

# 异常球菌属的分类及应用研究进展\*

张玉琴<sup>1,2</sup> 李文均<sup>2\*\*</sup> 郝涤非<sup>3</sup> 徐丽华<sup>2</sup> 姜成林<sup>2</sup>

(中国医学科学院中国协和医科大学医药生物技术研究所 北京 100050)<sup>1</sup>

(云南大学云南省微生物所 昆明 650091)<sup>2</sup> (江苏食品职业技术学院食品工程系 淮安 223003)<sup>3</sup>

**摘要:** 异常球菌属的菌株是一类对引起细胞致死效应的辐射有极强抵抗能力的细菌, 这类菌株不形成内生孢子, 细胞呈球形或杆状, 不具运动性。1956 年, Anderson 从经过射线灭菌处理后的肉罐头中发现了第一个异常球菌属的菌株 (*Deinococcus radiodurans*) R1, 该菌已得到了较为广泛的研究, 以期阐明其抗辐射机制。伴随着微生物分类技术的发展, 异常球菌属菌株的分类地位经历了很大的变化。目前, 该属已涵盖了 20 个有效发表种。也由于异常球菌属菌株耐受辐射的能力是大肠杆菌忍耐辐射能力的千倍之上, 而使其应用研究受到了广泛关注。

**关键词:** 异常球菌, 分类, 应用

**中图分类号:** Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2054 (2006) 06-0133-05

## Review of Studies on the Taxonomy and Application of the Genus *Deinococcus*\*

ZHANG Yu-Qin<sup>1,2</sup> LI Wen-Jun<sup>2\*\*</sup> HAO Di-Fei<sup>3</sup> XU Li-Hua<sup>2</sup> JIANG Cheng-Lin<sup>2</sup>

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050)<sup>1</sup>

(Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091)<sup>2</sup>

(Department of Food Engineering, Jiangsu Food Science College, Huai'an 223003)<sup>3</sup>

**Abstract:** The members of the genus *Deinococcus* are non-spore-forming, no-motile, coccoid or rod-shaped cells which exhibit a remarkable capacity to resist the lethal effects of ionizing radiation. *D. radiodurans* R1 was isolated by Anderson in 1956 from irradiated meat, which was the first described species and has been most extensively studied to demonstrate its radiation-resistant mechanisms. With the development of the technology of microbial taxonomy, the taxonomic position of the genus *Deinococcus* has been undergoing numerous changes. Currently, the genus *Deinococcus* comprises twenty validly named species. The studies on the application of the genus *Deinococcus* has attracted much attention for its tolerance to radiation being thousands times of *E. coli*.

**Key words:** *Deinococcus*, Taxonomy, Application

## 1 异常球菌属菌株的分类研究

异常球菌是一类极端环境微生物, 长期的进化形成了适应各种极端环境的细胞结构和生理生化特性, 在系统发育中也表现出独特的进化地位。对异常球菌属的分类研究有利于我们拓展对极端环境微生物的进一步认识, 从而为微生物资源的保护及合理利用提供一定的理论参考。

### 1.1 异常球菌属菌株的分类简史 异常球菌属 (*Deinococcus*) 隶属于细菌域 (Bacteri-

\* 国家自然科学基金资助项目 (No. 30270004)

\*\* 通讯作者 Tel: 0871-6231202, E-mail: wjli@ynu.edu.cn

收稿日期: 2006-01-20, 修回日期: 2006-03-28

a)、异常球菌、高温菌门 (*Deinococcus-Thermus*)、异常球菌纲 (*Deinococci*)、异常球菌目 (*Deinococcales*)、异常球菌科 (*Deinococcaceae*)。

耐辐射异常球菌 (*Deinococcus radiodurans*) R1 是异常球菌属 (*Deinococcus*) 的第一个鉴定种。1956年, 美国科学家 Anderson 从经辐射灭菌处理后仍有腐烂的罐装食品中发现了一种橙红色、可耐受  $2 \times 10^6$  rad 剂量  $\gamma$  射线照射的微小球菌<sup>[1]</sup>。随后, 加拿大、印度、法国、日本、美国和葡萄牙等国学者相继从医院实验室器械、木屑、动物粪便、干鱼等辐照处理物以及河流、土壤、温泉等自然环境中分离出类似的菌株<sup>[2]</sup>。

最初, 主要根据形态特征, 将这类球形细菌归于微球菌属 (*Micrococcus*), 把 Anderson 发现的那株耐辐射球菌命名为耐辐射微球菌 (*Micrococcus radiodurans*)<sup>[2]</sup>。随后, 根据 16S rRNA 序列分析发现, 耐辐射微球菌 (*Micrococcus radiodurans*) 与微球菌属其它菌株间的亲缘关系较远。1981年, Brooks 总结了陆续发现的 4 种耐辐射小球菌的遗传学特征和它们特殊的细胞壁结构, 建议取拉丁文 “deino——陌生、奇异、不寻常” 之意, 将其确立为一个新的科 (*Deinococcaceae*) 和属 (*Deinococcus*)<sup>[2]</sup>。至此, 异常球菌属 (*Deinococcus*) 包含了以下 5 个种, 即 *Deinococcus erythromyxa*, *Deinococcus proteolyticus*, *Deinococcus radiodurans*, *Deinococcus radiophilus*, 和 *Deinococcus radiopugnans*<sup>[2]</sup>。1987年, 日本学者从干鱼中分离到一株形态为杆状的耐辐射菌, 尽管系统发育分析和细胞化学结构与异常球菌属 (*Deinococcus*) 极为相似, 但形态为杆状, 故另立为奇杆菌属 (*Deinobacter*)<sup>[3]</sup>, 当时, 该属只有一个种 *D. grandis*。综合细胞化学分析结果和分子生物学信息, 尤其是 16S rRNA 特征性核苷酸分析发现, 尽管异常球菌属 (*Deinococcus*) 内菌株间及其与奇杆菌属 (*Deinobacter*) 菌株的 16S rRNA 基因差异比较明显, 但这两个属的所有菌株的 16S rRNA 在相应的位点都包含着同样的特征性寡核苷酸<sup>[4]</sup>, 故又将奇杆菌属合并到了异常球菌属 (*Deinococcus*) 中。

目前, 异常球菌属 (*Deinococcus*) 20 个有效发表种<sup>[5-7]</sup>。

## 1.2 异常球菌属的分类学特征

**1.2.1 形态特征:** 细胞球形或短杆状, 球形细胞的直径大小为  $0.5 \mu\text{m} \sim 3.5 \mu\text{m}$ , 以二叠球菌或四联球菌的形式排列; 杆状细胞大小为  $0.6 \mu\text{m} \sim 1.2 \mu\text{m} \times 1.5 \mu\text{m} \sim 4.0 \mu\text{m}$ 。细胞富含类胡萝卜素, 不形成内生孢子, 球形细胞革兰氏染色反应多呈阳性, 杆状细胞革兰氏反应则多呈阴性; 无鞭毛, 不运动; 菌落颜色多呈鲜红、桔红或粉红色, 菌落表面干燥、稍呈褶皱。

**1.2.2 生理生化特性:** 化能有机营养型, 过氧化氢酶阳性, 氧化酶多为阴性。在贫营养的培养基上生长良好, 但多数菌株在一般培养基上都能够生长。不同菌株对温度耐受范围差异较大。最适生长温度为  $30^\circ\text{C} \sim 37^\circ\text{C}$ 。对各种理化因素引起的细胞致死和致突变效应有极强的抵抗能力; 能耐受  $5 \sim 15$  kGy 的  $\gamma$  射线辐照; 对紫外线的抗性为大肠杆菌的 20 倍, 并且对 MMC (丝裂霉素)、亚硝酸及 4-硝基喹啉-N-氧化物等都有很强的抗性; 受 DNA 破坏因子影响后的生存曲线均为肩形存活曲线<sup>[8]</sup>。

**1.2.3 细胞化学分类特征:** 细胞壁含有鸟氨酸、赖氨酸; 优势甲基萘醌异戊二烯单位是 MK-8 ( $\text{H}_2$ ); 细胞含大量的直链非饱和脂肪酸, 不同种间的脂肪酸组分差异较大。菌株的基因组 DNA G + C mol% 为 59% ~ 70% ( $T_m$ )。

**1.2.4 分子分类研究:** (1) 系统发育分析: 从 GenBank 等数据库中调集异常球菌属 20 个有效发表种、一个新近测得的未知菌及邻近属的相关种的 16S rRNA 基因序列进行

系统发育分析。根据序列间的相似程度，推测出菌株间的系统进化关系。当16S rDNA序列有的相似性高于97%时，两个菌株可能为同种菌<sup>[9]</sup>；但当基因组DNA-DNA杂交结果显示出其DNA同源性低于70%时，两株菌仍然可能是不同的基因种<sup>[10]</sup>。目前，16S rDNA序列分析和基因组DNA-DNA杂交分析适用异常球菌属的所有种。从基于16S rRNA基因序列而构建的系统进化树状图(图1, 2)上可以明显看出，所有异常球菌

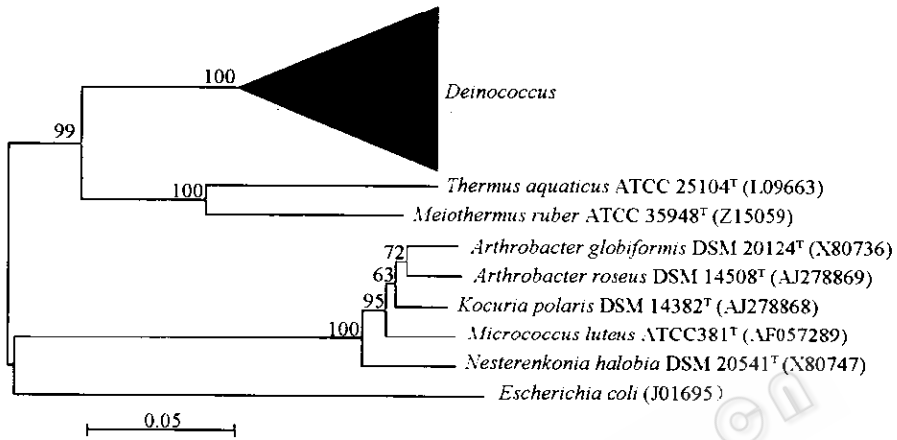


图1 异常球菌属 (*Deinococcus*) 菌株及其从 GenBank 等数据库中调集的相关属种构建的 16S rRNA 基因系统发育树状关系图

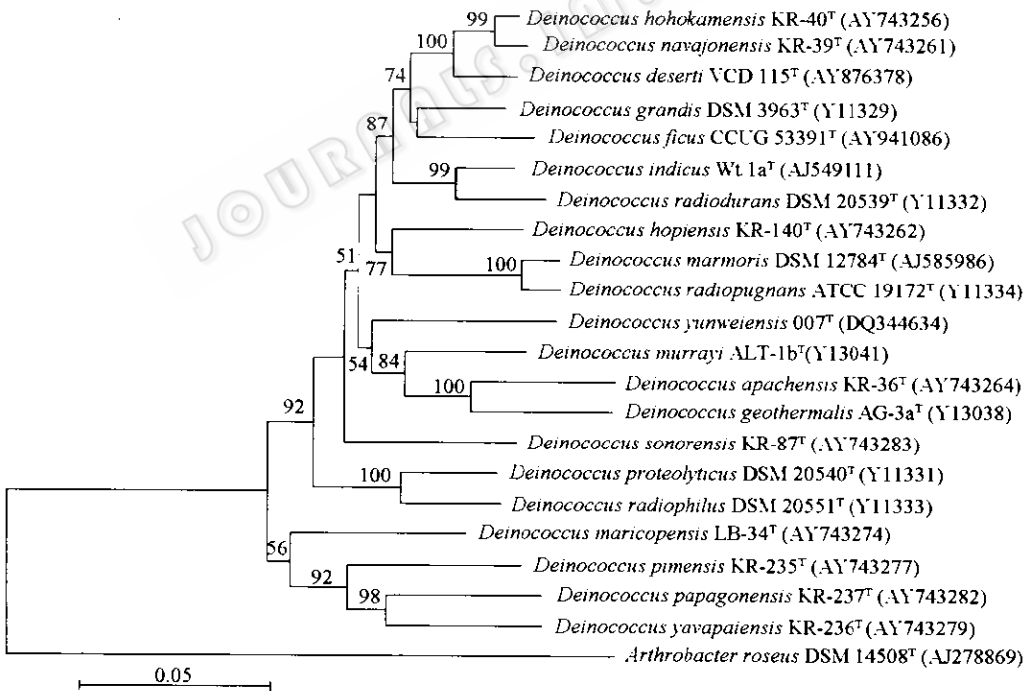


图2 异常球菌属 (*Deinococcus*) 所有菌株构建的 16S rRNA 基因系统发育树状关系图  
 属的 20 个有效发表种的菌株聚在一个稳定的独立分支上，该分支紧邻于栖热菌属和稍热菌属，与以微球菌属 (*Micrococcus*) 为代表的低 G + C 含量的革兰氏阳性细菌所形成的分支间的进化距离较远。异常球菌属内各菌株间的 16S rRNA 基因相似性在 87.3% ~ 97.7% 之间。(2) 特征性核苷酸：以 *E. coli* 的 16S rRNA 的 1542 个寡核苷酸位点为

标尺,通过多序列比对分析,异常球菌属所有菌株的16S rRNA在以下位点含有特征性核苷酸对,即584-757(C-U),657-749(C-G),1050-1208(G-U),1421-1479(A-C/U),1429-1471(G-C)<sup>[4]</sup>。

## 2 异常球菌属耐辐射机制及其它方面的研究

对异常球菌属菌的抗辐射机制的研究主要在以下3个方面:保护、耐受和修复。

保护机制:主要是指化学物质的保护作用方面的研究,如细胞中高表达的SOD酶和类胡萝卜素等通过对由辐射引起的氧自由基和羟基自由基的清除使细胞免受由自由基的攻击而引起的损伤。耐受机制:细胞膜的六层结构有利于保护细胞免受射线损伤。细胞壁含有L-Orn - Gly<sub>2</sub>的特异性肽聚糖。修复机制:主要是对*D. radiodurans* strain R1菌的高效DNA修复系统的研究。目前已经鉴定出了许多与辐射抗性和DNA修复直接相关的蛋白或酶:(RecA、UvrA、PolA、uvrABCD、mutL、mutS、ruvABC、sbcCD)等。有研究认为*D. radiodurans* strain R1菌的DNA的高效修复功能主要是由于其基因组中存在着大量的插入序列和修复功能小片段的重复序列<sup>[11]</sup>。最近,Science提出的致密的环状DNA结构也有利于细胞损伤后的修复<sup>[12]</sup>。也有学者们试图通过大规模、高通量的蛋白质表达谱<sup>[13]</sup>以及转录谱分析<sup>[10]</sup>来探询其超强辐射抗性的机理。然而,最终了解其超常辐射耐受性的机理还需要大量而细致的研究工作<sup>[14]</sup>。Karlin和Mrázek将与表达基因平均密码子使用偏爱性相差较大,同时又与核糖体基因密码子偏性相类似的基因定义为预测高表达基因(Predicted highly expressed gene, PHX),通过生物信息学方法比较*D. radiodurans* strain R1和目前全序列已知的原核生物基因组,结果发现*D. radiodurans* strain R1 PHX中,蛋白酶以及解毒蛋白数量最多,并且指出这些PHX蛋白酶可能在*D. radiodurans* strain R1的辐射抗性中发挥特定的功能<sup>[15]</sup>。

1999年,美国基因研究所(TIGR)完成了对*D. radiodurans* strain R1菌基因组的全部测序工作<sup>[13]</sup>,*D. radiodurans* strain R1菌的基因组序列分析结果表明,Deira菌被鉴定的3,187个基因中已知功能的有1,493个,有1,694个基因的功能未知,未知功能基因中有1,002个基因是*D. radiodurans* strain R1菌特有的<sup>[16]</sup>。

*D. radiodurans* strain R1的蛋白质组序列也已公开发表<sup>[17]</sup>。

## 3 异常球菌属菌株的应用

异常球菌是迄今为止地球上发现的抗辐射能力最强的生物之一,一直倍受生物界、医学界和环境工程界的关注和重视。

对异常球菌属菌株DNA损伤修复机制的了解将有利于更好地研究肿瘤细胞的发病机制。*D. radiourans*在具有5个与临床有关的抗生素的复合体中的50S核糖体亚单元的晶体结构的确定,应当能够给合理的药物设计提供若干线索。所有这5个抗生素都与肽基转移酶空腔发生相互作用,这个空腔是能够产生抗生素抵抗力的各种不同的突变发生的地方。

在中国,旱地农业占全国总耕地面积的52%,其中没有灌溉条件的旱地约占65%。每年有7亿多亩农田受旱灾威胁,受旱面积3.26亿亩,成灾面积1.34亿亩。大约有8,000万公顷盐渍化土地。但是,目前几乎所有的农作物均为盐敏感植物,在渍化土壤上生长极差,如果把*Deinococcus*菌的抗辐射基因转移到农作物中,研究培育出抗辐射、

抗旱、抗盐等的农作物,使转基因作物能够忍受更长时间的干旱胁迫,提高这些作物的抗旱能力和对盐的耐受性,应该是最佳的育种途径之一。异常球菌属(*Deinococcus*)菌株的类胡萝卜素含量丰富、热稳定性高,作为天然色素及药物资源具有开发前景和应用价值<sup>[18]</sup>。对异常球菌属菌株抗辐射机制的了解,能进一步使用异常球菌属菌株来构建基因工程菌用于解决工业核废料污染、重金属污染以及核武器和化学武器污染问题。另外,异常球菌属的 *Deinococcus indicus* 除了抗辐射外,还有较强的抗砷能力。据报道,世界各地的地面水均不同程度地受到了砷污染<sup>[19]</sup>。

#### 4 异常球菌属研究中存在的问题及未来研究趋势

异常球菌的研究在很多领域都是非常有意义的。尽管与异常球菌有关的许多微生物过程尚未转化成成型的工业生物技术,但利用异常球菌来降解核污染废物的成功例证<sup>[20]</sup>显示了它的应用前景。异常球菌的生物降解去污能力在环境污染的预防与治理生物技术上将有很大的应用前景。

然而,要想获得更多关于异常球菌在环境和医学上的信息,就必须改进异常球菌属的鉴定方法,随着分子生物学和遗传学研究的深入开展,诸如 DNA G + C mol%、DNA-DNA 体外分子杂交、16S rRNA 序列分析等也逐渐成为细菌分类学中的重要特征。由于形态和化学特征的相似性,异常球菌属菌株在分类上一直都有很大争议。传统的形态和生理生化方法得出的分类结果可能在基因水平上不能得到证实。因此,改进分类方法,对异常球菌进行更科学的分类,同时获取和利用一些特征,有待于科学工作者的进一步研究。

#### 参考文献

- [1] Anderson A W, Nordan H C, Cain R F, et al. Food Technol, 1956, 10: 575 ~ 578.
- [2] Brooks B W, Murray R G E. Int J Syst Bacteriol, 1981, 31: 353 ~ 360.
- [3] Oyaizu H, Stackebrandt E, Schleifer K H W, et al. Int J Syst Bacteriol, 1987, 37: 62 ~ 67.
- [4] Rainey F A, Nobre M F, Schumann P, et al. Int J Syst Bacteriol, 1997, 47: 510 ~ 514.
- [5] Groot A de, Chapon V, Servant P, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2005, 55: 2441 ~ 2446.
- [6] Lai W A, Kämpfer P, Arun A B, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2006, 56: 787 ~ 791.
- [7] Rainey F A, Ray K, Ferreira, et al. Appl Environ Microbiol, 2005, 71: 5225 ~ 5235.
- [8] 陈 剑, 刘芬菊. 国外医学-放射医学核医学分册, 2003, 27 (5): 225 ~ 227.
- [9] Stackebrandt E, Goebel B M. Int J Syst Bacteriol, 1994, 44: 846 ~ 849.
- [10] Wayne L G, Brenner D G, Coldwell R R, et al. Int J Syst Bacteriol, 1987, 37: 463 ~ 464.
- [11] Makarova K S, Wolf Y I, White O, et al. Res Microbiol, 1999, 150: 711 ~ 724.
- [12] Levin-Z S. Science, 2003, 299: 254 ~ 256.
- [13] Lipton M S, Pasa-Tolic L, Anderson G A, et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99 (17): 11049 ~ 11054.
- [14] Liu Y, Zhou J, Omelchenko M V, et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100 (7): 4191 ~ 4196.
- [15] Narumi I. Trends Microbiol, 2003, 11 (9): 422 ~ 4251.
- [16] White O, Eisen J A, Heidelberg J F, et al. Science, 1999, 286: 1571 ~ 1577.
- [17] Lipton M S, Pasa-Tolic L, Anderson G A, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2002, 99: 11049 ~ 11054.
- [18] Lemee L, Peuchant E. Tetrahedron. 1997, 53 (3): 919 ~ 926.
- [19] Bhattacharya P, Chatterjee D, Jacks G. Int J Water Resour Dev, 1997, 13: 79 ~ 92.
- [20] Fredrickson J K, Kostandarthes H M, Li S W, et al. Appl Envir Microbiol, 2000, 66: 2006 ~ 2011.