

# 耐辐射异常球菌 DNA 损伤与修复 相关基因的比较基因组研究\*

华跃进 高冠军

(浙江大学原子核农业研究所 农业部核农学重点实验室 杭州 310029)

## Comparative Genomics of Genes Contributed to DNA Repair in the Radiation-resistant *Deinococcus radiodurans*

Hua Yuejin Gao Guanjun

(National key subject of biophysics, Key laboratory of ministry of agriculture, Institute of  
nuclear-agricultural science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

关键词 耐辐射球菌 (*Deinococcus Radiodurans*), DNA 损伤, 修复, 比较基因组

中图分类号: Q937 文献标识码: A 文章编号: 1001-6209(2003)01-0120-07

耐辐射球菌 (*Deinococcus radiodurans*, DR) 是 Anderson 等<sup>[1]</sup>在 1956 年从灭菌处理的肉类中发现的一种非病原性红色球菌, 该球菌对电离辐射(存活最高剂量约 15kGy, 即普通真核生物的 1000 倍)、紫外线、干燥、强氧化剂和一些化学诱变剂显示惊人的抗性<sup>[2-5]</sup>。实验证实, 由辐射引起的损伤 DNA 在几十小时内能够完全修复<sup>[4, 5]</sup>。这种超强 DNA 修复能力吸引人们去研究其潜在修复机制以及寻找与修复有关的特殊基因或酶, 以便能应用基因工程的技术对放射性、重金属污染物进行生物修复, 为癌症治疗尤其是放疗和抗肿瘤药物的研究以及细胞衰老的研究开辟新的途径<sup>[2, 6-8]</sup>, 故倍受生物医学界和核污染环境工程的重视。White 等<sup>[9]</sup>在 1999 年公布了 DR R1 的完全基因组序列, 包括两条染色体(2.65Mb, 412kb), 一个巨型质粒(177kb) 和一个小质粒(45.7kb), 共携有 3195 个可预测基因, 并对部分基因作了评注。

## 1 DNA 损伤抗性

### 1.1 紫外线 (UV)

指数生长期 DR 野生型菌株对紫外线(254nm)表现出极强的抗性, 其存活最高剂量是 1 000J/m<sup>2</sup><sup>[3]</sup>。另外, 指数生长期 DR 的 D<sub>37</sub> 为 550 ~ 600 J/m<sup>2</sup>, 而 *E. coli* B/r 的 D<sub>37</sub> 仅为 30 J/m<sup>2</sup><sup>[10]</sup>。

### 1.2 电离辐射

DR 最显著的特征是能在足以使其它生物完全致死的电离辐射极限剂量下存活。指数生长期 DR 对  $\gamma$ -射线表现出极强的抗性, 存活的最高剂量是 15kGy<sup>[3]</sup>, 而 *E. coli* 在 0.15kGy 照射剂量下只有 10% 的生存率<sup>[11]</sup>。另外, 指数生长期 DR 的 D<sub>37</sub> 为 6kGy 左右<sup>[4]</sup>, 而在该剂量照射下 *E. coli* 和 *Bacillus* spp. 都不能生

\* 国家自然科学基金高技术探索项目(30080022), 教育部高等院校骨干教师基金、教育部留学回国人员启动基金、浙江省科委重点实验室人才培养基金和浙江省自然科学基金资助。

作者简介: 华跃进(1959-)男, 浙江东阳市人, 博士, 教授, 主要从事生物信息与分子调控方面的研究, E-mail: yjhua@zju.edu.cn

收稿日期: 2002-03-22, 修回日期: 2002-07-08

长, *E. coli* 急性照射灭菌剂量只有 1 ~ 2kGy。

DR 经大剂量  $\gamma$ -射线照射后染色体基因组产生约 150 ~ 200 个双链 DNA 碎片段 (DSBs)<sup>[5]</sup> 约 3 000 个单链片段 (SSBs) 和至少 1000 个损伤的碱基位点。DNA 凝胶脉冲电泳实验表明, 电离辐射后染色体基因组由原来的  $2.65 \times 10^3$  kb 泳带变为 50kb 或更小的一条宽带, 这些产物的生成对一般细胞的生存是致命的, 而 DR 细菌受损伤的 DNA 却能在几十小时之内完全修复<sup>[4, 5]</sup>。

### 1.3 化学试剂

DR 对丝裂霉素、亚硝酸、羟胺、N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍 (MNNG) 等强氧化剂和一些化学试剂有较强的抗性。用这些试剂对 DR 培养基进行处理, 即使是致死剂量也不会导致突变率增加<sup>[4]</sup>。

### 1.4 干燥

Mattimore 和 Battista<sup>[12]</sup> 观察了 41 个 DR 电离辐射敏感株在干燥 6 个星期条件下的存活率。结果发现, 每个电离辐射敏感株对干燥也很敏感, DNA 凝胶电泳表明, 6 个星期干燥脱水过程产生的 DSBs 数量与 5.2kGy 剂量的电离辐射产生的 DSBs 相同。由于辐射敏感株缺失修复损伤 DNA 的能力, 因此干燥条件也会对其产生致命的影响, 这表明, DR 的辐射抗性与干燥抗性机制具有相关性。

## 2 DNA 损伤修复有关的基因或酶 (表 1)

表 1 *D. radiodurans* 的 DNA 修复基因

基因名称	基因编号	注 释
<b>碱基切除修复 (BER)</b>		
<i>alkA</i>	DR2074, DR2584	3-甲基腺嘌呤-DNA 糖基化酶 II; DR2584 类似真核生物型
<i>mutY</i>	DR2285	8-氧鸟嘌呤-DNA 糖基化酶, AP-裂解酶, A/G 错配 DNA 糖基化酶
<i>mutM/fgp</i>	DR0493	甲酰氨基嘧啶 DNA 糖基化酶 8-氧鸟嘌呤-DNA 糖基化酶
<i>nth</i>	DR2438, DR0289, DR0928	核酸内切酶 III, 胸苷-乙二醇 DNA 糖基化酶; DR0928 和 DR2438 类似古生物型, DR0289 与酵母蛋白质比较接近
<i>ung</i>	DR0689, DR1663	尿嘧啶 DNA 糖基化酶
<i>mug</i>	DR0715	G/T 错配专一性胸腺嘧啶 DNA 糖基化酶, 与 DR1751 的亲缘关系较远, 仅在真核生物中多结构域蛋白质的一个结构域形式存在
<i>mug</i>	DR1751, DR0022	尿嘧啶 DNA 糖基化酶
<i>nfi(yjaF)</i>	DR2162	核酸内切酶 V
<i>xthA</i>	DR0354	外脱氧核糖核酸酶 III
<i>polA</i>	DR1707	DNA 聚合酶 I
<i>sms</i>	DR1105	ATP-依赖性蛋白酶
<b>直接损伤恢复 (DR)</b>		
<i>Ogt/ybaZ</i>	DR0248	O <sup>6</sup> -甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶
<i>mutT</i>	DR0261	8-氧-dGTP 酶
<i>HamL/yggV</i>	DR0179	黄苷三磷酸焦磷酸酶, 能阻止 6-羟胺嘌呤的变异
<b>碱基错配切除修复 (MMR)</b>		
1) 甲基化-依赖性错配修复 (mMR)		
<i>Yhdj?</i>	DRC0020	腺嘌呤专一性甲基化酶
<i>usrD</i>	DR1775, DR1572	解旋酶 II, 可从一个缺口开始解旋, DR1572 有一个 frameshift
<i>MutK(Nudix)</i>	DR1696	ATP 酶?
<i>mutS</i>	DR1976, DR1039	ATP 酶
2) mutY-依赖性错配修复 (mMY)		
<i>mutY</i>	DR2285	8-氧鸟嘌呤-DNA 糖基化酶, AP-裂解酶, A/G 错配 DNA 糖基化酶
3) 极短补丁错配修复 (VSP-MR)		
<i>mutL</i>	DR1696	ATP 酶?
<i>mutS</i>	DR1976, DR1039	ATP 酶, DR1039 有一个 frameshift
<i>YcjD?</i>	DR0221, DR2566	与 <i>usr</i> 有关的蛋白 (功能尚未鉴定)

续表 1

基因名称	基因编号	注 释
<u>核苷酸切除修复(NER)</u>		
<i>mfd</i>	DR1532	转录修复耦联因子,解旋酶
<i>uvrA</i>	DR1771 ,DRA0188	ATP 酶,与 DNA 结合
<i>uvrB</i>	DR2275	解旋酶
<i>uvrC</i>	DR1354	核酸酶
<i>uvrD</i>	DR1775 ,DR1572	解旋酶 II ,可从一个缺口开始解旋 ,DR1572 有一个 frameshift
<i>uvrL</i>	DR1819	紫外线核酸内切酶,活性仅在 <i>Neurospora</i> 中鉴定
<i>YejH/rad25</i>	DRA0131	超家族 II 中的 DNA 或 RNA 解旋酶,或核酸酶,包括一个额外的 <i>mcrA</i> 核酸酶的结构域
<u>重组修复(RER)</u>		
<i>sbcC</i>	DR1922	核酸外切酶亚基,ATP 酶?
<i>sbcD</i>	DR1921	核酸外切酶
<i>recA</i>	DR2340	重组酶;单链 DNA 依赖性 ATP 酶,是 <i>lexA</i> 自我蛋白酶解的激活剂
<i>recD</i>	DR1902	解旋酶/核酸外切酶;N-末端包括 3 个额外的“helix-hairpin-helix”(hhh)的 DNA 结合模式;与来自 <i>B. subtilis</i> 和 <i>Chlamydia</i> 有较近亲缘的关系
<i>recF</i>	DR1089	可以预测的 ATP 酶;用于子代链空位修复
<i>recG</i>	DR1916	霍利迪连接体 DNA 解旋酶;分支转移的诱导剂
<i>recJ</i>	DR1126	核酸酶
<i>recN</i>	DR1477	可预测的 ATP 酶
<i>recO</i>	DR0819	用于子代链空位修复
<i>recQ</i>	DR2444 ,DR1289	解旋酶;不正常重组的抑制子
<i>recR</i>	DR0198	用于子代链空位修复
<i>ruvA</i>	DR1274	能与霍利迪连接体结合的 <i>RuvABC</i> 解离体亚基
<i>ruvB</i>	DR0596	<i>RuvABC</i> 解离体的解旋酶亚基
<i>ruvC</i>	DR0440	<i>RuvABC</i> 解离体的核酸内切酶亚基
<u>SOS 修复</u>		
<i>uvrD</i>	DR1775 ,DR1572	解旋酶 II ,可从一个缺口开始解旋 ,DR1572 有一个 frameshift
<i>recA</i>	DR2340	重组酶;单链 DNA 依赖性 ATP 酶,是 <i>lexA</i> 自我蛋白酶解的激活剂
<i>lexA</i>	DRA0344 ,DRA0074	转录调控子,SOS 调节元的抑制子,自我蛋白酶(autoprotease)
<u>多途径修复(MPR)</u>		
<i>dnaE</i>	DR0507	DNA 聚合酶 III 全酶的聚合酶亚基
<i>dnaQ</i>	DR0856	3'-5' DNA 聚合酶 III 全酶的核酸外切酶亚基
<i>dnlJ</i>	DR2069	DNA 连接酶
<i>ssb</i>	DR0099	单链结合蛋白;有 3 个不完全的 ORF 对应于 SSB 的 3 个不同部分 已鉴定的可能与 DNA 修复功能有关的基因(途径尚不清楚)
<i>BS-dinB</i>	该细菌中有十三个同源物	金属依赖性多肽酶?
<i>mrr</i>	DR1877 ,DR0508 ,DR0587	类似 <i>Mrr</i> 的核酸酶,是 <i>recB</i> 古生物的霍利迪连接体消旋酶超家族的限制性酶
<i>YejH/rad25</i>	DR0690	拓朴异构酶 IB,是细菌中发现拓朴异构酶 IB 的唯一代表,可能是通过水平基因转移从真核生物获得
	DR1721	3'-5' 核酸酶;与杆状病毒 DNA 聚合酶核酸外切酶结构域相关
<i>rsr</i>	DR1262	RoRNA 结合蛋白,能与几个 sRNA 结合形成核糖核蛋白复合物,可能涉及紫外线的抗性
	DR1757	可预测的核酸酶,包括一个锌指结构域
<i>IrrI/IrrB</i>	DR0171	基因调控蛋白,可能是 DNA 损伤的传感器
<i>pprA</i>	DRA0346	可能涉及 DNA 的修复
<i>pprI</i>	参看另文	可预测的转录调控子,包括一个可与 DNA 结合的 HTH 结构域和一个锌依赖性多肽酶结构域,可能涉及电离辐射的抗性

## 2.1 碱基切除修复(base excision repair, BER)

Macarova 等<sup>[13]</sup>报道了 BER 途径,包括几个糖基化酶和核酸内切酶,如:AlkA、MutY、MutM/Fgp、Nth、Ung、Mug、Nf(YjaF)、XthA 等。在原核和真核生物中都含有类似成分<sup>[14]</sup>。DR 含有两个尿嘧啶 DNA 糖基化酶(Ung 同源物)能纠正与 A 错配的 U。通过对此作进一步的分析认为,其中 DR0689 氨基酸序列与人类的 Ung 序列一致性为 57%,相似性 70%,为显著匹配。DR 中转移 3-甲基腺嘌呤的 AlkA 在哺乳动物中尚未发现同源物,但在人类基因组中发现能够替代这种功能的其它蛋白 MpG<sup>[8]</sup>。通过比较基因组研究,DR 缺少 *E. coli* 的 Tag、RadA、RadC 3 种酶的同源物以及其它生物都具有的涉及紫外线抗性的两个关键酶:核酸内切酶 IV(AP 核酸内切酶)、光裂解酶(PhrB)<sup>[8,13,14]</sup>。DR 编码的另外一个与紫外线抗性有关的核酸内切酶 III 与在人类基因组中搜索到的 MutY 蛋白序列一致性为 26%(位于功能相似性黄昏区域<sup>[15]</sup>),其功能类似。

## 2.2 直接损伤恢复(direct reversal of damage, DR)

DR 细菌含有能够转移 O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤 6 位甲基的 Ogt/YbaZ 酶,但缺少 *E. coli* 的 Ada 同源物(Ada 是一种烷基转移酶,转移鸟氨酸 6 位氧上的烷基和胸腺嘧啶 4 位氧上的烷基,同时也是一种转录激活子),在人类基因组中尚未发现 Ada 同源物,但人类 MgmT 蛋白的 C-末端与 Ada 相似,能够转移鸟嘌呤 6 位氧的甲基或小的烷基<sup>[8]</sup>。推测,DR 可能含有其它类型能够转移烷基的基因。DR 中 MutI(Nudix 家族)是一类已经扩展的含特殊结构的蛋白家族,中心结构域为 MutI<sup>[13]</sup>。Makarova 等在 DR 中已经发现这个超家族有 23 个成员,17 个以单一结构域形式存在,6 个以多结构域形式存在。这类特异的多结构域蛋白家族不同于其它生物的单一结构域,其中 DR0603(由 3 个结构域组成)、DR0192、DR0004 是该细菌特有的,在其它细菌中尚未找到同源物。有人因此推测,这些多结构域组合后的功能可能涉及到由环境胁迫所造成的损伤 DNA 的修复<sup>[13]</sup>,也可能涉及新的 DNA 修复途径。

## 2.3 核苷酸切除修复途径(nucleotide excision repair, NER)

DR 编码 4 个与紫外线抗性相关的多肽 UvrA、UvrB、UvrC、UvrD<sup>[13]</sup>。UvrA 在电离辐射和紫外线抗性方面起十分重要的作用。在人类、酵母等真核生物中尚未发现这 4 个多肽的同源物<sup>[8,14]</sup>。但人类却有一套更为精装的能执行 NER 功能的蛋白质或酶,如 Xpc、Ddb、Xpa、Rpa 可代替 UvrA 行使功能,两个 DNA 螺旋酶 Xpb、Xpd 代替 UvrB、Xpg、Ercc1-Xpf 替代 UvrC<sup>[8]</sup>。实验证实,缺失 *weL* 基因的变异株对紫外线很敏感<sup>[13]</sup>。转录耦联因子 Mfd 在其它细菌和真核生物中含有类似物,它们能将基因转录、表达与 DNA 修复耦联在一起,加速结构基因的正确转录,人类由 CSA、CSB、XAB2 行使这个功能,但这个转录耦联因子对修复的作用机制尚不清楚<sup>[8]</sup>。

## 2.4 碱基错配修复途径(mismatch excision repair, MMR)

DR 中含有典型细菌所具有的 *mutS*、*mutL* 两个基因编码的蛋白质<sup>[13]</sup>,能识别错配的碱基。真核生物中也发现这两个基因的直系同源物,但在进化的过程中进一步分化,有些在高等生物中识别错配类型的位置已经专一化,还有一部分功能有待证实<sup>[8,14]</sup>,可以推测,DR 中这两个基因进化关系较早。*E. coli* 中含有 MutH 核酸内切酶,能识别鉴定新合成的 DNA<sup>[14]</sup>。在 DR 和其它原核、真核生物中尚未找到直系同源物,这种功能的补偿可能会通过其它一些尚未鉴定的因子来实现。

## 2.5 重组修复(recombination repair, RER)

DR 具有大多细菌都有的 Rec、Sbc、Ruv 3 个系列的 DNA 重组酶,但缺少其它细菌如 *E. coli* 所具有的 RecBCD、TecE、RecT、SbcB 等与重组修复有关的酶<sup>[9,13,14]</sup>。RecA 在 DNA 重组过程中对链的配对和交换起十分关键的作用<sup>[5]</sup>,实验表明,缺少 *recA* 基因的变异株对紫外线和电离辐射相当敏感。文中通过比较基因组学研究发现,DR 的 RecA 氨基酸序列和 *E. coli* 的 RecA 有 55% 的一致性,为显著匹配。PSI-BLAST 同源性搜索发现人类基因组中 hRAD51(参与 DNA 同源重组修复)与 DR 的 RecA 序列具有部分同源性,一致性为 17%(位于功能相似性黄昏区域),相似性为 50%,但人的 hRad51 与酵母的 RAD51 有 71% 的一致性,相似性 83%,为极显著匹配。进一步的序列比较发现,这 4 个同源序列都含有两个基本的结构域。一

个是 RecA 信号区( DR 的第 226-234 的氨基酸序列),另一个是 ATP/GTP 的结合区域( DR 的第 78-85 的氨基酸到序列)。虽然 Wood 等<sup>[8]</sup>认为在高等生物中不具备类似 *E. coli* 完整功能的 RecA,但我们的结果显示人类的 hRAD51 与 DR 的 RecA 具有相似的功能结构域,推测其具有类似的折叠结构,功能类似,可归为一类。人类细胞中 DNA 同源重组还涉及 DNA 支链移入酶和解离酶,其功能类似 DR 细菌的 RuvABC<sup>[8]</sup>。另外,DR 含有两个具有特殊结构域的 RecQ 螺旋酶,其中 DR1289 含 3 个串联的 HRD( helix-RNaseD) 结构域,DR2444 含一个 HRD 和一个类似胱硫醚酶  $\gamma$ -裂解酶的结构域,RecQ 可能与 RecA、ssB(单链结合蛋白)相互作用共同作用于 DNA 的重组修复<sup>[16]</sup>。

## 2.6 SOS 修复

DR 并不拥有一个功能性 SOS 反应系统<sup>[13]</sup>,而且,该细菌没有编码在 *E. coli* 的 SOS 修复系统中起关键作用的 DinP/UmuC 家族的蛋白<sup>[13,14]</sup>。但结论尚待确定。

## 2.7 可能与 DNA 修复功能有关的基因

在 Chen 等<sup>[17]</sup>在细菌中首次发现 DR1262 编码的 Rsr 蛋白类似人类的自身抗原蛋白 Ro60KD,并且与紫外线抗性有关,仅在真核生物中观察到 Ro 与 sRNA 结合生成 Y RNA(作用于前体 mRNA 的剪切),实验表明,缺 *rsr* 的 DR 变异株对紫外线相当敏感。双序列比对结果显示,人类 Ro 氨基酸序列与 DR 的 Rsr 序列一致性为 31.8% 相似性 45%,为显著匹配。推测,人类的 Rd(或 oRNP)的功能可能涉及紫外线抗性,其作用机制尚待进一步研究阐明。

DR0690 编码的拓扑异构酶 IB 和与尿嘧啶-DNA 糖基化酶基因相连,Cheng 等<sup>[18]</sup>通过对拓扑异构酶 IB 和特定位点重组酶之间构效关系的研究发现,拓扑异构酶 IB 在 DR 重组修复途径中起重要作用。缺失拓扑异构酶 IB 的变异株对紫外线特别敏感<sup>[19]</sup>。拓扑异构酶 IB 首次在 DR 中发现,在其它细菌中尚未发现同源物。

DR 两个涉及 DNA 损伤抗性的基因 *irrb*、*irrc*,其中任何一个基因的缺失将会导致该细菌电离辐射抗性的下降,下降的程度受 *UvrA* 表达的影响,这种影响在 *uvrA* + 背景之下尤为突出。有关这两个基因产物的功能尚不清楚,初步的证据表明 *IrrI* 是一种调控蛋白<sup>[20]</sup>。

最近,我们在一个 DR 的电离辐射敏感突变株中鉴定了一个与电离辐射抗性相关的基因 *pprI*。结果表明, *pprI* 基因可通过调控 *recA*、*pprA* 等基因的表达加速由电离辐射引起的 DNA 损伤的修复(另文发表)。通过比较基因组学的方法,分析了这个基因的直系同源物、结构域、motif,并初步预测其高级结构。预测结果显示, *pprI* 基因含两个保守的 motif Zn 依赖性多肽酶和 HTH 两个结构域。通过 NCBI 的 COGnitor 可以搜索到 PprI 有 6 个直系同源物 XF0496、RV2017-2、NMB2012-2、RV2515C-2、BS-ydcM 和 BH355C(图 1)被匹配的 COG 功能为锌依赖性多肽酶,其中 NMB2012-2 已被认为是转录调控子,属 HTH-3 家族蛋白。对这 7 个同源物的锌依赖性多肽酶结构域进行序列比对,发现有几个异常保守的残基(图 2)。但 PprI 同时含有两个结构域,且这两个功能结构域都能与特定的 DNA 结合,具有分子调控的作用。综合分析推测,这个基因是一个多结构域的基因转录调控子,可能通过与 *recA*、*pprA* 等基因的调控序列特异性结合,并利用其本身具有的潜在的 多肽酶活性来调控其表达。此过程可能涉及新的 DNA 修复途径,其调控机制有待进一步证实。

## 3 细胞对 DNA 损伤的应急反应

DR 经电离辐射或紫外线照射后,至少 40% 损伤 DNA 首先依靠细胞本身含有的核酸外切酶降解<sup>[21]</sup>,其次多基因组拷贝可能利于断裂 DNA 片段的重组( DR 含有 4 ~ 10 个基因组拷贝<sup>[22]</sup>, *E. coli* 4 ~ 5 个拷贝<sup>[21]</sup>)。但 Harsojo 等<sup>[22]</sup>认为,指数生长期 DR 的基因拷贝数和辐射抗性无显著相关性,DR 能依靠 1000 ~ 2000 个 DSBs 重新构建其基因组,而 *E. coli* 只能利用 10 ~ 15 个 DSBs,两者相差 100 倍左右。DR 不仅含有类似其它生物全部 DNA 修复成分,可以推测它还非常可能具有起放大修复作用的、其它生物不具有的一套特殊而又复杂的机制来利用这些大量的生物信息<sup>[21]</sup>。另一重组修复模型认为 DR 的 DNA 损

伤后,染色体基因组总是成环状聚集排列在一起,这样利于防止 DSBs 被降解,同时又有利于搜索修复模板<sup>[5]</sup>。



图1 pprI直系同源物的结构域比较

Helix-Turn-Helix (HTH domain);  
 Zn 依赖性多肽酶 (domain);  
 HipI (domain) Zn 依赖性多肽酶 (domain).

图2 pprI直系同源物的 Zn 依赖性多肽酶结构域的比对分析

#### 4 DNA 损伤修复中“checkpoint”的潜在作用

“checkpoint”是一种能够监测 DNA 损伤程度和控制细胞周期的机制,这种机制能使细胞在复制损伤 DNA 之前清除受损 DNA 并进行修复。目前在人类基因组中已经发现可能与清除受损 DNA 并进行对其修复有关的蛋白,如 ATR/ATM、HUS1、RAD1、RAD9、RAD17( RAD24 )、CHEK1、CHEK2( RAD53 )等<sup>[23]</sup>。本文通过同源性搜索,在 DR 中未发现与人类传感蛋白显著同源的匹配序列,也未发现有类似真核生物的 PCNA( proliferating cell nuclear antigen )的 DNA 损伤传感器。

然而,DR 中仅发现的 IrrI( 辐射后产生 )在功能上类似人类的 hRAD17,它能够调控辐射后损伤 DNA 的降解。实验表明,缺失此基因的变异株,辐射后 DNA 降解过程不能被关闭导致细胞死亡,IrrI 是该调控过程的一部分<sup>[20]</sup>。推测,DR 细菌具有一套不同于其它原核和真核生物的更为精确的调控机制——“checkpoint”,并在需要的时候激活或抑制 DNA 修复功能。

#### 5 评价与展望

耐辐射异常球菌 DR 是人们发现的迄今为止地球上最抗辐射的生物,我们的研究表明,DR 细菌基因组不仅含有一般原核、真核生物的常见 DNA 损伤修复基因,还具有一些特殊的多结构域基因家族,文中运用比较基因组学方法,按不同的 DNA 修复途径探讨了一些与 DNA 修复有关的基因或酶,特别是一些对 DNA 修复可能起关键作用的基因如 pprA、irrI、pprI 等。同时,大量功能未知的高表达基因(约 105 个)<sup>[21]</sup>和一些多结构域的基因(或基因家族) Nudix、Rad、PprI 等)极有可能在辐射抗性方面起着关键性的作用。因此现阶段进一步阐明这些基因的结构及其调控机制对理解 DR 细菌的极端抗性尤为重要。同时 DR 细菌奇特的 DNA 修复能力为研究人类基因组关于 DNA 修复缺陷方面提供实质性的思路,在重金属、辐射污染区生物修复方面也具有不可低估的应用价值。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] Anderson A W, Nordan H C, Cain R F, et al. Studies on a radio-resistant micrococcus. i. isolation, morphology, cultural characteristics, and resistance to gamma radiation. *Food Technol*, 1956, **10**: 575 ~ 578.
- [ 2 ] Battista J R, Earl A M, Park M J. Why is *Deinococcus radiodurans* so resistant to ionizing radiation? *Trends Microbiol*, 1999, **7**: 362 ~ 365.

- [ 3 ] Moseley B E , Mattingly A . Repair of irradiated transforming deoxyribonucleic acid in wild-type and a radiation-sensitive mutant of *Micrococcus radiodurans* . *J Bacteriol* , 1971 , **105** : 976 ~ 983 .
- [ 4 ] Battista J R . DNA repair in *Deinococcus radiodurans* . In : Nickloff J A , Hoekstra M F . DNA Damage and Repair , Volume 1 : DNA Repair in Prokaryotes and Lower Eukaryotes . Totowa , N J : Humana press , 1998 : 287 ~ 303 .
- [ 5 ] Lin J , Qi R , Aston C , et al . Whole genome shotgun optical mapping of *Deinococcus radiodurans* . *Science* , 1999 , **285** : 1558 ~ 1562 .
- [ 6 ] Brim H , McFarlan S C , Fredrickson J K , et al . Engineering *Deinococcus radiodurans* for metal remediation in radioactive mixed waste environments . *Nat Biotechnol* . 2000 , **18** : 85 ~ 90 .
- [ 7 ] Fredrickson J K , Kostandarites H M , Li S W , et al . Reduction of Fe( III ) , Cr( VI ) , and Tc( VI ) by *deinococcus radiodurans* R1 . *Applied and Environmental Microbiology* , 2000 , **66** : 2006 ~ 2011 .
- [ 8 ] Wood R D , Mitchell M , Sgouros J , et al . Human DNA repair genes . *Science* , 2001 , **291** : 1284 ~ 1289 .
- [ 9 ] White O , Eisen J A , Heidelberg J F , et al . Genome sequence of the radio-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1 . *Science* , 1999 , **286** : 1571 ~ 1577 .
- [ 10 ] Sweet D M , Moseley B E . The resistance of *Micrococcus radiodurans* to killing and mutation by agents which damage DNA . *Mutat Res* , 1976 , **34** : 175 ~ 186 .
- [ 11 ] Smith K C , Martignoni K D . Protection of *Escherichia coli* cells against the lethal effects of ultraviolet and x irradiation by prior x irradiation : a genetic and physiological study . *Photochem Photobiol* , 1976 , **24** : 515 ~ 523 .
- [ 12 ] Mattimore V , Battista R . Radioresistance of *Deinococcus radiodurans* : functions necessary to survive ionizing radiation are also necessary to survive prolonged desiccation . *J Bacteriol* , 1995 , **178** : 633 ~ 637 .
- [ 13 ] Makarova K S , Aravind L , Yuri I , et al . Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics . *Microbiology and Molecular Biology Reviews* , 2001 , **65** : 44 ~ 79 .
- [ 14 ] Aravind L , Walker D R , Koonin E V . Conserved domains in DNA repair proteins and evolution of repair system . *Nucleic Acids Research* , 1999 , **27** : 1223 ~ 1242 .
- [ 15 ] Chung S Y , Subbiah S A . A structural explanation for the twilight zone of protein sequence homology . *Structure* , 1996 , **4** : 1123 ~ 1127 .
- [ 16 ] Harmon F G , Kowalczykowski S C . RecQ heliase in concert with RecA and SSB proteins , initiates and disrupts DNA recombination . *Genes Dev* , 1998 , **12** : 1134 ~ 1144 .
- [ 17 ] Chen Xinguo , Quinn A M , Sandra L . Ro ribonucleoproteins contribute to the resistance of *Deinococcus radiodurans* to ultraviolet irradiation . *Proc Natl Acad Sci USA* , 2000 , **14** : 777 ~ 782 .
- [ 18 ] Cheng C P , Pavletich K N , Shuma S . Conservation of structure and mechanism between eukaryotic topoisomerase I and site-specific recombinases . *Cell* , 1998 , **92** : 841 ~ 850 .
- [ 19 ] Senkevich T G , Koonon E V , Bugert J J , et al . The genome of molluscum contagiosum virus : analysis and comparison with other poxyviruses . *Virology* , 1997 , **233** : 19 ~ 42 .
- [ 20 ] Udupa K , Cain P A , Battista J R , et al . Novel ionizing radiation-sensitive mutants of *Micrococcus radiodurans* . *J Bacteriol* , 1994 , **176** : 7439 ~ 7446 .
- [ 21 ] Karlin S , Mxarek J . Predicted highly expressed and putative alien genes of *Deinococcus radiodurans* and implications for resistance to ionizing radiation damage . *Proc Natl Acad Sci USA* , 2001 , **98** , 5240 ~ 5245 .
- [ 22 ] Hasojo S , Kitayama , Matasuyama A . Genome multiplicity and radiation resistance in *Micrococcus radiodurans* . *J Biochem ( Tokyo )* , 1981 , **90** : 877 ~ 880 .
- [ 23 ] Shideng B , Tibbetts R S , Kathrayn M , et al . ATR ? ATM-mediated phosphorylation of human RAD17 is required for genotoxic stress responses . *Nature* , 2001 , **411** : 969 ~ 974 .