

文章编号:1000-8551(2012)06-0900-06

奇球菌属类胡萝卜素提取物的抗氧化活性研究

王飞 封琼 刘程智 林琳 田兵 华跃进

(浙江大学原子核农业科学研究所/农业部核农学重点开放实验室,浙江 杭州 310029)

摘要:从不同种奇球菌属(*Deinococci*)细菌中分离提取类胡萝卜素,并利用高效液相色谱分析了提取物的组成和性质。通过DPPH自由基和超氧自由基清除试验,比较了不同菌种来源的类胡萝卜素提取物的抗氧化能力,结果发现,*D. radiopugnans*和*D. radiodurans*提取物的体外抗氧化能力最强,在浓度为0.6 $\mu\text{g/ml}$ 时DPPH自由基清除率都达到46%左右;*D. radiopugnans*提取物的超氧自由基清除活性较强,在浓度为3 $\mu\text{g/ml}$ 时清除率达到42.99%。同时,采取体外蛋白质氧化抑制试验和脂类氧化抑制能力测定分析比较了不同种类提取物对大分子的保护作用,结果表明*D. radiopugnans*和*D. radiodurans*提取物具有较强的生物大分子氧化防护功能。以上研究为从具有极端环境适应能力的奇球菌属筛选抗氧化活性类胡萝卜素,并进一步研究其作用机制提供了基础。

关键词:奇球菌属;类胡萝卜素;抗氧化活性

SCREENING OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF CAROTENOID EXTRACTS FROM *Deinococcus*

WANG Fei FENG Qiong LIU Cheng-zhi LIN Lin TIAN Bing HUA Yue-jin

(Key Laboratory for Nuclear-Agricultural Sciences of Chinese Ministry of Agriculture and Zhejiang Province,
Institute of Nuclear-Agricultural Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029)

Abstract: Carotenoids from the species of *Deinococci* were extracted and analyzed by using HPLC for their composition and property. By measurements of DPPH radical and superoxide radical scavenging activities, antioxidant capacities of different pigments from *Deinococcus* were investigated. The results showed that the carotenoid extracts of *D. radiopugnans* and *D. radiodurans* had stronger antioxidant capacities *in vitro*, which about 46% DPPH radicals were scavenged at the concentration of 0.6 $\mu\text{g/ml}$. Carotenoid extract from *D. radiopugnans* showed the strongest superoxide radical scavenging activity among all the tested samples, with 42.99% of superoxide radicals were scavenged at the concentration of 3 $\mu\text{g/ml}$. Furthermore, the protective effects of different extracts on biomacromolecule by inhibition of protein oxidation and protection of lipid oxidation were compared. Results showed that extracts from *D. radiopugnans* and *D. radiodurans* had strong protective abilities of biological macromolecules against oxidative damage. The present study helps screening the carotenoids with strong antioxidant capability from the extreme bacteria *Deinococcus*, and provides the basis for further research on their action mechanisms.

Key words: *Deinococcus*; carotenoids; antioxidant activity

收稿日期:2011-12-09 接受日期:2012-01-06

基金项目:国家“863”项目(2007AA021305),国家自然科学基金重点资助项目(30830006),重大新药创制科技重大专项(2009ZXJ09001-034),转基因生物新品种培育重大专项项目(2009ZX08009-075B),农业部行业专项“核技术农业应用”(200803034),中央高校基本科研业务费专项基金

作者简介:王飞(1987-),男,山东莱芜人,硕士研究生,研究方向为极端微生物适应机理。Tel:0571-86971251;E-mail:1149937778@qq

通讯作者:华跃进(1959-),男,浙江东阳人,博士生导师,教授,研究方向为生物物理学。Tel:0571-86971703;E-mail:yjhua@zju.edu.cn

奇球菌属 (*Deinococci*) 中大多数细菌有较强的耐辐射等极端抗性, 其中研究最多的是耐辐射奇球菌 (*Deinococcus radiodurans*, DR), 它被认为是迄今为止发现的最抗辐射的细菌之一, 可以耐受超过 15kGy 的电离辐射, 这种能力比大肠杆菌高 100 倍以上^[1]。经过长期研究, 我们发现 DR 所产生的特殊的类胡萝卜素对其耐辐射抗性有重要贡献^[2]。而这种色素本身, 不仅具有较强的抗氧化能力, 对生物大分子也有一定的保护作用。

类胡萝卜素 deinoxanthin 是 DR 特有的一种色素, 含有 13 个共轭双键, 在 C2 和 C1' 位各含一个羟基^[3]。研究表明, 较长的共轭双键系统和活性基团取代被认为对类胡萝卜素清除自由基能力有重大贡献。Deinoxanthin 作为 DR 菌非酶类抗氧化系统中的一种特殊天然化合物, 能有效清除活性氧自由基, 已有的研究证明这种特殊结构的类胡萝卜素比其他类胡萝卜素, 包括番茄红素 (lycopene) 和 β -胡萝卜素等 (β -carotene) 有更高的自由基清除能力^[4], 而且其清除效果与其浓度呈正比, 这种高效的自由基清除能力可能主要归功于 deinoxanthin 的特殊结构如 C3', 4'-双键、C1'-羟基和 C4-酮基取代^[2]。在奇球菌属中, 其他种细菌对辐射、氧化等极端环境压力也有着很强的抗性, 而其中大多数种也能够产生类胡萝卜素, 目前在已经获得基因组序列的奇球菌中均有类胡萝卜素合成基因同源物, 并能合成色素。因此, 这些类胡萝卜素可能对细菌的抗性有着很大的贡献。

本研究目的是通过对奇球菌属 7 种细菌类胡萝卜素进行分离提取和分析, 比较不同类胡萝卜素提取物的抗氧化活性, 以为筛选具有较强抗氧化能力的类胡萝卜素和研究其作用机制, 以及开发其抗氧化功效在医疗、保健等领域的应用价值提供基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌种 *Deinococcus deserti* DSM 17065T, *Deinococcus radiophilus* DSM 20551T, *Deinococcus proteolyticus* DSM 20540, *Deinococcus hopiensis* DSM 18049, *Deinococcus radiopugnans* DSM 12027 购自德国 DSMZ 公司; *Deinococcus radiodurans* R1 (ATCC 13939) 和 *Deinococcus geothermali* DSM 11300 为实验室保存。

1.1.2 培养基和培养条件 *D. proteolyticus*、*D. radiodurans*: TGY 培养基 (每升含有 5g 蛋白胨, 3g 酵母提取物, 1g 葡萄糖), 培养温度为 30℃。 *D.*

proteolyticus: TGY 培养基, 培养温度为 37℃。 *D. geothermali*: TGY 培养基, 培养温度为 50℃^[5]。 *D. deserti*, *D. radiophilus*, *D. radiopugnans*: 酪蛋白大豆肉汤培养基 (每升含 30g 酪蛋白大豆肉汤, 3g 蛋白胨), 培养温度为 30℃。

1.1.3 主要试剂及仪器 鲁米诺 (luminol), 过氧化氢 (H_2O_2), 邻苯三酚, 三氯乙酸, 乙酸乙酯, 过氧化氢酶均为分析纯 (上海生工生物工程有限公司)。2695 型 HPLC 液相分析仪 (Waters 公司); 化学发光分析仪 (Berthold 公司); M5 型酶标仪 (Molecular Devices 公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 类胡萝卜素的提取与含量测定^[6] 取 OD 值为 2.0 左右的菌体培养物 500ml 经 8000r/min 离心 5min 后, 去上清加入丙酮: 甲醇 (7: 2) 混合溶液 25ml, 冰浴震荡 30min, 离心, 去上清, 向沉淀继续加入溶剂, 重复直至菌体颜色变白。

类胡萝卜素含量采用分光光度法测定: 在 480nm 下测定色素的吸光度, 总胡萝卜素含量 (mg) = 光密度值 \times 总体积 (ml) \times 稀释倍数 $\times 10/2500$, 其中 2500 为类胡萝卜素平均摩尔消光系数。

1.2.2 高效液相色谱分析 色谱柱条件: 分析柱 SunFire™ C18 5um (4.6 \times 250mm Column); 流动相: 乙腈 (*D. deserti*; *D. radiophilus*; *D. proteolyticus* 和 *D. hopiensis*); 甲醇: 乙腈: 异丙醇 (5: 4: 1, V: V: V) (*D. radiopugnans*; *D. radiodurans* 和 *D. geothermali*); 流速: 1ml/min; 柱温: 35℃; 测定波长 480nm; 每次进样 20 μ l。

1.2.3 抗氧化能力分析

1.2.3.1 DPPH 自由基清除活性分析^[7] 将不同浓度梯度的类胡萝卜素提取物, 各取 1ml, 加入 3ml 浓度为 0.04g/L 的 DPPH 溶液, 混合均匀, 避光反应 30min 后, 在 580nm 处测定吸光值。

$$\text{DPPH 自由基清除率 (\%)} = [1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100$$

其中: A_i : 加抗氧化剂时 DPPH 溶液的吸光度; A_j : 提取液在测定波长时的吸光度; A_c : 未加抗氧化剂时 DPPH 溶液的吸光度。

1.2.3.2 超氧阴离子自由基清除活性分析^[8,9] 反应混合物中含有 50 μ l 鲁米诺 (1mmol/L), 700 μ l 50mmol/L 的碳酸缓冲盐溶液 (pH 值 10.2 含 0.1mmol/LEDTA), 加入 10 μ l 不同浓度待测样品后, 加入 100 μ l 邻苯三酚 (10mmol/L) 启动反应, 化学发光分析仪每秒记录发光强度。

自由基清除率(%) = $[(C_{\text{control}} - C_{\text{blank}}) - (C_{\text{sample}} - C_{\text{blank}})] / (C_{\text{control}} - C_{\text{blank}}) \times 100$

其中, C 表示 1min 内发光的积分面积, C_{control} 代表利用双蒸水代替色素, 加入邻苯三酚和鲁米诺的对照组, C_{sample} 代表加入不同色素的试验组, C_{blank} 代表没有加入鲁米诺和邻苯三酚的空白对照。

1.2.4 类胡萝卜素对生物大分子氧化的防护作用

1.2.4.1 TBARS 法测定色素对脂类氧化的保护作用^[4] 取 100 μl 待测样品与 500 μl 鸡蛋卵磷脂混合 (50mg/ml), 然后加入 100 μl FeSO_4 (1mmol/L) 和 100 μl 抗坏血酸 (0.1mmol/L) 于 37 $^\circ\text{C}$ 暗反应 1h, 再加入 0.5ml 10% 冷的三氯乙酸及 0.7ml 0.67% TBA, 加热煮沸 30min, 冷却至室温, 5000g 离心 10min。取上清于 532nm 处测 OD 值。

氧化抑制率(%) = $[(A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})] / (A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}) \times 100$

其中 A_{control} 为不加色素用双蒸水代替的对照组的光吸收值, A_{sample} 为试验组的光吸收值, A_{blank} 为不加 FeSO_4 和样品的空白组的光吸收值。

1.2.4.2 蛋白氧化抑制作用^[7] 取 200 μl 小牛血清蛋白 BSA (1mg/ml) 与 100 μl 不同样品混合, 然后加入 100 μl FeSO_4 (1mmol/L) 和 100 μl H_2O_2 (0.1mmol/L), 于 37 $^\circ\text{C}$ 孵育 30min 后, 加入 15 单位过氧化氢酶终止反应。再加入 600 μl DNPH, 暗反应 1h 后, 加入 10% 三氯乙酸 900 μl , 经 1300r/min 离心 15min, 去上清, 加入 1ml 乙醇/乙酸乙酯 (1:3) 洗掉多余 DNPH, 17000r/min 离心 15min, 沉淀用 1ml 6mol/L 的盐酸胍溶解, 离心后取上清液于 370nm 下测 OD 值。

氧化抑制率(%) = $[(A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})] / (A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}) \times 100$

其中 A_{control} 为不加色素用双蒸水代替的对照组的光吸收值, A_{sample} 为试验组的光吸收值, A_{blank} 为不加 FeSO_4 和样品的空白组的光吸收值。

2 结果与分析

2.1 菌体类胡萝卜素的提取和组成分析

利用有机溶剂提取法对 7 种奇球菌中的类胡萝卜素进行提取, 并用 HPLC 对类胡萝卜素组成进行了分析和比较。图 1 中 A, B, C, D 分别为 *D. deserti*、*D. radiopugnans*、*D. hopiensis*、*D. radiophilus* 中提取的类胡萝卜素的 HPLC 分析结果, *D. radiodurans* R1 提取物的 HPLC 分析结果见已发表论文^[8]。其他 2 种细菌的类胡萝卜素提取物由于没有明显的主要产物峰, 所以未

被列出。*D. radiodurans* 的主要产物在本试验条件下吸收峰一般出现在 3.5 ~ 4min 左右, 产物峰最大吸收波长在 479nm 和 504nm^[10]。从图中可以看出: (1) 类胡萝卜素提取物较为纯净, 不属于类胡萝卜素的物质较少。前期试验结果表明通过丙酮: 甲醇 (7:2) 提取的细菌类胡萝卜素提取物除类胡萝卜素, 杂质多为没有氧化活性的小脂类分子; (2) 对于不同的类胡萝卜素提取物而言, 其组分的液相色谱保留时间或最大吸收波长有所不同, 说明不同菌种中类胡萝卜素提取物的组成和产物结构可能有一定的差异, 可以推断不同的菌种里类胡萝卜素的种类是不同的。其中 *D. radiopugnans* 和 *D. hopiensis* 的类胡萝卜素组成与 *D. radiodurans* 相近, 特征吸收较为相似, 主要峰在 479nm 和 507nm 处出现最大吸收 (图 1 B, C), 但其产物结构有待进一步通过质谱、核磁共振等方法分析确定。而 *D. radiophilus* 中有 2 个主要的类胡萝卜素产物峰 (图 1D), 其吸收光谱特征不同于已发现的 *D. radiodurans* 类胡萝卜素 deinoxanthin, 可能具有不同的结构特征。

2.2 体外抗氧化活性比较

2.2.1 DPPH 自由基清除率比较 DPPH 自由基是一种较稳定的以氮为中心的自由基, 它的乙醇溶液呈紫色, 自由基清除剂可以与其单电子配对, 将溶液还原并呈现浅黄色。由图 2 可以看出, 不同的类胡萝卜素提取物均表现出一定的 DPPH 自由基清除能力。在较低浓度情况下, DPPH 自由基清除能力随浓度的升高而不断升高, 但是, 在浓度到达 0.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 后, 色素浓度的升高对自由基的清除能力不再增加。由图 2 还可看到, 不同色素对 DPPH 自由基清除的能力也是有所不同的, 当浓度为 0.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, *D. radiopugnans* 和 *D. radiodurans* 2 种细菌的类胡萝卜素提取物对 DPPH 清除率达 46% 左右, 而 *D. deserti* 的类胡萝卜素提取物对 DPPH 自由基的清除效率只在 30% 左右。

2.2.2 超氧自由基清除率比较 化学发光方法测定的原理是激发态的活性氧自由基返回基态时, 一部分能量以光子的形式释放, 产生化学发光, 所以发光强度与活性氧自由基的数量呈线性关系, 当有抗氧化物质存在时, 发光强度受到抑制。各物质对超氧阴离子自由基的清除效果如图 3 所示。*D. radiopugnans*, *D. deserti*, *D. radiodurans*, *D. geothermali* 的类胡萝卜素提取物能够对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 起到明显的抑制作用, 而且随着浓度的升高抑制作用呈线性增强, 在提取物浓度为 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, *D. radiopugnans* 的抑制作用达到 42.99%, *D. proteolyticus* 的类胡萝卜素提取物对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的氧化作用几乎没有影响, 另外 2 种细菌产生的类胡萝卜素提取物

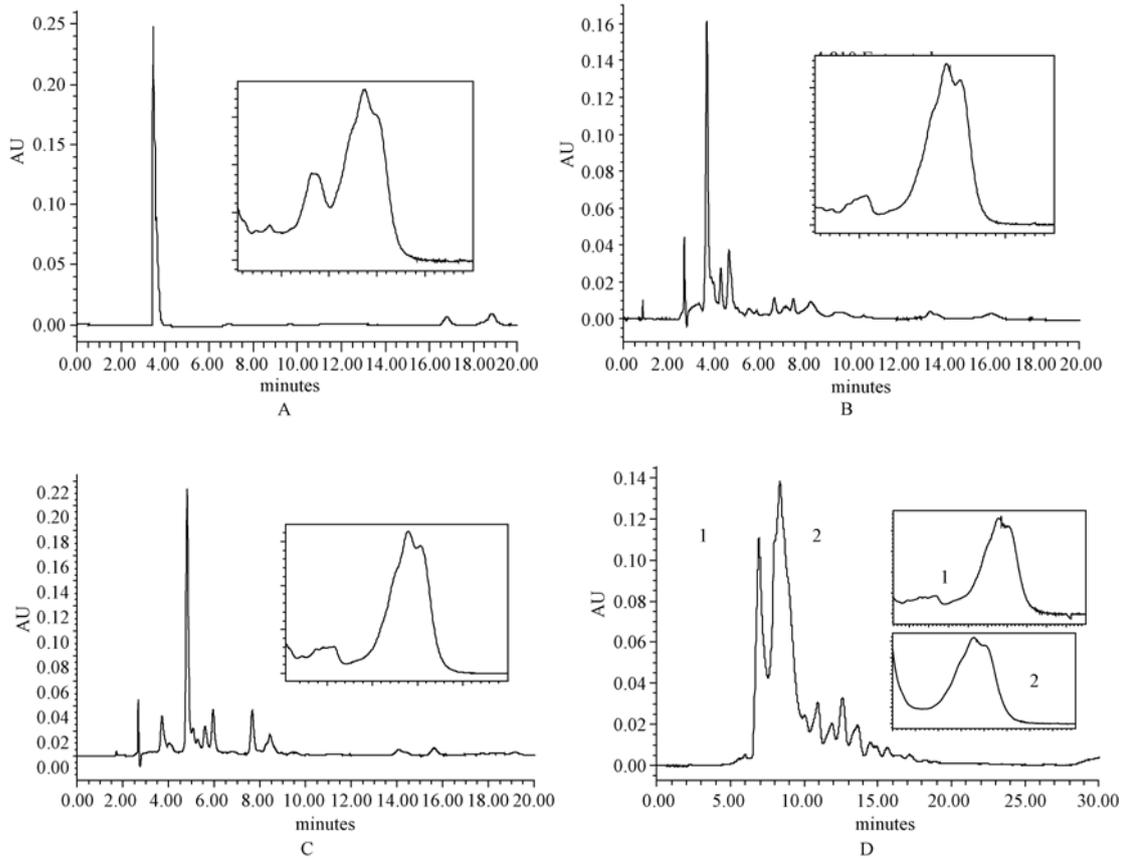


图 1 奇球菌类胡萝卜素提取物的 HPLC 分析

Fig. 1 HPLC analyses of pigments extracts from *Deinococci*
(A) *D. deserti* (B) *D. radiopugnans* (C) *D. hopiensis* (D) *D. radiophilus*

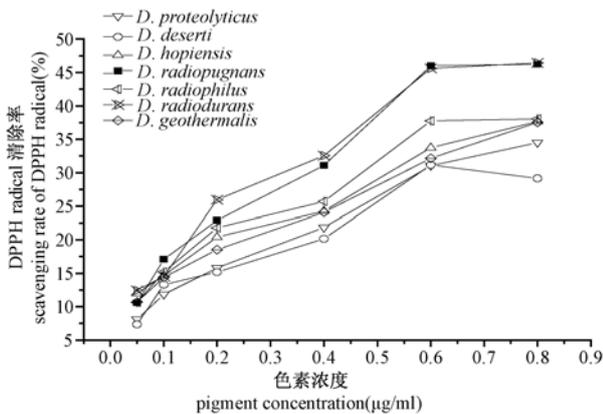


图 2 各物质对 DPPH 自由基的清除能力

Fig. 2 DPPH scavenging rate of different material

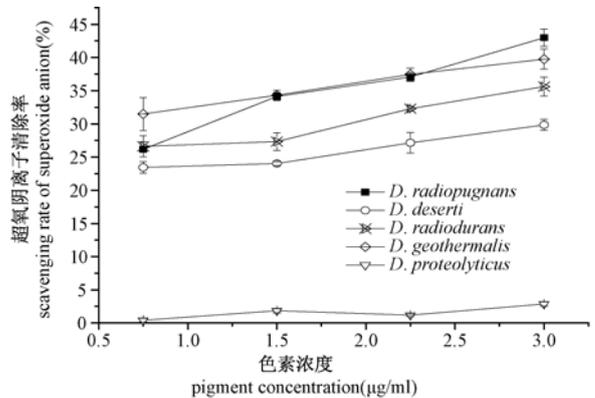


图 3 各物质对超氧阴离子自由基的清除能力

Fig. 3 Scavenging effects of different material on $O_2^{\cdot-}$

对 $O_2^{\cdot-}$ 的氧化作用不但没有抑制作用反而随着色素浓度的提高,促进了 $O_2^{\cdot-}$ 的氧化作用,具体原因还有待于更进一步的研究。

2.3 类胡萝卜素对生物大分子氧化的防护作用

2.3.1 对脂类氧化的保护作用 TBARS 测定脂类氧化作用是通过被氧化的脂类与硫代巴比妥酸(TBA)反

应生成粉红色物质,在 532nm 处有最大吸收峰,而通过加入抑制剂,可以抑制粉红色物质的形成,使得反应产物在 532nm 处 OD 值减少。各物质对脂质氧化的抑制效果如图 4 所示。部分菌的色素对脂类氧化的抑制作用明显,如 *D. radiopugnans* 和 *D. radiodurans* 的色素在浓度为 $3\mu\text{g/ml}$ 时,对脂类氧化的抑制作用达到

32%左右,而 *D. deserti* 和 *D. hopiensis* 的提取物在相同浓度下,抑制率只有 11% 和 9% 左右,仅为 *D. radiopugnans* 和 *D. radiodurans* 的三分之一左右。

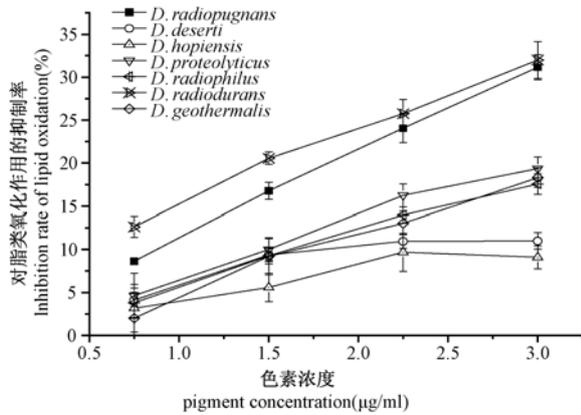


图4 对脂类氧化的抑制作用
Fig. 4 Inhibition of different pigments on lipid oxidation

2.3.2 对蛋白氧化损伤的抑制作用 为测定不同类胡萝卜素提取物对蛋白氧化作用的影响,本研究通过牛血清蛋白体外氧化试验进行分析测定(由于在试验过程中 *D. hopiensis* 的类胡萝卜素提取物与蛋白质作用均未能产生沉淀,故未能测定其对蛋白质氧化的抑制作用)。图5表明,在浓度为 3µg/ml 的条件下,不同类胡萝卜素提取物对牛血清蛋白氧化损伤的影响有很大差别, *D. radiopugnans*, *D. geothermalis* 和 *D. radiodurans* 3种细菌的类胡萝卜素提取物对牛血清蛋白的抑制率分别达到 71%, 62% 和 67%,表现出显著的蛋白质氧化抑制作用。值得注意的是,来自 *D. radiophilus* 的类胡萝卜素提取物,非但没有抑制蛋白的氧化作用,反而一定程度上促进了蛋白的氧化,这种促氧化效应的具体原因有待进一步研究。

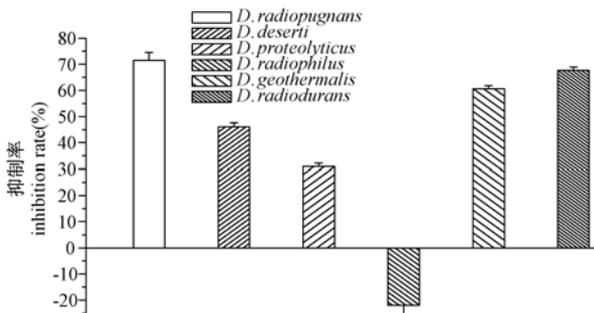


图5 类胡萝卜素提取物对蛋白氧化抑制作用
Fig. 5 Inhibition of different pigments on protein oxidation

3 讨论

Deinococcus radiodurans 被认为是现今为止地球上发现的抗辐射能力最强的细菌之一,其所在的奇球菌属(*Deinococci*)已经发现了超过 30 种以上的细菌^[11],而且已经得到了其中部分菌种的全基因组序列,对于 *Deinococci* 属的细菌而言,他们有许多特点,然而其中最明显的特点在于其对紫外线、电离辐射和氧化压力等极端环境压力具有极强的抗性^[12]。*Deinococcus* 属的这种特性与它们对活性氧的防护以及修复细胞内大分子能力有关。虽然国内外学者已经做了很多关于 *Deinococci* 属基因组修复方面的研究,但对 *Deinococci* 属细菌极端抗氧化能力的原因仍然并不完全明朗。

D. radiodurans 中的类胡萝卜素(Deinoxanthin)已被证明有很强的抗氧化能力,对菌体的抗性有重要的贡献。我们推断 *Deinococci* 属的其他细菌所含有的类胡萝卜素提取物对氧化压力也有很强的抗性。DPPH 及超氧阴离子自由基清除试验结果表明,不同种类的类胡萝卜素提取物其体外抗氧化能力有所不同,而其中较强的是 *D. radiopugnans* 的类胡萝卜素提取物,在相同浓度下,它与我们前期主要研究的 *D. radiodurans* 类胡萝卜素产物抗氧化能力相类似。且 *D. radiopugnans* 和 *D. radiodurans* 类胡萝卜素提取物对脂类、蛋白质等大分子的损伤具有较好的抑制作用。

D. radiopugnans 最早在美国马萨诸塞州的黑线鳕组织和南极洲的风化石中发现^[13],对于 *D. radiopugnans* 的研究远远低于 *D. radiodurans*,目前仅对其 DNA-binding 蛋白的研究有进展,有希望开发成为新的生物药物^[14]。然而对其类胡萝卜素提取物的研究仍处于起步阶段,本研究结果表明 *D. radiopugnans* 的类胡萝卜素提取物可能是除 *D. radiodurans* 类胡萝卜素之外的又一种抗氧化活性较强的物质,但其组成和结构有待进一步的分析 and 鉴定。研究证明不饱和双键的数目和羟基的有无及数目多寡对类胡萝卜素的抗氧化能力具有非常重要的作用。共轭双键越长,共轭双键的分子轨道重叠程度越高,其通过加成反应清除活性氧的能力就越强,所以我们认为 *D. radiopugnans* 中色素应该比其他细菌的色素有更多的双键和羟基。另外,需要用体内试验等进一步证实这些类胡萝卜素在生物体内的抗氧化作用机制及其应用价值。希望通过本研究开启一个新的抗氧化生物药物筛选和作用机制研究工作,为下一步的药理学研究奠定基础。

参考文献:

- [1] Xu X L, Shen J Y, Dunn C A. The Nudix hydrolases of *Deinococcus radiodurans*[J]. Molecular Microbiology, 2001, 39(2): 286 - 290
- [2] Sun Z, Shen S, Tian B, Wang H, Xu Z, Wang L, Hua Y. Functional analysis of gamma-carotene ketolase involved in the carotenoid biosynthesis of *Deinococcus radiodurans* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2009, 301:21 - 27
- [3] Woodall A A, Lee S W, Weesie R J, Jackson M J, Britton G. Oxidation of carotenoids by free radicals; relationship between structure and reactivity [J]. Biochim Biophys Acta, 1997, 1336 (1): 33 - 42
- [4] Tian B, Xu Z, Sun Z Lin J, Hua Y. Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence, and DNA damage analyses [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1770(6): 902 - 911
- [5] Tian B, Wang H, Ma X, Hu Y, Sun Z, Shen S, Wang F, Hua Y. Proteomic analysis of membrane proteins from a radioresistant and moderate thermophilic bacterium *Deinococcus geothermalis* [J]. Molecular Biosystems, 2010, 6:2068 - 2077
- [6] 王业勤, 李勤生. 天然类胡萝卜素研究进展、生产、应用 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996:158
- [7] Tian B, Sun Z, Shen S, Wang H, Jiao J, Wang L, Hu Y, Hua Y. Effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* on protein oxidation [J]. Letters in Applied Microbiology, 2009, 49:689 - 694
- [8] Tian B, Sun Z, Xu Z, Hua Y. Chemiluminescence analysis of the prooxidant and antioxidant effects of epigallocatechin-3-gallate [J]. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 2007, 16 (Suppl) 1:153 - 157
- [9] Dominguez-Rebolledo A E, Martinez-Pastor F, Fernandez-Santos M R, del Olmo E, Bisbal A, Ros-Santaella J L, Garde J J. Comparison of the TBARS assay and BODIPY C11 probes for assessing lipid peroxidation in red deer spermatozoa [J]. Reproduction in Domestic Animals-Zuchthygiene, 2010, 45:e360 - 368
- [10] Lemeé L, Peuchant E, Clerc M, Brunner M, Pfander H. Deinoxanthin: a new carotenoid isolated from *Deinococcus radiodurans*[J]. Tetrahedron, 1997: 919 - 926
- [11] Jung S, Joe M, Im S, Kim D, Lim S. Comparison of the genomes of deinococcal species using oligonucleotide microarrays [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 20:1637 - 1646
- [12] Seo H J, Lee Y N. Occurrence of thioredoxin reductase in *Deinococcus* species, the UV resistant bacteria [J]. Journal of Microbiology, 2006, 44:461 - 465
- [13] Masters C I, Murray R G, Moseley B E, Minton K W. DNA polymorphisms in new isolates of ' *Deinococcus radiopugnans* ' [J]. Journal of General Microbiology, 1991, 137:1459 - 1469
- [14] Filipkowski P, Koziatek M, Kur J. A highly thermostable, homodimeric single-stranded DNA-binding protein from *Deinococcus radiopugnans* [J]. Extremophiles: Life under Extreme Conditions, 2006, 10:607 - 614

(责任编辑 邱爱枝)