

## МЕХАНИЗМЫ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ И РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У РАДИОРЕЗИСТЕНТНОЙ БАКТЕРИИ *Deinococcus radiodurans*

### Обзор

© 2015 А.А. Агапов<sup>1,2\*</sup>, А.В. Кульбачинский<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики РАН,  
123182 Москва, пл. Курчатова, 2; факс: +7(499)196-0221,  
электронная почта: akulb@img.ras.ru, al.a.agapov@gmail.com

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
биологический факультет, 119991 Москва

Поступила в редакцию 13.04.15  
После доработки 26.05.15

Бактерия *Deinococcus radiodurans* обладает исключительной устойчивостью к действию высоких доз ионизирующей радиации, окислительному стрессу, обезвоживанию и другим повреждающим воздействиям. В обзоре рассмотрены основные механизмы, обеспечивающие такую устойчивость, в т.ч. действие систем репарации ДНК и защиты клеток от окислительного стресса, а также особенности регуляции транскрипции в условиях стресса.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** *Deinococcus radiodurans*, радиоустойчивость, повреждения ДНК, окислительный стресс, регуляция экспрессии генов, транскрипция, РНК-полимераза.

### ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ *Deinococcus radiodurans*

*Deinococcus radiodurans* – грамположительная мезофильная аэробная непатогенная бактерия, не обладающая способностью к спорообразованию. Клетки *D. radiodurans* имеют кокковидную форму и часто образуют диады и тетрады. Колонии имеют розовую окраску. Характерной особенностью является высокая устойчивость к радиации. Бактерии вида *D. radiodurans* впервые были выделены из мясных консервов, стерилизованных с помощью радиоактивного излучения [1]. Культура *D. radiodurans* переносит облучение в 10 000 Гр без гибели клеток, т.е. оказывается в 30 раз устойчивее клеток *E. coli* и в 1000 раз – культуры клеток человека [2]. Помимо  $\gamma$ -излучения клетки *D. radiodurans* демонстрируют высо-

кую степень устойчивости к ультрафиолетовому облучению, обезвоживанию, обработке рядом химических агентов, таких как митомицин С и перекись водорода (см. обзор Слэйд и Радмана [3]).

В течение долгого времени считалось, что в клетке главной мишенью для деструктивного воздействия различных стрессовых факторов, в особенности радиоактивного излучения, является ДНК. В связи с этим исследования стрессоустойчивости *D. radiodurans* были в основном направлены на поиск уникальных механизмов защиты и репарации ДНК, обеспечивающих сохранение генома в повреждающих условиях. Однако работы последних лет показали, что в основе устойчивости клеток *D. radiodurans* прежде всего может лежать их способность защищать протеом от окислительного стресса, который является общим следствием различных повреждающих воздействий [3–6]. Суммируя все доступные данные, можно перечислить следующие факторы, которые, как предполагается, вносят вклад в стрессоустойчивость *D. radiodurans*: 1) особенности структуры клеточной стенки, 2) особенности устройства и упаковки генома, 3) эффективная работа систем репарации ДНК, 4) защита протеома от окислительного

Принятые сокращения: NER – эксцизионная репарация нуклеотидов (nucleotide excision repair), BER – эксцизионная репарация оснований (base excision repair), MMR – репарация ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch repair), АФК – активные формы кислорода.

\* Адресат для корреспонденции.

стресса, 5) активное удаление из клеток токсичных соединений, 6) особенности регуляции экспрессии генов в стрессовых условиях.

В последние годы опубликовано несколько прекрасных обзоров о механизмах стрессоустойчивости *D. radiodurans* [3, 7–9], включая исчерпывающий обзор Слэйд и Радмана [3]. В данном обзоре кратко рассмотрены основные механизмы, позволяющие сохранить целостность клеток, ДНК и белков *D. radiodurans* в стрессовых условиях. Основное внимание уделено свежим публикациям в этой области, а также механизмам регуляции транскрипции у *D. radiodurans*.

### СТРОЕНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ОБОЛОЧКИ *D. radiodurans*

Клеточная оболочка *D. radiodurans* содержит две мембраны, разделенные слоем пептидогликана. Несмотря на наличие двух мембран, высокое содержание пептидогликана и отсутствие липополисахаридов свидетельствуют о родстве *D. radiodurans* с грамположительными бактериями. Кроме того, *D. radiodurans* отличается от других бактерий по фосфолипидному составу мембран [10, 11]. Снаружи от внешней мембраны находится белковый S-слой и углеводная оболочка [12]. Внешняя мембрана, S-слой и углеводы прочно связаны в единую структуру, «розовую оболочку», в которой локализируются каротиноиды, обуславливающие розовую окраску бактерий [13]. По последним данным внутренняя мембрана также связана с внешней мембраной белковыми комплексами, ключевую структурную роль в которых играет D-белок [14]. Основным белком S-слоя является Hpi, который образует гексагональные структуры [13]. Важную связующую роль в розовой оболочке выполняет также белок SlpA S-слоя [15]. Предполагают, что S-слой придает клеточной оболочке жесткость, возможность связываться с различными лигандами, способствует устойчивости к внешним стрессовым факторам.

Геном *D. radiodurans* содержит 13 генов, кодирующих ферменты синтеза каротиноидов [16]. Для сравнения, у зеленых серных бактерий и цианобактерий обнаруживаются до 9 и 10 таких генов соответственно [17, 18]. Предполагается, что каротиноиды в мембранах выполняют протекторную роль: предотвращают продукцию и ликвидируют уже образовавшиеся свободные радикалы. В опытах *in vitro* было показано, что фракция каротиноидов из *D. radiodurans* обладает белок-протекторными свойствами. В штаммах, лишенных каротиноидов, белки при окислительном стрессе повреждаются несколько

сильнее [19]. Тем не менее клетки *D. radiodurans*, лишенные этих пигментов, лишь немного менее устойчивы к облучению, чем бактерии дикого типа [20]. Это можно объяснить тем, что свободные радикалы эффективно утилизируются другими системами без участия каротиноидов либо тем, что мембраны не являются основной мишенью для действия облучения (см. ниже) [3].

### ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА И РАДИОУСТОЙЧИВОСТЬ

Геном *D. radiodurans* имеет размер 3,28 млн пар нуклеотидов и состоит из двух кольцевых хромосом и двух плазмид [21]. При этом на стадии экспоненциального роста культуры в одной клетке присутствует ~10 копий генома [22]. Количество ДНК зависит от условий и фазы роста, но не опускается ниже двух геномных копий. Эта особенность позволяет бактериям проводить репарацию поврежденной ДНК, в т.ч. двуниевых разрывов, возникающих под действием ионизирующего излучения, с помощью гомологичной рекомбинации.

Сравнение последовательностей генов 16S рРНК и белков домашнего хозяйства показывает, что род *Deinococcus* относится к грамположительным бактериям и филогенетически близок к роду *Thermus* [16, 21, 23]. После дивергенции общего предка этих двух родов *Deinococcus* получил системы устойчивости к стрессовым воздействиям от самых разных бактерий [24]. В результате геном *Deinococcus* имеет мозаичный характер: большая часть гомологична *Thermus*- и *Bacillus*-подобным геномам, а отдельные гены имеют общее происхождение с генами организмов самых разных таксонов, в т.ч. архей и эукариот. Такой обширный горизонтальный перенос генов возможен по причине способности клеток *D. radiodurans* к естественной трансформации [25, 26]. Интересно, что клетки *D. radiodurans* гораздо успешнее трансформируются ДНК, подвергнутой ультрафиолетовому облучению, по сравнению с другими бактериями [25]. Это может быть результатом более эффективной работы репаративных систем в клетках *D. radiodurans* (см. ниже). Клетки *D. radiodurans* могут включать в свой геном огромные количества чужеродной ДНК, до 500 тыс. пар нуклеотидов, что составляет более 10% генома [27]. В оболочке *D. radiodurans* обнаружен ДНК-процессирующий комплекс, включающий в свой состав ДНК-транслокатор [14], который, вероятно, играет роль в высокой способности *D. radiodurans* к трансформации.

Геном *D. radiodurans* подвергается значительной упаковке и формирует нуклеоид тороидаль-

ной формы, что может являться механизмом защиты ДНК от мутагенных воздействий, в т.ч. ионизирующего излучения и активных радикалов, продуцируемых в клетке этим излучением [28–30]. Несмотря на это, ионизирующее излучение приводит к сравнимому уровню первичных повреждений ДНК в клетках *D. radiodurans* и *E. coli* [31]. Однако особенности структуры нуклеоида *D. radiodurans* могут способствовать сближению фрагментов ДНК, образовавшихся в результате двунитевых разрывов, что, вероятно, облегчает их репарацию.

### МЕХАНИЗМЫ РЕПАРАЦИИ ДНК В КЛЕТКАХ *D. radiodurans*

Репарационные системы *D. radiodurans* весьма эффективны: бактерия может успешно восстанавливать до 200 двунитевых разрывов и 190 межнитевых сшивок на одну геномную копию без потери жизнеспособности, в то время как клетки *E. coli* погибают уже после десятка двунитевых разрывов ДНК. Кроме того, *D. radiodurans* чрезвычайно устойчив к таким повреждениям азотистых оснований, как алкилирование, дезаминирование и окисление [3]. В клетках *D. radiodurans* функционирует большинство путей репарации ДНК, описанных у бактерий, которые кратко рассмотрены ниже (табл. 1).

**Гомологичная рекомбинация.** Многокопийность генома *D. radiodurans* позволяет широко использовать гомологичную рекомбинацию в качестве

основного механизма репарации двунитевых разрывов. Механизмы гомологичной рекомбинации также играют важную роль в исправлении других типов повреждений ДНК, в т.ч. межнитевых сшивок и фотопродуктов [3].

Важнейшим этапом гомологичной рекомбинации у бактерий является связывание белка RecA с одонитевым участком ДНК. Для этого ДНК в месте разрыва должна быть процессирована с образованием выступающего 3'-концевого фрагмента цепи. Эту операцию в бактериальных клетках может выполнять либо RecBCD-, либо RecFOR-система. Из-за отсутствия у *D. radiodurans* белков RecB и RecC основная нагрузка по процессингу концов двунитевых разрывов ложится на RecFOR-систему. В клетках *E. coli* RecFOR-путь начинается с того, что хеликаза RecQ расплетает двойную спираль ДНК со стороны разрыва, а 5'-3'-экзонуклеаза RecJ укорачивает 5'-конец молекулы, оставляя одноцепочечный 3'-концевой участок [32]. В клетках *D. radiodurans* RecJ-экзонуклеаза играет принципиально важную роль в репарации, о чем свидетельствует летальность делеции гена *recJ* [33]. В то же время функции RecQ-хеликазы, по-видимому, выполняет хеликаза UvrD, т.к. делетанты по гену *uvrD* отличаются гораздо большей задержкой репарации после облучения, чем клетки, лишённые гена *recQ* [33]. Хеликаза UvrD у *D. radiodurans* выполняет широкий спектр функций и участвует также в эксцизионной и пострепликативной репарации (см. ниже). Недавние исследования UvrD показали, что она может рас-

Таблица 1. Некоторые особенности репарационных систем *D. radiodurans* по сравнению с *E. coli*

Компонент репарации	<i>E. coli</i>	<i>D. radiodurans</i>
Системы процессинга концов двунитевых разрывов	RecBCD RecFOR (RecQ, RecJ)	RecFOR (UvrD, RecJ) PprA (?)
Белки, связывающиеся с одноцепочечной ДНК	SSB, RecA	SSB*, RecA**, DdrA, DdrB
Основной путь репарации двунитевых разрывов	SDSA	ESDSA
Фотолиаза	+	–
NER	UvrABC	UvrABC, UvsE***
BER	8 ДНК-гликозилаз	12 ДНК-гликозилаз
MMR	+	+ (малозффективна)
Dam-метилаза	+	–
SOS-репарация	+	–

\* SSB *D. radiodurans* отличается по строению от своего гомолога в *E. coli*.

\*\* RecA *D. radiodurans* обладает большим сродством к двунитевой ДНК, чем к одонитевой ДНК.

\*\*\* UvsE-путь, по-видимому, специфичен к пиримидиновым димерам.

плетать ДНК как в 3'-5'-, так и 5'-3'-направлениях, причем в последнем случае активность стимулируется связанными с ДНК SSB-белками [34]. Следует отметить, что в геноме *D. radiodurans* закодировано еще несколько хеликаз, функции которых в репарации только начинают исследоваться, в т.ч. RecD2 [35, 36], RecG [37], DR1572 [38].

С образовавшимся однонитевым участком ДНК взаимодействуют SSB-белки и RecFOR-комплекс. Последний привлекает белок RecA. Делеции генов *recF*, *recO* и *recR* в клетках *D. radiodurans* приводят к тем же эффектам, что и отсутствие белка RecA: бактерии становятся гораздо чувствительнее к радиоактивному облучению, снижается уровень репаративного синтеза ДНК [33]. Белок RecA *D. radiodurans* уникален тем, что, в отличие от своего гомолога в *E. coli*, обладает более сильным сродством к двуцепочечной ДНК, чем к одноцепочечной [39, 40]. В нормальных условиях RecA находится в неактивном состоянии и связан со случайными участками двунитевой ДНК, а его действие активируется при появлении в клетке одноцепочечной ДНК, связанной с SSB-белком, количество которого резко повышается при воздействии повреждающих факторов [41]. Такая стратегия оправдана в условиях наличия в ДНК большого числа двунитевых разрывов, поскольку позволяет находить перекрывающиеся участки ДНК и проводить репарацию [42].

Кроме RecA в процессе гомологичной рекомбинации у *D. radiodurans* задействован белок RadA — отдаленный гомолог RecA, который участвует в процессинге разветвленных структур ДНК [43, 44]. Мутанты *D. radiodurans*, лишённые гена *radA*, несколько более чувствительны к ионизирующему излучению, чем бактерии дикого типа. Установлено, что RadA наряду с RecA работает на этапе гомологичной рекомбинации, предшествующем синтезу ДНК, но не способен замещать RecA в данном процессе [45].

Собственно репарация разрывов начинается с поиска соответствия между 3'-концевыми участками, образовавшимися в местах разрывов, и фрагментами гомологичной хромосомы. Затем происходит формирование D-петель и удлинение 3'-концов до получения однонитевых участков ДНК, комплементарных друг другу, что делает возможным дальнейшую застройку бреши и восстановление хромосомы. Репарация, сопровождающаяся активным синтезом ДНК, получила название SDSA-пути (synthesis-dependent strand annealing). Главной особенностью этого процесса в клетках *D. radiodurans* является его массовость и, как следствие, возможность восстанавливать ДНК из множества фрагмен-

тов, образовавшихся в результате разрывов в разных копиях хромосомы. За эту особенность такой механизм получил название ESDSA (extended synthesis-dependent strand annealing), т.е. обширный SDSA [3, 45, 46].

**ДНК-полимеразы в репарации.** Клетки *D. radiodurans* содержат три ДНК-полимеразы: Pol I, Pol III и Pol X [16]. Pol I и Pol III гомологичны соответствующим ферментам *E. coli* и выполняют аналогичные функции. Недостаточность Pol I или Pol III приводит к повышению чувствительности бактерий к облучению, что свидетельствует о ключевой роли этих полимераз в репарации разрывов ДНК [45].

В репарационных процессах широко используется Pol I. Ее способность к прохождению поврежденных участков ДНК возрастает в присутствии ионов  $Mn^{2+}$  [47]. Это может иметь важное адаптивное значение, поскольку в стрессовых условиях клетки *D. radiodurans* накапливают эти ионы (см. ниже) [48]. Кроме того, такая способность Pol I необходима по причине отсутствия у *D. radiodurans* гомологов полимераз  $\gamma$ -семейства, участвующих в SOS-репарации в клетках *E. coli* [16]. Однако эксперименты *in vivo* демонстрируют, что делецию *polA*, кодирующего Pol I, у *D. radiodurans* можно компенсировать за счет экспрессии *polA E. coli*. При этом восстанавливается исходный уровень радиоустойчивости [49].

Pol III, основная репликаза, играет ключевую роль в репарации, особенно в ESDSA-пути [45]. Она имеет мультисубъединичное строение, причем под воздействием облучения субъединица, обладающая собственно полимеразной активностью, не индуцируется, в то время как экспрессия фактора процессивности и экзонуклеазной субъединицы заметно возрастает [50]. Недавно была расшифрована трехмерная структура фактора процессивности, показавшая его типичное для бактерий двухсубъединичное строение, но выявившая некоторые отличия в распределении зарядов от фактора *E. coli*. Предполагается, что более равномерное распределение положительно и отрицательно заряженных аминокислотных остатков на внутренней поверхности субъединиц обеспечивает менее плотное либо менее специфическое взаимодействие с ДНК и облегчает скольжение. Возможно, это свойство способствует активации ДНК-связанных процессов у *D. radiodurans* [51].

Активность Pol X сильно зависит от наличия ионов  $Mn^{2+}$ , что свидетельствует о ее специфической активации в стрессовых условиях. Pol X также обладает 5'-дезоксирибозофосфатлиазной активностью, что позволяет предполагать ее участие в эксцизионной репарации оснований

аналогично ДНК-полимеразе  $\beta$  эукариот [52]. Помимо этого Pol X обладает способностью к экзонуклеазному расщеплению участков ДНК, вовлеченных в шпилечные структуры [53]. Такую же активность проявляет комплекс SbcCD. Pol X и SbcCD, вероятно, являются альтернативными участниками процессинга концов ДНК, образующих шпильки, межнитевые сшивки, а также ковалентно связанных с белками, что необходимо для нормальной репарации двунитевых разрывов [54].

#### Уникальные белки репарации разрывов ДНК.

Кроме классических белков систем репарации разрывов ДНК у *D. radiodurans* обнаружено несколько уникальных ДНК-связывающих белков, видимо, принимающих участие в этом процессе. Было показано, что в течение нескольких часов после стрессового воздействия нуклеоид облученных бактерий обогащается белками RecA, UvrD, RecJ, RecQ, а также уникальными белками *D. radiodurans* DdrA, DdrB, DdrD [55] и PprA [56].

Белок PprA связывается предпочтительно с концевыми участками двуцепочечной ДНК, что предполагает его участие в репарации двунитевых разрывов. *In vitro* PprA ингибирует действие экзонуклеаз и активирует ДНК-лигазу [57], причем его действие зависит от концентрации: при увеличении количества PprA он олигомеризуется на ДНК и стимулирует лигирование разрывов [58]. (Стоит отметить, что кроме ДНК-лигазы в репарации разрывов ДНК у *D. radiodurans* потенциально может принимать участие 3'-5'-РНК-лигаза, которая способна сшивать фрагменты РНК-ДНК в составе двунитевой нуклеиновой кислоты даже при наличии поврежденных нуклеотидов в реагирующих субстратах [59].)

По механизму действия белок PprA мог бы быть похож на эукариотические белки Ku (которые присутствуют также у некоторых бактерий) – важнейшие компоненты RecA-независимой системы негомологичного сшивания концов ДНК (NHEJ, nonhomologous end joining) [57]. Однако, по имеющимся данным, механизм NHEJ у *D. radiodurans* отсутствует или работает крайне неэффективно [60]. Кроме того, бактерии с делецией гена *recA* не отличаются от двойных делетантов по генам *pprA* и *recA* по устойчивости к облучению [61] и проявляют идентичную замедленную кинетику восстановления ДНК [56], что указывает на участие PprA в RecA-зависимой репарации ДНК.

Белок PprA также играет роль в клеточном делении: PprA при делении клеток после воздействия  $\gamma$ -излучения локализуется в области образующейся межклеточной перегородки [62], а у мутантов, лишенных гена *pprA*, нарушено

распределение ДНК в дочерние клетки [56]. Предполагается, что роль PprA в этом процессе может быть связана с привлечением или активацией топоизомераз, необходимых в т.ч. для разделения дочерних ДНК. Эта гипотеза основана на двух наблюдениях. Во-первых, PprA стимулирует ДНК-топоизомеразу I и обеспечивает устойчивость клеток *D. radiodurans* к налидиксовой кислоте – ингибитору топоизомеразы II [63]. Во-вторых, мутанты *D. radiodurans*, лишенные гена ДНК-гиразы *gyrA*, и в нормальных условиях, и под воздействием облучения проявляют такой же фенотип, как и двойные мутанты, лишенные генов *gyrA* и *pprA* [62].

В PprA-зависимом пути репарации ДНК принимает участие белок DRA0282, который, по-видимому, выполняет ДНК-протекторную роль в условиях стресса [64]. В присутствии ионов  $Mn^{2+}$  этот белок связывается преимущественно со сверхспирализованной ДНК, а в экспериментах *in vitro* защищает ДНК от действия экзонуклеазы III. Интересно, что N-концевой участок DRA0282 демонстрирует гомологию с эукариотическим белком Ku80, компонентом NHEJ-системы. Делеция гена *dra0282* снижает стрессоустойчивость *D. radiodurans*, а его экспрессия в клетках *E. coli* делает их менее чувствительными к ультрафиолетовому и радиоактивному облучению [64].

Другой уникальный белок *D. radiodurans* – DdrB, который способен связываться с однонитевой ДНК и с функциональной точки зрения является SSB-белком, хотя и не гомологичен обычным бактериальным белкам SSB. В отличие от гомотетрамерных SSB DdrB является пентамером. Эти особенности позволяют выделить его в отдельное семейство SSB-белков [65]. Стандартный SSB представителей филума *Deinococcus-Thermus* также обнаруживает уникальное димерное строение, оставаясь при этом функциональным тетрамером, т.к. в состав каждой субъединицы входят два олигонуклеотидсвязывающих домена [66]. Эти домены неодинаковы по строению и выполняемым функциям: C-концевой в основном ответственен за связывание с ДНК, а N-концевой участвует в мультимеризации. При этом оба домена задействованы в разрушении вторичных структур в однонитевой ДНК [67]. Такое строение, а также высокая концентрация SSB в клетках *D. radiodurans*, вероятно, обеспечивает более эффективное по сравнению с другими бактериями связывание SSB с ДНК [66].

Делетанты *D. radiodurans*, лишенные гена *ddrB*, становятся менее устойчивыми к облучению, однако сохраняют жизнеспособность [61]. В то же время делеция гена *ssb* является леталь-

ной, а снижение уровня экспрессии приводит к значительному ослаблению радиоустойчивости [68]. Характер кинетики репарации поврежденных ДНК у двойного делетанта *recA/ddrB* свидетельствует о вовлеченности DdrB в RecA-независимые репарационные пути, в частности сшивание двунитевых разрывов по механизму SSA (single-strand annealing) [69, 70]. К настоящему времени изучена структура комплекса DdrB с одноцепочечной ДНК, обсуждаются механизмы функционирования этого белка [71].

DdrA – отдаленный гомолог эукариотического Rad52, принимающего участие в гомологичной рекомбинации. DdrA *in vitro* связывается с 3'-концами одонитевой ДНК, вероятно, защищая их от деградации [72]. Как и DdrB, он является участником RecA-независимой репарации [61, 72].

С помощью анализа мутантов *D. radiodurans*, лишенных генов *ddrA*, *ddrB*, *pprA*, *ddrD*, а также различных комбинаций двойных мутантов удалось показать роль данных белков в стрессоустойчивости. Делеции этих генов не являются летальными и приводят к различной степени чувствительности к разным стрессовым факторам. К примеру, делетанты *pprA/ddrD* гораздо чувствительнее к ультрафиолетовому облучению, чем делетанты *pprA/ddrA*, при этом устойчивость к ионизирующему излучению и митомицину С (агент, вызывающий межнитевые сшивки) у этих штаммов одинакова. Из этого следует, что указанные белки участвуют в репарационных процессах, специфичных к различным типам поврежденных ДНК [73]. Несмотря на вовлечение уникальных белков *D. radiodurans* в репарацию путем гомологичной рекомбинации, их отсутствие не влияет на способность бактерии к естественной трансформации, необходимым звеном которой также является гомологичная рекомбинация. Эти данные позволили выдвинуть гипотезу о специфической роли данных белков именно в стрессоустойчивости, защите поврежденной ДНК от дальнейшей деградации, что дает клетке больше времени для репарации [73].

**Экцизионная репарация.** Общие механизмы экцизионной репарации оснований (base excision repair, BER) у *D. radiodurans* сходны с другими бактериями. Анализ генома бактерии выявил 12 ДНК-гликозилаз, специфичных к урацилу, тимингликолю, метиладенину, формамидопиримидину, поврежденному гуанину, некомплементарным парам G–U, G–A и G–T [16, 21]. Для сравнения в геноме *E. coli* закодировано восемь ДНК-гликозилаз [74].

*D. radiodurans* обладает двумя системами экцизионной репарации нуклеотидов (nucleotide

excision repair, NER): UvrABC и UvsE. Белок UvsE является  $Mn^{2+}$ -зависимой эндонуклеазой (эндонуклеаза  $\beta$ ), которая специфична к пиримидиновым димерам, возникающим под действием ультрафиолетового облучения [75, 76]. Возможно, с этим связано отсутствие у *D. radiodurans* фототиазы, играющей основную роль в прямой репарации тиминового димеров в ДНК *E. coli* [16]. Высокий GC-состав ДНК *D. radiodurans* (67%) также способствует снижению количества образующихся тиминового димеров при облучении [77].

**Репарация ошибочно спаренных оснований.** В репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch repair, MMR) у *D. radiodurans* участвуют белки MutS1, MutL и UvrD, гомологичные соответствующим белкам *E. coli*. Гомолог MutH в геноме *D. radiodurans* не закодирован, отсутствует также и система Dam-метилирования ДНК [78]. Таким образом, распознавание дочерней цепи для репарации, как и у большинства бактерий, происходит по какому-то отличному от описанного для *E. coli*, пока плохо охарактеризованному пути. Частота спонтанных мутаций в пересчете на один акт репликации у *D. radiodurans* заметно выше, чем в клетках *E. coli*, что говорит о невысокой эффективности MMR в клетках *D. radiodurans*. Об этом же свидетельствует слабый эффект инактивации белков MutS1 и MutL на частоту мутаций в клетках *D. radiodurans* [78]. Следует отметить, что еще один гомолог белка MutS *E. coli* в клетках *D. radiodurans*, MutS2, не имеет отношения к MMR. Было показано, что он принимает участие в RecA-независимой репарации окислительных поврежденных ДНК. Механизм работы этого белка пока остается невыясненным, однако известно, что домен Smr, входящий в его состав, проявляет  $Mn^{2+}$ -зависимую эндонуклеазную активность [79].

**Репарация межнитевых сшивок.** Межнитевые сшивки блокируют плавление ДНК и обычно являются непреодолимым препятствием для репликативной вилки. *D. radiodurans* проявляет устойчивость к митомицину С, приводящему к образованию таких сшивок. В их репарации у бактерий задействованы системы гомологичной рекомбинации и NER. Недавние исследования показали, что у *D. radiodurans* в процессе репарации участвуют белковые продукты генов *ygjD* и *yeaZ*, имеющих гомологов во многих бактериальных геномах. Предполагается, что эти белки обладают хеликазной и эндонуклеазной активностями, которые могут способствовать прохождению репликативной вилкой межнитевых сшивок, но точный механизм их действия пока остается неизвестным [80].

### МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ *D. radiodurans* К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ

В целом анализ систем репарации *D. radiodurans* не дает ответа на вопрос о природе радиоустойчивости, поскольку аналогичные системы широко распространены и среди радиочувствительных организмов, а частные компоненты репарационных систем *D. radiodurans* не обязательно присутствуют у других радиоустойчивых бактерий. Более того, в опытах по получению радиорезистентных штаммов *E. coli* было обнаружено, что приспособления этих бактерий связаны далеко не только с системами репарации ДНК [81].

Исследования последних лет показали, что в основе высокой устойчивости *D. radiodurans* к различным повреждающим воздействиям может лежать эффективная защита клеток от окислительного стресса.

Окислительный стресс подразумевает образование активных форм кислорода (АФК): гидроксил-радикалов, супероксид-радикалов и перекиси водорода. Гидроксил-радикалы могут продуцироваться в процессе радиолиза воды или в реакции Фентона перекиси водорода с ионами железа. Гидроксил-радикалы вызывают деградацию макромолекул с выделением супероксид-радикалов и перекиси водорода. Супероксид-радикал, в свою очередь, может высвобождать ионы  $Fe^{2+}$  из железосерных кластеров белковых молекул [82]. Таким образом, между реакциями продукции АФК формируется положительная обратная связь.

Было показано, что как радиоустойчивые, так и устойчивые к обезвоживанию бактерии обладают высокой степенью резистентности к окислительному стрессу [83]. При воздействии ионизирующего излучения основной вред клетке, по-видимому, наносится не напрямую, а посредством образования АФК [5], которые воздействуют не только на ДНК, но и на другие макромолекулы. И если количество двунитевых разрывов ДНК, возникающих под действием ионизирующего излучения, у радиоустойчивых и чувствительных бактерий не отличается, то протеом у последних повреждается гораздо сильнее [6]. Было обнаружено, что уровень карбонилирования клеточных белков, происходящего при окислительном стрессе, обратно коррелирует с устойчивостью к стрессу [84]. Таким образом, возможно, именно защита протеома от окислительного стресса позволяет клеткам выживать в условиях обезвоживания и высокого радиационного фона. Понимание важности защиты от неблагоприятных факторов, в первую очередь белков, поскольку именно от них зави-

сит эффективность репарации ДНК, сменило парадигму в исследованиях природы радиоустойчивости [4].

Помимо репарации ДНК клетки *D. radiodurans* реализуют несколько стратегий для предотвращения и ликвидации последствий окислительного стресса [3]: 1) предотвращение образования эндогенных АФК, 2) работа антиоксидантных защитных систем, 3) избирательная защита некоторых белков от окисления, 4) удаление и деградация поврежденных макромолекул. Ниже кратко рассмотрены особенности данных защитных механизмов.

**Антиоксидантные системы *D. radiodurans*.** В геноме *D. radiodurans* закодированы две пероксидазы, три каталазы, четыре супероксиддисмутазы, два белка Dps [3]. В клетках *D. radiodurans* активность ферментов, утилизирующих АФК, в частности каталазы и супероксиддисмутазы, в несколько раз выше, чем в клетках *E. coli* [85, 86]. При этом каталазная активность возрастает в ответ на повышение концентрации перекиси водорода, ионов  $Mn^{2+}$  [87] и ионизирующее излучение [88]. Dps-белки принимают участие в компактизации ДНК и являются важным компонентом нуклеоида. Они защищают ДНК от окислительного стресса, не только связываясь с ней, но и хелатируя железо, а также участвуя в восстановлении перекиси водорода [89]. Делеции генов, кодирующих перечисленные выше ферменты, на радиорезистентность влияют не очень сильно [90]. Это может объясняться большим вкладом неферментативных механизмов в устойчивость *D. radiodurans* (см. ниже).

В снижение продукции АФК под действием облучения в клетках *D. radiodurans* может вносить вклад и уменьшение числа белков с железосерными кластерами и белков дыхательной цепи по сравнению с радиочувствительными бактериями [5]. Этому способствует наличие глиоксيلاتного пути, позволяющего снизить количество некоторых ферментов цикла Кребса. Кроме того, при окислительном стрессе бактерия выбрасывает в среду значительную часть полисахаридов клеточной оболочки [91]. Предполагается, что это помогает избавиться от части воды, ассоциированной с полисахаридами, для снижения образования АФК [92]. Протекторную роль могут также играть каротиноиды, связанные с клеточными мембранами (см. выше).

**Роль ионов  $Mn^{2+}$  в устойчивости к окислительному стрессу.** В ответе на стрессовые условия у *D. radiodurans* важную роль играют ионы  $Mn^{2+}$ . Растущие на обедненной марганцем среде бактерии в несколько раз более чувствительны к ионизирующему излучению и окислительному стрессу [48]. Концентрация ионов марганца в

клетках *D. radiodurans* достигает миллимолярной [93]. Вероятнее всего, внутриклеточная концентрация  $Mn^{2+}$  повышается в стрессовых условиях за счет работы АВС-транспортера [24], экспрессия которого индуцируется при облучении и в постиррадиационный период [94].

Ионы марганца стимулируют активность целого ряда ферментов репарации и репликации — эндонуклеазы  $\beta$ , супероксиддисмутаза, ДНК-полимеразы X, РНК-лигазы, — замещая в их активном центре ионы магния (см. выше). При повышении концентрации марганец способен замещать железо в железосодержащих ферментах, что препятствует их разрушению в реакции Фентона, т.к. ионы марганца, в отличие от ионов железа и меди, не вступают в реакцию с перекисью водорода, в ходе которой образуются гидроксил-радикалы [95].

Ионы марганца способны выступать в качестве антиоксиданта в комплексах с различными соединениями, в частности ортофосфатом, нуклеотидами, аминокислотами и пептидами [92]. Индукция синтеза нуклеотидов при стрессе может вносить вклад в работу антиоксидантных систем за счет образования комплексов нуклеотидов с марганцем. Кроме того, клетки *D. radiodurans* секретируют нуклеазу, которая участвует в деградации внеклеточной ДНК и повышает устойчивость клеток к облучению, возможно, за счет образования нуклеозидмонофосфатов [96]. Активация протеаз в клетках *D. radiodurans* в условиях стресса также может являться одним из механизмов антиоксидантной защиты клеток. Эффективность антиоксидантной функции пептидов зависит от их аминокислотного состава, наиболее активными являются комплексы марганца с серосодержащими и ароматическими аминокислотными остатками [97]. В то же время недавние исследования показали, что значительная часть марганца в клетках *D. radiodurans* связана с молекулами воды, и лишь небольшое количество обнаруживается в низкомолекулярных комплексах [98]. На стационарной фазе роста клеток количество низкомолекулярных комплексов марганца снижается еще сильнее, а большая его часть оказывается в составе супероксиддисмутаза и другого неидентифицированного белка [98, 99]. В то же время такие клетки проявляют устойчивость к радиации, что ставит под вопрос роль низкомолекулярных комплексов марганца в стрессоустойчивости, по крайней мере, на стационарной фазе роста культуры [99].

С содержанием в среде ионов марганца связано интересное явление в клеточном цикле *D. radiodurans*: при низких концентрациях  $Mn^{2+}$  культура прекращает расти еще до исчерпания ресурсов среды, а при добавлении солей марганца

деление клеток возобновляется [87]. Предполагается, что бактерии выделяют в среду некий низкомолекулярный фактор, ингибирующий клеточный цикл, а в присутствии  $Mn^{2+}$  данный блок снимается [100].

**Системы очистки клеток от токсичных соединений.** В ходе репарации ДНК в клетках *D. radiodurans* образуются поврежденные олигонуклеотиды, которые активно выбрасываются из клеток, вероятно, при участии транспортера UvrA2, близкого к АВС-транспортерам [21]. Кроме того, в клетках *D. radiodurans* присутствуют специальные Nudix-гидролазы (nucleoside diphosphate linked to some other moiety x), которые отщепляют дифосфатные группы от поврежденных нуклеозидтрифосфатов, что позволяет избежать их включения в ДНК. В геноме *D. radiodurans* обнаружены гены 23 Nudix-гидролаз, причем транскрипция пяти из них индуцируется ионизирующим излучением [50]. Поврежденные нуклеозидмонофосфаты могут затем дефосфорилироваться и выводиться из клетки [3].

Во время стресса в клетках *D. radiodurans* сильно возрастает протеолитическая активность, что позволяет утилизировать поврежденные и неправильно свернутые белки [92]. Ключевым активатором этого процесса может являться аконитаза, выступающая в роли сенсора окислительного стресса в клетках других организмов [101]. Геном *D. radiodurans* содержит гомологи генов Lon-протеаз, участвующих в удалении поврежденных белков, однако делеция этих генов не снижает резистентность клеток *D. radiodurans* к радиации. Зато к этому эффекту приводит делеция гена протеазы ClpXP [102]. Предполагается ее участие в продукции пептидов, образующих марганцевые комплексы.

В то время как ряд белков, таких как цитратсинтаза, аконитаза, некоторые шапероны, в условиях окислительного стресса подвергаются активному расщеплению и ресинтезу, некоторые избегают деградации. К последним относятся некоторые трансляционные факторы, ряд сериновых протеаз и  $\beta$ - и  $\beta'$ -субъединицы РНК-полимеразы [103]. Конкретные механизмы устойчивости этих белков остаются неизвестными, но ясно, что избирательная защита систем транскрипции и трансляции необходима для быстрого восстановления клеточных функций после стресса.

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У *D. radiodurans*

Из сказанного выше следует, что в радиоустойчивости бактерии *D. radiodurans* задействованы разнообразные системы защиты и репарации

ДНК, но не меньшее значение имеет резистентность к окислительному стрессу. На стресс *D. radiodurans* отвечает комплексно, индуцируя экспрессию множества белков и некодирующих РНК, что приводит к изменению метаболизма и активности определенных молекулярно-генетических путей. Детальные механизмы регуляции экспрессии генов у *D. radiodurans* только начинают исследоваться. В следующих разделах кратко рассмотрены имеющиеся данные о регуляции транскрипции в клетках *D. radiodurans* в нормальных и стрессовых условиях.

**Изменения транскриптома в стрессовых условиях.** Применение методов транскриптомики и протеомики выявило значительные изменения в экспрессии генов *D. radiodurans* в условиях стресса. По разным данным при  $\gamma$ -облучении и в постиррадиационный период наблюдается индукция экспрессии ~100–1000 генов [50, 61]. Разница в результатах может объясняться разной дозой облучения, различиями в методиках измерения и критериях определения изменений уровня экспрессии. При облучении происходит индукция генов, вовлеченных в процессы репарации ДНК, работу антиоксидантных систем и белков, участвующих в утилизации поврежденных биополимеров. Активация экспрессии генов происходит поэтапно: некоторые белки, например, супероксиддисмутаза, индуцируются еще при стрессе, некоторые вскоре после стресса, а повышение экспрессии определенных генов откладывается до поздних стадий восстановления [50, 94]. Стрессом индуцируется транскрипция не только мРНК, но и некодирующих РНК, в т.ч. антисмысловых РНК и тРНК [94]. Для семи малых некодирующих РНК, консервативных среди бактерий рода *Deinococcus*, показана индукция экспрессии также и у близкородственного вида *D. geothermalis* [104]. Эти данные указывают на важную роль некодирующих РНК в регуляции ответа на стресс у этого рода бактерий.

Подобные сравнения проделаны и для других видов стресса, в частности осмотического [105] и кадмиевого [106]. И в том, и в другом случае было выявлено изменение экспрессии сотен генов. При кадмиевом стрессе активируются репарационные процессы и индуцируются те же белки репарации, что и при радиационном облучении [106]. При осмотическом стрессе также наблюдается перекрывание в дифференциальной экспрессии генов с радиационным стрессом, что свидетельствует о наличии общих механизмов адаптации к этим условиям [105].

Исследования динамики протеома показали, что после облучения в клетках *D. radiodurans* возрастает концентрация десятков белков, при-

чем некоторые из них совсем не обнаруживаются в необлученных клетках. Среди идентифицированных белков присутствуют факторы репликации, репарации, транскрипции и трансляции, белки, вовлеченные в транспорт и метаболизм неорганических ионов, нуклеотидов и углеводов, а также шапероны [107]. Повышение концентрации белков происходит не одновременно после индукции, а поэтапно, что согласуется с данными транскриптомного анализа [108].

**Активаторы и репрессоры транскрипции.** Значительные изменения профиля экспрессии генов, вызываемые стрессом, ставят вопрос о регуляторных путях, приводящих к такому эффекту. На сегодняшний день исследовано несколько регуляторов транскрипции *D. radiodurans*, которые играют роль в реакции клеток на стресс (табл. 2).

Промоторы многих оперонов *D. radiodurans*, индуцирующихся окислительным стрессом, содержат регуляторный элемент, имеющий палиндромное строение и получивший название RDRM (radiation/desiccation response motif). Белком-репрессором оперонов с RDRM является DdrO (он же DR2574) [109], экспрессия которого индуцируется при стрессе [50]. Регуляция с участием RDRM предсказана как минимум для 29 генов *D. radiodurans* и 25 генов *D. geothermalis*. В число этих генов входят наиболее сильно индуцирующиеся при стрессе гены *ddrA*, *ddrB*, *ddrD* (см. выше). Репрессия данных генов снимается в результате расщепления DdrO фактором PprI (см. следующий абзац). Недостаточность DdrO приводит к снижению жизнеспособности клеток, сопровождающемуся фрагментацией ДНК, «пузырением» мембраны, нарушениями клеточного деления [110].

Уникальный для рода *Deinococcus* белок PprI (он же ItrE) – транскрипционный фактор широкого спектра действия. Его отсутствие приводит к значительному снижению выживаемости *D. radiodurans* в условиях радиационного и ультрафиолетового облучения, а также в присутствии митомицина С [111]. PprI регулирует синтез как минимум 31 белка, среди которых есть активирующиеся при стрессе белки, вовлеченные в репарацию ДНК: PprA, RecA, SSB [112]. Показано, что PprI дифференциально регулирует экспрессию генов как на стадии собственно стресса, так и на разных фазах постстрессового восстановления клеток [113]. Экспрессия PprI в клетках *E. coli* значительно повышает их устойчивость к осмотическому стрессу, индуцируя широкий спектр генов, ответственных за метаболизм углеводов, нуклеотидов, аминокислот [114]. Механизм действия PprI до конца не ясен. С одной стороны, специфическое связывание

Таблица 2. Исследованные факторы, участвующие в регуляции транскрипции у *D. radiodurans*

Фактор	Функция
DdrO	репрессия оперонов, содержащих RDRM, в частности генов <i>ddrA</i> , <i>ddrB</i> , <i>ddrD</i>
PprI (IrrE)	регуляция синтеза 31 белка, в т.ч. активация некоторых белков репарации
PprM	PprI-зависимая регуляция, подавление экспрессии <i>pprA</i> и, предположительно, других белков
DrRRA	активация транскрипции десятков генов, в т.ч. тех, продукты которых вовлечены в ответ на стрессовые условия
OxyR	активация и репрессия генов в зависимости от окислительно-восстановительного потенциала цитоплазмы
IrrI (DR0171)	активация экспрессии >100 белков, в т.ч. вовлеченных в ответ на стрессовые условия
Mur	активация транскрипции генов, продукты которых участвуют в транспорте ионов металлов через клеточную мембрану
RecX	подавление экспрессии генов, продукты которых участвуют в постиррадиационном восстановлении
LexA2	подавление экспрессии <i>pprA</i>
CsoR	репрессия оперона, кодирующего гены устойчивости к ионам меди
HucR	репрессия синтеза урат-оксидазы
HspR	репрессия генов белков теплового шока
Двухкомпонентные системы	регуляция транскрипции генов, продукты которых задействованы в ответе на стресс
NO	стимуляция роста и деления клеток после облучения
FMN-рибопереключател	регуляция синтеза рибофлавина, участие в защите клеток от окислительного стресса

данного белка с промоторами регулируемых генов необходимо для его функционирования в качестве транскрипционного фактора [113]. С другой стороны, PprI *D. deserti* является металлопротеазой, которая *in vitro* расщепляет транскрипционный фактор DdrO, что, вероятно, приводит к индукции транскрипции генов, репрессированных DdrO [115]. Тот же механизм действия был недавно установлен и для PprI *D. radiodurans*, причем было показано, что его протеазная активность зависит от ионов  $Mn^{2+}$  [116]. Предполагается, что PprI также участвует в посттрансляционной модификации (возможно, протеолизе) белка PprM, задействованного в регуляции экспрессии *pprA* и, вероятно, других генов [117].

Другие исследованные транскрипционные факторы, влияющие на экспрессию множества генов при стрессе, – DrRRA [118], OxyR [119], DR0171 (он же IrrI) [120]. Каждый из них контролирует экспрессию десятков генов, а мутанты,

лишенные данных белков, проявляют повышенную чувствительность к стрессовым воздействиям различного вида. У *D. radiodurans* имеются два гомологичных белка OxyR, которые являются активаторами либо репрессорами экспрессии различных генов. Связывание OxyR с промоторами зависит от окислительно-восстановительного потенциала цитоплазмы. В молекуле OxyR присутствует остаток цистеина, который окисляется при повышении концентрации АФК, что приводит к активации либо репрессии промоторов. Среди контролируемых OxyR процессов есть регуляция внутриклеточной концентрации ионов  $Mn^{2+}$  [119].

Концентрация ионов металлов в клетках *D. radiodurans* также регулируется транскрипционным фактором Mur (DR0865), влияющим на экспрессию генов, продукты которых участвуют в транспорте ионов. Мутанты по гену *dr0865* имеют сниженную устойчивость к стрессовым воздействиям, сильно изменяется содержание в

клетках ионов марганца, железа, цинка и меди. Конкретные регуляторные механизмы и взаимоотношения Mrg с другими транскрипционными регуляторами еще предстоит выяснить [121].

При исследовании регуляции активности белка RecA было показано участие в этом процессе фактора RecX: он ингибирует как транскрипцию гена *recA*, так и функцию белка RecA [122]. С помощью сравнительного протеомного анализа была также установлена роль RecX в ингибировании экспрессии широкого спектра генов, продукты которых участвуют в постиррадиационном восстановлении. На этом основании было высказано предположение о роли RecX в переходе от стрессового к нормальному фенотипу [123].

В геноме *D. radiodurans* закодированы два гомолога белка-репрессора LexA, но, в отличие от *E. coli*, ни один из них не принимает участия в регуляции экспрессии белка RecA. В то же время белок LexA2 репрессирует ген *pprA*. Однако бактерии, лишенные гена *lexA1*, не отличаются в ответе на стресс, а лишенные *lexA2* проявляют даже более высокую стрессоустойчивость, чем клетки дикого типа [124].

Помимо мультифункциональных транскрипционных факторов у *D. radiodurans* изучены некоторые белки, участвующие в регуляции индивидуальных оперонов. CsoR является репрессором кластера генов, обеспечивающих устойчивость к меди. При низких концентрациях ионов меди данный белок связан с промотором, а при высоких — связывает медь и теряет сродство к ДНК [125]. NucR-белок, относящийся к семейству регуляторов транскрипции MarR, репрессирует транскрипцию собственного гена и гена урат-оксидазы [126]. В присутствии мочевой кислоты сродство белка к оператору падает, что приводит к снятию репрессии. К настоящему времени известна структура NucR, а также детально изучен процесс связывания белка с лигандом [127, 128]. Ген *dr0265* кодирует транскрипционный фактор, относящийся к семейству GntR. Показано, что его дисфункция приводит к снижению стрессоустойчивости, однако его мишени пока остаются неизвестными [129].

В регуляции активности белков и экспрессии генов в стрессовых условиях участвуют протеинкиназы. Показано, что при радиационном облучении общий уровень фосфорилирования белков в клетках *D. radiodurans* повышается [130]. Мутанты по гену *dr2518*, кодирующему одну из серин-тирозиновых протеинкиназ, проявляют повышенную чувствительность к  $\gamma$ -излучению и измененный профиль экспрессии генов, что указывает на возможное участие данной киназы в регуляции транскрипции [131].

В устойчивости клеток *D. radiodurans* к различным стрессовым воздействиям важную роль играют двухкомпонентные системы, состоящие из сенсорных гистидинкиназ и контролируемых ими регуляторов (обычно транскрипционных факторов). В геноме *D. radiodurans* закодировано 20 предполагаемых гистидинкиназ и 25 белков-регуляторов [132]. У мутантов по генам, кодирующим регулятор DrRRA (см. выше, [118]), киназу RadS и ее регулятор RadR [133], снижается устойчивость к окислительному стрессу и повреждениям ДНК. Систематический анализ мутантов с делециями генов 12 гистидинкиназ показал, что многие из них важны для устойчивости к радиационному и ультрафиолетовому облучению, митомицину C и перекиси водорода [132].

Среди генов, делеция которых приводит к снижению стрессоустойчивости *D. radiodurans*, обнаружился ген NO-синтазы [134]. Показано, что продукция окиси азота в клетках *D. radiodurans* повышается в период после ультрафиолетового облучения. NO индуцирует экспрессию гена *obgE*, кодирующего ГТФазу с неизвестными функциями. Гомологи этой ГТФазы в клетках других бактерий вовлечены в процессы роста и клеточного цикла. Возможно, что NO стимулирует рост и деление клеток *D. radiodurans* после облучения, а также выполняет какие-то дополнительные функции [134].

Еще одним соединением, влияющим на генную экспрессию в ответ на стресс у *D. radiodurans*, является флавиномононуклеотид, действующий через рибопереклюатель, который располагается в 5'-нетранскрируемой области оперона, кодирующего ферменты метаболизма рибофлавина. Делеция рибопереклюателя приводит к повышению содержания АФК в клетке и понижению каталазной активности, что снижает выживаемость бактерий в условиях окислительного стресса [135]. Авторы работы предполагают, что перекись водорода может взаимодействовать с флавиновым рибопереклюателем, влияя таким образом на транскрипцию.

**РНК-полимераза и ассоциированные факторы.** В последние годы получены данные об особенностях структуры и функций транскрипционного аппарата *D. radiodurans*. Выделена и охарактеризована РНК-полимераза *D. radiodurans*, а также основная  $\sigma$ -субъединица ( $\sigma^A$ ), ответственная за узнавание большинства клеточных промоторов. Промоторы, узнаваемые основной  $\sigma^A$ -субъединицей, демонстрируют высокую степень сходства с  $\sigma^{70}$ -промоторами *E. coli* [136]. Однако обнаружено, что в отличие от РНК-полимеразы *E. coli* холофермент РНК-полимеразы *D. radiodurans* формирует нестабильные промоторные

комплексы, а также с низкой эффективностью расплетает цепи ДНК в районе стартовой точки транскрипции, что во многом определяется особенностями  $\sigma^A$ -субъединицы [137, 138]. По этим свойствам РНК-полимераза *D. radiodurans* похожа на РНК-полимеразу филогенетически родственной термофильной бактерии *Thermus aquaticus* [138]. Возможная роль этих особенностей в стрессоустойчивости остается неизвестной.

По сравнению с РНК-полимеразой *E. coli* РНК-полимераза *D. radiodurans* обладает повышенной чувствительностью к антибиотику стрептолидигину и сниженной чувствительностью к рифампицину [138]. Тем не менее появление мутаций устойчивости к рифампицину в гене  $\beta$ -субъединицы РНК-полимеразы может быть использовано для оценки уровня мутагенеза в клетках *D. radiodurans* [139]. Анализ транскриптома одного из рифампицин-устойчивых мутантов выявил значительные изменения в профиле экспрессии генов. Оказалось, что стабильность промоторных комплексов мутантной РНК-полимеразы снижена, поэтому возрастает уровень транскрипции генов с АТ-богатыми промоторами [140].

Кроме основной  $\sigma^A$ -субъединицы, относящейся к семейству  $\sigma^{70}$  (DR0916), в геноме *D. radiodurans* закодированы как минимум три альтернативных  $\sigma$ -фактора: DR0180 (он же Sig1), DR0804 (Sig2) и DR2482. Экспрессия Sig1 и DR2482 повышается после облучения клеток, в то время как экспрессия Sig2 заметно не меняется [50]. Изучение мутантов с делециями генов *sig1* и *sig2* показало, что оба альтернативных  $\sigma$ -фактора вовлечены в ответ на тепловой шок, причем потеря *sig1* существенно снижала жизнеспособность бактерий [141]. Позднее были проведены транскриптомный и протеомный анализы для мутанта с делецией *sig1* в условиях теплового шока и охарактеризованы промоторы, узнаваемые данным фактором. Оказалось, что Sig1 работает на промоторах двух типов: один из них характерен для  $\sigma^{70}$  *E. coli*, а другой — для  $\sigma^W$  *B. subtilis* [142]. Sig1 участвует в транскрипции мРНК 31 белка, в т.ч. белков теплового шока с цитозольной локализацией. Для предотвращения транскрипции генов белков теплового шока в нормальных условиях в клетках *D. radiodurans* имеется транскрипционный фактор HspR, репрессирующий данные гены [143]. Для Sig2 и DR2482 подобные исследования не проводились.

Особенности регуляции элонгации транскрипции у *D. radiodurans* пока изучены недостаточно. Было обнаружено, что по сравнению с *E. coli* РНК-полимераза *D. radiodurans* способна гораздо более эффективно расщеплять синтези-

руемую РНК в транскрипционных комплексах [144–146]. Предполагается, что реакция расщепления РНК играет важную роль в исправлении ошибок транскрипции и реактивации элонгационных комплексов, которые по тем или иным причинам сместились по матрице ДНК в обратном направлении (так называемый backtracking) [147]. Подобные комплексы могут образовываться в т.ч. при наличии повреждений в транскрибируемой ДНК-матрице. Кроме того, на примере *E. coli* известно, что обратное смещение транскрипционных комплексов играет важную роль в конфликтах процессов транскрипции и репликации, которые являются одной из основных причин повреждений ДНК и нестабильности генома [147–149]. Таким образом, повышенная скорость расщепления РНК в случае РНК-полимеразы *D. radiodurans* могла бы играть роль в увеличении точности транскрипции и в более эффективном преодолении конфликтов транскрипции и репликации в стрессовых условиях.

В геноме *D. radiodurans* присутствуют гомологи нескольких известных факторов, модулирующих активность РНК-полимеразы на стадии элонгации: GreA, Gfh, Mfd, UvrD. Белок GreA активирует реакцию расщепления РНК в активном центре бактериальной РНК-полимеразы и необходим для реактивации смещенных транскрипционных комплексов в клетках *E. coli* [147, 148, 150]. Экспрессия данного белка (DR1162) в клетках *D. radiodurans* возрастает после облучения [50]. В геномах некоторых представителей филума *Deinococcus-Thermus* закодированы гомологи GreA-белка: белок Gfh1 (от Gre-factor homologue) у *T. thermophilus* и белки Gfh1 и Gfh2 у *D. radiodurans*. Белок Gfh1 *T. thermophilus* детально изучен. Установлено, что в отличие от GreA данный фактор подавляет все активности РНК-полимеразы: полимеразную, эндонуклеазную, экзонуклеазную и пирофосфоролиз РНК [151–153]. Было показано, что данный фактор способен непосредственно влиять на структуру активного центра РНК-полимеразы, а также изменяет общую конформацию фермента, снижая его активность [152, 154–156]. Не исключено, что подобные изменения могут играть роль в переключении активности РНК-полимеразы *D. radiodurans* соответствующими Gfh-факторами.

В клетках *E. coli* белки Mfd и UvrD участвуют в реактивации арестованных транскрипционных комплексов и сопряжении транскрипции с репарацией. Фактор Mfd *E. coli* связывается с остановленными транскрипционными комплексами и вызывает их диссоциацию за счет транслокации вперед по матрице ДНК. После этого Mfd привлекает ферменты NER к месту

повреждения в ДНК [157]. Хеликаза UvrD *E. coli*, которая также взаимодействует с РНК-полимеразой, напротив, стимулирует обратное смещение комплекса (при этом РНК-полимераза остается связанной с ДНК), освобождая поврежденный участок ДНК для действия факторов NER [158]. Функции ортологов этих белков у *D. radiodurans* в транскрипции пока не изучены, но можно предполагать их ключевую роль в транскрипции поврежденных участков ДНК в стрессовых условиях.

## ОБЩИЕ ОСНОВЫ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ

Бактерия *D. radiodurans* известна своей исключительной устойчивостью к ионизирующей радиации и другим воздействиям, приводящим к окислительному стрессу. Для защиты и восстановления поврежденной ДНК *D. radiodurans* обладает полным набором основных систем репарации, присущих бактериям, а также некоторыми уникальными белками, их дополняющими. Несмотря на наличие некоторых особенностей систем репарации, основной причиной высокой эффективности репарационных процессов у *D. radiodurans*, по-видимому, является стрессоустойчивость протеома, в частности белков репарации. *D. radiodurans* имеет ряд приспособлений, призванных поддержать целостность протеома в условиях окислительного стресса, в т.ч. высокоэффективные ферментативные и протекторные антиоксидантные системы.

Очень интересным представляется вопрос о возникновении радиоустойчивости *D. radiodurans* в ходе эволюции, т.к. на Земле неизвестны естественные местообитания с таким высоким радиационным фоном, при котором *D. radiodurans* сохраняет жизнеспособность. В качестве возможных механизмов предлагалась гипотеза внеземного происхождения или временной «тренировки» радиоустойчивых бактерий в условиях повышенного радиационного фона [159]. Кроме того, рассматривалась возмож-

ность быстрой эволюции радиоустойчивости *D. radiodurans* в искусственных местообитаниях, созданных человеком. Однако помимо *D. radiodurans* в природе существует много неродственных радиоустойчивых видов бактерий в родах *Chroococcidiopsis*, *Methylobacterium*, *Rubrobacter* и др. [160], поэтому сложно представить, что все они выработали эту способность таким путем.

В настоящее время наиболее правдоподобной гипотезой происхождения радиоустойчивости считается ее возникновение в качестве побочного эффекта приспособления клеток к условиям обезвоживания. Действительно, *D. radiodurans* встречается в природе повсеместно, а для целого ряда представителей этого рода естественными местообитаниями являются пустыни. Как при облучении, так и при обезвоживании клетки подвергаются окислительному стрессу, и именно способность переносить окислительный стресс, по-видимому, лежит в основе устойчивости к обоим типам воздействий. Вероятно, бактерии рода *Deinococcus* эволюционировали в направлении повышения устойчивости к обезвоживанию, совершенствуя механизмы, препятствующие образованию АФК и ликвидирующие последствия окисления макромолекул [161]. Т.к. окислительный стресс лежит в основе повреждающего действия многих неблагоприятных факторов, выработанные приспособления позволяют *D. radiodurans* переживать широкий спектр воздействий [4].

Молекулярные механизмы регуляции генной экспрессии у *D. radiodurans* в условиях стресса только начинают изучаться, но уже сейчас понятно, что возможность адаптации к различным стрессовым условиям, наличие уникальных транскрипционных факторов делают данную систему отличной от классических бактериальных моделей. С этой точки зрения большой интерес представляют дальнейшие исследования механизмов транскрипции и ее регуляции у данной бактерии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-14-01074).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anderson, A.W., Nordan, H.C., Cain, R.F., Parrish, G., and Duggan, D. (1956) Studies on a radio-resistant micrococcus. I. Isolation, morphology, cultural characteristics and resistance to radiation, *Food Technol.*, **10**, 575–577.
2. Daly, M.J., Ouyang, L., Fuchs, P., and Minton, K.W. (1994) *In vivo* damage and recA-dependent repair of plasmid and chromosomal DNA in the radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans*, *J. Bacteriol.*, **176**, 3508–3517.
3. Slade, D., and Radman, M. (2011) Oxidative stress resistance in *Deinococcus radiodurans*, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **75**, 133–191.
4. Krisko, A., and Radman, M. (2013) Biology of extreme radiation resistance: the way of *Deinococcus radiodurans*, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.*, **5**.
5. Ghosal, D., Omelchenko, M.V., Gaidamakova, E.K., Matrosova, V.Y., Vasilenko, A., Venkateswaran, A., Zhai, M., Kostandarithes, H.M., Brim, H., Makarova, K.S., Wackett,

- L.P., Fredrickson, J.K., and Daly, M.J. (2005) How radiation kills cells: survival of *Deinococcus radiodurans* and *Shewanella oneidensis* under oxidative stress, *FEMS Microbiol. Rev.*, **29**, 361–375.
6. Daly, M.J., Gaidamakova, E.K., Matrosova, V.Y., Vasilenko, A., Zhai, M., Leapman, R.D., Lai, B., Ravel, B., Li, S.M., Kemner, K.M., and Fredrickson, J.K. (2007) Protein oxidation implicated as the primary determinant of bacterial radioresistance, *PLoS Biol.*, **5**, e92.
  7. Cox, M.M., Keck, J.L., and Battista, J.R. (2010) Rising from the ashes: DNA repair in *Deinococcus radiodurans*, *PLoS Genet.*, **6**, e1000815.
  8. Gwin, K., and Battista, J.R. (2012) Ionizing radiation-resistant microorganisms, in *Extremophiles: microbiology and biotechnology* (Anitori, R.P., ed.), Caister Academic Press, Norfolk, UK, pp. 25–51.
  9. Misra, H.S., Rajpurohit, Y.S., and Kota, S. (2013) Physiological and molecular basis of extreme radioresistance in *Deinococcus radiodurans*, *Curr. Sci.*, **104**, 194–205.
  10. Thompson, B.G., Anderson, R., and Murray, R.G. (1980) Unusual polar lipids of *Micrococcus radiodurans* strain Sark, *Can. J. Microbiol.*, **26**, 1408–1411.
  11. Thompson, B.G., and Murray, R.G. (1981) Isolation and characterization of the plasma membrane and the outer membrane of *Deinococcus radiodurans* strain Sark, *Can. J. Microbiol.*, **27**, 729–734.
  12. Baumeister, W., Barth, M., Hegerl, R., Guckenberger, R., Hahn, M., and Saxton, W.O. (1986) Three-dimensional structure of the regular surface layer (HPI layer) of *Deinococcus radiodurans*, *J. Mol. Biol.*, **187**, 241–250.
  13. Kubler, O., and Baumeister, W. (1978) The structure of a periodic cell wall component (HPI-layer of *Micrococcus radiodurans*), *Cytobiologie*, **17**, 1–9.
  14. Farci, D., Bowler, M.W., Kirkpatrick, J., McSweeney, S., Tramontano, E., and Piano, D. (2014) New features of the cell wall of the radio-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1838**, 1978–1984.
  15. Rothfuss, H., Lara, J.C., Schmid, A.K., and Lidstrom, M.E. (2006) Involvement of the S-layer proteins Hpi and SlpA in the maintenance of cell envelope integrity in *Deinococcus radiodurans* R1, *Microbiology*, **152**, 2779–2787.
  16. Makarova, K.S., Aravind, L., Wolf, Y.I., Tatusov, R.L., Minton, K.W., Koonin, E.V., and Daly, M.J. (2001) Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **65**, 44–79.
  17. Frigaard, N.U., Maresca, J.A., Yunker, C.E., Jones, A.D., and Bryant, D.A. (2004) Genetic manipulation of carotenoid biosynthesis in the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*, *J. Bacteriol.*, **186**, 5210–5220.
  18. Liang, C., Zhao, F., Wei, W., Wen, Z., and Qin, S. (2006) Carotenoid biosynthesis in cyanobacteria: structural and evolutionary scenarios based on comparative genomics, *Int. J. Biol. Sci.*, **2**, 197–207.
  19. Tian, B., Sun, Z., Shen, S., Wang, H., Jiao, J., Wang, L., Hu, Y., and Hua, Y. (2009) Effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* on protein oxidation, *Lett. Appl. Microbiol.*, **49**, 689–694.
  20. Tian, B., Xu, Z., Sun, Z., Lin, J., and Hua, Y. (2007) Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence, and DNA damage analyses, *Biochim. Biophys. Acta*, **1770**, 902–911.
  21. White, O., Eisen, J.A., Heidelberg, J.F., Hickey, E.K., Peterson, J.D., Dodson, R.J., Haft, D.H., Gwinn, M.L., Nelson, W.C., Richardson, D.L., Moffat, K.S., Qin, H., Jiang, L., Pamphile, W., Crosby, M., Shen, M., Vamathevan, J.J., Lam, P., McDonald, L., Utterback, T., Zalewski, C., Makarova, K.S., Aravind, L., Daly, M.J., Minton, K.W., Fleischmann, R.D., Ketchum, K.A., Nelson, K.E., Salzberg, S., Smith, H.O., Venter, J.C., and Fraser, C.M. (1999) Genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1, *Science*, **286**, 1571–1577.
  22. Driedger, A.A. (1970) The DNA content of single cells of *Micrococcus radiodurans*, *Can. J. Microbiol.*, **16**, 1136–1137.
  23. Weisburg, W.G., Giovannoni, S.J., and Woese, C.R. (1989) The *Deinococcus*–*Thermus* phylum and the effect of rRNA composition on phylogenetic tree construction, *Syst. Appl. Microbiol.*, **11**, 128–134.
  24. Omelchenko, M.V., Wolf, Y.I., Gaidamakova, E.K., Matrosova, V.Y., Vasilenko, A., Zhai, M., Daly, M.J., Koonin, E.V., and Makarova, K.S. (2005) Comparative genomics of *Thermus thermophilus* and *Deinococcus radiodurans*: divergent routes of adaptation to thermophily and radiation resistance, *BMC Evol. Biol.*, **5**, 57.
  25. Moseley, B.E., and Setlow, J.K. (1968) Transformation in *Micrococcus radiodurans* and the ultraviolet sensitivity of its transforming DNA, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **61**, 176–183.
  26. Tirgary, S., and Moseley, B.E. (1980) Transformation in *Micrococcus radiodurans*: measurement of various parameters and evidence for multiple, independently segregating genomes, *J. Gen. Microbiol.*, **119**, 287–296.
  27. Smith, M.D., Lennon, E., McNeil, L.B., and Minton, K.W. (1988) Duplication insertion of drug resistance determinants in the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*, *J. Bacteriol.*, **170**, 2126–2135.
  28. Levin-Zaidman, S., Englander, J., Shimoni, E., Sharma, A.K., Minton, K.W., and Minsky, A. (2003) Ringlike structure of the *Deinococcus radiodurans* genome: a key to radioresistance? *Science*, **299**, 254–256.
  29. Englander, J., Klein, E., Brumfeld, V., Sharma, A.K., Doherty, A.J., and Minsky, A. (2004) DNA toroids: framework for DNA repair in *Deinococcus radiodurans* and in germinating bacterial spores, *J. Bacteriol.*, **186**, 5973–5977.
  30. Zimmerman, J.M., and Battista, J.R. (2005) A ring-like nucleoid is not necessary for radioresistance in the Deinococcaceae, *BMC Microbiol.*, **5**, 17.
  31. Gerard, E., Jolivet, E., Prieur, D., and Forterre, P. (2001) DNA protection mechanisms are not involved in the radioresistance of the hyperthermophilic archaea *Pyrococcus abyssi* and *P. furiosus*, *Mol. Genet. Genom.*, **266**, 72–78.
  32. Morimatsu, K., and Kowalczykowski, S.C. (2014) RecQ helicase and RecJ nuclease provide complementary functions to resect DNA for homologous recombination, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, E5133–5142.
  33. Bentchikou, E., Servant, P., Coste, G., and Sommer, S. (2010) A major role of the RecFOR pathway in DNA double-strand-break repair through ESDSA in *Deinococcus radiodurans*, *PLoS Genet.*, **6**, e1000774.
  34. Stelter, M., Acajjaoui, S., McSweeney, S., and Timmins, J. (2013) Structural and mechanistic insight into DNA unwinding by *Deinococcus radiodurans* UvrD, *PLoS One*, **8**, e77364.
  35. Saikrishnan, K., Powell, B., Cook, N.J., Webb, M.R., and Wigley, D.B. (2009) Mechanistic basis of 5'-3' translocation in SF1B helicases, *Cell*, **137**, 849–859.
  36. Shadrick, W.R., and Julin, D.A. (2010) Kinetics of DNA unwinding by the RecD2 helicase from *Deinococcus radiodurans*, *J. Biol. Chem.*, **285**, 17292–17300.
  37. Wu, Y., Chen, W., Zhao, Y., Xu, H., and Hua, Y. (2009) Involvement of RecG in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced damage repair in *Deinococcus radiodurans*, *Can. J. Microbiol.*, **55**, 841–848.

38. Cao, Z., and Julin, D.A. (2009) Characterization *in vitro* and *in vivo* of the DNA helicase encoded by *Deinococcus radiodurans* locus DR1572, *DNA Rep.*, **8**, 612–619.
39. Kim, J.I., Sharma, A.K., Abbott, S.N., Wood, E.A., Dwyer, D.W., Jambura, A., Minton, K.W., Inman, R.B., Daly, M.J., and Cox, M.M. (2002) RecA protein from the extremely radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*: expression, purification, and characterization, *J. Bacteriol.*, **184**, 1649–1660.
40. Kim, J.I., and Cox, M.M. (2002) The RecA proteins of *Deinococcus radiodurans* and *Escherichia coli* promote DNA strand exchange via inverse pathways, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 7917–7921.
41. George, N.P., Ngo, K.V., Chitteni-Pattu, S., Norais, C.A., Battista, J.R., Cox, M.M., and Keck, J.L. (2012) Structure and cellular dynamics of *Deinococcus radiodurans* single-stranded DNA (ssDNA)-binding protein (SSB)-DNA complexes, *J. Biol. Chem.*, **287**, 22123–22132.
42. Ngo, K.V., Molzberger, E.T., Chitteni-Pattu, S., and Cox, M.M. (2013) Regulation of *Deinococcus radiodurans* RecA protein function via modulation of active and inactive nucleoprotein filament states, *J. Biol. Chem.*, **288**, 21351–21366.
43. Beam, C.E., Saveson, C.J., and Lovett, S.T. (2002) Role for *radA/sms* in recombination intermediate processing in *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, **184**, 6836–6844.
44. Zhou, Q., Zhang, X., Xu, H., Xu, B., and Hua, Y. (2006) RadA: a protein involved in DNA damage repair processes of *Deinococcus radiodurans* R1, *Chin. Sci. Bull.*, **51**, 2993–2999.
45. Slade, D., Lindner, A.B., Paul, G., and Radman, M. (2009) Recombination and replication in DNA repair of heavily irradiated *Deinococcus radiodurans*, *Cell*, **136**, 1044–1055.
46. Zahradka, K., Slade, D., Bailone, A., Sommer, S., Averbeck, D., Petranovic, M., Lindner, A.B., and Radman, M. (2006) Reassembly of shattered chromosomes in *Deinococcus radiodurans*, *Nature*, **443**, 569–573.
47. Heinz, K., and Marx, A. (2007) Lesion bypass activity of DNA polymerase A from the extremely radioresistant organism *Deinococcus radiodurans*, *J. Biol. Chem.*, **282**, 10908–10914.
48. Daly, M.J., Gaidamakova, E.K., Matrosova, V.Y., Vasilenko, A., Zhai, M., Venkateswaran, A., Hess, M., Omelchenko, M.V., Kostandarithes, H.M., Makarova, K.S., Wackett, L.P., Fredrickson, J.K., and Ghosal, D. (2004) Accumulation of Mn(II) in *Deinococcus radiodurans* facilitates gamma-radiation resistance, *Science*, **306**, 1025–1028.
49. Gutman, P.D., Fuchs, P., and Minton, K.W. (1994) Restoration of the DNA damage resistance of *Deinococcus radiodurans* DNA polymerase mutants by *Escherichia coli* DNA polymerase I and Klenow fragment, *Mutat. Res.*, **314**, 87–97.
50. Liu, Y., Zhou, J., Omelchenko, M.V., Beliaev, A.S., Venkateswaran, A., Stair, J., Wu, L., Thompson, D.K., Xu, D., Rogozin, I.B., Gaidamakova, E.K., Zhai, M., Makarova, K.S., Koonin, E.V., and Daly, M.J. (2003) Transcriptome dynamics of *Deinococcus radiodurans* recovering from ionizing radiation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 4191–4196.
51. Niiranen, L., Lian, K., Johnson, K.A., and Moe, E. (2015) Crystal structure of the DNA polymerase III beta subunit (beta-clamp) from the extremophile *Deinococcus radiodurans*, *BMC Struct. Biol.*, **15**, 5.
52. Khairnar, N.P., and Misra, H.S. (2009) DNA polymerase X from *Deinococcus radiodurans* implicated in bacterial tolerance to DNA damage is characterized as a short patch base excision repair polymerase, *Microbiology*, **155**, 3005–3014.
53. Blasius, M., Shevelev, I., Jolivet, E., Sommer, S., and Hubscher, U. (2006) DNA polymerase X from *Deinococcus radiodurans* possesses a structure-modulated 3'→5' exonuclease activity involved in radioresistance, *Mol. Microbiol.*, **60**, 165–176.
54. Bentchikou, E., Servant, P., Coste, G., and Sommer, S. (2007) Additive effects of SbcCD and PolX deficiencies in the *in vivo* repair of DNA double-strand breaks in *Deinococcus radiodurans*, *J. Bacteriol.*, **189**, 4784–4790.
55. de la Tour, C.B., Passot, F.M., Toueille, M., Mirabella, B., Guerin, P., Blanchard, L., Servant, P., de Groot, A., Sommer, S., and Armengaud, J. (2013) Comparative proteomics reveals key proteins recruited at the nucleoid of *Deinococcus* after irradiation-induced DNA damage, *Proteomics*, **13**, 3457–3469.
56. Devigne, A., Mersaoui, S., Bouthier-de-la-Tour, C., Sommer, S., and Servant, P. (2013) The PprA protein is required for accurate cell division of gamma-irradiated *Deinococcus radiodurans* bacteria, *DNA Rep.*, **12**, 265–272.
57. Narumi, I., Satoh, K., Cui, S., Funayama, T., Kitayama, S., and Watanabe, H. (2004) PprA: a novel protein from *Deinococcus radiodurans* that stimulates DNA ligation, *Mol. Microbiol.*, **54**, 278–285.
58. Adachi, M., Hirayama, H., Shimizu, R., Satoh, K., Narumi, I., and Kuroki, R. (2014) Interaction of double-stranded DNA with polymerized PprA protein from *Deinococcus radiodurans*, *Protein Sci.*, **23**, 1349–1358.
59. Schmier, B.J., and Shuman, S. (2014) Effects of 3'-OH and 5'-PO<sub>4</sub> base mismatches and damaged base lesions on the fidelity of nick sealing by *Deinococcus radiodurans* RNA ligase, *J. Bacteriol.*, **196**, 1704–1712.
60. Daly, M.J., and Minton, K.W. (1996) An alternative pathway of recombination of chromosomal fragments precedes recA-dependent recombination in the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*, *J. Bacteriol.*, **178**, 4461–4471.
61. Tanaka, M., Earl, A.M., Howell, H.A., Park, M.J., Eisen, J.A., Peterson, S.N., and Battista, J.R. (2004) Analysis of *Deinococcus radiodurans*'s transcriptional response to ionizing radiation and desiccation reveals novel proteins that contribute to extreme radioresistance, *Genetics*, **168**, 21–33.
62. Kota, S., Charaka, V.K., and Misra, H.S. (2014) PprA, a pleiotropic protein for radioresistance, works through DNA gyrase and shows cellular dynamics during postirradiation recovery in *Deinococcus radiodurans*, *J. Genet.*, **93**, 349–354.
63. Kota, S., Charaka, V.K., Ringgaard, S., Waldor, M.K., and Misra, H.S. (2014) PprA contributes to *Deinococcus radiodurans* resistance to nalidixic acid, genome maintenance after DNA damage and interacts with deinococcal topoisomerases, *PLoS One*, **9**, e85288.
64. Das, A.D., and Misra, H.S. (2011) Characterization of DRA0282 from *Deinococcus radiodurans* for its role in bacterial resistance to DNA damage, *Microbiology*, **157**, 2196–2205.
65. Norais, C.A., Chitteni-Pattu, S., Wood, E.A., Inman, R.B., and Cox, M.M. (2009) DdrB protein, an alternative *Deinococcus radiodurans* SSB induced by ionizing radiation, *J. Biol. Chem.*, **284**, 21402–21411.
66. Bernstein, D.A., Eggington, J.M., Killoran, M.P., Mistic, A.M., Cox, M.M., and Keck, J.L. (2004) Crystal structure of the *Deinococcus radiodurans* single-stranded DNA-binding protein suggests a mechanism for coping with DNA damage, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 8575–8580.
67. Ujaoney, A.K., Basu, B., Muniyappa, K., and Apte, S.K. (2015) Functional roles of N-terminal and C-terminal domains in the overall activity of a novel single-stranded

- DNA binding protein of *Deinococcus radiodurans*, *FEBS Open Bio*, **5**, 378–387.
68. Lockhart, J.S., and DeVeaux, L.C. (2013) The essential role of the *Deinococcus radiodurans* *ssb* gene in cell survival and radiation tolerance, *PLoS One*, **8**, e71651.
  69. Xu, G., Lu, H., Wang, L., Chen, H., Xu, Z., Hu, Y., Tian, B., and Hua, Y. (2010) DdrB stimulates single-stranded DNA annealing and facilitates RecA-independent DNA repair in *Deinococcus radiodurans*, *DNA Rep.*, **9**, 805–812.
  70. Bouthier de la Tour, C., Boissard, S., Norais, C., Toueille, M., Bentchikou, E., Vannier, F., Cox, M.M., Sommer, S., and Servant, P. (2011) The deinococcal DdrB protein is involved in an early step of DNA double strand break repair and in plasmid transformation through its single-strand annealing activity, *DNA Rep.*, **10**, 1223–1231.
  71. Sugiman-Marangos, S.N., Peel, J.K., Weiss, Y.M., Ghirlando, R., and Junop, M.S. (2013) Crystal structure of the DdrB/ssDNA complex from *Deinococcus radiodurans* reveals a DNA binding surface involving higher-order oligomeric states, *Nucleic Acids Res.*, **41**, 9934–9944.
  72. Harris, D.R., Tanaka, M., Saveliev, S.V., Jolivet, E., Earl, A.M., Cox, M.M., and Battista, J.R. (2004) Preserving genome integrity: the DdrA protein of *Deinococcus radiodurans* R1, *PLoS Biol.*, **2**, e304.
  73. Selvam, K., Duncan, J.R., Tanaka, M., and Battista, J.R. (2013) DdrA, DdrD, and PprA: components of UV and mitomycin C resistance in *Deinococcus radiodurans* R1, *PLoS One*, **8**, e69007.
  74. Жарков Д.О. (2007) Структура и конформационная динамика гликозилаз эксцизионной репарации оснований ДНК, *Мол. биол.*, **41**, 772–786.
  75. Earl, A.M., Rankin, S.K., Kim, K.P., Lamendola, O.N., and Battista, J.R. (2002) Genetic evidence that the *uvsE* gene product of *Deinococcus radiodurans* R1 is a UV damage endonuclease, *J. Bacteriol.*, **184**, 1003–1009.
  76. Tanaka, M., Narumi, I., Funayama, T., Kikuchi, M., Watanabe, H., Matsunaga, T., Nikaido, O., and Yamamoto, K. (2005) Characterization of pathways dependent on the *uvsE*, *uvrA1*, or *uvrA2* gene product for UV resistance in *Deinococcus radiodurans*, *J. Bacteriol.*, **187**, 3693–3697.
  77. Moeller, R., Douki, T., Rettberg, P., Reitz, G., Cadet, J., Nicholson, W.L., and Horneck, G. (2010) Genomic bipyrimidine nucleotide frequency and microbial reactions to germicidal UV radiation, *Arch. Microbiol.*, **192**, 521–529.
  78. Menecier, S., Coste, G., Servant, P., Bailone, A., and Sommer, S. (2004) Mismatch repair ensures fidelity of replication and recombination in the radioresistant organism *Deinococcus radiodurans*, *Mol. Genet. Genomics*, **272**, 460–469.
  79. Zhang, H., Xu, Q., Lu, M., Xu, X., Wang, Y., Wang, L., Zhao, Y., and Hua, Y. (2014) Structural and functional studies of MutS2 from *Deinococcus radiodurans*, *DNA Rep.*, **21**, 111–119.
  80. Onodera, T., Satoh, K., Ohta, T., and Narumi, I. (2013) *Deinococcus radiodurans* YgjD and YeaZ are involved in the repair of DNA cross-links, *Extremophiles*, **17**, 171–179.
  81. Harris, D.R., Pollock, S.V., Wood, E.A., Goiffon, R.J., Klingele, A.J., Cabot, E.L., Schackwitz, W., Martin, J., Eggington, J., Durfee, T.J., Middle, C.M., Norton, J.E., Popelars, M.C., Li, H., Klugman, S.A., Hamilton, L.L., Bane, L.B., Pennacchio, L.A., Albert, T.J., Perna, N.T., Cox, M.M., and Battista, J.R. (2009) Directed evolution of ionizing radiation resistance in *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, **191**, 5240–5252.
  82. Imlay, J.A. (2006) Iron-sulphur clusters and the problem with oxygen, *Mol. Microbiol.*, **59**, 1073–1082.
  83. Fredrickson, J.K., Li, S.M., Gaidamakova, E.K., Matrosova, V.Y., Zhai, M., Sulloway, H.M., Scholten, J.C., Brown, M.G., Balkwill, D.L., and Daly, M.J. (2008) Protein oxidation: key to bacterial desiccation resistance? *ISME J.*, **2**, 393–403.
  84. Krisko, A., and Radman, M. (2010) Protein damage and death by radiation in *Escherichia coli* and *Deinococcus radiodurans*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 14373–14377.
  85. Tian, B., Wu, Y., Sheng, D., Zheng, Z., Gao, G., and Hua, Y. (2004) Chemiluminescence assay for reactive oxygen species scavenging activities and inhibition on oxidative damage of DNA in *Deinococcus radiodurans*, *Luminescence*, **19**, 78–84.
  86. Lipton, M.S., Pasa-Tolic, L., Anderson, G.A., Anderson, D.J., Auberry, D.L., Battista, J.R., Daly, M.J., Fredrickson, J., Hixson, K.K., Kostandarithes, H., Masselon, C., Markillie, L.M., Moore, R.J., Romine, M.F., Shen, Y., Stritmatter, E., Tolic, N., Udseth, H.R., Venkateswaran, A., Wong, K.K., Zhao, R., and Smith, R.D. (2002) Global analysis of the *Deinococcus radiodurans* proteome by using accurate mass tags, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 11049–11054.
  87. Chou, F.I., and Tan, S.T. (1990) Manganese(II) induces cell division and increases in superoxide dismutase and catalase activities in an aging deinococcal culture, *J. Bacteriol.*, **172**, 2029–2035.
  88. Tanaka, A., Hirano, H., Kikuchi, M., Kitayama, S., and Watanabe, H. (1996) Changes in cellular proteins of *Deinococcus radiodurans* following gamma-irradiation, *Radiat. Environ. Biophys.*, **35**, 95–99.
  89. Martinez, A., and Kolter, R. (1997) Protection of DNA during oxidative stress by the nonspecific DNA-binding protein Dps, *J. Bacteriol.*, **179**, 5188–5194.
  90. Markillie, L.M., Varnum, S.M., Hradecky, P., and Wong, K.K. (1999) Targeted mutagenesis by duplication insertion in the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*: radiation sensitivities of catalase (*katA*) and superoxide dismutase (*sodA*) mutants, *J. Bacteriol.*, **181**, 666–669.
  91. Mitchel, R.E. (1976) Ionizing radiation damage in *Micrococcus radiodurans* cell wall: release of polysaccharide, *Radiat. Res.*, **66**, 158–169.
  92. Daly, M.J., Gaidamakova, E.K., Matrosova, V.Y., Kiang, J.G., Fukumoto, R., Lee, D.Y., Wehr, N.B., Viteri, G.A., Berlett, B.S., and Levine, R.L. (2010) Small-molecule antioxidant proteome-shields in *Deinococcus radiodurans*, *PLoS One*, **5**, e12570.
  93. Leibowitz, P.J., Schwartzberg, L.S., and Bruce, A.K. (1976) The *in vivo* association of manganese with the chromosome of *Micrococcus radiodurans*, *Photochem. Photobiol.*, **23**, 45–50.
  94. Luan, H., Meng, N., Fu, J., Chen, X., Xu, X., Feng, Q., Jiang, H., Dai, J., Yuan, X., Lu, Y., Roberts, A.A., Luo, X., Chen, M., Xu, S., Li, J., Hamilton, C.J., Fang, C., and Wang, J. (2014) Genome-wide transcriptome and antioxidant analyses on gamma-irradiated phases of *Deinococcus radiodurans* R1, *PLoS One*, **9**, e85649.
  95. Anjem, A., Varghese, S., and Imlay, J.A. (2009) Manganese import is a key element of the OxyR response to hydrogen peroxide in *Escherichia coli*, *Mol. Microbiol.*, **72**, 844–858.
  96. Li, M., Sun, H., Feng, Q., Lu, H., Zhao, Y., Zhang, H., Xu, X., Jiao, J., Wang, L., and Hua, Y. (2013) Extracellular dGMP enhances *Deinococcus radiodurans* tolerance to oxidative stress, *PLoS One*, **8**, e54420.
  97. Berlett, B.S., and Levine, R.L. (2014) Designing antioxidant peptides, *Redox Rep.*, **19**, 80–86.
  98. Tabares, L.C., and Un, S. (2013) *In situ* determination of manganese(II) speciation in *Deinococcus radiodurans* by high magnetic field EPR: detection of high levels of Mn(II) bound to proteins, *J. Biol. Chem.*, **288**, 5050–5055.
  99. Bruch, E.M., de Groot, A., Un, S., and Tabares, L.C. (2015) The effect of gamma-ray irradiation on the Mn(II) speciation in *Deinococcus radiodurans* and the potential role of Mn(II)-orthophosphates, *Metallomics*, **7**, 908–916.

100. Lee, H.Y., Wong, T.Y., Kuo, J., and Liu, J.K. (2014) The effect of Mn(II) on the autoinducing growth inhibition factor in *Deinococcus radiodurans*, *Prep. Biochem. Biotechnol.*, **44**, 645–652.
101. Rouault, T.A., and Klausner, R.D. (1996) Iron-sulfur clusters as biosensors of oxidants and iron, *Trends Biochem. Sci.*, **21**, 174–177.
102. Servant, P., Jolivet, E., Bentchikou, E., Menecier, S., Bailone, A., and Sommer, S. (2007) The ClpPX protease is required for radioresistance and regulates cell division after gamma-irradiation in *Deinococcus radiodurans*, *Mol. Microbiol.*, **66**, 1231–1239.
103. Joshi, B., Schmid, R., Altendorf, K., and Apte, S.K. (2004) Protein recycling is a major component of post-irradiation recovery in *Deinococcus radiodurans* strain R1, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **320**, 1112–1117.
104. Tsai, C.H., Liao, R., Chou, B., and Contreras, L.M. (2015) Transcriptional analysis of *Deinococcus radiodurans* reveals novel small RNAs that are differentially expressed under ionizing radiation, *Appl. Environ. Microbiol.*, **81**, 1754–1764.
105. Im, S., Joe, M., Kim, D., Park, D.H., and Lim, S. (2013) Transcriptome analysis of salt-stressed *Deinococcus radiodurans* and characterization of salt-sensitive mutants, *Res. Microbiol.*, **164**, 923–932.
106. Joe, M.H., Jung, S.W., Im, S.H., Lim, S.Y., Song, H.P., Kwon, O., and Kim, D.H. (2011) Genome-wide response of *Deinococcus radiodurans* on cadmium toxicity, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **21**, 438–447.
107. Zhang, C., Wei, J., Zheng, Z., Ying, N., Sheng, D., and Hua, Y. (2005) Proteomic analysis of *Deinococcus radiodurans* recovering from gamma-irradiation, *Proteomics*, **5**, 138–143.
108. Basu, B., and Apte, S.K. (2012) Gamma radiation-induced proteome of *Deinococcus radiodurans* primarily targets DNA repair and oxidative stress alleviation, *Mol. Cell. Proteomics*, **11**, DOI: 10.1074/mcp.M111.011734.
109. Makarova, K.S., Omelchenko, M.V., Gaidamakova, E.K., Matrosova, V.Y., Vasilenko, A., Zhai, M., Lapidus, A., Copeland, A., Kim, E., Land, M., Mavrommatis, K., Pitluck, S., Richardson, P.M., Detter, C., Brettin, T., Saunders, E., Lai, B., Ravel, B., Kemner, K.M., Wolf, Y.I., Sorokin, A., Gerasimova, A.V., Gelfand, M.S., Fredrickson, J.K., Koonin, E.V., and Daly, M.J. (2007) *Deinococcus geothermalis*: the pool of extreme radiation resistance genes shrinks, *PLoS One*, **2**, e955.
110. Devigne, A., Ithurbe, S., Bouthier de la Tour, C., Passot, F., Mathieu, M., Sommer, S., and Servant, P. (2015) DdrO is an essential protein that regulates the radiation desiccation response and the apoptotic-like cell death in the radioresistant *Deinococcus radiodurans* bacterium, *Mol. Microbiol.*, **96**, 1069–1084.
111. Earl, A.M., Mohundro, M.M., Mian, I.S., and Battista, J.R. (2002) The IrrE protein of *Deinococcus radiodurans* R1 is a novel regulator of *recA* expression, *J. Bacteriol.*, **184**, 6216–6224.
112. Lu, H., Gao, G., Xu, G., Fan, L., Yin, L., Shen, B., and Hua, Y. (2009) *Deinococcus radiodurans* PprI switches on DNA damage response and cellular survival networks after radiation damage, *Mol. Cell. Proteomics*, **8**, 481–494.
113. Lu, H., Chen, H., Xu, G., Shah, A.M., and Hua, Y. (2012) DNA binding is essential for PprI function in response to radiation damage in *Deinococcus radiodurans*, *DNA Rep.*, **11**, 139–145.
114. Zhao, P., Zhou, Z., Zhang, W., Lin, M., Chen, M., and Wei, G. (2015) Global transcriptional analysis of *Escherichia coli* expressing IrrE, a regulator from *Deinococcus radiodurans*, in response to NaCl shock, *Mol. Biosyst.*, **11**, 1165–1171.
115. Ludanyi, M., Blanchard, L., Dulermo, R., Brandelet, G., Bellanger, L., Pignol, D., Lemaire, D., and de Groot, A. (2014) Radiation response in *Deinococcus deserti*: IrrE is a metalloprotease that cleaves repressor protein DdrO, *Mol. Microbiol.*, **94**, 434–449.
116. Wang, Y., Xu, Q., Lu, H., Lin, L., Wang, L., Xu, H., Cui, X., Zhang, H., Li, T., and Hua, Y. (2015) Protease activity of PprI facilitates DNA damage response: Mn(2+)-dependence and substrate sequence-specificity of the proteolytic reaction, *PLoS One*, **10**, e0122071.
117. Ohba, H., Satoh, K., Sghaier, H., Yanagisawa, T., and Narumi, I. (2009) Identification of PprM: a modulator of the PprI-dependent DNA damage response in *Deinococcus radiodurans*, *Extremophiles*, **13**, 471–479.
118. Wang, L., Xu, G., Chen, H., Zhao, Y., Xu, N., Tian, B., and Hua, Y. (2008) DrRRA: a novel response regulator essential for the extreme radioresistance of *Deinococcus radiodurans*, *Mol. Microbiol.*, **67**, 1211–1222.
119. Chen, H., Xu, G., Zhao, Y., Tian, B., Lu, H., Yu, X., Xu, Z., Ying, N., Hu, S., and Hua, Y. (2008) A novel OxyR sensor and regulator of hydrogen peroxide stress with one cysteine residue in *Deinococcus radiodurans*, *PLoS One*, **3**, e1602.
120. Lu, H., Xia, W., Chen, H., Yin, L., Zhao, X., Xu, G., and Hua, Y. (2011) Characterization of the role of DR0171 in transcriptional response to radiation in the extremely radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*, *Arch. Microbiol.*, **193**, 741–750.
121. Ul Hussain Shah, A.M., Zhao, Y., Wang, Y., Yan, G., Zhang, Q., Wang, L., Tian, B., Chen, H., and Hua, Y. (2014) A Mur regulator protein in the extremophilic bacterium *Deinococcus radiodurans*, *PLoS One*, **9**, e106341.
122. Sheng, D., Liu, R., Xu, Z., Singh, P., Shen, B., and Hua, Y. (2005) Dual negative regulatory mechanisms of RecX on RecA functions in radiation resistance, DNA recombination and consequent genome instability in *Deinococcus radiodurans*, *DNA Rep.*, **4**, 671–678.
123. Sheng, D., Jao, J., Li, M., Xu, P., and Zhang, J. (2009) RecX is involved in the switch between DNA damage response and normal metabolism in *D. radiodurans*, *J. Biochem.*, **146**, 337–342.
124. Satoh, K., Ohba, H., Sghaier, H., and Narumi, I. (2006) Down-regulation of radioresistance by LexA2 in *Deinococcus radiodurans*, *Microbiology*, **152**, 3217–3226.
125. Zhao, Z., Zhou, Z., Li, L., Xian, X., Ke, X., Chen, M., and Zhang, Y. (2014) A copper-responsive gene cluster is required for copper homeostasis and contributes to oxidative resistance in *Deinococcus radiodurans* R1, *Mol. Biosyst.*, **10**, 2607–2616.
126. Wilkinson, S.P., and Grove, A. (2004) HucR, a novel uric acid-responsive member of the MarR family of transcriptional regulators from *Deinococcus radiodurans*, *J. Biol. Chem.*, **279**, 51442–51450.
127. Bordelon, T., Wilkinson, S.P., Grove, A., and Newcomer, M.E. (2006) The crystal structure of the transcriptional regulator HucR from *Deinococcus radiodurans* reveals a repressor preconfigured for DNA binding, *J. Mol. Biol.*, **360**, 168–177.
128. Perera, I.C., Lee, Y.H., Wilkinson, S.P., and Grove, A. (2009) Mechanism for attenuation of DNA binding by MarR family transcriptional regulators by small molecule ligands, *J. Mol. Biol.*, **390**, 1019–1029.
129. Dulermo, R., Onodera, T., Coste, G., Passot, F., Dutertre, M., Porteron, M., Confalonieri, F., Sommer, S., and Pasternak, C. (2015) Identification of new genes contributing to the extreme radioresistance of *Deinococcus radiodurans* using a Tn5-based transposon mutant library, *PLoS One*, **10**, e0124358.
130. Kamble, V.A., Rajpurohit, Y.S., Srivastava, A.K., and Misra, H.S. (2010) Increased synthesis of signaling mole-

- cules coincides with reversible inhibition of nucleolytic activity during postirradiation recovery of *Deinococcus radiodurans*, *FEMS Microbiol. Lett.*, **303**, 18–25.
131. Rajpurohit, Y.S., Desai, S.S., and Misra, H.S. (2013) Pyrroloquinoline quinone and a quinoprotein kinase support gamma-radiation resistance in *Deinococcus radiodurans* and regulate gene expression, *J. Basic Microbiol.*, **53**, 518–531.
  132. Im, S., Song, D., Joe, M., Kim, D., Park, D.H., and Lim, S. (2013) Comparative survival analysis of 12 histidine kinase mutants of *Deinococcus radiodurans* after exposure to DNA-damaging agents, *Bioprocess Biosys. Eng.*, **36**, 781–789.
  133. Desai, S.S., Rajpurohit, Y.S., Misra, H.S., and Deobagkar, D.N. (2011) Characterization of the role of the RadS/RadR two-component system in the radiation resistance of *Deinococcus radiodurans*, *Microbiology*, **157**, 2974–2982.
  134. Patel, B.A., Moreau, M., Widom, J., Chen, H., Yin, L., Hua, Y., and Crane, B.R. (2009) Endogenous nitric oxide regulates the recovery of the radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* from exposure to UV light, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 18183–18188.
  135. Yang, P., Chen, Z., Shan, Z., Ding, X., Liu, L., and Guo, J. (2014) Effects of FMN riboswitch on antioxidant activity in *Deinococcus radiodurans* under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stress, *Microbiol. Res.*, **169**, 411–416.
  136. Meima, R., Rothfuss, H.M., Gewin, L., and Lidstrom, M.E. (2001) Promoter cloning in the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*, *J. Bacteriol.*, **183**, 3169–3175.
  137. Barinova, N., Kuznedelov, K., Severinov, K., and Kulbachinskiy, A. (2008) Structural modules of RNA polymerase required for transcription from promoters containing downstream basal promoter element GGGGA, *J. Biol. Chem.*, **283**, 22482–22489.
  138. Kulbachinskiy, A., Bass, I., Bogdanova, E., Goldfarb, A., and Nikiforov, V. (2004) Cold sensitivity of thermophilic and mesophilic RNA polymerases, *J. Bacteriol.*, **186**, 7818–7820.
  139. Kim, M., Wolff, E., Huang, T., Garibyan, L., Earl, A.M., Battista, J.R., and Miller, J.H. (2004) Developing a genetic system in *Deinococcus radiodurans* for analyzing mutations, *Genetics*, **166**, 661–668.
  140. Hua, X., Wang, H., Wang, C., Tian, B., and Hua, Y. (2011) Global effect of an RNA polymerase  $\beta$ -subunit mutation on gene expression in the radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans*, *Sci. China Life Sci.*, **54**, 854–862.
  141. Schmid, A.K., and Lidstrom, M.E. (2002) Involvement of two putative alternative sigma factors in stress response of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*, *J. Bacteriol.*, **184**, 6182–6189.
  142. Schmid, A.K., Howell, H.A., Battista, J.R., Peterson, S.N., and Lidstrom, M.E. (2005) Global transcriptional and proteomic analysis of the Sig1 heat shock regulon of *Deinococcus radiodurans*, *J. Bacteriol.*, **187**, 3339–3351.
  143. Schmid, A.K., Howell, H.A., Battista, J.R., Peterson, S.N., and Lidstrom, M.E. (2005) HspR is a global negative regulator of heat shock gene expression in *Deinococcus radiodurans*, *Mol. Microbiol.*, **55**, 1579–1590.
  144. Miropolskaya, N., Artsimovitch, I., Klimasauskas, S., Nikiforov, V., and Kulbachinskiy, A. (2009) Allosteric control of catalysis by the F loop of RNA polymerase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 18942–18947.
  145. Miropolskaya, N., Esyunina, D., Klimasauskas, S., Nikiforov, V., Artsimovitch, I., and Kulbachinskiy, A. (2014) Interplay between the trigger loop and the F loop during RNA polymerase catalysis, *Nucleic Acids Res.*, **42**, 544–552.
  146. Пупов Д.В., Барина Н.А., Кульбачинский А.В. (2008) Анализ РНК-расщепляющей активности РНК-полимераз *E. coli* и *D. radiodurans*, *Биохимия*, **73**, 903–908.
  147. Nudler, E. (2012) RNA polymerase backtracking in gene regulation and genome instability, *Cell*, **149**, 1438–1445.
  148. Dutta, D., Shatalin, K., Epshtein, V., Gottesman, M.E., and Nudler, E. (2011) Linking RNA polymerase backtracking to genome instability in *E. coli*, *Cell*, **146**, 533–543.
  149. McGlynn, P., Savery, N.J., and Dillingham, M.S. (2012) The conflict between DNA replication and transcription, *Mol. Microbiol.*, **85**, 12–20.
  150. Laptenko, O., Lee, J., Lomakin, I., and Borukhov, S. (2003) Transcript cleavage factors GreA and GreB act as transient catalytic components of RNA polymerase, *EMBO J.*, **22**, 6322–6334.
  151. Hogan, B.P., Hartsch, T., and Erie, D.A. (2002) Transcript cleavage by *Thermus thermophilus* RNA polymerase. Effects of GreA and anti-GreA factors, *J. Biol. Chem.*, **277**, 967–975.
  152. Laptenko, O., Kim, S.S., Lee, J., Starodubtseva, M., Cava, F., Berenguer, J., Kong, X.P., and Borukhov, S. (2006) pH-dependent conformational switch activates the inhibitor of transcription elongation, *EMBO J.*, **25**, 2131–2141.
  153. Symersky, J., Perederina, A., Vassilyeva, M.N., Svetlov, V., Artsimovitch, I., and Vassilyev, D.G. (2006) Regulation through the RNA polymerase secondary channel. Structural and functional variability of the coiled-coil transcription factors, *J. Biol. Chem.*, **281**, 1309–1312.
  154. Sekine, S., Murayama, Y., Svetlov, V., Nudler, E., and Yokoyama, S. (2015) The ratcheted and ratchetable structural states of RNA polymerase underlie multiple transcriptional functions, *Mol. Cell*, **57**, 408–421.
  155. Tagami, S., Sekine, S., Kumarevel, T., Hino, N., Murayama, Y., Kamegami, S., Yamamoto, M., Sakamoto, K., and Yokoyama, S. (2010) Crystal structure of bacterial RNA polymerase bound with a transcription inhibitor protein, *Nature*, **468**, 978–982.
  156. Tagami, S., Sekine, S., Kumarevel, T., Yamamoto, M., and Yokoyama, S. (2010) Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of *Thermus thermophilus* transcription elongation complex bound to Gfh1, *Acta Crystallogr. F.*, **66**, 64–68.
  157. Park, J.S., Marr, M.T., and Roberts, J.W. (2002) *E. coli* transcription repair coupling factor (Mfd protein) rescues arrested complexes by promoting forward translocation, *Cell*, **109**, 757–767.
  158. Epshtein, V., Kamarthapu, V., McGary, K., Svetlov, V., Ueberheide, B., Proshkin, S., Mironov, A., and Nudler, E. (2014) UvrD facilitates DNA repair by pulling RNA polymerase backwards, *Nature*, **505**, 372–377.
  159. Pavlov, A.K., Kalinin, V.L., Konstantinov, A.N., Shelegedin, V.N., and Pavlov, A.A. (2006) Was Earth ever infected by martian biota? Clues from radioresistant bacteria, *Astrobiology*, **6**, 911–918.
  160. Cox, M.M., and Battista, J.R. (2005) *Deinococcus radiodurans* – the consummate survivor, *Nat. Rev. Microbiol.*, **3**, 882–892.
  161. Mattimore, V., and Battista, J.R. (1996) Radioresistance of *Deinococcus radiodurans*: functions necessary to survive ionizing radiation are also necessary to survive prolonged desiccation, *J. Bacteriol.*, **178**, 633–637.

**MECHANISMS OF STRESS RESISTANCE  
AND GENE REGULATION IN THE RADIORESISTANT  
BACTERIUM *Deinococcus radiodurans***

**A. A. Agapov<sup>1,2\*</sup>, A. V. Kulbachinskiy<sup>1,2\*</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences,  
Moscow 123182, Russia; fax: +7(499)196-0221,  
E-mail: akulb@img.ras.ru, al.a.agapov@gmail.com*

<sup>2</sup> *M. V. Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty,  
Moscow 119991, Russia*

Received April 13, 2015

Revision received May 26, 2015

The bacterium *Deinococcus radiodurans* has extraordinary resistance to ionizing radiation, oxidative stress, desiccation, and other damaging conditions. In this review, we consider the main molecular mechanisms underlying such resistance, including the action of specific DNA repair and antioxidation systems and transcription regulation during the anti-stress response.

*Key words:* *Deinococcus radiodurans*, radio resistance, DNA damage, oxidative stress, regulation of gene expression, transcription, RNA polymerase