

DOI: 10.13376/j.cblls/2014010

文章编号: 1004-0374(2014)01-0064-08

· 评述与综述 ·

# 超嗜热古菌基因组的热稳定性

盛多红

(山东大学微生物技术国家重点实验室, 济南 250100)

**摘要:** 超嗜热古菌能够生活在 80°C 以上的高温环境中, 它们的耐热性已经成为当前研究的热点之一。以往对超嗜热菌的认识多集中于蛋白质的耐热性, 而很少有关于基因组热稳定性的综述文章。综述了当前对超嗜热古菌的基因组稳定性以及 DNA 损伤识别机制的研究进展, 以期更好地了解超嗜热古菌的耐热机制。

**关键词:** 超嗜热古菌; 基因组稳定性; DNA 损伤诱导反应; DNA 修复

**中图分类号:** Q935      **文献标志码:** A

## The genomic thermostability of hyperthermophilic archaea

SHENG Duo-Hong

(State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, China)

**Abstract:** Hyperthermophilic archaea is adapted to live at temperatures higher than 80°C. Their thermotolerance has become a research hotspot. Previous publications on the archaeal heat-resistant mechanism primarily focused on protein, and rarely on the genomic thermostability. Here, we reviewed the research progress on the genomic stability and DNA damage response of hyperthermophilic Archaea, and hoped to be helpful to better understand the archaeal thermostability.

**Key words:** hyperthermophilic archaea; genomic stability; DNA damage response; DNA repair

超嗜热菌也称为极端嗜热菌, 主要发现于大洋底部的高压热溢口、火山口、热泉等高温环境。16S/18S 进化树分析表明, 超嗜热菌通常位于树根部位 (图 1), 可能代表着古老细胞的生命特征<sup>[1]</sup>, 因此, 研究超嗜热菌的细胞结构、生理生化以及耐热机制不仅有利于了解高温环境下细胞的适应机制, 开发嗜热酶, 而且对于分析生命起源、研究生命进化规律具有重要参考价值。

除了热袍菌 (*Thermotoga*) 等少数几种细菌外, 目前发现的超嗜热菌绝大部分属于古菌, 几乎涵盖所有的泉古菌、部分广古菌和少数其他古菌, 它们通常能够耐受 80°C 以上的高温, 如超嗜热广古菌 *Methanopyrus kandleri* 能够在 122°C 生长, 是目前发现的最耐热生物之一<sup>[2]</sup>。高温环境增加了基因组 DNA 受损的几率, 如何预防、识别并及时修复 DNA 损伤, 维持基因组的遗传稳定性, 是研究超嗜热古菌生理代谢、耐热机制乃至生命演化的重要内容。

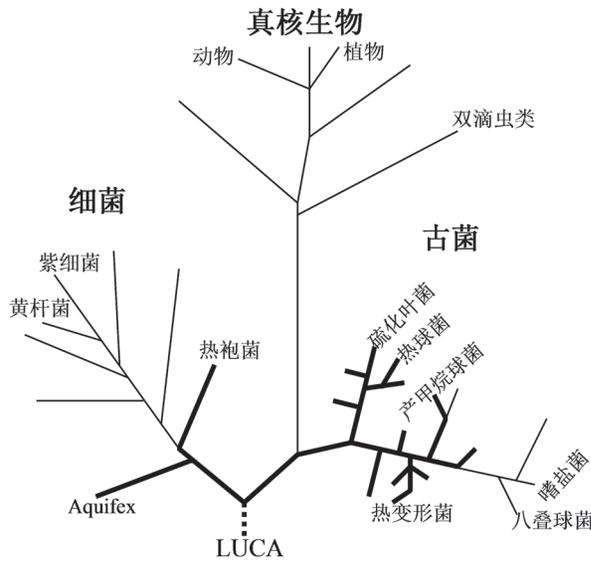
### 1 超嗜热古菌的基因组稳定性

高温环境会给细胞带来很多问题, 其中最主要的挑战就是拥有几百万碱基对的基因组如何在高温下维持其稳定性, 并进行精确的复制与转录。DNA 可以自发的脱嘌呤、脱氨基以及由于水解造成的 DNA 链断裂, 温度升高加剧了这种自发的 DNA 损伤。尽管目前还没有掌握超嗜热古菌 DNA 热损伤的具体数据, 但按照 DNA 自发突变的几率测算, 在超嗜热泉古菌 *Sulfolobus* 最适生长温度 (80°C) 条件下, 细胞每分裂一次平均每个基因会有两个脱嘌呤位点; 而在超嗜热广古菌 *Pyrolobus* 的最适生长温度 107°C 左右, 自发突变率将会更高, 大约在每 75 kb 每分钟就会出现一个单链 DNA 断裂。这是很

收稿日期: 2013-06-19; 修回日期: 2013-08-01

基金项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目 (BS2010SW014)

通信作者: E-mail: dhsheng@sdu.edu.cn; Tel: 13658612032



注: 超嗜热菌(粗线)位于树根部位。

图1 生命进化树

严重的 DNA 损伤, 超嗜热古菌应该具有强大的 DNA 损伤保护和修复机制, 才能适应这种高温生活环境<sup>[1,3]</sup>。

### 1.1 超嗜热菌DNA结构

对嗜热蛋白的耐热机制研究表明, 蛋白质的一级结构在其热稳定性中起着主要作用。一些关键氨基酸可以通过多种方式提高蛋白质的热稳定性, 包括形成离子键、提高氢键结合力、形成二硫键和增加链的空间位阻等。同样, 嗜热菌的 tRNAs 也是通过增加 RNA 链间的作用力提高热稳定性, 除了提高双链 DNA 的 GC%、形成大面积的氢键外, 还对一些关键碱基进行修饰, 进一步提高其热稳定性<sup>[3-4]</sup>。然而, 基因组测序发现, 超嗜热古菌的基因组 DNA 组成和 GC%, 与其他常温生物没有明显差异, DNA 的甲基化程度甚至比一般常温生物更低一些, DNA 一级结构的  $T_m$  值没有表现出预期的耐热性。由此推断, 超嗜热菌基因组的热稳定性只能是与染色体的高级结构或其他热稳定因子有关<sup>[3]</sup>。

与常温生物负超螺旋的染色体结构不同, 超嗜热菌的 DNA 结构通常是松弛的或者是以正超螺旋形式存在。虽然裸露 DNA 的正超螺旋结构和负超螺旋结构的耐热性没有明显差别<sup>[5]</sup>, 但是这种超嗜热菌独有的 DNA 结构形式可能在耐高温机制中扮演重要角色<sup>[6]</sup>。反向螺旋酶 (TopR) 是嗜热菌特有的拓扑异构酶, 可以向染色体引入正超螺旋。研究表明, 首先, TopR 与嗜热菌的耐热性有关, 如超嗜热广古菌 *Thermococcus kodakaraensis* 最适生长温度是

100°C左右, 当 TopR 失活后, 尽管 *T. kodakaraensis* 可以在 90°C 存活, 但是生长明显变慢, 并且不能耐受 93°C 以上高温<sup>[7]</sup>。超嗜热泉古菌 *S. solfataricus* 编码两个 TopR 同源蛋白 (TopR1 和 TopR2), 目前对 TopR1 的活性了解比较清楚, 其表达明显受温度变化的诱导, 在 60°C 时活性比较弱, 随着温度的升高, 蛋白的表达和反向螺旋酶活性均明显提高, 预示着 TopR1 参与了嗜热古菌的耐热机制<sup>[8-9]</sup>。其次, TopR 参与了 DNA 的保护与修复。它可以阻止高温诱导的 DNA 断裂以及双链 DNA 的聚集, 具有保护 DNA 热稳定的活性<sup>[10]</sup>。UV 辐射诱导分析发现, DNA 损伤后, *S. solfataricus* TopR 蛋白被募集到损伤 DNA 上与 DNA 单链结合蛋白 (single-stranded DNA-binding protein, SSB) 相互作用<sup>[11]</sup>, 直接或间接地参与了细胞内的 DNA 诱导损伤反应。第三, TopR 还参与了 DNA 的复制。*S. solfataricus* 错误倾向的 DNA 聚合酶 IV (SsoPolY) 是大肠杆菌 DnaB 的同源物, TopR1 作为 SsoPolY 的抑制物, 通过改变 DNA 结构抑制聚合酶 SsoPolY 活性, 但不抑制 *S. solfataricus* 主要的基因组复制酶 (DNA 聚合酶 PolB1) 的活性<sup>[12]</sup>, 从而提高复制的忠实度。因此, TopR 及其介导的 DNA 正超螺旋结构参与了高温环境下 DNA 的复制、修复和结构稳定性。

### 1.2 染色体蛋白

染色体结构蛋白包括真核细胞中的组蛋白和其他染色体蛋白、细菌类核相关染色体蛋白等, 在基因组 DNA 的包装过程中扮演重要的角色, 从而影响转录、修复和复制等 DNA 代谢方式<sup>[13]</sup>。超嗜热广古菌可以合成真核细胞的四聚体组蛋白同源物, 形成类似真核细胞的四聚体样核小体结构, 而超嗜热泉古菌一般不能合成组蛋白类似物, 但可以合成具有相似功能的染色体蛋白<sup>[14]</sup>。每种古菌至少编码两个不同的小的染色体蛋白或同系物, 它们在分子机构和功能上与细菌和真核生物的染色体蛋白相似, 但在结构序列上却又明显不同<sup>[15-17]</sup>。它们可以与 DNA 非序列特异性地结合, 提高 DNA 的  $T_m$  值, 对维持超嗜热古菌基因组 DNA 的结构起着非常重要的作用。

到目前为止, 对超嗜热古菌中的 Alba、Sso10a、Cren7 和 sul7 染色体结构蛋白研究比较多。Alba 是存在于大多数古菌中的一个保守染色体结构蛋白, 在溶液中以二聚体形式存在<sup>[18]</sup>。研究证明, Alba 可以在低浓度下结合 DNA, 是组织和包装的 DNA 的一种主要形式, Alba 蛋白二聚体与 DNA 双链小

沟结合,同时通过与其他蛋白二聚体之间形成复合物,增加DNA结构的稳定性<sup>[19]</sup>。细胞内Alba蛋白的DNA结合活性受乙酰化调节,NADH依赖的去乙酰化酶Sir2蛋白通过对Alba去乙酰化,改变染色体结构,进而调节基因表达<sup>[18]</sup>。Sso10a也可以在溶液中形成二聚体,并结合DNA形成蛋白质-DNA复合物<sup>[20-21]</sup>,与Alba-DNA复合物类似。然而,关于Sso10a如何包装基因组DNA,目前还不清楚。Cren7是在泉古菌中保守存在的染色体蛋白,而Sul7只发现于泉古菌*Sulfolobus*属中,它们都是大约7kDa的碱性蛋白,结合DNA没有明显的序列特异性。虽然它们的氨基酸序列没有相似之处,但是三级结构和生化活性却是相似的<sup>[22-24]</sup>,都是由两个反平行的 $\beta$ -折叠组成,两个蛋白的区别在于Cren7在两个 $\beta$ -折叠之间有一个伸出的loop结构,而在Sul7的C-末端有一个 $\alpha$ -螺旋。蛋白质-DNA共结晶显示,两个蛋白都是通过把一个疏水性侧链插进DNA小沟来结合DNA,这种结合导致DNA弯曲约 $50^{\circ}$ ~ $60^{\circ}$ <sup>[24]</sup>。*S. solfataricus* P2的转录组学显示Cren7和Sul7均有高的转录水平<sup>[25]</sup>,分别占到细胞总蛋白的1%和5%,这种高丰度的表达暗示着它们可能在*Sulfolobus*基因组DNA的包装中扮演重要角色。

除了染色体结构蛋白外,嗜热菌维持基因组结构稳定性还有其他外在因子协助,比如多价阳离子可以提高DNA热稳定能力。研究已经发现,超嗜热古菌细胞内含有一系列的多胺复合物,被认为有助于提高其基因组DNA的热稳定性<sup>[26]</sup>。

### 1.3 嗜热古菌的DNA修复体系

DNA修复是维持基因组稳定性的一个重要方面。超嗜热古菌具有很强的DNA损伤修复能力,*S. acidocaldarius*经254nmUV处理后,DNA修复能力大约是大肠杆菌的2倍;而*P. furiosus*的DNA修复能力更强,当用大剂量伽马射线辐照损伤后,基因组损伤破碎成平均30kb长的DNA双链断裂(double strand break,DSB);经过在 $95^{\circ}\text{C}$ 后孵育后,全长的基因组可以完全修复,DSB修复能力大约是大肠杆菌的100多倍<sup>[27]</sup>。

基因组测序发现,超嗜热古菌细胞内有包括直接修复、切除修复、重组修复等多套DNA修复途径,但是缺乏MutS/L错配修复途径<sup>[27-28]</sup>。如同样作为产甲烷古菌,常温产甲烷古菌*Methanosarcina acetivorans*(MAC)和超嗜热产甲烷古菌*Methanopyrus kandleri*(MKA),MAC细胞内有MutS/L蛋白类似物,而

MKA则没有<sup>[26]</sup>。即使有些超嗜热古菌,如*P. furiosus*中可以编码一个MutS蛋白类似物,但是经活性研究发现,它不参与DNA的错配修复<sup>[29]</sup>。而同样具有耐高温特性的细菌,如热袍菌等的细胞内具有错配修复机制<sup>[30]</sup>,超嗜热古菌缺乏错配修复机制的原因还不清楚。错配修复机制的进化分析表明,真核细胞和常温古菌中的错配修复体系不是通过垂直进化来的,而是通过基因水平转移的方式来自于细菌<sup>[31]</sup>。因此,超嗜热古菌中的错配修复机制的缺失可能是其进化途径的不同,而与细胞的超嗜热性无关。

与常温古菌可以编码某些细菌来源的修复蛋白相比,超嗜热古菌编码的DNA修复蛋白具有更明显的真核生物特征<sup>[27]</sup>,超嗜热古菌中编码真核生物版的核酸切除修复、重组修复等修复途径的主要蛋白,如超嗜热古菌的DNA损伤重组修复蛋白RadA蛋白与Rad51的氨基酸序列同源性在40%以上。除RadA之外,细胞内还有Mre11、Rad50、Rad55、Hje和Hjc等真核细胞重组修复蛋白<sup>[28]</sup>,但种类上明显比真核细胞少得多,特别是缺少Rad52、Rad57和Rad59等重组修复介导蛋白。再如超嗜热古菌的核酸切除修复体系拥有XPB、XPD、XPF和XPG等蛋白类似物,但缺少XPA、XPC,一般认为这两种蛋白可以特异性识别损伤DNA,启动切除修复。更值得关注的是,修复蛋白的简化,尤其是典型修复介导蛋白的缺失并没有降低超嗜热古菌的DNA损伤修复能力<sup>[4,28]</sup>。

真核细胞编码多个Rad51同系蛋白,如酵母细胞中有两个Rad51的同系物——Rad55和Rad57;哺乳动物细胞编码5个Rad51同系物——Rad51B、Rad51C、Rad51D、Xrcc2及Xrcc3,它们通常以多聚体的形式参与DNA重组和复制叉的重建过程<sup>[32]</sup>。超嗜热古菌也编码RadA同系蛋白<sup>[33]</sup>,超嗜热广古菌编码RadA类似物RadB。虽然RadB的功能还不清楚,但体外活性分析发现,它可以与RadA及Hjc直接结合,可能参与了DNA重组修复过程<sup>[34]</sup>。泉古菌编码多个RadA类似物。比如在*S. tokodaii*中发现了RadA的4个同系蛋白(分别命名为stRad55A~D),它们在氨基酸序列上更接近于真核生物的Rad55蛋白。本实验室的研究工作发现,其中一个RadA同系蛋白(stRad55A)可以特异性地结合RadA和DNA单链结合蛋白SSB;体外活性分析发现,stRad55A能够同时结合RadA和SSB,三个蛋白能够形成复合体,协助RadA结合到SSB覆盖的单链DNA上<sup>[35]</sup>,作用类似于真核细胞中的

Rad52 蛋白和 Rad51BC 蛋白, 在嗜热古菌 DNA 重组反应起始过程中扮演介导子角色。因此, 嗜嗜热古菌也有识别损伤、启动修复的重组介导功能的蛋白, 只是与真核细胞中多种介导蛋白相比, 种类数明显简化。

## 2 嗜嗜热古菌的DNA损伤诱导反应

在正常的细胞里, DNA 损伤可以被 DNA 损伤诱导反应 (DNA damage response, DDR) 迅速识别, 并激活修复蛋白, 修复 DNA 损伤, 因此, DNA 损伤诱导反应被认为是细胞应对 DNA 损伤、维护基因组稳定性的重要保护机制。

### 2.1 嗜嗜热古菌存在DDR

早在 1996 年, Sandler 等<sup>[36]</sup>发现生活于高温环境下的嗜嗜热泉古菌 *S. solfataricus* RadA 本底表达水平比较高, 且不受 DNA 损伤诱导表达。2000 年, Komori 等<sup>[34]</sup>也报道了嗜嗜热广古菌 *P. furiosus* 的 RadA 和 RadB 在细胞内组成型表达, 不受 UV 辐射的诱导。他们对此的解释是高温对 DNA 的持续损伤诱导了修复蛋白 RadA 的组成性表达, 从而推测嗜嗜热古菌内不存在 DDR。然而, 在 2008 年, 本实验室研究嗜嗜热泉古菌 *S. tokodaii* 的损伤修复体系时, 发现了 DNA 损伤诱导反应, 通过 200 J/m<sup>2</sup> 辐射处理, RadA 转录上调了大约 2.5 倍<sup>[37]</sup>。另外, Salerno 等<sup>[38]</sup>研究 *S. solfataricus* 核酸切除修复系统相关蛋白的诱导表达时, 采用了 200 J/m<sup>2</sup> 的辐射剂量, 也发现了修复蛋白 XPF 和 XPG 的诱导现象; 随后, 嗜嗜热广古菌 *P. furiosus* 的 RadA 损伤诱导现象也在 2010 年被证实<sup>[39]</sup>, 诱导后的 RadA 蛋白上调了 3.7 倍左右。至此, 与其他三界生物一样, 嗜嗜热古菌细胞内也被证实存在 DNA 损伤诱导反应。在最初 Sandler 没有检测到 RadA 诱导的报道中, 处理 *S. solfataricus* 细胞的 UV 辐射剂量为 10 J/m<sup>2</sup>; 而根据本实验室对 *S. tokodaii* 细胞 UV 的损伤诱导性测量, 即使用 30 J/m<sup>2</sup> 剂量处理, 对细胞的生长也没有明显影响, 同样不能诱导 RadA 的转录和表达 (未报道结果), 说明嗜嗜热古菌的辐射耐受性比较强。和常温细胞相比, 高温造成了嗜嗜热菌 RadA 等 DNA 修复蛋白的高本底表达, 可以修复低剂量辐射造成的轻微损伤, 增加细胞对损伤的容忍度, 而强辐射造成的 DNA 损伤程度超出了嗜嗜热菌的正常修复能力, 从而激活细胞内的 DDR<sup>[36-37]</sup>。

### 2.2 嗜嗜热古菌DDR

与细菌的 SOS 反应不同, 真核细胞的 DNA 损

伤诱导反应是多层次、多水平的调控, 参与的蛋白也很多 (图 2), 其中与细胞周期、损伤信号转导和 DNA 修复有关的基因就多达 500 多个<sup>[40]</sup>。总体上可以划分为三部分: 损伤感应蛋白 (sensor)、信号传递蛋白 (transducer) 和下游的效应蛋白 (effector)。当 DNA 损伤或复制叉受阻时, MRN (X)、ATRIP、RPA、Rad17 以及 9-1-1 复合物等损伤识别蛋白, 结合 DNA 损伤并激活信号转导, 损伤信号经 ATM、ATR、ChK 等蛋白激酶放大传递给多种效应蛋白, 进而影响 DNA 合成、细胞周期、细胞凋亡、衰老以及 DNA 修复等细胞进程<sup>[41]</sup>。嗜嗜热古菌合成真核细胞相似的 DRR 蛋白, 但涉及蛋白的种类要少很多。

#### 2.2.1 损伤感应蛋白

嗜嗜热古菌细胞内没有 ATRIP、Rad17 以及 9-1-1 复合物等损伤识别蛋白, 但是编码 Mre11、Rad50 和 RPA 的同源蛋白。

真核细胞中 Mre11、Rad50 常与核酸酶 Nbs1 或 Xrs2 形成 MRN(X) 复合物, 在 DNA 双链断裂末端修饰以及 DNA 损伤识别中发挥作用。嗜嗜热古菌没有 Nbs1 或 Xrs2 同源蛋白, 它的 Mre11 和 Rad50 编码基因通常与一个螺旋酶 HerA 和一个称为 NurA 的 5'-3' 的核酸外切酶基因在同一个操纵子内<sup>[42]</sup>。HerA 和 NurA 是嗜嗜热古菌中特有的保守蛋白, 研究发现它们组成 HerA-NurA 复合物 HN, 可以在 Mre11 和 Rad50 复合物 MR 的协助下处理 DNA 双链断裂的 5' 单链切割, 介导重组酶 RadA 的装配。在功能上, MR 复合物和 HN 复合物一起扮演了真核细胞中 MRN(X) 的重组修复功能。然而, 由于 MRHN 操纵子在嗜嗜热古菌 DNA 损伤诱导中没有处在早期表达的位置<sup>[43-44]</sup>, 使得它们是否具有损伤感应蛋白的功能受到质疑。

RPA 是真核细胞中的 DNA 单链结合蛋白 (SSB), 嗜嗜热广古菌 SSB 是真核细胞 RPA 的同源蛋白; 虽然泉古菌 SSB 在结构上更像细菌的 SSB 蛋白, 由一个 OB 结构域和 C 端尾巴组成, 但是泉古菌 SSB 的 OB 结构域氨基酸序列和蛋白结构更接近于真核细胞的 RPA<sup>[45]</sup>。在真核细胞和细菌中, SSB 蛋白在 DNA 损伤早期检测中扮演重要角色, 基因转录研究也发现在嗜嗜热广古菌 *P. furiosus* 和嗜嗜热泉古菌 *S. solfataricus* SSB 基因的表达在辐射损伤 30 min 后被诱导上调 2 倍, 预示着其也在 DNA 损伤的早期发挥作用<sup>[43-44]</sup>。*P. furiosus* 单链 DNA 结合蛋白 PfuRPA, 可以直接和 RadA、Hjc、DNA polymerases、

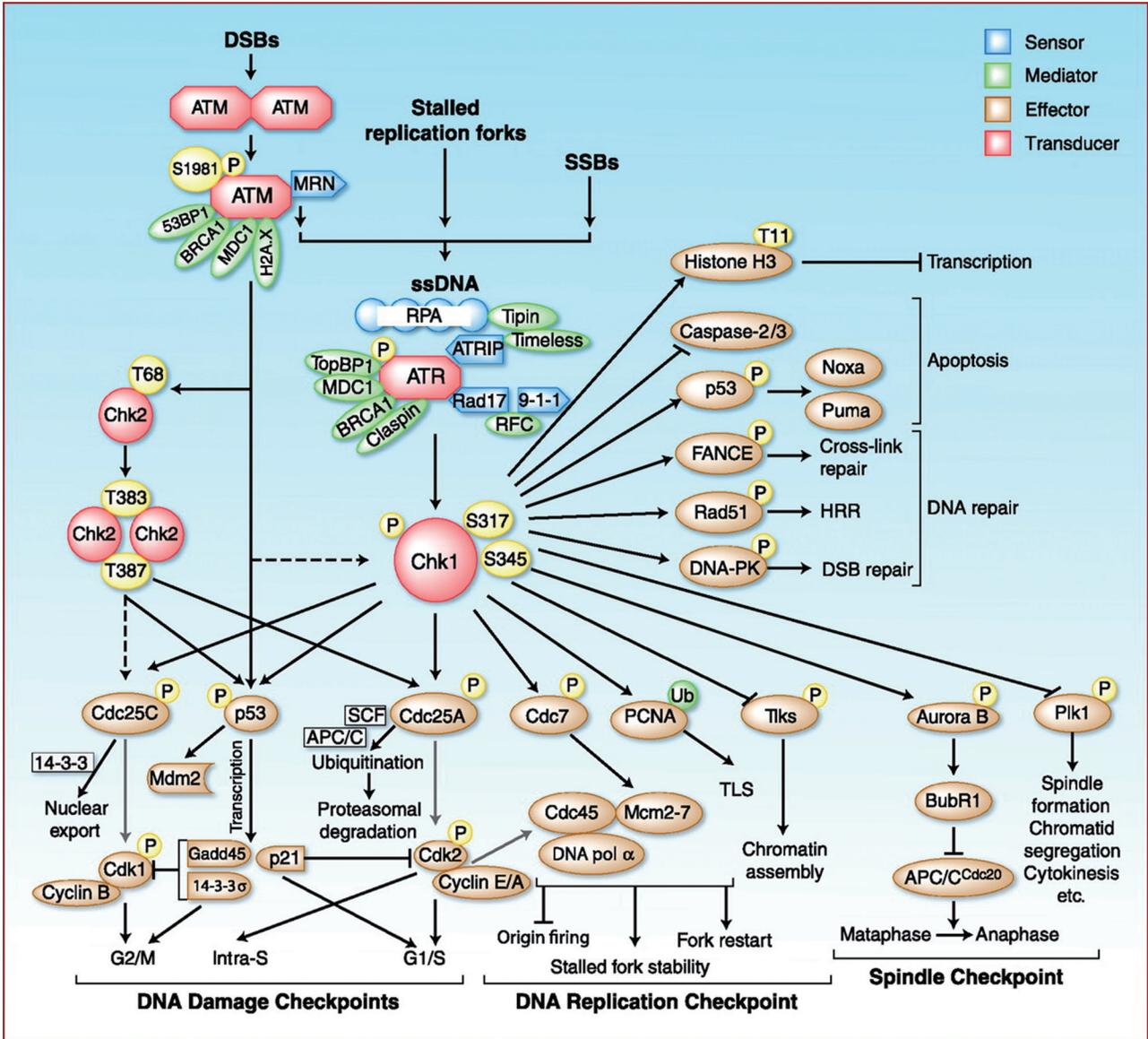


图2 真核细胞DNA损伤诱导反应<sup>[41]</sup>

Primase、PCNA 以及 RFC 等作用，参与 DNA 复制、修复和转录<sup>[46]</sup>。*S. solfataricus* 的 SSB-ssDNA 复合物同样能和 DNA 修复蛋白，比如 RadA、XPB 以及 RNA 聚合酶等特异性地结合。另外，SSB 蛋白本身可以特异性地识别紫外交联产物，并将错配或有损伤的 DNA 双螺旋解链<sup>[47]</sup>。因此，超嗜热古菌的 SSB 在 DNA 损伤检测中发挥作用，募集修复蛋白，直接激活基因转录。

### 2.2.2 转导蛋白

真核细胞中的 RPA、MRN 以及 ATRIP 等损伤检测蛋白可以与转导蛋白 ATM、ATR 等蛋白激酶相互作用，将 DNA 损伤信号放大传递<sup>[41]</sup>。古菌中没有发现 ATM 或 ATR，只有一个非典型的 Ser-/Thr-RIO 蛋白激酶 I 在损伤早期被诱导<sup>[44]</sup>，RIO 激

酶的作用机制还不清楚。根据酵母中的 RIO 激酶同源蛋白的功能推测，它可能参与了核糖体合成、细胞周期进程和染色体结构<sup>[48]</sup>。超嗜热古菌 *P. horikoshii* 细胞中的 RIO 激酶 PH1502 能够磷酸化转录起始因子 eIF2 的  $\alpha$  亚基中的 Ser48，证明其可能在蛋白质合成调控中发挥作用<sup>[49]</sup>。至于嗜热古菌中的 RIO 激酶是否以及如何通过其磷酸化作用参与了 DRR，还有待进一步的研究。

另外还有一种可能就是，超嗜热古菌的 DRR 也许不需要转导蛋白，而是由损伤识别蛋白直接作用于效应蛋白，激活相应的 DNA 损伤诱导反应，理由如下。(1) 超嗜热古菌的基因组结构和细菌类似，比较简单，编码序列占大多数，基因以操纵子形式存在，这些结构上的特性使超嗜热古菌的复制

与转录调控比真核细胞简单,DRR 有了简化的基础。另外,细菌中的 SOS 反应,也主要是通过损伤检测蛋白(单链 DNA 结合的 RecA),直接促进 LexA 的自裂解,释放相关效应蛋白的表达。(2)由 2.2.1 可知,超嗜热古菌的损伤识别蛋白 SSB,可以与复制、修复和转录相关蛋白直接相互作用,激活相关途径<sup>[46-47]</sup>,这也使不需要转导蛋白直接激活效应蛋白成为可能。尽管超嗜热古菌的损伤信号转导方式尚未研究清楚,其细胞内转导蛋白激酶的缺失,预示着其可能采用了一种简化的方式。由于其细胞内具有细菌版的基因结构和真核版的转录因子,同时 DRR 诱导基因启动子缺乏统一的“LexA box”类似序列,古菌的这种简化版的损伤信号传递也不同于细菌的 SOS 反应,而具有自己的特性<sup>[50]</sup>。

### 2.2.3 效应蛋白

DNA 损伤信号可以影响细胞内多种代谢途径的改变。首先,可以抑制超嗜热古菌 DNA 复制和分裂。如 DNA 损伤后,超嗜热广古菌 *P. abyssi* DNA 复制明显被抑制<sup>[51]</sup>;超嗜热泉古菌 *Sulfolobus* 的复制蛋白因子 Cdc6-1 和 Cdc6-3 的表达也明显下调,同样预示着 DNA 复制与分裂的弱化。其次,与 DNA 保护有关的基因,如抗辐射的色素合成基因和抗氧化基因表达明显上调<sup>[39,44]</sup>。如在 *P. furiosus* 中,尽管细胞内的超氧化物还原酶(superoxide reductase, SOR)、非血红素铁蛋白-赤鲜素蛋白(rubrerhythrin, Rr)以及烷基过氧化氢还原酶 I 等主要的抗氧化蛋白已经是高组成型表达,但是, DNA 的氧化损伤仍然诱导烷基过氧化氢还原酶 II 的表达提高了 8 倍左右,而具有铁离子结合和抗氧化损伤功能的 Dps (DNA protection during starvation) 蛋白表达则提高了 50 多倍。然而,与其他细胞不同的是,超嗜热古菌的 DNA 修复基因的诱导却不明显,如强辐射损伤的 *S. solfataricus* 细胞中,XPB 上调了 1.43 倍, XPF 上调了 1.26 倍,上调最高的是 RadA,约是处理前的 2.29 倍<sup>[44]</sup>;同样,具有强辐射耐受性的嗜热广古菌 *P. abyssi* 和 *P. furiosus* 细胞中,虽然拥有强大的 DNA 损伤修复能力,可以在 2 h 内修复 2 500 Gy 的离子辐射造成的 DNA 碎片,然而,细胞内的 DNA 修复蛋白的诱导性却不明显<sup>[51]</sup>。对这种现象的可能解释就是前面提到的,超嗜热古菌修复蛋白的高本底表达降低了其可诱导性。从诱导性方面进一步说明 DNA 修复能力是超嗜热菌基因组耐高温的一个重要原因。

## 3 展望

高温可以提高基因组不稳定性,从而有利于促进基因组的进化<sup>[1,52]</sup>。比如,与 37°C 相比,在 42°C 培养的大肠杆菌具有更高的进化速率<sup>[53]</sup>。然而,从 16S/18S 进化树可以看到,超嗜热古菌的进化分枝通常比常温生物短,这意味着它的进化速率要比常温生物慢,这主要归功于其基因组具有很高的热稳定性<sup>[54]</sup>。如上文所述,染色体结构蛋白、有效的 DNA 损伤修复机制以及 DNA 损伤诱导反应,在超嗜热古菌基因组热稳定性中起着重要作用,延缓了超嗜热古菌进化速率,使其位于进化树的树根部位,其生理代谢可能更多地带有原始细胞的特征,对研究生命起源和进化具有重要参考价值。

目前对超嗜热古菌基因组热稳定机制的研究才刚刚起步,还有很多工作需要深入研究,尤其是在以下几个方面:(1)在鉴定超嗜热古菌新型染色体蛋白的基础上,分析染色体蛋白在染色体包装和 DNA 代谢中的功能;(2)超嗜热古菌保守 DNA 修复蛋白的功能分析,以及功能进化分析;(3)相关修复途径和调控机制分析,尤其是 DNA 损伤诱导反应网络目前还处于推测阶段;(4)从进化的角度分析超嗜热古菌基因组稳定机制。对上述 DNA 保护和修复机制的研究,将有助于了解超嗜热古菌基因组耐热机制,了解极端环境下细胞遗传稳定性的奥秘。尤其是超嗜热古菌拥有简化版的真核生物 DNA 损伤修复体系,是研究真核生物 DNA 修复的理想模型。

### [参 考 文 献]

- [1] van Wolferen M, Ajon M, Driessen AJ, et al. How hyperthermophiles adapt to change their lives: DNA exchange in extreme conditions. *Extremophiles*, 2013, 17(4): 545-63
- [2] Takai K, Nakamura K, Toki T, et al. Cell proliferation at 122°C and isotopically heavy CH<sub>4</sub> production by a hyperthermophilic methanogen under high-pressure cultivation". *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(31): 10949-51
- [3] Imanaka T. Molecular bases of thermophily in hyperthermophiles. *Proc Jpn Acad Ser B: Phys Biol Sci*, 2011, 87(9): 587-602
- [4] Grogan DW. The questions of DNA repair in hyperthermophilic archaea. *Trends Microbiol*, 2000, 8(4): 180-5
- [5] Marguet E, Forterre P. DNA stability at temperatures typical for hyperthermophiles. *Nucleic Acids Res*, 1994, 22: 1681-6
- [6] Forterre P, Bergerat A, Lopez-Garcia P. The unique DNA

- topology and DNA topoisomerases of hyperthermophilic archaea. *FEMS Microbiol Rev*, 1996, 18: 237-48
- [7] Atomi H, Matsumi R, Imanaka T. Reverse gyrase is not a prerequisite for hyperthermophilic life. *J Bacteriol*, 2004, 186(14): 4829-33
- [8] Garnier F, Nadal M. Transcriptional analysis of the two reverse gyrase encoding genes of *Sulfolobus solfataricus* P2 in relation to the growth phases and temperature conditions. *Extremophiles*, 2008, 12(6): 799-809
- [9] Bizard A, Garnier F, Nadal M. TopR2, the second reverse gyrase of *Sulfolobus solfataricus*, exhibits unusual properties. *J Mol Biol*, 2011, 408(5): 839-49
- [10] Kampmann M, Stock D. Reverse gyrase has heat-protective DNA chaperone activity independent of supercoiling. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32: 3537-45
- [11] Napoli A, Valenti A, Salerno V, et al. Reverse gyrase recruitment to DNA after UV irradiation in *Sulfolobus solfataricus*. *J Biol Chem*, 2004, 279: 33192-8
- [12] Valenti A, Perugino G, Nohmi T, et al. Inhibition of translesion DNA polymerase by archaeal reverse gyrase. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 4287-95
- [13] Luijsterburg MS, White MF, Driell R, et al. The major architects of chromatin: architectural proteins in bacteria, archaea and eukaryotes. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2008, 43: 393-418
- [14] Ammar R, Torti D, Tsui K, et al. Chromatin is an ancient innovation conserved between Archaea and Eukarya. *Elife*, 2012, 1: e00078
- [15] Zhang Z, Guo L, Huang L. Archaeal chromatin proteins. *Sci China Life Sci*, 2012, 55(5): 377-85
- [16] Sandman K, Reeve JN. Archaeal chromatin proteins: different structures but common function? *Curr Opin Microbiol*, 2005, 8: 656-61
- [17] Driessen RP, Dame RT. Structure and dynamics of the crenarchaeal nucleoid. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(1): 321-5
- [18] Tanaka T, Padavattan S, Kumarevel T. Crystal structure of archaeal chromatin protein Alba2-double-stranded DNA complex from *Aeropyrum pernix* K1. *J Biol Chem*, 2012, 287(13): 10394-402
- [19] Bell SD, Botting CH, Wardleworth BN, et al. The interaction of Alba, a conserved archaeal chromatin protein, with Sir2 and its regulation by acetylation. *Science*, 2002, 296: 148-51
- [20] Xuan J, Feng Y. The archaeal Sac10b protein family: conserved proteins with divergent functions. *Curr Protein Pept Sci*, 2012, 13(3): 258-66
- [21] Kahsai MA, Vogler B, Clark AT, et al. Solution structure, stability, and flexibility of Sso10a: a hyperthermophile coiled-coil DNA-binding protein. *Biochemistry*, 2005, 44: 2822-32
- [22] Napoli A, Zivanovic Y, Bocs C, et al. DNA bending, compaction and negative supercoiling by the architectural protein Sso7d of *Sulfolobus solfataricus*. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30: 2656-62
- [23] Guo L, Feng Y, Zhang Z, et al. Biochemical and structural characterization of Cren7, a novel chromatin protein conserved among Crenarchaea. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36: 1129-37
- [24] Zhang Z, Gong Y, Guo L, et al. Structural insights into the interaction of the crenarchaeal chromatin protein Cren7 with DNA. *Mol Microbiol*, 2010, 76: 749-59
- [25] Wurtzel O, Sapra R, Chen F, et al. A single-base resolution map of an archaeal transcriptome. *Genome Res*, 2010, 20: 133-41
- [26] Friedman M, Oshima T. Polyamines of sulfur dependent archaeobacteria and their role in protein synthesis. *J Biochem*, 1989, 105: 1030-3
- [27] Grogan DW. Stability and repair of DNA in hyperthermophilic archaea. *Curr Issues Mol Biol*, 2004, 6: 137-44
- [28] Kelman Z, White MF. Archaeal DNA replication and repair. *Curr Opin Microbiol*, 2005, 8(6): 669-76
- [29] Vijayvargia R, Biswas I. MutS2 family protein from *Pyrococcus furiosus*. *Curr Microbiol*, 2002, 44(3): 224-8
- [30] Kim TG, Heo SD, Ku JK, et al. Functional properties of the thermostable mutL from *Thermotoga maritima*. *BMB Rep*, 2009, 42(1): 53-8
- [31] Lin Z, Nei M, Ma H. The origins and early evolution of DNA mismatch repair genes—multiple horizontal gene transfers and co-evolution. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(22): 7591-603
- [32] Ordinario EC, Yabuki M, Handa P, et al. RAD51 paralogs promote homology directed repair at diversifying immunoglobulin. *BMC Mol Biol*, 2009, 10: 98
- [33] Haldenby S, White MF, Allers T. RecA family proteins in archaea: RadA and its cousins. *Biochem Soc Trans*, 2009, 37(Pt 1): 102-7
- [34] Komori K, Miyata T, DiRuggiero J, et al. Both RadA and RadB are involved in homologous recombination in *Pyrococcus furiosus*. *J Biol Chem*, 2000, 275(43): 33782-90
- [35] Sheng D, Zhu S, Wei T, et al. The *in vitro* activity of a Rad55 homologue from *Sulfolobus tokodaii*, a candidate mediator in RadA-catalyzed homologous recombination. *Extremophiles*, 2008, 12(1): 147-57
- [36] Sandler SJ, Satin LH, Samra HS, et al. *recA*-like genes from three archaean species with putative protein products similar to Rad51 and Dmc1 proteins of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Res*, 1996, 24(11): 2125-32
- [37] 盛多红, 朱珊珊, 李铭峰, 等. 超嗜热古菌 *Sulfolobus tokodaii* RadA蛋白的克隆表达及其辐射可诱导性. *微生物学报*, 2008, 48(3): 317-22
- [38] Salerno V, Napoli A, White MF, et al. Transcriptional response to DNA damage in the archaeon *Sulfolobus solfataricus*. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31(21): 6127-38
- [39] Strand KR, Sun C, Li T, et al. Oxidative stress protection and the repair response to hydrogen peroxide in the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* and in related species. *Arch Microbiol*, 2010, 192(6): 447-59
- [40] Suter B, Graham C, Stagljar I. Exploring protein phosphorylation in response to DNA damage using differentially tagged yeast arrays. *Biotechniques*, 2008, 45(5): 581-4

- [41] Dai Y, Grant S. New insights into checkpoint kinase 1 (Chk1) in the DNA damage response (DDR) signaling network: Rationale for employing Chk1 inhibitors in cancer therapeutics. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(2): 376-83
- [42] Blackwood JK, Rzechorzek NJ, Abrams AS, et al. Robinson. Structural and functional insights into DNA-end processing by the archaeal HerA helicase–NurA nuclease complex. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(7): 3183-96
- [43] Williams E, Lowe TM, Savas J, et al. Microarray analysis of the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* exposed to gamma irradiation. *Extremophiles*, 2007, 11: 19-29
- [44] Götz D, Paytubi S, Munro S, et al. Responses of hyperthermophilic crenarchaea to UV irradiation. *Genome Biol*, 2007, 8(10): R220
- [45] Kerr ID, Wadsworth RI, Cubeddu L, et al. Insights into ssDNA recognition by the OB fold from a structural and thermodynamic study of *Sulfolobus* SSB protein. *EMBO J*, 2003, 22(11): 2561-70
- [46] Komori K, Ishino Y. replication protein A in *pyrococcus furiosus* is involved in homologous DNA recombination. *J Biol Chem*, 2001, 276(28): 25654-60
- [47] Cubeddu L, White MF. DNA damage detection by an archaeal single-stranded DNA-binding protein. *J Mol Biol*, 2005, 353(3): 507-16
- [48] Esser D, Siebers B. Atypical protein kinases of the RIO family in archaea. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(1): 399-404
- [49] Tahara M, Ohsawa A, Saito S, et al. *In vitro* phosphorylation of initiation factor 2 alpha (aIF2 $\alpha$ ) from hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus horikoshii* OT3. *J Biochem: Tokyo*, 2004, 135: 479-85
- [50] Facciotti MT, Reiss DJ, Pan M, et al. General transcription factor specified global gene regulation in archaea. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(11): 4630-5
- [51] Jolivet E, Matsunaga F, Ishino Y, et al. Physiological responses of the hyperthermophilic archaeon "*Pyrococcus abyssi*" to DNA damage caused by ionizing radiation. *J Bacteriol*, 2003, 185(13): 3958-61
- [52] Goldstein RA. The evolution and evolutionary consequences of marginal thermostability in proteins. *Proteins*, 2011, 79(5): 1396-407
- [53] Bennett AF, Dao KM, Lenski RE. Rapid evolution in response to high-temperature selection. *Nature*, 1990, 346(6279): 79-81
- [54] Sniegowski P. Evolution: constantly avoiding mutation. *Curr Biol*, 2001, 11(22): R929-31