

# 戈壁异常球菌冷激蛋白 Csp1 提高大肠杆菌盐胁迫抗性

江世杰<sup>1,2</sup> 杨明坤<sup>2</sup> 陈明<sup>2</sup> 张维<sup>2</sup> 王劲<sup>1,2</sup> 罗学刚<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>西南科技大学生命科学与工程学院,四川 绵阳 621010; <sup>2</sup>中国农业科学院生物技术研究所,北京 100081)

**摘要:**耐辐射戈壁异常球菌 (*Deinococcus gobiensis* I-0) 是本研究室分离于戈壁沙漠环境中的微生物,对辐射、氧化和干旱等非生物胁迫有超强的抗性。该菌基因组含有 2 个冷激蛋白编码基因 (*csp1*, *Dgo\_CA1136* 和 *csp2*, *Dgo\_PA0041*), 编码蛋白均具有典型的冷激蛋白家族特有的结构域。本研究以戈壁异常球菌 I-0 Csp1 为研究对象,研究表明 Csp1 能显著增强模式菌株大肠杆菌对低温、高盐、干旱等非生物胁迫的抗性;QRT-PCR 分析显示在盐胁迫条件下 Csp1 表达菌株的海藻糖合成酶基因 (*otsA* 和 *otsB*) 表达显著上调,其降解基因 (*treB*、*treC*) 无显著变化。Csp1 通过调控海藻糖代谢途径,促进渗透保护物的积累,可能是增强细胞盐、干旱等胁迫抗性的有效途径之一。

**关键词:**戈壁异常球菌;冷激蛋白;大肠杆菌;盐胁迫;海藻糖

耐辐射微生物是一类对电离辐射、UV 射线和干燥具有极强抗性的微生物,被称为“世界上最顽强的细菌”。这类微生物分布以及适应范围极为广泛,不仅能生存于常温、常压的环境中,同时也能在高温、严寒、干燥、高压等极端逆境下生存,具有非常独特的极端抗逆性基因资源<sup>[1]</sup>。研究表明来源于耐辐射异常球菌 (*Deinococcus radiodurans*) 的全局调控蛋白 IrrE,能显著提高大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 细胞耐辐射、抗氧化性能,增强细胞的耐盐、抗渗等能力<sup>[2-3]</sup>,同时能赋予植物耐盐、抗旱性能<sup>[4]</sup>。因此,开发耐辐射微生物及其基因资源,在农作物育种方面具有极大的潜在应用前景。

微生物在长期适应环境变化和进化的过程中,形成了独特的生理机制和生命行为。当温度下降时,细胞中大多数蛋白受抑制<sup>[5]</sup>,但是发现一类特殊的蛋白被诱导<sup>[6-8]</sup>,这类小而特殊的蛋白称之为冷激蛋白 (Csp)。研究表明 Csp 蛋白作为转录激活因子结合在多种基因的启动子区域,激活基因的转录<sup>[9-10]</sup>,并具有 RNA 分子伴侣功能<sup>[11]</sup>,维护 mRNA 二级结构,提高 mRNA 的翻译。研究表明来源于耐辐射异常球菌的 Csp (PprM) 可作为调控因子,参与细胞依赖 PprI 的 DNA 损伤修复过程,调控包括 PprA 在内的 DNA 损伤

修复蛋白,参与应对辐射损伤的信号传导途径<sup>[12]</sup>。来自 *B. subtilis* 的 *cspB* 基因转入玉米,显著提高玉米抗旱性<sup>[13]</sup>。

本研究室从新疆戈壁极端环境分离到一株耐辐射新种,戈壁异常球菌 (*Deinococcus gobiensis*) I-0<sup>[14]</sup>。基因组序列分析显示该菌中含有 2 个 Csp 同源蛋白 (Csp1 和 Csp2) 编码基因,与枯草芽孢杆菌 CspB 氨基酸序列比对,一致性分别达到 64% 和 69%。本研究以戈壁异常球菌 I-0 Csp1 为研究对象,研究冷激蛋白在模式菌株大肠杆菌 trans 109 中的表达对低温、高盐、干旱等非生物胁迫抗性的作用,探讨冷激蛋白的生物学功能,为培育抗逆转基因作物新品种提供理论支持和科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试验材料和试剂

试验菌株和质粒:野生型 *Deinococcus gobiensis* I-0 为本实验室保存,高频转化受体菌大肠杆菌 (*E. coli*) trans 109 购自北京金公司;穿梭质粒 pRADZ3 为本实验室保存。大肠杆菌于 LB 培养基 (1% Typtone, 0.5% Yeast extract, 1% NaCl, pH 值

收稿日期:2012-09-07 接受日期:2013-03-20

基金项目:国家自然科学基金 (30970069, 31170105),农业部公益性行业科研专项 (201103007)

作者简介:江世杰 (1985-),男,甘肃庆阳人,硕士研究生,研究方向为特殊环境微生物功能基因资源利用。Tel:010-82109861;E-mail:liuyingfeishi@sina.com

通讯作者:罗学刚 (1957-),男,四川中江人,博士,教授,研究方向为生物质化学衍生物与生物质材料。E-mail:lgx@swust.edu.cn

7.0) 37℃培养,戈壁异常球菌 (*D. gobiensis*) 于 TGY 培养基 (1% Typtone, 0.5% Yeast extract, 0.1% Glucose) 30℃培养。

主要试剂:限制性核酸内切酶、T4 DNA 连接酶、反转录试剂盒购自 NEB 公司,PrimeSTAR DNA 聚合酶、SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup>、dNTP、IPTG、X-gal、pGEM-T Easy 载体购自 TaKaRa 公司;DNA 纯化试剂盒、胶回收纯化试剂盒、质粒提取试剂盒、基因组提取试剂盒均购自北京天根生化公司,RNA 提取试剂盒购自 Promega 公司,所用试剂均为分析纯。

### 1.2 *csp1* 引物的设计与 PCR 反应

根据 *D. gobiensis* I-0 基因组序列设计 *csp1* 基因引物:上游引物 *csp1*-F: 5'-TAACT-AGTTTTGTTGGTGGGAGCA-3';下游引物 *csp1*-R: 5'-TACATATGTGGGGGAGT-TAAAAG-3' (下划线分别为 *Spe* I 和 *Nde* I 酶切位点),该引物由北京擎科生物技术公司合成。

以 *D. gobiensis* I-0 基因组为模板,*csp1*-F/R 作引物,扩增 *csp1* 目的片段,PCR 反应条件是:95℃预变性,10min;95℃变性,30s,56℃退火,30s,72℃延伸,30s,30 个循环;72℃延伸,10min。扩增完成后,取 5.0μL PCR 产物用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳,检测扩增结果。

### 1.3 重组质粒的构建及验证

通过 PCR 产物回收完整的 *csp1* 目的基因,连接 pGEM-T Easy 载体,构建成 pT-*csp1* 重组质粒,转化 *E. coli* trans 109,进行蓝白斑筛选,阳性克隆测序。提取测序正确的 pT-*csp1* 质粒,用 *Spe* I 和 *Nde* I 消化,琼脂糖凝胶回收 312 bp 的 *csp1* 基因片段;同时用 *Spe* I 和 *Nde* I 酶切消化穿梭质粒 pRADZ3,回收 6.8kb 的 Z3 载体,将其与 *csp1* 基因片段连接,转化 *E. coli* trans 109,在含有 50μg·mL<sup>-1</sup> Amp 的 LB 平板上筛选,获得阳性重组子,质粒命名为 pZ3-*csp1*。重组质粒进行 PCR 和 *Spe* I / *Nde* I 酶切验证。

### 1.4 *E. coli* 重组菌株盐冲击试验

取培养至对数初期菌悬液 (OD<sub>600</sub> ≈ 0.5) 1mL,离心收集菌体,菌体重悬于 1mL 2mol·L<sup>-1</sup> NaCl 溶液中 (设对照组:重悬于无菌水中),37℃培养 2h 后,用无菌水梯度稀释。每个稀释度各取 10μL 点在 LB 固体培养基上,37℃培养约 16h,观察菌落形成情况。试验进行 3 次重复。

### 1.5 *E. coli* 重组菌株山梨糖醇冲击试验

取培养至对数初期菌悬液 (OD<sub>600</sub> ≈ 0.5) 1mL,离心收集菌体,菌体重悬于 1mL 1mol·L<sup>-1</sup> 山梨糖醇溶液

中 (设对照组:重悬于无菌水中),37℃培养 2h 后,用无菌水梯度稀释。每个稀释度各取 10μL 点在 LB 固体培养基上,37℃培养约 16h,观察菌落形成情况。试验进行 3 次重复。

### 1.6 盐胁迫条件下基因表达分析

将新活化的菌株转接于含 1mol·L<sup>-1</sup> NaCl 的 LB 培养基中,37℃ 220r·min<sup>-1</sup> 培养至对数初期 (OD<sub>600</sub> ≈ 0.5),收集菌体,使用 Promega RNA 试剂盒和 NEB 公司的反转录试剂盒提取总 RNA,并反转录为 cDNA,通过 QRT-PCR 对盐胁迫条件下的基因表达差异进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 冷激蛋白的系统进化分析及重组质粒 pZ3-*csp1* 的构建

从 GenBank 中获取 *D. radiodurans*、*D. geothermalis*、*D. deserti*、*Thermus thermophilus* (*Deinococcus* 属与 *Thermus* 属亲缘关系较近)、*E. coli* (CspA to CspI)、*Bacillus subtilis* (CspB to CspD) 的冷激蛋白序列,利用 MEGA4.0 软件将 *D. gobiensis* 的 Csp1 和 Csp2 与其他微生物的 Csp 同源物进行系统进化分析 (图 1),图中显示,*D. gobiensis* Csp1 与其同属 *D. radiodurans*、*D. geothermalis* 的 Csp 同源物亲缘关系最近,聚为一类;Csp2 蛋白与同属 *D. deserti* 的 Csp 同源物 (2p00490 和 3p00840) 亲缘关系最近,聚为一类。已有研究表明,*D. radiodurans* 基因组中仅含有一个编码 Csp 蛋白的同源物 (Csp 或 PprM),该蛋白参与由 PprI 介导的 DNA 损伤修复过程<sup>[12]</sup>。初步研究显示,*D. gobiensis* Csp1 蛋白具有互补 *D. radiodurans* Csp 蛋白的功能。因此,本研究选取 *D. gobiensis* Csp1 作为研究对象。

从 NCBI 数据库中得到 *D. gobiensis* I-0 中编码 Csp1 蛋白的基因 Dgo\_CA1136 (Gene ID: 12815202),该基因全长为 261 bp,编码 86 个氨基酸。以 *D. gobiensis* I-0 基因组 DNA 为模板,PCR 扩增出 328 bp 的片段与预期结果一致。将 PCR 产物先克隆至 pGEM-T Easy 载体,阳性克隆测序正确后,重组质粒经 *Spe* I / *Nde* I 双酶切,再将 *csp1* 片段连接至 pRADZ3 载体,获得重组表达质粒 pZ3-*csp1*,双酶切鉴定结果如图 2 所示。

### 2.2 *csp1* 表达增强大肠杆菌非生物胁迫抗性

本研究对指数生长初期的 *csp1* 表达菌株 (Z3-*csp1*) 和对照菌株 (Z3) 进行低温冲击实验,经 4℃低

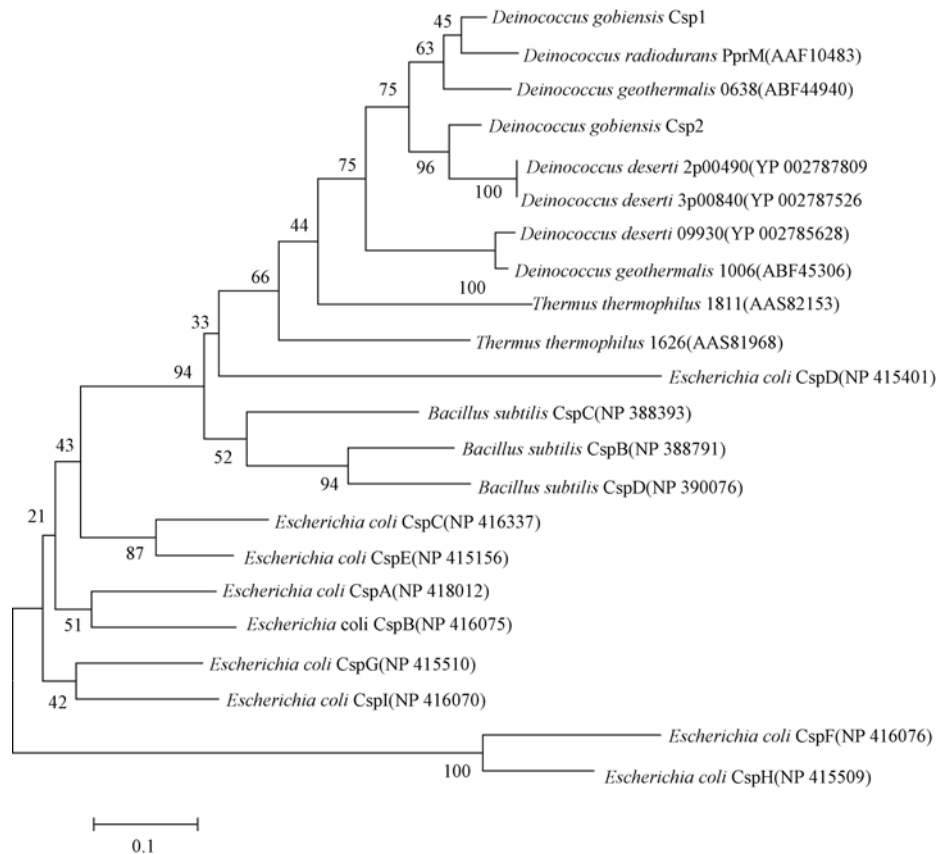


图 1 Csp 同源物的系统进化分析

Fig. 1 Phylogenetic relationship of Csp homologs among *E. coli* (CspA to CspI), *B. subtilis* (CspB to CspD), *D. radiodurans*, *D. geothermalis*, *D. gobiensis* and *T. thermophilus*.

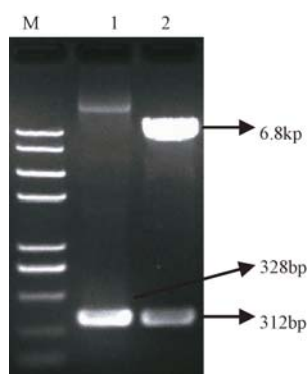


图 2 *csp1* 基因的 PCR 扩增和重组表达载体的酶切鉴定  
Fig. 2 Amplification of *csp1* by PCR and identification of the recombinant expression vector by double digestion  
Lane M, *Trans 2 K PlusII* DNA marker; Lane 1, PCR products of *csp1*; Lane 2, double digestion products of pZ3-*csp1*

温冲击 2h 后, *csp1* 表达菌株的耐受能力优于对照菌株, 推测 *D. gobiensis* 1—0 *csp1* 的表达在细胞应对冷环境过程中发挥重要作用。进一步对菌株在其他非生物胁迫条件下的细胞耐受能力进行分析, 结果显示 (图 3),  $2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl 和  $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  山梨糖醇冲击 2h 后, *csp1* 表达菌株的耐受能力均比对照菌株高出一个数量级, 而用 UV 辐照处理后, 对照菌株和 *csp1* 表达菌株没有任何差异, 表明 Csp1 的表达增强了 *E. coli* 对高盐和干旱的耐受能力, 但不能提高细胞的辐射抗性。

### 2.3 *csp1* 表达对海藻糖代谢相关基因表达水平的影响

海藻糖是一种渗透保护物质, 在细胞非生物胁迫抗性中发挥着重要作用。本研究分析了海藻糖合成与降解途径中相关基因在 *csp1* 重组菌株 (携带 *csp1* 表达的 *E. coli*) 和对照菌株 (含空质粒的 *E. coli*) 转录水平上的变化。提取盐胁迫条件下生长至对数初期菌体总 RNA, 以 *E. coli* 16s 为内参, 荧光定量 PCR 分析显示, 盐胁迫条件下 *csp1* 重组菌株较含空质粒载体对

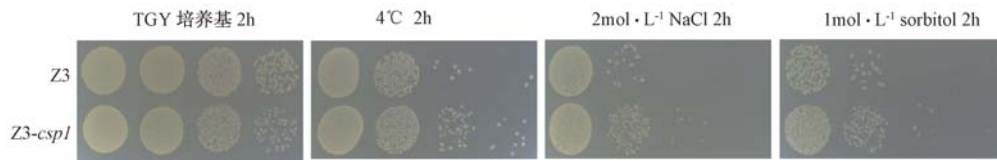


图 3 不同逆境胁迫对 *csp1* 表达菌株及对照菌株生长的影响

Fig. 3 Effects of different stress on growth of *csp1*-expressing strain and control strain

照菌株的海藻糖合成基因 (*otsA* 和 *otsB*) 表达显著上调 (分别上调 40 倍和 25 倍以上), 而降解途径中的基因 (*treB*、*treC*) 表达无明显变化 (图 4)。推测 *csp1* 导致了 *E. coli* 中胞内海藻糖的积累, 可能是增强了细胞对盐胁迫抗性的有效途径之一。

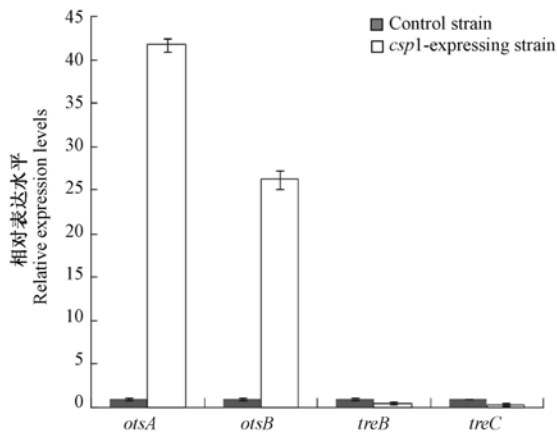


图 4 海藻糖代谢途径相关基因的相对表达水平

Fig. 4 Relative expression levels of genes involved in metabolic pathway of trehalose

■对照菌株; □*csp1* 表达菌株

### 3 讨论

研究表明冷激蛋白可作为 RNA 分子伴侣与 mRNA 结合, 具有稳定 mRNA, 促进转录、翻译的作用<sup>[11]</sup>, 参与渗透胁迫和营养胁迫调控等细胞过程<sup>[2,15]</sup>。至今已发现许多生物 (包括人类到原核生物) 都存在冷激蛋白, 大多含有多个冷激蛋白。大肠杆菌 *Escherichia coli* 含有 9 种冷激蛋白 CspA-CspI<sup>[16]</sup>, CspA、CspB、CspG、CspI 为低温诱导型冷激蛋白, CspA、CspB、CspE 和 CspG 全部缺失的细胞对低温敏感<sup>[17]</sup>; 枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 含有 3 个冷激蛋白同源物 (CspB、CspC 和 CspD), 至少一种蛋白是该

菌在正常和低温条件下生长所必需的<sup>[9]</sup>。李斯特氏菌 *Listeria monocytogenes* 存在 3 种冷激蛋白同源物, 这 3 种冷激蛋白都不是细胞生长必需的, 但在细胞抵御低温和高渗胁迫中起到重要作用<sup>[18]</sup>; 梭状芽胞杆菌 *Clostridium botulinum* ATCC 3502 也存在 3 种冷激蛋白, CspB 或 CspC 缺失的梭状芽胞杆菌对低温敏感, 而 *cspA* 突变株在正常或低温条件下的生长速度却大于野生型菌株<sup>[19]</sup>。*D. radiodurans* 存在唯一一个冷激同源蛋白 (PprM), 参与应对辐射损伤的信号传导途径, 缺失 PprM 导致细胞辐射敏感<sup>[12]</sup>, 而且干燥处理 20d 后, *pprM* 突变株存活率为 1.6%, 野生型 R1 存活率为 63.9%, 表明 *pprM* 突变使细胞对干旱胁迫敏感<sup>[20]</sup>。2008 年, Monsanto 公司成功将来自 *B. subtilis* 的 *cspB* 基因转入玉米、拟南芥以及水稻中并表达, 获得了抗旱抗冷特性的转基因植物<sup>[13, 21]</sup>。本研究发现戈壁异常球菌 Csp1 并不能增强大肠杆菌对 UV 辐射的抗性, 但能增强大肠杆菌低温胁迫抗性, 且提高大肠杆菌的高盐、干旱胁迫抗性 (图 3)。

生物体在长期进化过程中形成了一套完整的抗调节机制, 通过合成甘露醇、甜菜碱、脯氨酸、海藻糖等小分子相容性物质以平衡细胞渗透压, 维持正常代谢活动<sup>[22]</sup>。海藻糖在生物体中广泛存在, 对机体具有抗逆保护作用<sup>[23]</sup>, 作为非还原性双糖, 它既是能源和碳源的储备物<sup>[24]</sup>, 又是蛋白质和生物膜分子在脱水、高温、氧自由基、低温等恶劣环境中的稳定剂和保护剂<sup>[25]</sup>, 在抵御逆境胁迫过程中起着重要的作用。本研究荧光定量 PCR 结果显示, 在含有  $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl 的 LB 中培养后, 与对照菌株相比, Csp1 表达菌株中海藻糖合成基因 *otsA* 和 *otsB* 表达显著上调, 而海藻糖降解基因 (*treB*、*treC*) 无显著变化。表明在盐胁迫条件下, 细胞内将积累海藻糖。推测 Csp1 表达能增加渗透保护物质在胞内的积累, 提高细胞对渗透胁迫的抗性。

### 参考文献:

- [1] Makarova K S, Aravind L, Wolf Y I, Tatusov R L, Minton K W, Koonin E V, Daly M J. Genome of the extremely radiation-resistant

- bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2001, 65: 44 – 79
- [ 2 ] Gao G, Tian B, Liu L, Sheng D, Shen B, Hua Y. Expression of *Deinococcus radiodurans* PprI Enhances the Radioresistance of *Escherichia coli* [J]. *DNA Repair*, 2003, 2: 1419 – 1427
- [ 3 ] 乐东海, 高冠军, 华跃进. 耐辐射球菌 *pprI* 在大肠杆菌中表达增强细胞抗氧化能力的研究 [J]. *微生物学报*, 2004, 44(3): 324 – 327
- [ 4 ] Pan J, Wang J, Zhou Z F, Yan Y L, Zhang W, Lu W, Ping S Z, Dai Q L, Yuan M L, Feng B, Hou X G, Zhang Y, Ma R Q, Liu T T, Feng L, Wang L, Chen M, Lin M. IrrE, a global regulator of extreme radiation resistance in *Deinococcus radiodurans*, enhances salt tolerance in *Escherichia coli* and *Brassica napus* [J]. *PLoS One*, 2009, 4: e4422
- [ 5 ] Jones P G, VanBogelen R A, Neidhardt F C. Induction of proteins in response to low temperature in *Escherichia coli* [J]. *Journal of Bacteriology*, 1987, 169(5): 2092 – 2095
- [ 6 ] Graumann P L and Marahiel M A. A superfamily of proteins that contain the cold-shock domain [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 1998, 23, 286 – 290
- [ 7 ] Thieringer H A, Jones P G, Inouye M. Cold shock and adaptation [J]. *Bioessays*, 1998, 20: 49 – 57
- [ 8 ] Phadtare S, Inouye M. Sequence-selective interactions with RNA by CspB, CspC and CspE, members of the CspA family of *Escherichia coli* [J]. *Molecular Microbiology*, 1999, 33(5): 1004 – 1014
- [ 9 ] Graumann P, Wendrich T M, Weber M H, Schröder K, Marahiel M A. A family of cold shock proteins in *Bacillus subtilis* is essential for cellular growth and for efficient protein synthesis at optimal and low temperatures [J]. *Molecular Microbiology*, 1997, 25: 741 – 756
- [ 10 ] Jones P G, Cashel M, Glaser G, Neidhardt F C. Function of a relaxed-like state following temperature downshifts in *Escherichia coli* [J]. *Journal of Bacteriology*, 1992, 174: 3903 – 3914
- [ 11 ] Jiang W, Hou Y, Inouye M. CspA, the major cold-shock protein of *Escherichia coli*, is an RNA chaperone [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272: 196 – 202
- [ 12 ] Ohba H, Satoh K, Sghaier H, Yanagisawa T, Narumi I. Identification of PprM: a modulator of the PprI-dependent DNA damage response in *Deinococcus radiodurans* [J]. *Extremophiles*, 2009, 13(3): 471 – 479
- [ 13 ] Castiglioni P, Warner D, Bensen R J, Anstrom D C, Harrison J, Stoecker M, Abad M, Kumar G, Salvador S, DOrdine R, Navarro S, Back S, Fernandes M, Targolli J, Dasgupta S, Bonin C, Luethy M H, Heard J E. Bacterial RNA chaperones confer abiotic stress tolerance in plants and improved grain yield in maize under water-limited conditions [J]. *Plant Physiology*, 2008, 147(2): 446 – 455
- [ 14 ] Yuan M L, Zhang W, Dai S M, Wu J, Wang Y D, Tao T S, Chen M, Lin M. *Deinococcus gobiensis* sp. nov., an extremely radiation-resistant bacterium [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59(6): 1513 – 1517
- [ 15 ] Hu K H, Liu E, Dean K, Gingas M, DeGraff W, Trun N J. Overproduction of Three Genes Leads to Camphor Resistance and Chromosome Condensation in *Escherichia coli* [J]. *Genetics*, 1996, 143(4): 1521 – 1532
- [ 16 ] Yamanaka K, Fang L, Inouye M. The CspA family in *Escherichia coli*: multiple gene duplication for stress adaptation [J]. *Molecular Microbiology*, 1998, 27: 247 – 255
- [ 17 ] Xia B, Etchegaray J P, Inouye M. Nonsense mutations in *cspA* cause ribosome trapping leading to complete growth inhibition and cell death at low temperature in *Escherichia coli* [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276: 35581 – 35588
- [ 18 ] Schmid B, Klumpp J, Raimann E, Loessner M J, Stephan R, Tasara T. Role of Cold Shock Proteins in Growth of *Listeria monocytogenes* under Cold and Osmotic Stress Conditions [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(6): 1621 – 1627
- [ 19 ] Söderholm H, Lindström M, Somervuo P, Heap J, Minton N, Lindén J, Korkeala H. *cspB* Encodes a Major Cold Shock Protein in *Clostridium botulinum* ATCC 3502 [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 146(1): 23 – 30
- [ 20 ] 王 玮. 中国核试验区耐辐射微生物资源与研究 [D]. 南京: 南京工业大学, 2012
- [ 21 ] Anstrom D, Hammond B, Headrick J, Heard J E. Drought Tolerant Corn with Reduced Mycotoxin :US20090100544. [P]. 2008 – 10 – 10
- [ 22 ] Larsen P I, Sydnes L K, Landfald B, Strøm A R. Osmoregulation in *Escherichia coli* by accumulation of organic osmolytes: betaines, glutamic acid, and trehalose [J]. *Archives of Microbiology*, 1987, 147(1): 1 – 7
- [ 23 ] Crowe J H, Hoekstra F A, Crowe L M. Anhydrobiosis [J]. *Annual Review of Physiology*, 1992, 54: 579 – 599
- [ 24 ] Thevelein J M. Regulation of trehalose mobilization in fungi [J]. *Microbiological Reviews*, 1984, 48(1): 42 – 59
- [ 25 ] Crowe J H, Crowe L M, Chapman D. Preservation of membranes in anhydrobiotic organism: the role of trehalose [J]. *Science*, 1984, 223: 701 – 703

## ***Deinococcus gobiensis* Cold Shock Protein Improves Salt Stress Tolerance of *Escherichia coli***

JIANG Shi-jie<sup>1,2</sup> YANG Ming-kun<sup>2</sup> CHEN Ming<sup>2</sup> ZHANG Wei<sup>2</sup>  
WANG Jin<sup>1,2</sup> LUO Xue-gang<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Life Science and Engineering College, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010;

<sup>2</sup>Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** The *Deinococcus gobiensis* I-0, an extremely radiation-resistant bacterium, isolated from the Gobi, has superior resistance to abiotic stress (e. g radiation, oxidation, dehydration and so on). The two cold-shock proteins encoded by *csp1* (Dgo\_CA1136) and *csp2* (Dgo\_PA0041) were identified in the complete genome sequence of *D. gobiensis*. In this study, we showed that *D. gobiensis* Csp1 protected *Escherichia coli* cells against cold shock and other abiotic stresses such as salt and osmotic shocks. The quantitative real-time PCR assay shows that the expression of trehalose synthase (*otsA*, *otsB*) was up-regulated remarkably under salt stress in the *csp1* – expressing strain, while no difference in the expression of the genes involved in trehalose degradation (*treB* and *treC*). The results suggested that Csp1 caused the accumulation of the trehalose was a major feature for improving tolerance to salt stress in *E. coli*.

**Key words:** *Deinococcus gobiensis*; Csp1; *Escherichia coli*; Salt stress; Trehalose