天然“基本单元”和“底盘细胞”。“基于微生物”的生物制造目的是利用微生物的特异结构和多样功能进行仿生和调控, 操纵微生物进行加工组装, 从而获得新材料、新器件。同时, 建立深入研究微生物行为模式的新技术与新方法, 为揭示传统方法所未涉及的基本科学问题提供新的平台。以下将分别从纳米和微米两个尺度以及利用微生物的结构或功能两个角度来概述基于微生物的微纳米生物制造的前沿进展。

关键词: 微生物, 生物制造, 微纳米, 有序组装, 表面修饰, 图案化排列

Frontier and prospect of micro/nano biofabrication based on microbes

Zhijun Shi^{1,2}, Xudian Shi^{1,2}, Zhen Sun^{1,2}, and Guang Yang^{1,2}

1 Department of Biomedical Engineering, College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, Hubei, China

2 National Engineering Research Center for Nano-Medicine, College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, Hubei, China

Abstract: Microbe is extremely abundant in nature, and its size has a very wide coverage from nano- to micro-scale making it suitable to be processed at multi-scale level as natural "building blocks" and "chassis cells". Biofabrication based on microbes is an artificial manipulation on microbes to assemble functional materials and devices by using the specific

Received: September 7, 2012; **Accepted:** December 20, 2012

Supported by: National Natural Science Foundation of China (Nos. 21074041, 31270150).

Corresponding author: Guang Yang. Tel: +86-27-87793523; Fax: +86-27-87792265; E-mail: yang_sunny@yahoo.com

国家自然科学基金 (Nos. 21074041, 31270150) 资助。

structures and various biological functions of microbes. In the meantime, the novel strategies of biofabrication enables us to study the behavioral details of microbes, which will provide new platforms for uncovering the unsolved basic scientific problems of microbes. In this paper, we reviewed the frontier and progress in biofabrication from nano- and micro-scale in microbes that were manipulated as structured "building blocks" or functional "micro/nano robots".

Keywords: microbes, biofabrication, micro/nano, ordered assembly, surface modification, patterned arrangement

生物制造的概念从广义上来讲涵盖了生物产业中所有医药、农林、工业领域的工程制造技术,它们统称为生物制造技术。而狭义的生物制造概念即是指生物组装 (Biofabrication),它是一门技术学科,而非基础学科,是生物技术深入发展和广泛应用的产物,它将生命科学、材料科学以及生物技术融入到制造学科中。生物制造围绕生物分子、胞外产物、活细胞等为构建主体,其制造过程或最终产品均需遵循生命体的特质。通常生物制造包括仿生制造、生物质和生物体制造,运用现代制造科学和生命科学的原理和方法,通过细胞或微生物的受控三维加工和组装,制造新材料、器件及生物系统^[1-3]。

自然界中的微生物种类繁多,形态与生物学功能各异,其个体尺寸可从几十纳米到几十微米,具有极强的生命力和适应性,能够以较低成本进行大批量培养,还可定向培育新品种,在微纳米加工领域具有极大的应用潜力,因此微生物是可用于从纳米到微米以及多层次跨尺度加工的天然“基本单元”和“底盘细胞”。以微生物为基础的生物制造既可以巧妙通过微生物的特异结构来重组和再设计,又可以高效利用其代谢产物,在生物制造学科中开辟了新的天地。

1 纳米与微米尺度的微生物制造方法

生物体内的物质如各种蛋白的尺寸在

1~100 nm 之间,病毒以及细胞内细胞器的尺寸在 10 nm 到 1 μm 之间,细菌细胞的大小通常在微米级范围内,而细菌以群落形式存在则可延伸到宏观尺度。如图 1 所示,根据研究对象的不同尺度,可将微生物制造的方法分为纳米尺度和微米尺度两类。

1.1 纳米尺度的微生物制造方法

纳米结构尺寸大小在 1~100 nm 之间。纳米尺寸范围内的微生物主要是部分病毒个体以及细菌、真菌的局部结构或细胞器,因此纳米尺度的微生物制造方法主要集中于研究如何对微生物个体 (主要是病毒) 进行改性修饰。纳米颗粒如量子点、纳米金颗粒、纳米银颗粒、磁性纳米颗粒等已作为重要的修饰改性材料频繁应用于生物学的研究之中,纳米颗粒的尺寸与生物体中的蛋白质、核酸等大分子相匹配。病毒具有规则和特异的纳米结构,将不同特性的纳米颗粒修饰于病毒个体表面,可望开发出新型纳米功能材料或器件。

Blum 等以二十面体豌豆花叶病毒作为支架,将 2 nm 和 5 nm 的金纳米颗粒修饰于其表面,构建了三维导电分子网络^[4]。Belcher 等使用基因改造过的 M13 杆状病毒作为模板合成了 Au、 Co_3O_4 纳米线,具有作为锂离子电池电极材料的应用潜力^[5]。Mao 等利用病毒为微模板对其进行各种不同的改性修饰,成功装配出磁性纳米线、半导体纳米线以及量子点纳米线^[6-7]。

微生物制造的方法通过与传统的微生物生

理学、遗传学、基因组学、生物化学的有机结合,可进一步拓展微生物研究的外延与内涵。纳米粒子也将有可能用于研究一系列有趣的细菌结构性问题,包括细胞壁运输的分子机制、肽聚糖的物理结构、细菌细胞中亚细胞组织的蛋白质和核酸的结构与功能等^[8-10]。

1.2 微米尺度的微生物制造方法

大部分的单个细菌细胞或者小的微生物群体的尺寸大小在 100 nm 到 100 μm 之间。微米尺度的微生物制造方法主要集中于研究如何隔离、操纵单个微生物细胞的行为以及对微生物群体进行运动行为的诱导、有序定位和图案化排列。

通过微流控技术^[11]、生物打印技术^[12-13]、分子模板技术、基于电纺^[14-15]的生物支架材料技术等多种生物组装技术可实现对微生物个体及群体的调控。通过这些外力的约束来对微生物的生存环境进行精确控制,或对微生物进行定向运动诱导与定位有序排列,从而设计和创制新型功能材料。

另一方面,微生物的生长、代谢和行为是受其生存环境影响的,而在生物制造过程中,通常会用一些物理、化学的调控过程,来实现对微生物的形状、运动空间、表面电荷、溶液成分等的可控调节。研究微生物的新材料与新方法在控制微生物的微环境的前提下,将可能新的视野水

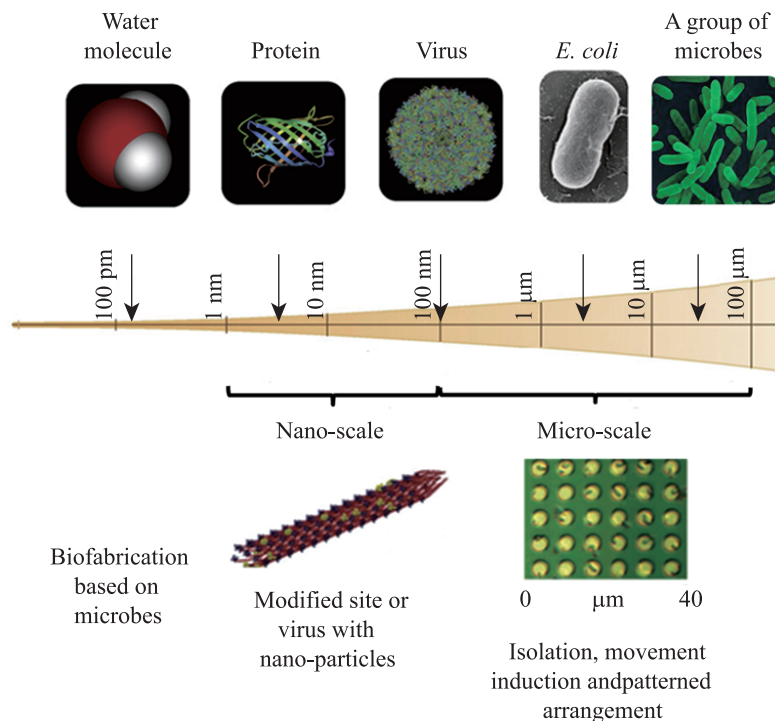


图 1 在不同尺度范围内的不同微生物制造方法^[5,8,16]

Fig. 1 Different biofabrication methods on microbes between micro- and nano-scale^[5,8,16]

平下研究微生物的生理与行为模式细节,这既有助于更高效地开发和利用微生物进行生物制造,又可阐明传统的微生物研究方法所无法解决的基本科学问题。

1.2.1 软蚀刻技术与微流控技术

软蚀刻技术是通过印刷、成型、压花在模板表面制造纳米、微米结构的技术。这一技术能在软材料上印刷、成型。模板材料不仅仅局限于玻璃、硅板,可进一步在聚合物、凝胶、有机单体上进行蚀刻^[17]。这些软材料价格低廉、制作简单、且生物相容性良好,被广泛用于生物方面的研究。

微流控系统具有微米级尺寸的管道,用于精确控制小体积的流体。微流控系统建立的微结构,可用于单个微生物细胞的分离与研究,改变与控制细胞的形状,研究细菌在微流体中的流变性能^[18]。

微流控技术在微生物领域具有广泛的应用前景,Whitesides 指出微流控技术作为一种工具将可应用于微生物的单细胞操作,控制胞外环境的瞬时转变,以及用于微生物生理及运动的研究等^[11]。Balaban 等通过微流体通道监控抗生素对大肠杆菌生命周期的影响,并根据结果提出数学表达式,这一研究利用微流体系统简化了定量表征菌种存活时间和分析其表型转化的问题,对生物学研究和临床应用有重要意义^[19-20]。DiLuzio 等研究了大肠杆菌在微流管道中的多样运动性,不同的材料表面对细菌的运动有趋向性影响^[21]。在细菌生长过程中通过施加一定的机械力作用,可以改变细胞的形态^[22]。例如机械应力对裂殖酵母作用,可改变细胞的极性以及形状^[23];将

单个的大肠杆菌细胞在微管道中培养成自定义形状的技术,有助于研究机械应力对微生物生长的影响^[24]。

1.2.2 微生物细胞的固定与分子模板技术

软蚀刻技术与微流控技术为调控微生物的行为提供了微平台,而如何固定化细胞,使其在这些微平台上生长、繁殖,并对环境的改变做出相应的反应,是微生物进行有序定位或图案化排列的必备条件之一。微生物细胞的固定化也为生物医学工程技术和基本的细菌学研究提供了新方法。

微生物细胞的固定化不仅要高效、稳定、可重复地将细胞固定在模板上,而且要能够使其维持自我生长。目前报道的有效固定化微生物的方法主要分为两大类:特异性固定和非特异性固定。

微生物细胞的特异性固定主要依赖于微生物细胞表面或者鞭毛上合适的抗体抗原对之间的相互作用。抗体修饰的基板已用于固定和检测致病细菌,且抗体固定方法并不影响细菌的分裂与增殖^[25-26]。Zhiyong Suo 等研究了沙门伤寒杆菌表面多对不同抗原-抗体反应,用以模板化固定细菌细胞。针对的细菌抗原包括 CFA/I 菌毛、鞭毛、脂多糖、F1 蛋白抗原等。结果表明细菌通过抗原抗体免疫固定的细胞芯片,2 周时间都保持活性并可持续实现其功能^[27]。

非特异性固定是通过化学处理的表面对细胞的非特异性吸附,或者微生物细胞通过物理作用圈禁在微孔或凝胶中。利用物理方法固定微生物细胞,固定模板是多孔材料或者表面通过蚀刻、光刻等方法制造微孔矩阵。例如,有文献报

道将细菌细胞矩阵印刷在多孔尼龙材料中,细胞圈禁在尼龙材料表面的微孔中^[28]。在硅板、玻璃板、PDMS 等表面通过蚀刻或者光刻,得到微孔矩阵的表面,然后在微孔周围涂有一层聚乙二醇,由于聚乙二醇排斥细菌细胞吸附,而使细胞固定在未涂有聚乙二醇的微孔中^[29]。也可将细菌固定在光纤阵列中,这种光纤阵列可以作为开发核酸和细胞传感器的材料,以 DNA 为探针的传感器将可用于基因组学的研究和微生物病原体的检测,基于细胞活体的传感器将可用于环境监测和单个细胞的功能性研究^[30-31]。

分子模板技术是通过化学处理的表面来对细胞表面某些基团或结构进行非特异性吸附的一种技术,通常是通过氢键的相互作用来固定。利用分子模板的图案来使其可吸附的分子图案化排列。采用有序纤维素高分子模板在室温下可诱导木醋杆菌的生物合成。该模板可通过羟基之间的氢键相互作用吸附纤维素,而木醋杆菌分泌了一种胞外产物——细菌纤维素,它是自然界中一种具有纳米结构的天然纤维,在伤口愈合材料、人造血管以及食品添加剂等方面有广泛的应用^[32]。细菌纤维素的分泌与微生物的运动相关,通过分子模板与细菌纤维素的相互作用可以调控细菌的运动模式,从而调控细菌纤维素的有序合成,形成有序图案化纳米纤维(图 2),并可堆积成有序的三维结构材料^[33]。利用木醋杆菌分泌细菌纤维素的特点,已合成了有序化纤维素纳米纤维,能够在微纳米尺度上有序构建纤维素支架。用于细胞工程、组织工程修复与构建等领域。

1.2.3 微生物运动及排列的其他调控技术

对木醋杆菌合成细菌纤维素的调控, Sano 等

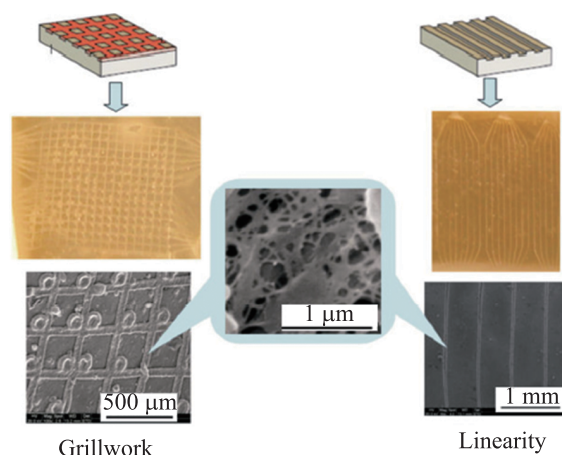


图 2 图案化的细菌纤维素^[2]

Fig. 2 Patterned bacterial cellulose^[2].

研究了在电场中通过水电解产生氧气,来调控趋氧性的木醋杆菌生产三维结构的纳米纤维素^[34]。Liu 等将静电纺技术应用于微生物的固定化,分别将大肠杆菌等几种微生物的凝胶体系纺成三维网络结构,而将微生物埋植于这些纺丝中,并研究了在其中微生物可存活的时间,这一技术对微生物在生物反应器领域的应用或将另辟蹊径^[35]。

生物打印技术是近几年发展起来的新兴技术,通过计算机辅助建模来实现数字化定位控制,主要用于“打印”组织支架材料以及组织细胞。而这种数控技术同样可以应用于微生物的分隔与定位,比如 Melamed 等将大肠杆菌“打印”于纳升级的微生物细胞感测器阵列^[36]。通过生物打印技术,将微生物分隔定位,由此设计特定的个性化微环境,探寻不同化学环境、力学约束等条件下微生物的个体生长、代谢与行为模式,进而可揭示微生物定位调控的原理和多层次精细结构的形成机制。

在这多学科综合与交叉的新兴研究领域,有

望创建更多微生物定向诱导与定位排列的新方法,可为新型微纳功能材料及器件的开发提供技术基础,为微生物的基础研究提供新的平台。

2 微生物作为不同“基本单元”的生物制造

微生物作为可用于微纳米加工的“基本单元”和“底盘细胞”,一方面其形态各异,有不同的尺寸和形状,可以作为微纳米加工中的基本结构单元;另一方面其功能各异,有不同的代谢途径和代谢产物,便于改造和控制,这又决定了微生物可作为微纳米加工过程中的基本功能单元——“微纳机器人”,来实现其生物学功能。

2.1 微生物作为基本结构单元

微生物作为基本结构单元的生物制造,主要是以微生物的天然形状、表面的结构位点或基因等为模板,于其上进行化学、物理、生物等各种方法的修饰,从而可得到相应微结构的材料或器件(图3)。微生物的有序排列如果基于微生物的

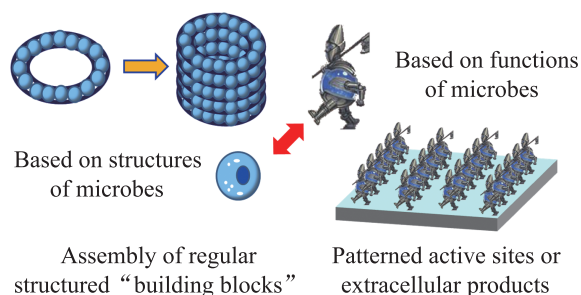


图3 微生物在生物制造中作为基本结构单元或基本功能单元

Fig. 3 Microbes were manipulated as structured "building blocks" or functional "micro/nano robots" in biofabrication.

结构,将规则的结构单元图案化聚集,则可以此直接形成微纳米器件或者再通过去除成型的原理“蚀刻”出图案化多孔材料。在基于微生物结构的生物制造过程中,往往对微生物是否仍存活并无要求,很可能在这些修饰过程中,微生物将失去原有活性。

病毒是一种理想的微生物模板,病毒的大小变动于20~450 nm之间,形态结构多样,如球状(包括二十面体)、杆状(包括棒状)、丝状、螺旋状以及复杂构型。病毒结构独特,利用其结构可以作为各种功能微纳器件的模板,以病毒作为模板的例子在前文已有提及。

细菌同样也可以作为优良的结构模板而得到应用,其尺寸通常在几微米到几十微米,形状各异,有球状(包括椭球状)、杆状、螺旋状等。比如Zhang等以芽胞杆菌为模板,在其表面包裹了厚约150~200 nm的Co-Ni-P金属镀层,从而制得这种微米级的中空棒状金属材料^[37]。

硅藻的细胞壁由透明的SiO₂组成,机械强度良好,具有多级微纳米孔隙和微结构,直接利用硅藻壳体为生物制造模板,可获得结构精细的硅藻器件,如对壳体直接处理,可获得微纳结构良好的MgO^[38]、Si^[39]和TiO₂^[40]壳体等。而进一步通过微加工、改质处理、与器件的装配连接、排列定位与组装的方法,可拓展壳体功能,满足更多微器件的设计要求,如以壳体为模板的包覆(去除)处理,可获得具有壳体形貌的新材质翻模结构^[41-44]。

螺旋藻是一种微米级的具有天然的螺旋状结构的微生物。以螺旋藻细胞为结构模板,通过化学沉积的方法,将银^[45]和Ni-Fe合金^[46]沉积在

细胞结构表面,可分别获得电学性能良好以及具有电磁特性的精细螺旋软筒状材料。

2.2 微生物作为基本功能单元

利用微生物功能的生物制造,主要是利用某些微生物机体的特殊的代谢、分泌等生理功能,来制造微纳米材料比如量子点、磁小体等。而另一方面,将功能单元图案化组装,这意味着活性位点的有序排列或者胞外代谢产物的图案化,如酶、激素及活性分子在时间与空间上的调控,可利用其代谢生理功能作为传感器、激发器等。又比如前文所阐述的分子模板诱导细菌胞外产物细菌纤维素的图案化自组装,这些都是基于微生物功能所制造的材料或器件。利用微生物的生理功能进行的生物制造,通常都要求在整个控制过程中,微生物都保持活性,以便于进行其作为“微纳机器人”的工作。

量子点在生物机体内的毒性和非特异性问题极大限制了量子点在医学领域的应用。在量子点表面包裹生物相容性材料可降低其细胞毒性,利用生物制造的方法可以得到良好生物相容性的量子点。比如量子点前体颗粒在大肠杆菌胞外结晶成长,再与细菌分泌的蛋白结合,包裹在量子点表面^[47]。还可通过时空偶联酵母菌内的非自然存在的生化反应途径的方法,在酵母细胞内合成量子点,并可通过培养条件的控制,来改变生物合成量子点的尺寸^[48]。

趋磁细菌是一类能够沿着磁场方向运动的革兰氏阴性细菌,它们以球状、杆状、螺旋状抑或多细胞形式存在于自然界中^[49]。这类细菌体内都具有晶形独特的、由膜包裹的磁性颗粒——磁小体。磁小体尺寸一般为 30~140 nm,化学成分

主要是 Fe_3O_4 或者 Fe_3S_4 。趋磁细菌可通过分泌生产细菌磁性纳米颗粒,Jaeha Shin 等报道了用一种磁螺旋杆菌可生产细菌磁性纳米颗粒,这种磁性纳米颗粒具有强磁响应性,能够分散在水溶液中,并具有良好的生物相容性,可与生物分子发生共轭反应。这种细菌磁性纳米颗粒被摄入到希拉细胞、人类癌细胞中,进一步研究了细菌磁性颗粒在细胞中对细胞通路、诱导细胞凋亡等的影响^[50]。

自然界中有一类“靠吃矿石为生”的微生物,它们在生物湿法冶金过程中发挥着重要作用。比如氧化亚铁硫杆菌,作为浸矿的主要菌种,已广泛应用于多种金属的浸出。Hocheng 等报道了利用其代谢特点外加激光诱导来进行图案化金属铜沉积的新方法^[51]。

3 结论与展望

基于微生物的生物制造,将微生物作为微纳米加工的基本结构单元或功能单元,在纳米尺度,对微生物进行各种加工修饰,在微米尺度,对微生物进行各种有序调控,组装新型微纳米功能材料与器件。表 1 对文中提到的各种微生物制造方法进行了总结。这些用于微生物的新技术新方法同时为深入研究微生物的行为模式,揭示传统方法所未涉及的基本科学问题提供了新的平台。此外,通过多层次组装,还有望设计和构筑更为复杂的体系,在多层次跨尺度的有序材料构筑中,以被修饰或改造的微生物个体作为结构或功能的有序单元,而微生物群体的有序排列则可作为更高层次的有序组装,以实现多层次跨尺度的精密系统的构筑。

表 1 微生物生物制造的方法

Table 1 Biofabrication methods based on microbes

Method	Example	Scale	Application	Reference
Surface modification with nano particles	M13 virus; cowpea mosaic virus (CPMV); <i>Bacillus diatom</i> ; <i>Spirulina platens</i>	Nano/Micro	Nanowires; 3D conductive molecular networks; rod-shaped hollow structures; particles and devices based diatom frustule structure; helical functional particles	[4–7, 37, 41, 43–46]
Movement control by microfluidics	<i>E. coli</i> ; yeast; <i>Acetobacter xylinum</i>	Micro	Control movement, shapes and environment of microbes to uncover the physiological principles of microbes; patterned bacterial cellulose	[11, 19–23]
Movement control by oxygenotaxis	<i>Acetobacter xylinum</i>	Micro	3D network bacterial cellulose	[34]
Patterned control by immobilization methods	<i>Salmonella enterica</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>Acetobacter xylinum</i>	Micro	Cell sensor, environment detection; patterned bacterial cellulose	[25–31]
Patterned control by bioprinting	<i>E. coli</i>	Micro	Microbes sensor array	[36]
Biosynthesis or removing as micro/nano robots	<i>E. coli</i> ; yeast; magnetotactic bacteria; <i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Nano (Quantum dots and magnetic nano-particles); Micro	Quantum dots; magnetic nano-particles; patterned copper material	[47–51]

REFERENCES

- [1] Mironov V, Trusk T, Kasyanov V, et al. Biofabrication: a 21st century manufacturing paradigm. *Biofabrication*, 2009, 1(2): 022001–022017.
- [2] Shi XD, Wang G, Wang DM, Longjiang Yu, et al. Controllable bio-fabrication based on microbes. *Chin J Biotech*, 2009, 25(6): 909–913 (in Chinese). 史续典, 王刚, 王大明, 等. 基于微生物的可控生物制造. *生物工程学报*, 2009, 25(6): 909–913.
- [3] Yan YN, Xiong Z, Zhang RJ, et al. Principles of organism manufacturing engineering. *J Tsinghua Univ: Sci Tech*, 2005, 45(2): 145–150 (in Chinese). 颜永年, 熊卓, 张人信, 等. 生物制造工程的原理与方法. *清华大学学报: 自然科学版*, 2005, 45(2): 145–150.
- [4] Blum AS, Soto CM, Wilson CD, et al. An engineered virus as a scaffold for three-dimensional self-assembly on the nanoscale. *Small*, 2005, 1(7): 702–706.
- [5] Nam KT, Kim DW, Yoo PJ, et al. Virus-enabled synthesis and assembly of nanowires for lithium ion battery electrodes. *Science*, 2006, 312(5775): 885–888.
- [6] Mao C, Solis DJ, Reiss BD, et al. Virus-based toolkit for the directed synthesis of magnetic and semiconducting nanowires. *Science*, 2004, 303(5655): 213–217.
- [7] Mao C, Flynn C E, Hayhurst A, et al. Viral assembly of oriented quantum dot nanowires. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(12): 6946–6951.
- [8] Muralimohan A, Eun Y J, Bhattacharyya B, et al. Dissecting microbiological systems using materials science. *Trends Microbiol*, 2009, 17(3): 100–108.
- [9] Demchick P, Koch AL. The permeability of the

- wall fabric of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol*, 1996, 178(3): 768–773.
- [10] Konopka MC, Shkel IA, Cayley S, et al. Crowding and confinement effects on protein diffusion *in vivo*. *J Bacteriol*, 2006, 188(17): 6115–6123.
- [11] Weibel DB, Diluzio WR, Whitesides GM. Microfabrication meets microbiology. *Nat Rev Microbiol*, 2007, 5(3): 209–218.
- [12] Jakab K, Norotte C, Marga F, et al. Tissue engineering by self-assembly and bio-printing of living cells. *Biofabrication*, 2010, 2(2): 022001–022015.
- [13] Mironov V, Reis N, Derby B. Review: bioprinting: a beginning. *Tissue Engin*, 2006, 12(4): 631–634.
- [14] Li D, Wang Y, Xia Y. Electrospinning of polymeric and ceramic nanofibers as uniaxially aligned arrays. *Nano Lett*, 2003, 3(8): 1167–1171.
- [15] Huang ZM, Zhang YZ, Kotaki M, et al. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Sci Technol*, 2003, 63(15): 2223–2253.
- [16] Rozhok S, Fan Z, Nyamjav D, et al. Attachment of motile bacterial cells to prealigned holed microarrays. *Langmuir*, 2006, 22(26): 11251–11254.
- [17] Xia Y, Whitesides GM. Soft lithography. *Annual review of materials science*, 1998, 28(1): 153–184.
- [18] Costerton B. Microbial ecology comes of age and joins the general ecology community. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(49): 16983–16984.
- [19] Balaban N Q, Merrin J, Chait R, et al. Bacterial persistence as a phenotypic switch. *Science's STKE*, 2004, 305(5690): 1622–1625.
- [20] Gefen O, Gabay C, Mumcuoglu M, et al. Single-cell protein induction dynamics reveals a period of vulnerability to antibiotics in persister bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(16): 6145–6149.
- [21] Diluzio WR, Turner L, Mayer M, et al. *Escherichia coli* swim on the right-hand side. *Nature*, 2005, 435(7046): 1271–1274.
- [22] Cabeen MT, Charbon G, Vollmer W, et al. Bacterial cell curvature through mechanical control of cell growth. *EMBO J*, 2009, 28(9): 1208–1219.
- [23] Terenna CR, Makushok T, Velve-Casquillas G, et al. Physical mechanisms redirecting cell polarity and cell shape in fission yeast. *Curr Biol*, 2008, 18(22): 1748–1753.
- [24] Takeuchi S, Diluzio WR, Weibel DB, et al. Controlling the shape of filamentous cells of *Escherichia coli*. *Nano Lett*, 2005, 5(9): 1819–1823.
- [25] Rozhok S, Shen CKF, Littler PLH, et al. Methods for fabricating microarrays of motile bacteria. *Small*, 2005, 1(4): 445–451.
- [26] Premkumar JR, Lev O, Marks RS, et al. Antibody-based immobilization of bioluminescent bacterial sensor cells. *Talanta*, 2001, 55(5): 1029–1038.
- [27] Suo Z, Yang X, Avci R, et al. Antibody selection for immobilizing living bacteria. *Anal Chem*, 2009, 81(18): 7571–7578.
- [28] Heitkamp MA, Stewart WP. A novel porous nylon biocarrier for immobilized bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62(12): 4659–4662.
- [29] Rowan B, Wheeler MA, Crooks RM. Patterning bacteria within hyperbranched polymer film templates. *Langmuir*, 2002, 18(25): 9914–9917.
- [30] Brogan K L, Walt D R. Optical fiber-based sensors: application to chemical biology. *Curr Opinion Chem Biol*, 2005, 9(5): 494–500.
- [31] Biran I, Rissin DM, Ron EZ, et al. Optical imaging fiber-based live bacterial cell array biosensor. *Anal Biochem*, 2003, 315(1): 106–113.
- [32] Yang G, Kondo T. Bacterial cellulose: An eco-friendly nano-material. *Science*, 2006, 58(2): 14–17 (in Chinese).
杨光, 近藤哲男. 细菌纤维素: 一种环境友好的纳米材料. *科学*, 2006, 58(2): 14–17.
- [33] Kondo T, Nojiri M, Hishikawa Y, et al. Biodirected epitaxial nanodeposition of polymers on oriented macromolecular templates. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(22): 14008–14013.
- [34] Sano MB, Rojas AD, Gatenholm P, et al.

- Electromagnetically controlled biological assembly of aligned bacterial cellulose nanofibers. *Annals Biomed Engin*, 2010, 38(8): 2475–2484.
- [35] Liu Y, Rafailovich MH, Malal R, et al. Engineering of bio-hybrid materials by electrospinning polymer-microbe fibers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(34): 14201–14206.
- [36] Melamed S, Ceriotti L, Weigel W, et al. A printed nanolitre-scale bacterial sensor array. *Lab Chip*, 2010, 11(1): 139–146.
- [37] Zhang X, Liu J, Li S. Fabrication and magnetic properties of Co-Ni-P rod-shaped hollow structures based on *Bacillus* template. *Mater Lett*, 2009, 63(22): 1907–1909.
- [38] Cai Y, Allan SM, Sandhage KH, et al. Three-dimensional magnesia-based nanocrystal assemblies via low-temperature magnesiothermic reaction of diatom microshells. *J Ameri Ceramic Society*, 2005, 88(7): 2005–2010.
- [39] Lee SJ, Huang CH, Shian S, et al. Rapid hydrolysis of organophosphorous esters induced by nanostructured, fluorine-doped titania replicas of diatom frustules. *J Ameri Ceramic Society*, 2007, 90(5): 1632–1636.
- [40] Bao Z, Weatherspoon MR, Shian S, et al. Chemical reduction of three-dimensional silica micro-assemblies into microporous silicon replicas. *Nature*, 2007, 446(7132): 172–175.
- [41] Bao Z, Ernst EM, Yoo S, et al. Syntheses of porous self-supporting metal-nanoparticle assemblies with 3D morphologies inherited from biosilica templates (diatom frustules). *Adv Mater*, 2009, 21(4): 474–478.
- [42] Li X, Bian C, Chen W, et al. Polyaniline on surface modification of diatomite: a novel way to obtain conducting diatomite fillers. *Appl Surface Sci*, 2003, 207(1): 378–383.
- [43] Zhang D, Zhang W, Cai J. Fabrication and electromagnetic properties of flake ferrite particles based on diatomite. *J Magnetism Magnetic Mater*, 2011, 323(17): 2305–2309.
- [44] Zhang DY, Wang Y, Cai J, et al. Bio-manufacturing technology based on diatom micro-and nanostructure. *Chin Sci Bull*, 2012, 57(30): 3836–3849.
- [45] Cai J, Lan M, Zhang D, et al. Electrical resistivity and dielectric properties of helical microorganism cells coated with silver by electroless plating. *Appl Surface Sci*, 2012, 257(22): 8769–8774.
- [46] Lan M, Zhang D, Cai J, et al. Fabrication and electromagnetic properties of bio-based helical soft-core particles by way of Ni-Fe alloy electroplating. *J Magnetism Magnetic Mater*, 2011, 323(24): 3223–3228.
- [47] Bao H, Hao N, Yang Y, et al. Biosynthesis of biocompatible cadmium telluride quantum dots using yeast cells. *Nano Res*, 2010, 3(7): 481–489.
- [48] Cui R, Liu HH, Xie HY, et al. Living yeast cells as a controllable biosynthesizer for fluorescent quantum dots. *Adv Funct Mater*, 2009, 19(15): 2359–2364.
- [49] Blakemore R. Magnetotactic bacteria. *Science*, 1975, 190(4212): 377–379.
- [50] Shin J, Yoo CH, Lee J, et al. Cell response induced by internalized bacterial magnetic nanoparticles under an external static magnetic field. *Biomaterials*, 2012, 33(22): 5650–5657.
- [51] Hocheng H, Wang JC, Chang JH, et al. Laser-guided pattern writing through *Thiobacillus ferrooxidans* metabolite. *Microelectronic Eng*, 2009, 86(4/6): 565–568.

(本文责编 郝丽芳)