

ODOLNOST NA IONIZUJÍCÍ ZÁŘENÍ U ZÁSTUPCŮ KMENE ACTINOBACTERIA

ELIZAVETA TIMKINA, OLGA MAŽÁTKOVÁ
a IRENA KOLOUCHOVÁ

Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
Timkinae@vscht.cz

Došlo 7.10.21, přijato 23.11.21.

Klíčová slova: ionizující záření, Actinobacteria, antioxi-
dační enzymy, Fentonova reakce, oprava DNA

• <https://doi.org/10.54779/chl20220235>

Obsah

1. Úvod
2. Poškození buněk působením ionizujícího záření
3. Actinobacteria rezistentní vůči radiaci
4. Detoxifikační mechanismy ochrany biomolekul
5. Ochrana DNA pomocí proteinů podobných histonům
6. Mechanismy opravy poškozené DNA
7. Perspektivy výzkumu
8. Závěr

1. Úvod

Ve všech lokalitách na Zemi, včetně velice extrémních, lze pozorovat rozmanité ekosystémy skládající se z mnoha jak eukaryotických, tak i prokaryotických organismů. Mezi extrémní podmínky se řadí vysoký tlak a salinita, extrémně vysoké nebo nízké pH, extrémně nízké či vysoké teploty, nízká aktivita vody a intenzivní UV nebo ionizující záření. Extrémofilové jsou mikroorganismy schopné žít v extrémních podmínkách, z nichž početnou skupinu tvoří mikroorganismy (bakterie a archea) odolné vůči působení ionizujícího záření. Většina radiorezistentních mikroorganismů má zvýšenou odolnost i na některé jiné abiotické faktory, například vysoké teploty nebo vysychání, a tím se řadí do skupiny polyextrémofilů¹. Působení ionizujícího záření na živé buňky vyvolává tvorbu velkého množství reaktivních forem kyslíku, jedno- či dvouřetězcových zlomů DNA a rozsáhlou modifikaci bází (oxidované báze nebo místa bez purinu či pyrimidinu)². Hlavní mechanismy odolnosti vůči působení ionizujícího záření můžeme zařadit do jednotlivých skupin:

- snížení oxidace DNA nebo proteinů pomocí sofistikovaného antioxičádního systému (chemického či enzymatického),

- kondenzace DNA pomocí proteinů podobných histonům, což chrání DNA před poškozením radikály a zjednodušuje opravu DNA,
- vysoce přizpůsobivé mechanismy opravy DNA (cit.¹).

2. Poškození buněk působením ionizujícího záření

Přímý vliv radioaktivity spočívá v interakci nabitých částic, jako α a β částice, nebo fotonu s hmotou. Při této interakci dochází k ionizaci nebo excitaci atomů, a tím ke vzniku vysoce reaktivní radikálu. Může docházet např. k poškození cukr-fosfátové kostry molekul DNA nebo poškození purinů či pyrimidinů, což vede k narušení struktury DNA. Přímým mechanismem je způsobeno přibližně 20 % cytotoxických dopadů ionizujícího záření na buňku^{3,4}.

Nepřímé působení radioaktivity na buňku nastává po pohlcení γ nebo Rentgenového záření. Ionizující záření v tomto případě způsobuje radiolýzu molekul vody, čímž vznikají reaktivní formy kyslíku (ROS). Jedná se o hlavní zdroj radikálů v živých buňkách vzhledem k velkému obsahu vody. Sekundárním zdrojem hydroxylových radikálů v poškozených buňkách je Fentonova reakce⁵. Radikály $O_2^{\cdot -}$ téměř nereagují s DNA a většinou proteinů, ale mohou deaktivovat enzymy z rodiny FeS proteinů s klastry 2Fe–2S nebo 4Fe–4S, které obsahují ionty Fe^{2+} . Tím dochází k uvolňování iontů Fe^{2+} do cytoplazmy a následnému spuštění Fentonovy reakce. Železo je v buňkách většinou asociováno s bílkovinami, a proto Fentonova reakce primárně poškozuje bílkoviny⁶.

Množství studií se zaměřuje na oxidativní poškození DNA, ale v případě bakterií se ukazuje, že oxidace proteinů má klíčový dopad na životaschopnost buněk. ROS způsobují narušení peptidových vazeb a oxidaci postranních řetězců aminokyselin^{7,8}.

Oxidační stres je v přírodě způsobován i jinými faktory než jen ionizujícím zářením. Při dlouhodobém vysušení, stejně jako při působení velkých dávek ionizujícího záření, akumulují buňky velké množství dvouřetězcových zlomů DNA^{9–11}.

V práci Sghaier a spol.¹² pojem bakterie odolné vůči ionizujícímu záření jsou definovány následujícím způsobem: bakteriální kmeny nevytvářející spory, které mohou chránit své cytosolické proteiny před oxidací a snášet mnoho dvouřetězcových zlomů DNA (DSB) po vystavení vysokým akutním dávkám ionizujícího záření (hodnota D_{10} , myšleno 90 % redukce životaschopných buněk, má být vyšší než 1 kilogray (kGy)) a mohou odolat dlouhodobému vysychání.

3. Actinobacteria rezistentní vůči radiaci

Kmen Actinobacteria je jeden z největších kmenů domény Bacteria. Zástupci tohoto kmene jsou rozšířeni po celém světě a osidlují jak suchozemské, tak i vodní ekosystémy. Jedná se o Gram pozitivní bakterie s běžně vysokým podílem GC párů v DNA. V tab. I je uvedeno několik bakteriálních druhů z kmene Actinobacteria, u kterých byla pozorována odolnost vůči ionizujícímu záření. Rod *Rubrobacter* spadá do třídy *Rubrobacteria*, ostatní rody spadají do Actinobacteria.

Známým a dobře prostudovaným kmenem odolným vůči ionizujícímu záření je *Deinococcus radiodurans*. Bakterie z rodu *Deinococcus* se vyznačují extrémně vysokou odolností vůči ionizujícímu záření^{1,13,14}. Mechanismy odolnosti vůči ionizujícímu záření umožňují mikroorganismům osidlovat neobvyklé a často zcela pro život nevhodné lokality. Jedná se například o vysokohorská slaná jezera vystavená vysokým dávkám UV záření nebo pouštní půdy s extrémně nízkou vodní aktivitou. Bakteriální izoláty kmene Actinobacteria (rody *Streptomyces*, *Kocuria*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Brevibacterium*, ad.) získané ze vzorků vody či sedimentů vysokohorských jezer (3400–4600 m n. m.) jsou životaschopné po působení až 240 min UV-B záření, kdy negativní kontrola (*E. coli*) byla zcela inaktivována po 60 min (cit.¹⁵).

Bakteriální kmeny odolné vůči radiaci byly izolovány z prostředí zatížených přirozeně se vyskytujícími radionuklidy, například radonové prameny Ab-e-Siah v Iránu, ze kterých byl izolován kmen *Kocuria rosea* MG2. Kromě radonu, který je α zářičem, se v pramenech vyskytují i další radioaktivní prvky rozpadové řady uranu (²³⁴Th, ²³⁶Ra, ²¹⁴Pb). Bakteriální izoláty z radonových pramenů vykazují zvýšenou odolnost na UV záření, γ záření, vysychání a přítomnost reaktivních forem kyslíku v kultivačním prostředí¹⁶.

Bakterie z rodu *Rubrobacter* jsou nepohyblivé a netvoří spory, jsou termofilní s optimální teplotou růstu v rozmezí 46–60 °C. Většina izolátů byla získána z vody nebo vzorků sedimentů termálních pramenů. Na agaru tvoří růžově zabarvené kolonie. Zástupci rodu *Rubrobacter* disponují podobnou odolností vůči ionizujícímu záření jako *D. radiodurans*^{17–19}.

Zástupci čeledě *Geodermatophilaceae* se často nalézají v extrémně suchém prostředí, např. půda z pouště Sahara (Chad) nebo vápenec, do kterého dokonce vrůstají a působí jako endolity²⁰. Do čeledě spadají rody vysoce odolné vůči UV záření, *Geodermatophilus* a *Modestobacter*. Kolonie na agaru jsou zbarveny do červena a později do černa. Vykazují vysoký stupeň adaptace na stresové podmínky, mezi které patří vysoké dávky ionizujícího záření (γ záření nebo UV), vysychání, vysoké koncentrace solí nebo těžkých kovů^{21,22}.

Rod *Kocuria* vznikl vyčleněním z rodu *Micrococcus* na základě fylogenetické a chemotaxonomické analýzy v roce 1995. Biochemické rysy rodů jsou podobné, včetně tvorby žlutých pigmentů a hlavních lipidů buněčné stěny. Do obou rodů spadají izoláty se zvýšenou odolností vůči ionizujícímu záření^{23,24}.

4. Detoxifikační mechanismy ochrany biomolekul

Většina organismů disponuje enzymatickou výbavou pro účinnou opravu poškození DNA, což je esenciální pro znovuoživení životaschopnosti buněk. Avšak pouze zlomek mikroorganismů vykazuje zvýšenou odolnost vůči působení ionizujícího záření. Mechanismy enzymatické opravy DNA mohou v buňkách po ozařování radiorezistentních mikroorganismů fungovat lépe díky ochranné proteinů před oxidací. Tato ochrana může být zprostředková-

Tabulka I

Taxonomické zařazení zástupců kmene Actinobacteria s pozorovanou odolností na ionizující záření

Kmen	Třída	Řád	Čeleď	Rod	Druh	Lit.		
Actinobacteria	Rubrobacteria	Rubrobacterales	Rubrobacteraceae	<i>Rubrobacter</i>	<i>R. radiotolerans</i>	19		
					<i>R. xylanophilus</i>	56		
					<i>R. taiwanensis</i>	18		
Actinobacteria	Frankiales	Geodermatophilaceae	<i>Modestobacter</i>	<i>Modestobacter</i>	<i>M. multiseptatus</i>	57		
					<i>M. marinus</i>	58		
				<i>Geodermatophilus</i>	<i>G. tzadiensis</i>	59		
					<i>G. obscurus</i>	20		
				Kineosporales	Kineosporiaceae	<i>Kineococcus</i>	<i>K. radiotolerans</i>	30
				Micrococcales	Micrococcaceae	<i>Kocuria</i>	<i>K. rhizophila</i>	60
<i>K. rosea</i>	16							
<i>Micrococcus</i>	<i>M. yunnanensis</i>	15						
	<i>M. luteus</i>	23						
Corynebacteriales	Dietziaceae	<i>Dietzia</i>	<i>Dietzia sp. MG4</i>	61				
			Nocardiaceae	<i>Rhodococcus</i>	<i>R. enclensis</i>	15		

vána jak molekulami enzymatické povahy, tak i jinými látkami neenzymatické povahy²⁵.

Antioxidační enzymy

Velké množství produktů různých genů hraje roli v ochraně biomolekul vůči stresům a detoxifikaci ROS, aby nedocházelo k oxidaci proteinů a tvorbě toxických produktů. Jedná se hlavně o thioredoxinreduktasu (*trxB*), proteiny podobné glutaredoxinu (*glp*), glutathion-vázající proteiny (*gsiB*), superoxidodismutasu (*sodA*), katalasu (*katE*) a jiné¹.

Přítomnost thioredoxinreduktasy (*trxAB*) byla popsána u kmene odolného vůči záření *Modestobacter multi-septatus* a jiných zástupců kmene Actinobacteria²⁶. Studie ukazují, že flavoproteiny hrají důležitou roli při udržování správného poměru redukováných a oxidovaných kofaktorů (NADH/NAD⁺, FAD/FADH₂). Nekontrolovaná oxidace kofaktorů vede ke vzniku reaktivních forem kyslíku a zvýšení oxidativního poškození buněk^{27,28}.

Analýza genomu *Kineococcus radiotolerans* ukázala přítomnost rozsáhlého systému antioxidačních enzymů, mezi které patří již zmíněná Fe/Mn superoxidodismutasa (*sodA*), alkyl-hydroperoxidreduktasa (*ahpC*) a methionin sulfoxidreduktasa (*msrA*), katalasa (*kata*) a Mn-závislá katalasa (*katE*), glutathionyl spermidinsyntasa (*GSP-Syn*), glutathionperoxidasa (*GSHPx*) a dyp peroxidasa²⁹.

Pigmenty

Společným rysem radiorezistentních bakterií je produkce žluto-červených pigmentů, hlavně karotenoidů (*Kineococcus radiotolerans*)³⁰, např. bacterioruberinu (*Rubrobacter radiotolerans*)³¹. Díky své struktuře mají karotenoidy velkou kapacitu odbourávat volné radikály a pohlcovat UV záření³².

Lipidy

Zastoupení mastných kyselin ovlivňuje fyzikální a chemické vlastnosti lipidů. Vlastnosti mastných kyselin jsou nejvíce ovlivněny délkou uhlovodíkového řetězce a stupněm nasycení. Některé bakteriální rody mají schopnost produkovat nenasyčené mastné kyseliny s délkou řetězce větší než 20 uhlíků a minimálně čtyřmi dvojnými vazbami, například arachidonová kyselina (ARA, 20:4 n-6), eikosapentaenová kyselina (EPA, C20:5 n-3) a dokosapentaenová kyselina (DHA, 22:6 n-3), které mají společný název polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (LC-PUFA). Bakterie jsou schopny anaerobně syntetizovat polynenasycené mastné kyseliny *de novo* pomocí polyketidové syntézy, která je u bakterií syntetizujících LC-PUFA kódována geny *pfa* (cit.³³). Předpokládá se, že eikosapentaenová kyselina přispívá ke zvýšení odolnosti bakteriální buňky vůči působení ROS (cit.³⁴).

Mangan

Bakteriální izoláty s vysokým vnitrobuněčným poměrem Mn:Fe vykazují extrémně vysokou odolnost k oxidaci proteinů způsobenou ionizujícím zářením, kdežto hypersenzitivní bakteriální izoláty mají nízký poměr Mn:Fe. Analýza míry karboxylace ukázala, že akumulace manganatých iontů v buňkách zabraňuje oxidaci proteinů, ale neovlivňuje míru tvorby dvouřetězcových zlomů DNA. Tyto předpoklady vedly ke vzniku hypotézy, že buňky bohaté na mangan mohou lépe předcházet vzniku ROS prostřednictvím Fentonovy reakce^{35,36}. Mangan, stejně jako železo, může přecházet z oxidačního stavu 2+ na 3+, ale na rozdíl od železa, převážně reaguje s radikálem O₂^{•-} a neindikuje tvorbu hydroxylových radikálů²⁵.

Přítomnost malých organických molekul s anti-oxidačními vlastnostmi spolu s vysokým poměrem Mn:Fe je jedním z faktorů, které zajišťují vysokou radiorezistenci bakteriálních druhů *R. radiotolerans* a *R. xylanophilus*³⁷.

5. Ochrana DNA pomocí proteinů podobných histonům

Genomová DNA je sbalená do kompaktních struktur nazývaných nukleoidy. Správné svinutí aktivní DNA do struktury vyššího řádu vyžaduje doplňující proteiny. Proteiny podobné histonům (z angl. histone-like proteins, HLP) jsou malé bazické bakteriální proteiny zapojené do zachování stavby DNA a regulace míry aktivity určitých částí genomu³⁸.

Původní studie HLP prokázaly podobnost prokaryotických DNA vázajících molekuly s eukaryotickými histony dle fyzikálně-chemických vlastností a schopností vyvolat topologické změny ve struktuře DNA (např. nadšroubovicové vnutí). HLP však sdílejí minimální podobnosti s eukaryotickými histony z hlediska sekvence nebo na strukturní úrovni. Tyto proteiny se proto nyní vhodněji nazývají proteiny asociované s nukleoidy (NAP), toto označení primárně odráží jejich lokalizaci^{39,40}. Ochrana DNA vůči působení reaktivních forem kyslíku je zprostředkovávána několika mechanismy, mezi které patří i přítomnost NAP. Předpokládá se, že ochranná funkce spočívá hlavně ve vytvoření fyzikální bariéry mezi DNA a volnými radikály⁴¹.

6. Mechanismy opravy poškozené DNA

Funkční a vysoce účinný systém opravy DNA je esenciální pro přežití buněk vystavených působení ionizujícímu záření nebo jiných zdrojů reaktivních forem kyslíku. Genetická výbava *K. radiotolerans* je obohacena o geny zapojené do replikace, oprav a rekombinace DNA stejně jako u rezistentního druhu *D. radiodurans*. Pozoruhodné je, že genom *D. radiodurans* obsahuje většinu opravných proteinů nalezených v genomu *E. coli*. Rozdíly v efektivitě opravných mechanismů způsobují značné roz-

díly v citlivosti buněk na působení ionizujícího záření, ROS nebo vysychání¹².

Regulace SOS

Bakteriální SOS odpověď je globální regulační síť zaměřená na opravu poškození DNA. Řídí se produkty genů *lexA* a *recA* a koordinuje komplexní buněčnou odpověď po poškození DNA. Mechanismus SOS odpovědi je nejlépe prostudován v genomu *E. coli* a je již léta příkladem učebnicového paradigmatu systémů reakce na stres u bakterií. LexA se váže na promotorovou sekvenci SOS genů a fyzicky znemožňuje navázání RNA polymerasy, čímž efektivně brání začátku transkripce, i tím potlačuje expresi SOS genů. Protein RecA působí na druhou stranu jako senzor jednořetězcových zlomů a po rozpoznání poškození DNA přechází do aktivního stavu, ve kterém může indukovat autokatalytické rozštěpení proteinu LexA. V tomto případě LexA ztrácí afinitu k promotoru a tím iniciuje SOS odpověď⁴².

Množství a zastoupení genů v SOS regulonu se u jednotlivých mikroorganismů liší. Ukázalo se, že mnoho genů pro opravu DNA u Actinobacteria je indukováno poškozením DNA způsobem nezávislým na LexA/RecA, což odhaluje existenci doplňujícího systému odezvy na stres v genomu Actinobacteria, který by mohl působit jako záložní systém pro případ ztráty genu *lexA*⁴³. Zároveň nebylo prokázáno, že by nějaký ze dvou *lexA* homologů *D. radiodurans* reguloval expresi *recA*. Existuje však dostatek důkazů, že reakce na poškození DNA u *D. radiodurans* je řízena alternativním regulačním pochodem, což je spojováno se specifickou potřebou tohoto mikroorganismu koordinovat komplexní odpověď vůči působení ionizujícího záření⁴⁴.

Gen kódující protein LexA byl nalezen v genomu *K. radiotolerans*, ale nebyl pozorován v genomu *R. radiotolerans*. Tuto skutečnost lze objasnit tím, že rody *Rubrobacter* a *Kineococcus* spadají do různých tříd kmene Actinobacteria, přičemž rod *Kineococcus* je fylogeneticky příbuznější rodu *Mycobacterium*. Lze však očekávat, že v genomu *K. radiotolerans* a *R. radiotolerans* je odpověď na poškození DNA indukována způsobem nezávislým na LexA, podobně jak tomu je u *D. radiodurans*^{29,45}.

Homologní rekombinace

V bakteriálních buňkách je hlavním procesem opravy poškozené DNA homologní rekombinace. Podmínkou průběhu homologní rekombinace je přítomnost alespoň dvou kopií genomu v buňce. Dvouřetězcové zlomy DNA v bakteriálních genomech jsou opraveny cestou RecBCD homologní rekombinace. Zlomy, které se vyskytují pouze na jednom ze dvou řetězců DNA, jsou opravovány cestou RecFOR (cit.⁴⁶). Obecný postup homologní rekombinace je podobný ve všech prostudovaných organismech. Hlavním krokem reakce je vniknutí do vlákna DNA a výměna řetězců je katalyzována proteinem RecA nebo jeho homologem. Výměně vláken DNA předchází působení enzymů nazývaných presynaptické enzymy. Působení presynaptic-

kých enzymů na DNA způsobuje zpřístupnění řetězců proteinu RecA a umožňuje tak vznik komplexu proteinu RecA a jednořetězcové DNA. Kroky, které následují po výměně řetězců a vedou k tvorbě životaschopné rekombinantní molekuly DNA, se nazývají postsynaptické⁴⁷.

Geny homologní rekombinace *R. radiotolerans* a *K. radiotolerans* vykazují větší podobnost s příbuzným druhem *M. tuberculosis*, než s genomem *D. radiodurans*, ve kterém chybí genetická výbava pro RecFOR dráhu^{29,45,48}. Homologní rekombinace v radiorezistentních bakteriích může probíhat cestou rozšířené rekombinace řetězců závislé na syntéze (z angl. extended synthesis dependent strand annealing, ESDSA). Mechanismus rekombinace je v genomu *D. radiodurans* dvoustupňový. První fáze zahrnuje mechanismus závislý na PolA, který umožňuje opětovně sestavení většiny fragmentů DNA. Zdá se, že druhý proces dozrávání kruhových chromosomů v pozdním stadiu zahrnuje křížení vláken závislé na RecA (cit.⁴⁹). V obou genomech *K. radiotolerans* a *R. radiotolerans* byla přítomnost genů *polA* a *recA* potvrzena^{29,45}.

Nehomologní rekombinace

Nehomologní rekombinace je zprostředkována Ku komplexem a ligasa IV komplexem⁵⁰. Některé kmeny Actinobacteria, včetně rodu *Mycobacterium*, disponují touto opravnou dráhou. Mykobakteriální Ku protein se váže na konce DNA a využívá polyfunkční DNA ligasu/polymerasu (LigD)⁵¹. Zdá se, že *K. radiotolerans* a *R. radiotolerans* postrádají DNA vazebný protein Ku, bez kterého není možná nehomologní rekombinace^{29,45}.

Korekce párování bází

Oprava špatného párování bází neboli z angl. mismatch repair (MMR) je evolučně konzervovaná biochemická dráha, která hraje důležitou roli při korekci neshod bází vznikajících buď z chyb replikace, nebo v průběhu homologní rekombinace. MMR zahrnuje korekci neodpovídajících párů bází⁵².

Geny začátku MMR cesty byly pozorovány pouze v genomu *R. radiotolerans*. V genomu *R. radiotolerans* jsou přítomny geny *mutL* a *mutS*, které iniciují opravu špatného párování. V genomu *R. radiotolerans* nebyly pozorovány geny *mutH*, *dcm* nebo *dam* (methylasy pro označení staršího řetězce), *xseA* ani *xseB* (exonukleasy potřebné k dokončení MMR)⁴⁵. Genomy *K. radiotolerans* a *D. radiodurans* obsahují na rozdíl od *R. radiotolerans* geny *dcm* a *xse*. Rozdíly v genetické výbavě naznačují, že zmíněné bakterie využívají jiné dosud neidentifikované geny buď pro iniciaci MMR nebo pro dokončení²⁹.

Base excision a nucleotide excision repair (BER a NER)

Přítomnost genů mechanismů „base excision repair“ (BER) a „nucleotide excision repair“ (NER) je potvrzena u *K. radiotolerans*. Tyto geny jsou výjimečně nadměrně zastoupeny v genomu *K. radiotolerans* ve srovnání

s *D. radiodurans*. Některé z těchto genů mohou doplňovat chybějící enzymy mismatch repair mechanismů. Na rozdíl od *D. radiodurans*, jehož genom obsahuje jednu kopii genu *fpg* a žádný homolog genu *nei*⁵³, byly v genomu *K. radiotolerans* identifikovány tři kopie genu *fpg* a čtyři *nei*. Produkty těchto genů působí při odstranění poškozených nebo špatně spárovaných bází. Jako další příklad odlišnosti od *D. radiodurans* je v genomu *K. radiotolerans* přítomnost 3-methyladeninové DNA glykosylasy I (Tag), která ale v genomu *D. radiodurans* chybí. Zmíněná glykosylasa se zúčastňuje rozpoznávání určitých typů poškození DNA a spouštění opravných mechanismů BER (cit.^{29,53}).

Geny zúčastněné v mechanismu NER jsou v genomu *K. radiotolerans* také nadměrně zastoupeny, jedná se o tři *uvrA* ortology a pět genů kódujících helikasy podobné UvrD. Kromě těchto helikas obsahuje genom *K. radiotolerans*, podobně jako *M. tuberculosis*, helikasu superrodiny II typu ERCC3 (XPB), jejíž eukaryotický homolog vykonává základní funkce při opravě nukleotidů²⁹.

7. Perspektivy výzkumu

Studium mechanismů odolnosti a hledání radiotolerantních kmenů je perspektivní odvětví z hlediska evoluční biologie a biotechnologie. Mechanismy odolnosti mnoha zástupců kmene Actinobacteria nejsou dostatečně prozkoumány a objasněny. Studium kmenově specifických mechanismů, např. opravy DNA, přinese možnost genetického vylepšení produkčních druhů (např. čtění producenti antibiotik z kmene Actinobacteria) nebo bakterií využívaných v bioremediačních postupech⁵⁴.

Sekundární metabolické rezervy extremofilů (tj. extremolyty a extremozymy) se nepodílejí na bezprostředním přežití, růstu, vývoji a reprodukci organismu. Přítomnost těchto sekundárních metabolitů však při vystavení působení ionizujícího záření ovlivňuje přežití mikroorganismů. Unikátní vlastnosti extremolytů umožňují dalekosáhlé aplikace v biotechnologiích, od bioremediace jaderných odpadních produktů až po výrobu medicínsky důležitých látek. Příkladem může být karotenoidní barvivo bakterioruberin z již zmíněné bakterie *R. radiotolerans*. Vysoká účinnost v odbourávání ROS a pohlcení UV naznačuje možnost využití této látky v opalovacích krémech⁵⁵. Výzkum nových extremolytů a extremozymů s kapacitou chránit buňky vůči oxidativnímu stresu představuje možnost vytvoření nové generace přírodních prostředků s ochrannou funkcí vůči rakovině kůže.

8. Závěr

Zachování životaschopnosti mikrobiálních buněk po působení vysokých dávek ionizujícího záření se jeví jako komplexní a nejednoznačný proces. Různorodost mikroorganismů odolných vůči působení ionizujícího záření a mechanismů jejich obrany je zajímavá z hlediska základního výzkumu a využití poznatků v biotechnologiích. Ne-

hledě na rozdíly, lze u všech radiorezistentních mikroorganismů pozorovat např. tvorbu pigmentů, zvýšený poměr Mn:Fe v buňkách a rozmanitou škálu enzymů s antioxidační aktivitou.

Mechanismy opravy DNA všech zmíněných mikroorganismů ukazují jak společné pochody, tak i kmenově specifické mechanismy. Studium zapojení enzymů do opravy poškozené DNA přinese lepší pochopení reparačních mechanismů a objasnění evolučního pochodu vývoje těchto mechanismů.

Biotechnologický potenciál bakterií odolných vůči radiaci je málo prozkoumán, ale mezi možné způsoby použití lze řadit bioremediaci lokalit zatížených těžkými kovy nebo jinými polutanty spolu s vysokou hladinou ionizujícího záření; využití sekundárních metabolitů k léčbě a prevenci rakoviny kůže.

Seznam použitých zkratk

DSB	dvouřetězcový zlom DNA
GC	pár nukleotidů guanin a cytosin
ROS	reaktivní formy kyslíku
LC-PUFA	polynenasycená mastná kyselina s dlouhým řetězcem
HLP	histone-like proteiny
NAP	proteiny asociované s nukleoidy
MMR	mismatch repair
BER	base excision repair
NER	nucleotide excision repair

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A2_FPBT_2021_027.

LITERATURA

- Pavlopoulou A., Savva G. D., Louka M., Bagos P. G., Vorgias C. E., Michalopoulos I., Georgakilas A. G.: *Mutat. Res., Rev. Mutat. Res.* 767, 92 (2016).
- Nikitaki Z., Hellweg C. E., Georgakilas A. G., Ravanat J. L.: *Front. Chem.* 3, 15 35 (2015).
- Luig H., Kellerer A., Griebel J.: *Radionuclides*, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, elektronické vydání. Wiley-VCH, Weinheim 2011.
- Close D., Nelson W. W. B.: *J. Phys. Chem. A* 117, 12608 (2013).
- Bilinski T., Krawiec Z., Liczmanski A., Litwinska J.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 130, 2 (1985).
- Imlay J. A.: *Mol. Microbiol.* 59, 1073 (2006).
- Halliwell B., Gutteridge J.: *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford 2015.
- Maisonneuve E., Ducret A., Khoueiry P., Lignon S., Longhi S., Talla E., Dukan S.: *PLoS One* 4, 12 e7269 (2009).
- Dose K., Bieger-Dose A., Labusch M., Gill M.: *Adv. Space Res.* 12, 221 (1992).

10. Tanaka M., Earl A. M., Howell H. A., Park M. J., Eisen J. A., Peterson S. N., Battista J. R.: *Genetics* 168, 21 (2004).
11. Liu Y. Q. a 14 spoluautorů: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 4191 (2003).
12. Sghaier H., Ghedira K., Benkahla A., Barkallah I.: *BMC Genomics* 9, 7 297 (2008).
13. Anderson A. W., Nordan H. C., Cain R. F., Parrish G., Duggan D.: *Food Technol.* 10, 575 (1956).
14. Brooks B. W., Murray R. G. E.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 31, 353 (1981).
15. Rasuk M. C., Ferrer G. M., Kurth D., Portero L. R., Farias M. E., Albarracin V. H.: *Photochem. Photobiol.* 93, 865 (2017).
16. Gholami M., Etemadifar Z., Bouzari M.: *J. Environ. Radioact.* 144, 113 (2015).
17. Suzuki K.: *Rubrobacter, Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Wiley & Sons, Inc., Hoboken 2015.
18. Chen M. Y., Wu S. H., Lin G. H., Lu C. P., Lin Y. T., Chang W. C., Tsay S. S.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54, 1849 (2004).
19. Suzuki K., Collins M. D., Iijima E., Komagata K.: *FEMS Microbiol. Lett.* 52, 33 (1988).
20. Gtari M. a 12 spoluautorů: *FEMS Microbiol. Ecol.* 80, 566 (2012).
21. Montero-Calasanz M. C.: *Geodermatophilus, Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Wiley & Sons, Inc., Hoboken 2020.
22. Normand P., Benson D.: *Modestobacter, Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Wiley & Sons, Inc., Hoboken 2015.
23. Deng W. Y., Yang Y., Gao P., Chen H., Wen W. T., Sun Q.: *Curr. Microbiol.* 72, 767 (2016).
24. Asgarani E., Soudi M. R., Borzooee F., Dabbagh R.: *J. Environ. Radioact.* 113, 171 (2012).
25. Daly M. J. a 10 spoluautorů: *PLoS Biol.* 5, 769 e92 (2007).
26. Normand P. a 15 spoluautorů: *J. Bacteriol.* 194, 4773 (2012).
27. Trisolini L., Gambacorta N., Gorgoglione R., Montaruli M., Laera L., Colella F., Volpicella M., De Grassi A., Pierri C. L.: *J. Clin. Med.* 8, 29 2117 (2019).
28. Kuriyan J., Krishna T. S. R., Wong L., Guenther B., Pahler A., Williams C. H., Model P.: *Nature* 352, 172 (1991).
29. Bagwell C. E., Bhat S., Hawkins G. M., Smith B. W., Biswas T., Hoover T. R., Saunders E., Han C. S., Tsodikov O. V., Shimkets L. J.: *PLoS One* 3, 16 e3878 (2008).
30. Phillips R. W., Wiegel J., Berry C. J., Fliermans C., Peacock A. D., White D. C., Shimkets L. J.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 933 (2002).
31. Saito T., Terato H., Yamamoto O.: *Arch. Microbiol.* 162, 414 (1994).
32. Tian B., Xu Z. J., Sun Z. T., Lin J., Hua Y. J.: *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* 1770, 902 (2007).
33. Metz J. G. a 12 spoluautorů: *Science* 293, 290 (2001).
34. Nishida T., Orikasa Y., Ito Y., Yu R., Yamada A., Watanabe K., Okuyama H.: *FEBS Lett.* 580, 2731 (2006).
35. Daly M. J.: *Nat. Rev. Microbiol.* 7, 8 (2009).
36. Daly M. J. a 12 spoluautorů: *Science* 306, 1025 (2004).
37. Webb K. M., DiRuggiero J.: *Archaea*, 845756 (2012).
38. Dorman C. J., v knize: *Advances in Applied Microbiology*, 67. díl. Elsevier Academic Press Inc, San Diego 2009.
39. Rouviereyaniv J., Yaniv M., Germond J. E.: *Cell* 17, 265 (1979).
40. Dillon S. C., Dorman C. J.: *Nat. Rev. Microbiol.* 8, 185 (2010).
41. Colangeli R. a 11 spoluautorů: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 4414 (2009).
42. Walker G. C.: *Microbiol. Rev.* 48, 60 (1984).
43. Gamulin V., Cetkovic H., Ahel I.: *FEMS Microbiol. Lett.* 238, 57 (2004).
44. Satoh K., Ohba H., Sghaier H., Narumi I.: *Microbiology* 152, 3217 (2006).
45. Egas C., Barroso C., Froufe H. J. C., Pacheco J., Albuquerque L., da Costa M. S.: *Stand. Genomic Sci.* 9, 18 (2014).
46. Rocha E. P. C., Cornet E., Michel B.: *PLoS Genet.* 1, 247 e15 (2005).
47. Kowalczykowski S. C., Dixon D. A., Eggleston A. K., Lauder S. D., Rehrauer W. M.: *Microbiol. Rev.* 58, 401 (1994).
48. Beam C. E., Saveson C. J., Lovett S. T.: *J. Bacteriol.* 184, 6836 (2002).
49. Zahradka K., Slade D., Bailone A., Sommer S., Averbek D., Petranovic M., Lindner A. B., Radman M.: *Nature* 443, 569 (2006).
50. Weller G. R. a 14 spoluautorů: *Science* 297, 1686 (2002).
51. Della M., Palmbo P. L., Tseng H. M., Tonkin L. M., Daley J. M., Topper L. M., Pitcher R. S., Tomkinson A. E., Wilson T. E., Doherty A. J.: *Science* 306, 683 (2004).
52. Su S. S., Modrich P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83, 5057 (1986).
53. Metz A. H., Hollis T., Eichman B. F.: *EMBO J.* 26, 2411 (2007).
54. Nesheli M. A., Asgarani E., Dabbagh R.: *Chem. Ecol.* 34, 163 (2018).
55. Saito T., Miyabe Y., Ide H., Yamamoto O.: *Radiat. Phys. Chem.* 50, 267 (1997).
56. Carreto L., Moore E., Nobre M. F., Wait R., Riley P. W., Sharp R. J., DaCosta M. S.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46, 460 (1996).
57. Mevs U., Stackebrandt E., Schumann P., Gallikowski C. A., Hirsch P.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50, 337 (2000).
58. Xiao J., Luo Y. X., Xu J., Xie S. J.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61, 1710 (2011).
59. Montero-Calasanz M. D. a 10 spoluautorů: *Syst. Appl. Microbiol.* 36, 177 (2013).
60. Mehrabadi J. F., Mirzaie A., Ahangar N., Rahimi A., Rokni-Zadeh H.: *Microbiol. Resour. Announce.* 4, 2

e00095-16 (2016).

61. Gholami M., Etemadifar Z.: *Microbiology* 84, 389 (2015).

E. Timkina, O. Mařátková, and I. Kolouchová
(*Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Resistance to Ionizing Radiation in Representatives of the Strain Actinobacteria**

Resistance to adverse conditions is widespread in the microbial world. Microorganisms resistant to ionizing radiation form a technologically interesting but little-explored group. This work focuses on the mechanisms of

resistance to radiation in representatives of the Actinobacteria phylum, both in terms of detoxification mechanisms and in terms of repairing DNA damage.

Keywords: ionizing radiation, Actinobacteria, antioxidants, Fenton reaction, DNA repair

- Timkina E., Mařátková O., Kolouchová I.: *Chem. Listy* 116, 235–241 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220235>

Acknowledgements

This work was supported from the grant of Specific university research – grant No. A2_FPBT_2021_027.