زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس
دوره 6، شماره 1، بهار و تابستان 1394

جداسازی و شناسایی باکتری‌های مغناطیسی از مناطق مختلف ایران و شناسایی نانو ذرات آهن سنتزی درون آن‌ها

ساره فراهانی[1]، عباس اخوان سپهی[2*]، لاله فرهنگ متین[3]

1- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران
2- دانشیار میکروبیولوژی دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران
3- استادیار فیزیک، دانشکده علوم پایه،دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران

*** تهران، صندوق پستی 936/19585**
Akhavansepahy@gmail.com
(دریافت مقاله: 92/11/17 پذیرش مقاله: 94/2/15)

چکیده- باکتری‌های مغناطیسی، تحت تأثیر میدان مغناطیسی زمین جهت‌گیری می‌کنند. انواع اشکال کوکسی، باسیل و مارپیچی در آن‌ها مشاهده شده است. فراساختار مگنتوزوم در این باکتری‌ها باعث جهت‌گیری آن‌ها تحت تأثیر میدان مغناطیسی و به عنوان بخش ذخیره آهن محسوب می‌شود.

در این پژوهش حضور باکتری‌های مغناطیسی در نقاط مختلف کشور ایران با ویژگی آب شیرین، نیمه شور و شور شامل معدن آهن مروارید زنجان ، تالاب میقان، خلیج فارس و کویر قم بررسی شد. رسوبات و آب جمع آوری شده، تحت اثر میدان مغناطیسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد تمام انواع باکتری‌های جداسازی شده، گرم منفی و واجد اشکال باسیلی، اسپیریلوم و کوکسی بودند. بعد از اثر میدان مغناطیسی در لوله مویین حاوی باکتری مغناطیسی پاسخ آن‌ها به میدان مغناطیسی مشاهده شد. نمونه‌های تالاب میقان، کویر قم و معدن آهن مروارید زنجان به علت داشتن رسوب و همچنین نمونه بیشتری از باکتری مغناطیسی، به طور ویژه مورد بررسی قرار گرفتند.در تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری ذرات نانوی آهن درون آن‌ها قابل رویت بود. بررسی مولکولی، توالی یابی و BLAST درتارنمای NCBI نمونه ی معدن آهن مروارید زنجان حضور باکتری مغناطیسی *Magnetospirillum magnetotacticum* را به اثبات رسانید. تراکم بیشتر ذرات نانوی آهن در نمونه تالاب میقان در مقایسه با معدن آهن، بیانگر این است که وفور یون آهن به تنهایی، عامل افزایش سنتز نانوذرات آهن توسط باکتری مغناطیسی نیست.

کلیدواژگان: باکتری‌های مغناطیسی، *Magnetospirillum magnetotacticum* ، نانوذرات، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، مگنتوزوم.

1- مقدمه

باکتری‌های مغناطیسی عمدتاً از نظر متابولیکی، مورفولوژی و فیلوژنتیکی یک گروه ناهمگون از پروکاریوت‌های آبزی هستند که فعالانه در طول میدان

مغناطیسی شنا می‌کنند [1]. این رفتار مغناطیس‌گرایی نامیده می‌شود که به علت حضور کریستال‌های حوزه مغناطیسی منفرد داخل سلولی مگنتایت (Fe_3O_4) و/یا گریژیت (Fe_3S_4) است که با یک لیپید دو لایه‌ای به نام مگنتوزوم احاطه شده است. مگنتوزوم‌ها معمولاً به صورت زنجیره‌ای در درون سلول سازماندهی می‌شوند و خاصیت دو قطبی مغناطیسی دائمی به سلول می‌بخشند [1].

دانشمندان مختلفی سویه‌های گوناگون باکتری‌های مغناطیسی را در نقاط مختلف جهان شناسایی کردند، مانند: بلیکمور و همکاران سویه MS-1، ماتسونگ و همکاران سویه AMB-1، [2]، شلیفر و همکاران *M.gryphiswaldense* [3]، سویه‌های ویبریو آب شور، MV-1، به وسیله بازیلینسکی و همکاران [4]، MC-1، توسط دی‌لانگ و همکاران [5]، ملدرام و همکاران یک اسپیریلیوم دریایی با عنوان MMS-1 [6]، که معمولاً با نام MV-4 هم یاد می‌شود، باکتری مغناطیس‌گرای باسیلی شکل کاهنده سولفات با عنوان مگنتیکوس دسولفوویبریو سویه RS-1 توسط ساکاگوچی و همکاران شناسایی شدند [7].

بازیلینسکی و همکاران از طبقات مختلف آب نمونه‌برداری کردند، که این مناطق شامل ناحیه اوتروفیک، اپی لیمنیون وهایپولیمنیون است [8]. شارما و همکاران از آبگیر مجاور کارخانه‌ی بازیافت آهن در منطقه اوتاراکاند کشور هند، نمونه‌برداری کردند. بعد از نمونه‌برداری قطب جنوب آهن ربا را به مدت یک ساعت بالای بطری‌های حاوی نمونه قرار دادند [9].

لین و همکاران رسوب سطحی از عمق 5 تا 10 سانتی‌متری را از دریاچه Beihai در بیجینگ مرکزی چین جمع‌آوری نمودند و بلافاصله آن‌ها را به فلاسک‌هایی با حجم 600 میلی لیتر انتقال دادند و به مدت چند هفته در دمای اتاق نگهداری کردند [10]. امروزه با توجه به محدودیت‌هایی که در مورد باکتری‌های متداول ایجاد شده، مانند مقاومت آنتی بیوتیکی، شناخت باکتری‌های جدید با ویژگی منحصر به فرد همچون باکتری‌های مغناطیسی بیش از گذشته باید مورد توجه قرار گیرد؛ عمومیت کاربرد این باکتری‌ها در سایر زمینه‌ها شامل پزشکی، داروسازی، زیست فناوری و فیزیک هم از جنبه‌های مهم آن است، مانند استفاده در: MRI [11]، معالجه توده سرطانی [12]، سنجش ایمنی و اتصال به رسپتور، ساخت بیوسنسور [13].

2- مواد و روش‌ها

به منظور ساخت محیط کشت اختصاصی برای باکتری‌های مغناطیسی، از روش تهیه محیط کشت مگنتواسپیریلیوم (DSMZ 380) استفاده شد.

2-1- روش نمونه‌برداری

برخی از مناطق ایران که مورد بررسی قرار گرفت، شامل کویر میقان در شهر اراک از استان مرکزی (´34°/11 شمالی، ´50°/49 شرقی)، معدن آهن مروارید دراستان زنجان (´35°/79 شمالی و ´48°/69 شرقی) و دریاچه حوض سلطان در کویر قم از استان قم (َ34ْ/45 تا َ35ْ/15 عرض جغرافیایی و َ50ْ/45 تا َ51ْ/15 طول جغرافیایی). نمونه‌برداری از عمق 10 تا 20 سانتی‌متری صورت گرفت در حین نمونه‌برداری pH و دمای محیط اندازه‌گیری شد؛ با نسبت 1:3 رسوب به آب. نمونه‌ها داخل فالکون‌های 50 میلی‌لیتری منتقل شد. بلافاصله تحت تأثیر آهنربا با میدان 1/2 تسلا قرار گرفتند و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 ماه نگه‌داری شدند.

بعد از طی یک ماه به محیط کشت تهیه شده بر اساس روش DSMZ 380 تلقیح شدند. بعد از تلقیح مجدداً در کنار آهنربا قرار گرفته و به مدت یک ماه در انکوباتور با دمای 26 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. به منظور سنتز نانوذرات آهن، آهن‌ربای مورد استفاده در این مرحله

واجد میدان مغناطیسی بیشتری بود (T 1/2 و 1/46).

2-2- آماده‌سازی محیط کشت

برای تهیه محیط کشت مواد بر طبق روش استاندارد DSMZ Medium 380 (آلمان) باکتری Magnetospirillum عمل شد. محلول عناصر معدنی و محلول ویتامین در حجم یک لیتر و محلول کوئینات فریک در حجم 100ml تهیه می‌شود. به ازای هر لیتر محلول مادر، 10ml محلول ویتامین، 5ml محلول عناصر معدنی، 2ml محلول کوئینات فریک، KH_2PO_4 0.68g، L(+)-Tartaric acid 0.37g، Succinic acid 0.37g، $NaNO_3$ 0.12g، Na-thioglycolate 0.05g، Na-acetate 0.05g و Resazurin 0.5mg مورد استفاده قرار گرفت.

قبل از مخلوط کردن این ترکیبات pH محلول حاوی عناصر معدنی با اضافه کردن KOH یا هیدروکسید پتاسیم به 6/5 رسانده و به کمک گاز N_2 اکسیژن زدایی شد. محلول کوئینات فریک و عناصر معدنی به مدت 15 دقیقه با فشار 15 پاسکال در دمای 121 درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. بعد از اتوکلاو گذاری، زمانی که دمای محلول به 45 درجه سانتیگراد رسید، محلول ویتامین فیلتر شده به آن اضافه شد.

3-2- مواد شیمیایی

محلول‌ها شامل عناصر معدنی، ویتامین و محلول کوئینات فریک می‌باشد.

محلول معدنی متشکل از Nitrilotriacetic acid (SIGMA Aldrich-Germany)، $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ هپتا هیدرات سولفات منیزیم، NaCl کلرید سدیم، $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ دی هیدرات سولفات منگنز، $CoSO_4 \cdot 7H_2O$ هپتا هیدرات سولفات کبالت، $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ هپتا هیدرات سولفات روی، $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ دی هیدرات کلرید کلسیم، $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ هپتا هیدرات سولفات آهن، $NiCl2 \cdot 6H_2O$ هگزا هیدرات کلرید نیکل، $KAl(SO_4)2 \cdot 12H_2O$ دودکاهیدرات سولفات آلومینیم پتاسیم، H_3BO_3 اسید بوریک، $Na_2MoO_4 \cdot 4H_2O$ دی هیدرات مولیبدات دی سدیم، $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ پنتا هیدرات سولفات مس، $Na_2SeO_3 \cdot 5H_2O$ پنتا هیدرات سلنیت سدیم . محلول ویتامین واجد، Pyridoxine-HCl، Thiamine-HCl$\cdot 2H_2O$، Riboflavin، Nicotinic acid، Folic acid.

برای محلول کوئینات فریک از $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ هگزا هیدرات کلرید فریک و (Quinic acid) اسید کوئینیک استفاده شد.

علاوه بر سه محلول گفته شده ترکیبات (KH_2PO_4) فسفات پتاسیم مونو بازیک، L(+)-Tartaric acid، Succinic acid، ($NaNO_3$) نیترات سدیم، Na-thioglycolate (SIGMA Aldrich-Germany)، Na-acetate، Resazurin (SIGMA-USA) به محلول اضافه می‌شود. سایر مواد محصول شرکت Merck آلمان می‌باشد. محیط‌های کشت به‌صورت شکل 1 نگه‌داری شدند.

شکل 1 محیط کشت اختصاصی در کنار آهن‌ربا

4-2- روش میکروسکوپی

به منظور بررسی دقیق و قطعی وجود باکتری مغناطیسی و

نانوذرات آهن درون آن، در نمونه‌های کشت داده شده، بررسی با میکروسکوپ الکترونی عبوری انجام شد. روش تهیه نمونه برای مشاهده با میکروسکوپ الکترونی عبوری: ابتدا با سانتریفیوژ یخچال‌دار با سرعت rpm 14000، به مدت 2 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نمونه‌ها رسوب داده شدند و در ادامه تثبیت با گلوتارآلدهید 2/5%، شست‌وشو با بافر فسفات، تثبیت با تترااکسید آزمیوم 1%، آبگیری با درصدهای مختلف الکل اتانول، آبگیری با اکسید پروپیلن، انتقال به درون رزین و سپس قالب‌گیری و برش‌گیری با دستگاه اولترامیکروتوم به اندازه 70nm تا 100 و در آخر رنگ‌آمیزی مثبت برش‌ها با یورانیل استات 2% و سیترات سرب 1%.

مشاهده نمونه زنده با میکروسکوپ فاز متضاد و با استفاده از روش " Holding drop" انجام شد.

برای مشاهده با میکروسکوپ نوری رنگ‌آمیزی گرم صورت گرفت.

1. استخراج DNA

روش استاندارد جداسازی DNA باکتری‌های گرم منفی

2. PCR

به منظور تکثیر ژن 16S rRNA سویه‌های منتخب از پرایمر Universal که توسط شرکت روبین طب گستر سنتز گردید، استفاده شد.

27F(5´-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3´)
1492R(5´-GGTTACCTTGTTACGACTT-3´)

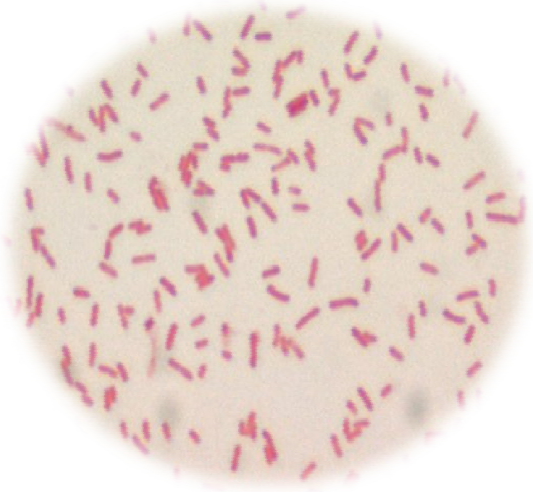
3. توالی‌یابی

پس از انجام PCR، محلول به منظور توالی‌یابی به شرکت فزاپژوه فرستاده شد.

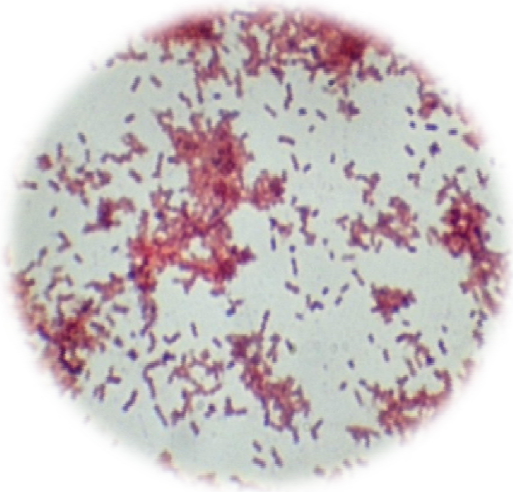
3- نتایج

3-1- رنگ‌آمیزی گرم

تهیه رنگ‌آمیزی گرم از نمونه‌ها حاکی از این بود که باکتری‌های مورد نظر گرم منفی و میله‌ای شکل بودند. شکل‌های 2 و 3 به ترتیب رنگ‌آمیزی گرم از نمونه‌های تالاب میقان و معدن آهن را نشان می‌دهند.



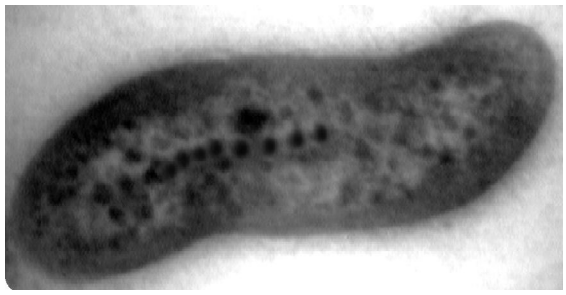
شکل 2 تصویر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 1000 برابر پس از رنگ‌آمیزی گرم از نمونه تالاب میقان اراک



شکل 3 تصویر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 1000 برابر پس از رنگ‌آمیزی گرم از نمونه معدن آهن مروارید زنجان

3-2- میکروسکوپ الکترونی عبوری

نتایج میکروسکوپ الکترونی عبوری حضور مگنتوزوم را در محور طولی سلول به وضوح نشان داد. شکل‌های 4 و 5 به ترتیب از تالاب میقان و معدن آهن تهیه شده است. شکل اسپیریلی در شکل 4 مشهود است.



شکل 4 نمونه تالاب میقان اراک، عکس TEM با بزرگنمایی 31/5 KX

شکل 5 نمونه معدن آهن مروارید زنجان، عکس TEM بزرگنمایی 8 KX

3-3- میکروسکوپ فاز متضاد

مشاهدات تکمیلی با استفاده از میکروسکوپ فاز متضاد حرکت باکتری را تحت اثر میدان مغناطیسی نشان داد. تصاویر تهیه شده در شکل‌های 6 و 7 گویای این جهت‌گیری مغناطیسی است.

شکل 6 نمونه تالاب میقان اراک، عکس PCM با بزرگنمایی 400 برابر

شکل 7 نمونه معدن آهن مروارید زنجان، عکس PCM با بزرگنمایی 400 برابر

3-4- PCR و BLAST

نتایج PCR نمونه معدن آهن مروارید زنجان پس از توالی یابی و BLAST کردن در تارنمای ExTaxon و NCBI دو نتیجه در بر داشت، از بین دو نمونه حاصل از PCR، نمونه اول شباهت 99 درصدی با *Klebsiella oxytoca* و نمونه دوم شباهت 100 درصدی با *Magnetospirillum magnetotacticum* را نشان داد.

4- بحث

پژوهش حاضر به منظور جداسازی و شناسایی باکتری‌های مغناطیسی صورت گرفته است و باکتری‌های مغناطیسی در محیط‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند. سعی بر این شد تا نمونه‌برداری از سایر مناطق ایران صورت گیرد و تنوعی از اکوسیستم‌هایی که باکتری‌های مغناطیسی می‌تواند در آن‌ها وجود داشته باشند نشان داده شود. این مناطق شامل کویر قم و تالاب میقان با محیط نسبتاً شور، اقلیم کوهستانی با آب شیرین، خلیج فارس با آب شور و معدن آهن با اسیدیته‌ی بالا، می‌شود.

نتایج این پژوهش با پژوهش فرزان و همکاران که در سال 2009 در دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است [14] مشابه می‌باشد و نسبت به آن نمونه‌ی کامل‌تری است زیرا علاوه بر نمونه‌برداری از مناطق مختلف، جنس و گونه

باکتری مغناطیسی به کمک روش‌های مولکولی تعیین شد. جداسازی باکتری از منطقه OATZ صورت گرفت، که می‌تواند به عنوان شاهدی برای میکروآئروفیل بودن این باکتری‌ها باشد [15-17].

باکتری‌های رنگ‌آمیزی شده با روش گرم، مشابه با نتایج بازیلینسکی همگی گرم منفی بودند [15]. نانو ذرات آهن سنتزی این باکتری‌ها پیرو مطالعات انجام شده توسط بازیلینسکی و راجر درون سلولی بوده و به‌شکل مگنتوزوم مشاهده شدند [15،18،19]. از بین رفتن نظم مگنتوزوم در طی مشاهده با میکروسکوپ الکترونی عبوری، می‌تواند به‌علت حضور اکسیژن بیش از 1% باشد [20]. چرا که بلیکمور اکسیژن را به‌عنوان عامل مختل کننده نظم مگنتوزوم‌ها بیان کرده است.

مقایسه بین حضور و عدم حضور باکتری در محیط بومی (مادری) با محیط کشت اختصاصی، نشان داد در صورت عدم استفاده از محیط کشت اختصاصی، می‌توان باکتری را با رعایت شرایط استریل در محیط مادری کشت داد و جداسازی نمود؛ یعنی می‌توان در صورت لزوم از محیط مادری به عنوان محیط کشت اختصاصی برای همان باکتری استفاده کرد [21،22].

بررسی کدورت محیط کشت به طور مداوم نشان داد که مدت زمان 3 هفته برای انکوبه نمودن آن‌ها کافی است و در محیط‌های با کدروت بیشتر تعداد باکتری‌های بیشتری قابل جدا سازی است.

pH اندازه‌گیری شده قبل و بعد از کشت این باکتری‌ها گواه آن بود که شرایط رشد بهینه آن‌ها pH خنثی است؛ به عنوان نمونه pH محیط معدن آهن در حین نمونه‌برداری pH اسیدی با مقدار 3 بود و بررسی اولیه با میکروسکوپ نوری بعد از رنگ‌آمیزی گرم تعداد نمونه‌های کمی از باکتری را نشان داد، متعاقباً بعد از کشت دادن آن‌ها در محیط اختصاصی و گذشت چند هفته تعداد باکتری‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته بود و این در شرایطی بود که دستگاه pH متر، pH 6/5 را نشان داد و می‌تواند بیانگر این باشد که باکتری مغناطیسی در pH اسیدی رشد خود را متوقف کرده یا کاهش داده است و پس از دست‌یابی به شرایط محیطی مناسب رشد خود را آغاز کرده و تکثیر می‌شود. تغییر رنگ محیط کشت نشان دهنده‌ی رشد و انجام واکنش اکسیداسیون و احیا توسط باکتری مغناطیسی است [23].

مشاهدات میکروسکوپ الکترونی عبوری وجود باکتری‌های مغناطیسی به عنوان باکتری‌های گرم منفی را به اثبات رساند؛ غشای خارجی و فضای پری پلاسمیک کاملاً واضح بود.

از نظر مورفولوژیکی اشکال کوکسی، اسپریلیوم و باسیلی در نمونه‌های مورد بررسی مشاهده شد [15]. نکته قابل توجه پس از کسب نتایج این بود که تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های تالاب میقان و قم به نسبت بیشتر از معدن آهن بود. این می‌تواند دلیلی باشد بر این که حضور و رشد باکتری‌های مغناطیسی تنها به وفور آهن محیط وابسته نیست، بلکه به عوامل دیگری از جمله مواد غذایی محیط هم بستگی دارد. نتایج کلی حاصل از این پژوهش بیانگر میکروایروفیل بودن باکتری‌های مغناطیسی مورد بررسی است و افزایش رشد آن‌ها در محیط مغذی همراه با نمک‌های حاوی آهن انجام می‌شود. باکتری‌های مغناطیسی را از نقاط مختلفی که آب وجود دارد می‌توان جداسازی کرد.

خصوصیات باکتری از نظر ژنتیکی و پروتئین‌های مگنتوزوم که بخش مورد توجه این باکتری‌ها است را می‌توان در مطالعاتی که در آینده به منظور تکمیل اطلاعات انجام می‌شود، به‌طور دقیق بررسی و تجزیه و تحلیل کرد.

5- قدردانی و تشکر

از جناب آقای دکتر سید عباس شجاع‌الساداتی، استاد

بیوتکنولوژی صنعتی دانشگاه تربیت مدرس به خاطر تمام همکاری‌های ایشان با این گروه تحقیقاتی، قدردانی می‌شود. همچنین از آقای مهندس مجتبی فراهانی که در طی مراحل نمونه‌برداری همکاری نموده‌اند، تشکر می‌شود.

6- منابع

[1] Bazylinski, D. A., Frankel, R. B. (2004) Magnetosome Formation in Prokaryotes. Nature Reviews Microbiology. 2, 217-230.

[2] Matsunaga, T., Sakaguchi, T. & Tadokoro, F. (1991) Magnetite formation by a magnetic bacterium capable of growing aerobically. Appl Microbiol Biotechnol. 35, 651–655.

[3] Schleifer, K-F., Shüler, D., Spring, S., Weizenegger, M., Amann, R., Ludwig, W., Kohler, M. (1991) The genus Magnetospirillum gen. nov., description of Magnetospirillum gryphiswaldense sp. nov. And transfer of Aquaspirillum magnetotacticum to Magnetospirillum magnetotacticum comb. nov. Syst Appl Microbiol. 14, 379–385.

[4] Bazylinski, D. A., Frankel, R. B., Jannasch, H. W. (1988) Anaerobic magnetite production by a marine, magnetotactic bacterium. Nature. 334. 518–519.

[5] Delong, E. F., Frankel, R.B., Bazylinski, D.A. (1993) Multiple evolutionary origins of magnetotaxis in bacteria. Science. 259, 803–806. [PubMed: 17809345].

[6] Meldrum, F. C., Mann, S., Heywood, B.R., Frankel, R.B., Bazylinski, D.A. (1993) Electron microscope study of magnetosomes in two cultured vibrioid magnetotactic bacteria. Proc Roy Soc Lond B. 251, 237–242.

[7] Sakaguchi, T., Burgess, J.G., Matunaga, T. (1993) Magnetite formation by a sulphate reducing bacterium. Nature. 365, 47–49.

[8] Bazylinski, D. A., Schlezinger, D.R., Howes, B.H., Frankel, R.B., Epstein, S.S. (2000) Occurrence and distribution of diverse populations of magnetic protists in a chemically stratified coastal salt pond. Chemical Geology. 169, 319-328.

[9] Sharma, Gyan Prakash and Balomajumder, Chandrajit. (2011) Preliminary isolation report of aerobic magnetotactic bacteria in a modified nutrient medium. Recent Research in Science and Technology. 3(11), 71-75.

[10] Lin, W., Li, J. and Pan, Y. (2011) Novel Magnetotactic Bacteria in the Phylum Nitrospirae. Applied and Environmental Microbiology p. 668–675.

[11] Goldhawk, D.E., Lemaire, C., McCreary, C.R., McGirr, R., Dhanvantari, S., Thompson, R.T., Figueredo, R., Koropatnick, J., Foster, P. & Prato, F.S., (2009) Magnetic resonance imaging of cells overexpressing MagA, an endogenous contrast agent for live cell imaging. Mol Imaging. 8, 129–139.

[12] Alphandery, E., Faure, S., Seksek, O., Guyot, F. & Chebbi, I. (2011) Chains of magnetosomes extracted from AMB-1 magnetotactic bacteria for application in alternative magnetic field cancer therapy. ACS Nano. 5, 6279–6296.

[13] Martel, S., Tremblay, C., Ngakeng, S., and Langlois, G. (2006) Controlled Manipulation and Actuation of Micro-objects with Magnetotactic Bacteria. Applied Physics Letters. Vol. 89, 233904.

[14] Farzan, F., Shojaosadati, S.A. and Abdul Tehrani, H., 2010 Apreliminary report on the isolation and identification of Magnetotactic bacteria from Iran environment, Iranain Journal of Biotechnology. 8, 98-102.

[15] Bazylinski, D. A. (1995) Structure and function of the bacterial magnetosome. ASM News 61, 337–343.

[16] Blakemore, R. P., Frankel, R. B. & Kalmijn, A. J. (1980) South-seeking magnetotactic bacteria in the southern hemisphere. Nature 236, 384–385.

[17] Heyen, U. & Schüler, D. (2003) Growth and magnetosome formation by microaerophilic Magnetospirillum strains in an oxygen-controlled fermentor. Appl. Microbiol. Biotechnol. 61, 536–544.

[18] Bazylinski, D. A. and Frankel R. B.,(2004) Magnetosome Formation in Prokaryotes, nature behavior in bacteria. Annu. Rev. Microbial. 53, 103-128.

[19] Rogers, F. G. et al. (1990) Intercellular structure in a many-celled magnetotactic procaryote. Arch. Microbiol. 154, 18–22.

[20] Blakemore, R. P., Short, K. A., Bazylinski, D. A., Rosenblatt, C. & Frankel, R. B. (1985) Microaerobic conditions are required for magnetite formation within Aquaspirillum magnetotacticum. Geomicrobiol. J. 4, 53–71.

[21] Sakaguchi, T., Burgess, J. G. & Matsunaga, T. (1993a) Magnetite bullet-formation by a sulphate-reducing bacterium. Nature 365, 47–49.

[22] Sakaguchi, H. et al. (1993b) Oxygen concentration-dependent induction of a 140-kDa protein in magnetic bacterium *Magnetospirillum magnetotacticum* MS-1. FEMS Microbiol. Lett. 107, 169–174.

[23] Blakemore, R. P., (1982) Magnetotactic bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 36: 217-238.