

[wikipedia.com](http://wikipedia.com)

**Matúš Kučka, Lukáš Hleba**

*Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva*

### **O *Deinococcus radiodurans***

*Deinococcus radiodurans* je pomerne veľká sférická baktéria ružovej až červenej farby s priemerom 1,5 až 3,5  $\mu\text{m}$ . Jej bunky sa spájajú po 4 a vytvárajú útvary ako tetrakoky, netvorí endospóry a nie sú schopné pohybu. Zaraďuje sa medzi obligátne aeróbne chemoheterotrofy a vyskytuje sa v biotopoch bohatých na organické materiály ako je pôda, mäso, výkaly, odpadové vody, sušené potraviny a podobne.

#### **D. radiodurans a radiácia**

Ako už názov tejto baktérie napovedá, *D. radiodurans* je extrémne odolná voči vysokým dávkam rádioaktivity, UV svetlu (100 – 295 nm), mitomycínu C a chemikáliám, ktoré poškodzujú DNA. Dokáže prežiť ožiarenie o veľkosti až 150 000 Grayov, čo je najviac spomedzi všetkých organizmov. Len pre porovnanie, už 500 Grayov dokáže zabiť človeka. Táto baktéria bola objavená náhodne Arthurom Andersenom v roku 1956, ktorý sa snažil sterilizovať mäso v konzerve pomocou gama žiarenia. Na jeho veľké prekvapenie v mäse objavil baktériu, ktorá dokázala prežiť. Radičné žiarenie poškodzuje najmä štruktúru DNA, spôsobuje zlomy jednotlivých vlákien. Väčšina organizmov sa do určitej miery dokáže brániť svojimi reparačnými mechanizmami, ktoré dokážu opraviť hneď niekoľko takýchto zlomov. Napríklad mikroorganizmy dokážu opraviť priemerne 3 – 5 zlomov. V tomto ohľade *D. radiodurans* vyniká vysoko nad ostatnými organizmami, keďže jeho reparačný mechanizmus je schopný opraviť až 200 takýchto zlomov. Zaujímavé je, že jeho reparačný mechanizmus neobsahuje žiadne iné enzýmy alebo molekuly ako iné organizmy.

#### **Genóm**

Kompletný genóm baktérie *D. radiodurans* je zložený z 3,3 Mbp (mega bázových párov) a tvoria ho dva chromozómy (2,6 a 0,4 Mbp), megaplazmid (0,18 Mbp) a malý plazmid (0,046 Mbp). Analýza genómu preukázala, že signifikantne zvýšené úrovne prirodzenej expresie vykazujú 4 triedy génov. Tieto gény kódujú:

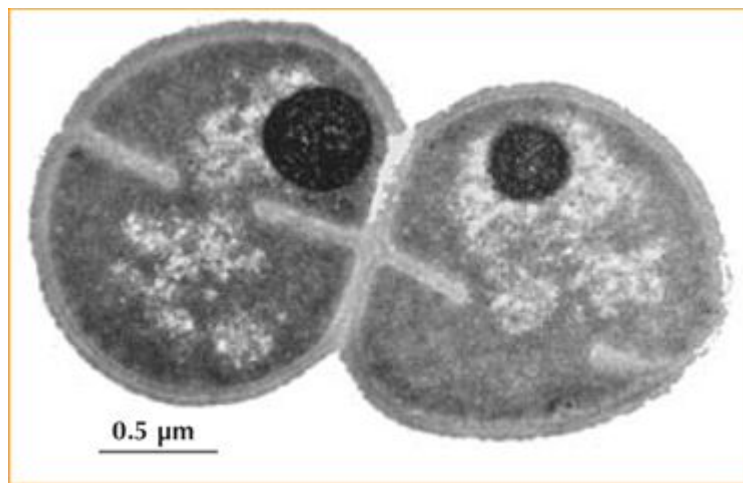
- prostriedky na odstránenie a transport poškodenej DNA, RNA a proteínov,
- chaperóny, ktoré môžu zvýšiť opravu poškodených bielkovín,
- detoxikačné proteíny na odstránenie voľných kyslíkových radikálov a iných toxických

látok,  
d. proteázy.

### Ako dokáže prežiť, resp. mechanizmus rezistencie?

#### Prstencovitá DNA

Skupina okolo profesora Minskyho z Weizmannovho ústavu v Izraeli pomocou elektrónového mikroskopu zistila, že genóm *D. radiodurans* má prstencovitú štruktúru, ktorá zabraňuje úniku malých fragmentov DNA do bunkových tekutín, takže pri fragmentácii DNA vplyvom žiarenia nedochádza k degradácii týchto fragmentov. Jej genetickú informáciu tvoria 4 časti, pričom každá časť obsahuje rovnakú DNA (inak povedané jej genetickú informáciu tvoria 4 kópie DNA). Medzi týmito časťami našli dva malé priechody, ktoré umožňujú DNA, ktorá podlieha oprave migrovať do inej časti, kde sa zmieša s inou kópiou DNA. Pri oprave sa následne obe kópie DNA porovnávajú a každá z nich sa používa ako šablóna na opravu druhej DNA. Zaujímavé je, že zo 4 kópií DNA vždy jedna alebo dve DNA riadia syntézu bielkovín (nie sú v prstencovitom útvare), kým zvyšné dve alebo tri DNA sú chránené prstencovitou štruktúrou.

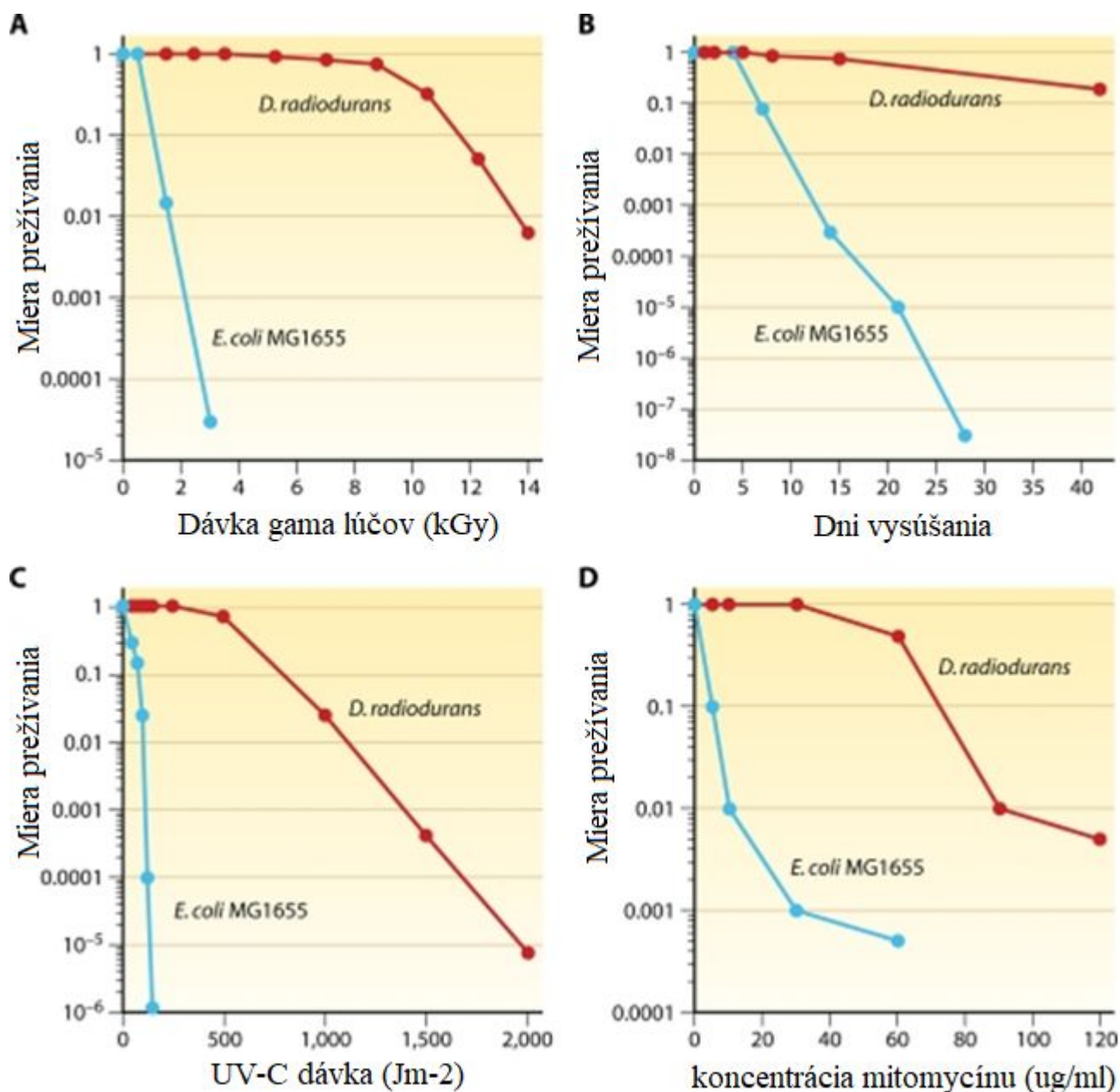


Záber z elektrónového mikroskopu *D. radiodurans* (Palmisano a Hazen, 2003)

#### Odpoveď je v proteínoch

Výskumy z roku 2009 pracujú aj s teóriou, že baktérie sú v dôsledku radiačného žiarenia usmrcované skôr v dôsledku poškodenia proteínov ako DNA. Tieto výskumy vychádzajú z toho, že ožarované bunky potrebujú ochrániť enzýmy, potrebné na opravu DNA. Z toho vyplýva, že baktérie si potrebujú pri ožarovaní chrániť skôr svoj proteóm ako genóm. Prvou obrannou líniou proti poškodeniu proteínov v extrémne odolných baktériách môže byť

akumulácia mangánových komplexov, ktoré zabraňujú produkcii reaktívnych foriem kyslíka závislých od železa. Baktérie, ktoré sú rezistentné voči ionizačnému žiareniu majú nižšie hladiny oxidovaných proteínov ako citlivé baktérie, kým množstvo zlomov dvojláčkovej DNA je rovnaké. Inak povedané *D. radiodurans* si chráni svoje proteíny a DNA si po poškodení opraví.

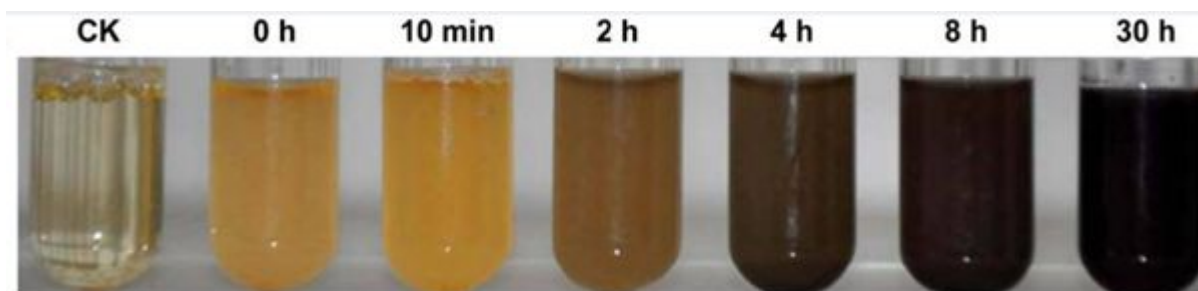


Grafické porovnanie odolnosti voči gama žiareniu, vysušovaniu, UV-C žiareniu a mitomycínu C medzi baktériami *D. Radiodurans* a *E. coli* (Slade a Radman, 2011)

## Využitie *D. radiodurans* v technológiách

### Tvorba nanočastíc

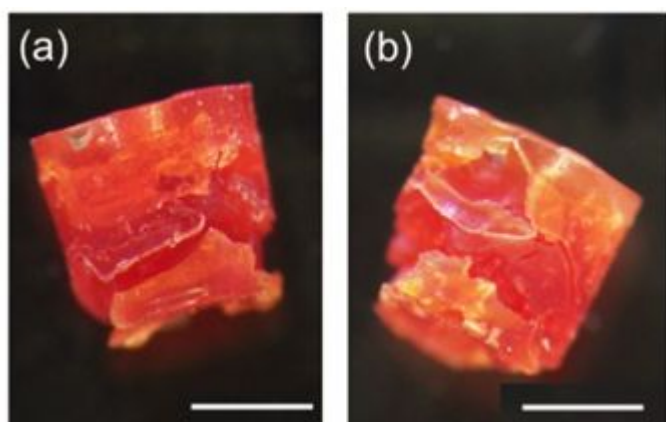
*D. radiodurans* má potenciálne využitie v biomedicíne. Bol popísaný nový spôsob tvorby nanočastíc zlata a striebra pomocou tejto baktérie. Nanočastice zlata a striebra sa môžu použiť ako antibiotikum, keďže vykazujú škodlivé účinky na cytoplazmatickú membránu grampozitívnych aj gramnegatívnych baktérií. Nanočastice sa produkujú predovšetkým fyzikálnymi alebo chemickými procesmi, ktoré vedú vyprodukovať nanočastice s požadovanou veľkosťou aj chemickou čistotou, ale ich nevýhodou je vysoká spotreba energie a rôznych chemikálií, pričom vzniká veľké množstvo nebezpečného odpadu. *D. radiodurans* je schopný redukovať častice zlata a striebra z oxidačného čísla 3 na oxidačné číslo 0 a tým vyrábať nanočastice bez tvorby nebezpečného odpadu. Zároveň je *D. radiodurans* schopný zniesť vysoký oxidačný stres a tým je odolný voči pôsobeniu týchto nanočastíc. Pri nanočasticiach striebra vyprodukovaných pomocou *D. radiodurans* sa tiež zistila ich schopnosť inhibovať rast a množenie rakovinových buniek.



Farba reakčnej zmesi, obsahujúcej *D. radiodurans* a 1 mM trojmocného zlata počas 8 hodinového experimentu, ktorá naznačuje tvorbu nanočastíc zlata (Jiulong et al., 2016).

### Baktéria z inej planéty?

*D. radiodurans* sa použil aj na výskum panspermie. Panspermia je teória, ktorá hovorí, že niektoré organizmy (predovšetkým baktérie) môžu prechádzať prostredníctvom kozmických telies ako sú napríklad meteority z jednej planéty na druhú. Z tohto dôvodu robil Kawaguchiho tím výskum, či môže baktéria *D. radiodurans* prežiť vo vesmíre. Na otestovanie tejto hypotézy sa umiestnili vysušené bunkové pelety baktérií *D. radiodurans* do jamiek hliníkovej platne v paneloch pripevnených k vonkajšej strane Medzinárodnej vesmírnej stanice (ISS). Pelety mikrobiálnych buniek, ktoré mali rôznu hrúbku sa vystavili vesmírnemu prostrediu. Pelety s hrúbkou 500  $\mu\text{m}$  nevykazovali po 3 rokoch vo vesmíre žiadne závažné zmeny okrem sfarbenia, ktoré sa zmenilo z červenej na žltkasto červenú. Odhaduje sa, že bunkové pelety s hrúbkou 1 mm by mali vydržať vo vesmíre 2-8 rokov.



Rozdiel v agregátoch buniek *D. radiodurans* pred vystavením vesmírnemu žiareniu a po vystavení (Kawaguchi et al., 2020).

### Biosenzor rádioaktivity

*D. radiodurans* je možné využiť aj ako biosenzor na sledovanie biologických rizík rádioaktívnych a toxických znečisťujúcich látok v životnom prostredí v reálnom čase. Stačí ho geneticky upraviť pomocou plazmidu, ktorý obsahuje zelený fluorescenčný proteín fúzovaný s promótorom rozhodujúceho génu *recA*. Tento plazmid je potrebné vložiť do baktérie a následne bude kmeň *D. radiodurans* nazývaný aj DRG300 generovať fluorescenciu v závislosti od dávky gama žiarenia, ktoré poškodzuje DNA a tým indukuje promótor génu *recA*, ktorý aktivuje zelený fluorescenčný proteín.

### Kľúč k čistému životnému prostrediu?

Jedno z najväčších využití, ktoré má *D. radiodurans* je pri bioremediáciách v rádioaktívnom prostredí. Bioremediácie sú založené na spracovaní odpadov v životnom prostredí pomocou živých organizmov. V súčasnosti existuje veľké množstvo mikroorganizmov, ktoré sa používajú na spracovanie odpadov, ale žiadny z nich nemá takú odolnosť na rádioaktivitu ako *D. radiodurans*. Fyzikálno - chemické metódy spracovania rádioaktívneho odpadu, napríklad z jadrových zbraní stojí nemalé peniaze a preto sa vedci rozhodli využiť *D. radiodurans*. Do tejto baktérie vložili gén *merA* z *E. coli* BL308, ktorý je zodpovedný za rezistenciu baktérie voči vysoko toxickým iónom ortute - Hg(II). Geneticky modifikovaný kmeň *D. radiodurans* nielen že dokázal prežívať pri vysokých koncentráciách iónov ortute, ale aj ich redukoval na menej toxickú elementárnu ortuť. Po vložení génov *tod* a *xyl* z baktérie *Pseudomonas putida* dokázal rekombinantný kmeň *D. radiodurans* úplne degradovať toluén a pri tom aj redukoval toxické ióny chrómu Cr (VI) na menej toxické a menej pohyblivé ióny Cr (III). Iný rekombinantný kmeň *D. radiodurans* bol schopný po vložení génu TDO oxidovať toluén, chlórbenzén, 3,4-dichlór-1-butén a indol v prostredí



s vysokou rádioaktivitou (60 Gy / h).

## Zhrnutie

*D. radiodurans* je jedinečná baktéria, ktorá si z nejakého dôvodu vybudovala schopnosť prežiť tak obrovské dávky ionizačného žiarenia, ktoré sa nevyskytujú nikde na Zemi. Kvôli svojim obranným mechanizmom je schopná prežiť vo vesmíre, jadrovom reaktore alebo akomkoľvek rádioaktívnom prostredí, ktoré by pre iné organizmy znamenalo istú smrť. Pre túto svoju jedinečnosť je intenzívne skúmaná a má veľký potenciál či už pre kozmonautov, lekárov alebo pri bioremediáciach. Ako bude výskum napredovať a ako veľmi sa naplní jej potenciál uvidíme v priebehu niekoľkých ďalších rokov...

## Použitá literatúra

Slade, D., Lindner, A. B., Paul, G., & Radman, M. (2009). Recombination and replication in DNA repair of heavily irradiated *Deinococcus radiodurans*. *Cell*, 136(6), 1044-1055.

Weitzman, J.B. (2003). *Radiodurans' rings and radioresistance*. *Genome Biol*, 4 (spotlight-20030113-01)

Daly, M. J. (2009). A new perspective on radiation resistance based on *Deinococcus radiodurans*. *Nature Reviews Microbiology*, 7(3), 237-245.

Sharma, A., Gaidamakova, E. K., Grichenko, O., Matrosova, V. Y., Hoeke, V., Klimenkova, P., ... & DiRuggiero, J. (2017). Across the tree of life, radiation resistance is governed by antioxidant Mn<sup>2+</sup>, gauged by paramagnetic resonance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(44), E9253-E9260.

Slade, D., & Radman, M. (2011). Oxidative stress resistance in *Deinococcus radiodurans*. *Microbiology and molecular biology reviews*, 75(1), 133-191.

White, O., Eisen, J. A., Heidelberg, J. F., Hickey, E. K., Peterson, J. D., Dodson, R. J., Haft, D. H., Gwinn, M. L., Nelson, W. C., Richardson, D. L., Moffat, K. S., Qin, H., Jiang, L., Pamphile, W., Crosby, M., Shen, M., Vamathevan, J. J., Lam, P., McDonald, L., Utterback, T., ... Fraser, C. M. (1999). Genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1. *Science (New York, N.Y.)*, 286(5444), 1571-1577.  
<https://doi.org/10.1126/science.286.5444.1571>

Li, J., Li, Q., Ma, X., Tian, B., Li, T., Yu, J., ... & Hua, Y. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles by the extreme bacterium *Deinococcus radiodurans* and an evaluation of their

antibacterial properties. *International journal of nanomedicine*, 11, 5931.

Kulkarni, R. R., Shaiwale, N. S., Deobagkar, D. N., & Deobagkar, D. D. (2015). Synthesis and extracellular accumulation of silver nanoparticles by employing radiation-resistant *Deinococcus radiodurans*, their characterization, and determination of bioactivity. *International journal of nanomedicine*, 10, 963.

Kawaguchi, Y., Shibuya, M., Kinoshita, I., Yatabe, J., Narumi, I., Shibata, H., ... & Imai, E. (2020). DNA Damage and Survival Time Course of Deinococcal Cell Pellets During 3 Years of Exposure to Outer Space. *Frontiers in microbiology*, 11, 2050.

Palmisano, A., & Hazen, T. (2003). *Bioremediation of metals and radionuclides: What it is and how it works* (No. LBNL-42595-(2003)). Lawrence Berkeley National Lab.(LBNL), Berkeley, CA (United States).

GuanJun, G., Lu, F., HuiMing, L., & YueJin, H. (2008). Engineering *Deinococcus radiodurans* into biosensor to monitor radioactivity and genotoxicity in environment. *Chinese Science Bulletin*, 53(11), 1675-1681.

Brim, H., McFarlan, S. C., Fredrickson, J. K., Minton, K. W., Zhai, M., Wackett, L. P., & Daly, M. J. (2000). Engineering *Deinococcus radiodurans* for metal remediation in radioactive mixed waste environments. *Nature biotechnology*, 18(1), 85-90.

Brim, H., Osborne, J. P., Kostandarithes, H. M., Fredrickson, J. K., Wackett, L. P., & Daly, M. J. (2006). *Deinococcus radiodurans* engineered for complete toluene degradation facilitates Cr (VI) reduction. *Microbiology*, 152(8), 2469-2477.

Lange, C. C., Wackett, L. P., Minton, K. W., & Daly, M. J. (1998). Engineering a recombinant *Deinococcus radiodurans* for organopollutant degradation in radioactive mixed waste environments. *Nature biotechnology*, 16(10), 929-933. Sadraeian, M., & Molaei, Z. (2009, December). Bioinformatics Analyses of *Deinococcus radiodurans* in order to Waste clean up. In 2009 Second International Conference on Environmental and Computer Science (pp. 254-258). IEEE.

<https://wis-wander.weizmann.ac.il/chemistry/radiation-resistant-organism-reveals-its-defense-strategies>

[https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3AMicrobiology\\_\(Boundless\)/8%3AMicrobial\\_Evolution\\_Phylogeny\\_and\\_Diversity/8.12%3A\\_Thermophiles/8.12B%3A\\_Deinococcus\\_and\\_Thermus](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3AMicrobiology_(Boundless)/8%3AMicrobial_Evolution_Phylogeny_and_Diversity/8.12%3A_Thermophiles/8.12B%3A_Deinococcus_and_Thermus)

[http://www.esrf.eu/UsersAndScience/Experiments/MX/Research\\_and\\_Development/Biology/Deinococcus\\_radiodurans](http://www.esrf.eu/UsersAndScience/Experiments/MX/Research_and_Development/Biology/Deinococcus_radiodurans)

[https://www.researchgate.net/figure/Deinococcus-radiodurans-magnified-60-000-times-Image-taken-by-John-Battista-and\\_fig13\\_233784020](https://www.researchgate.net/figure/Deinococcus-radiodurans-magnified-60-000-times-Image-taken-by-John-Battista-and_fig13_233784020)