مقاله پژوهشی

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران

سال ۷ – شماره ۱ – بهار ۱۳۹۲

Journal homepage: www.ijmm.ir

جداسازی و شناسایی مولکولی باکتری مقاوم به پرتو گاما از خاک منطقه پرتوزای جنوب استان خراسان

عنوان کوتاه : جداسازی و شناسایی مولکولی باکتری های بومی مقاوم به پرتو ایران

علی کاظم‌تبریزی[۱]، جلیل فلاح مهرآبادی[۲*]، ناصر قائمی[۱]، خسرو عیسی‌زاده[۱]

۱ گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ علوم پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۲ گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، پژوهشکدهٔ علوم و فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت : ۱۳۹۲/۰۵/۲۹

پذیرش: ۱۳۹۲/۷ /۳۰

انتشارآنلاین: ۱۳۹۲/۰۸/۱۵

IJMM 1392; 7(1): P 40-45

نویسنده مسئول :

جلیل فلاح مهرآبادی

گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، پژوهشکدهٔ علوم و فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران

تلفن: ۰۲۱۲۲۹۷۴۶۰۹

پست الکترونیک:

Jalil.fallah@gmail.com

چکیده

زمینه و اهداف: مقاومت به پرتو در گروه متنوعی از باکتری ها وجود دارد، اما اطلاعات کمی در مورد تنوع زیستی باکتری های بومی مقاوم به پرتو در مناطق پرتوزای ایران وجود دارد. هدف از این مطالعه، شناسایی باکتری های بومی مقاوم به پرتو از نمونه های خاک یک منطقه پرتوزا بود.

مواد و روش کار: نمونه‌های خاک از منطقه مورد نظر جمع آوری شده و از آنها رقت های متوالی تهیه گردید. سپس در محیط کشت TGY agar کشت داده شدند و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری گردیدند. در ادامه، تمامی سویه های جداسازی شده در دوزهای ۰ تا 30kG پرتودهی گاما شدند و مجدداً در محیط کشت TGY agar کشت داده شدند. سپس، سویه مقاوم به پرتو جداسازی شده و با روش‌های میکروبیولوژی و توالی‌یابی ژن ۱٦S rRNA شناسایی شد.

یافته ها: از مجموع ۲۰ سویه جدا شده از کشت نمونه های خاک، فقط یک سویه (F1 5kG) در مقابل پرتو گاما از خود مقاومت نشان داد. آنالیز فیلوژنتیکی بر پایه توالی‌یابی ۱٦S rRNA نشان داد که سویه F1 5kG به جنس Kocuria تعلق دارد و این سویه مقاومت به اشعه گاما در دوز 5000Gy دارد.

نتیجه گیری: نتایج نشان می‌دهد سویه F1 5kG می‌تواند به مدت طولانی در محیط‌های پرتوزا زنده بماند و کاندید مناسبی برای پاکسازی زیستی زباله‌های هسته‌ای باشد. هم چنین، با شناسایی پروتئین‌های دخیل در مقاومت نسبت به پرتو، می‌توان کاربردهای دیگری نیز از این باکتری بدست آورد.

کلمات کلیدی: باکتری مقاوم به پرتو گاما، جنس Kocuria، آنالیز فیلوژنتیکی

کپی رایت © : حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

به دلیل خصوصیات زمین شناسی و اتمسفری میزان پرتودهی مناطق طبیعی اشعه خیز متفاوت است. منطقه Kerala در هند، منطقه ساحلی Espirito Santo در برزیل، Yangjiang در چین، Nile Delta در مصر و رامسر در ایران از شناخته شده ترین مناطق پرتوزای جهان هستند (۱). یکی دیگر از مناطق پرتوزا در ایران، منطقه‌ای در جنوب استان خراسان می‌باشد که میزان اشعه در این منطقه حدود 100mSv/year (۴۰ برابر استاندارد) می‌باشد. خاک چنین مناطقی برای مطالعه اثرات اشعه‌های طبیعی بر ریزاندامگان‌ها و تنوع میکروبی باکتری‌های مقاوم به پرتو مناسب می‌باشد.

محیط‌های خشن دارای درجات متفاوتی از دما، pH، نمک، فشار، غلظت مواد غذایی، آب قابل دسترس، فلزات سنگین، ترکیبات سمی و پرتوهای یونیزان می‌باشند. مقاومت به پرتو در میان قلمروهای مختلف از قبیل آرکی‌باکتریها و باکتری‌ها گزارش شده است. بطور معمول این باکتری‌های مقاوم به پرتو در گروه اکستریموفیل‌ها قرار می‌گیرند و به سایر استرس‌های محیطی

مقاومت نشان می‌دهند و مکانیسم‌های مختلف برای مقابله با این شرایط خشن را دارند. تاکنون ریزاندامگان‌های متنوعی از محیط-های مختلف در سرتاسر جهان جداسازی شده و مورد مطالعه واقع شده‌اند (۲). مطالعه این ریزاندامگان‌ها(microorganism) نه فقط از نظر شناختن مکانیسم مقاومت به پرتو مهم است بلکه در استفاده از آنها برای پاکسازی مناطق و پسماندهای آلوده به مواد پرتوزاحائز اهمیت است. هدف از مطالعه حاضر جداسازی و شناسایی باکتری‌های مقاوم به پرتو از خاک منطقه پرتوزای جنوب استان خراسان بود.

مواد و روش ها:

جمع آوری نمونه و جداسازی باکتری‌ها

ابتدا مناطق پرتوزایی که دارای بیشترین دوز از اشعه گاما بودند توسط دستگاه گایگر شناسایی شدند. نمونه‌های خاک (۱۰۰ گرم) از چندین نقطه از این منطقه پرتوزا (بطور تصادفی) از قسمت‌های سطحی (5 cm بالایی سطح خاک) جمع‌آوری شد و در محفظه مخصوص که دارای دمای ۴ درجه سلسیوس بود قرار داده شده و سریعاً به آزمایشگاه تهران منتقل شدند.

از نمونه های خاک رقت های متوالی از $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۹}$ تهیه شده و ۰/۱ میلی لیتر از هر رقت در محیط کشت TGY agar با ترکیب (Bacto Tryptone 1%; Yeast Extract 0.5%; Glucose 0.1%, and Bacto Agar 1.5%) کشت داده شد و به مدت ۳ تا ۵ روز در دمای ۳۰ درجه سلسیوس انکوبه گذاری شدند. از باکتری های رشد یافته کشت خالص تهیه شد و از هر کلنی باکتریایی خالص، یک غلظت ثابت در محیط TGY broth تهیه شده و باکتری ها توسط دستگاه Gamma Cell Model 60Co source اشعه گاما داده شدند، بطوریکه میزان اشعه دهی از ۰ Gy تا ۳۰ kGy در دمای اتاق انجام شد. نمونه های میکروبی اشعه داده شده مجدداً به محیط کشت TGY agar منتقل شدند و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس انکوبه شدند تا سلول های پرتودیده بتوانند خود را در این مدت ترمیم کنند و رشد نمایند. بعد از این مدت، نمونه های کشت داده برای مراحل بعدی شناسایی میکروبی مورد استفاده قرار گرفتند.

شناسایی ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی باکتری‌های مقاوم به پرتو گاما

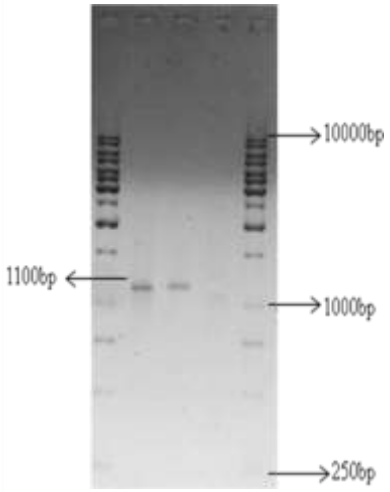
به دنبال کشت نمونه‌های خاک بر روی محیط کشت TGY agar، اولین مرحله شناسایی باکتری‌های مقاوم به پرتو، بررسی ریخت‌شناسی(morphology) سلول‌ها توسط رنگ آمیزی گرم بود و سپس خصوصیات فیزیولوژیک سلول و تست‌های بیوشیمیایی با استفاده از سیستم تجاری API 20E انجام شد. هم چنین توانایی استفاده از نشاسته (تولید آمیلاز) با استفاده از محیط نشاسته آگار انجام شد.

استخراج DNA و تکثیر ژن ۱۶S rRNA با استفاه از PCR و تعیین توالی آن

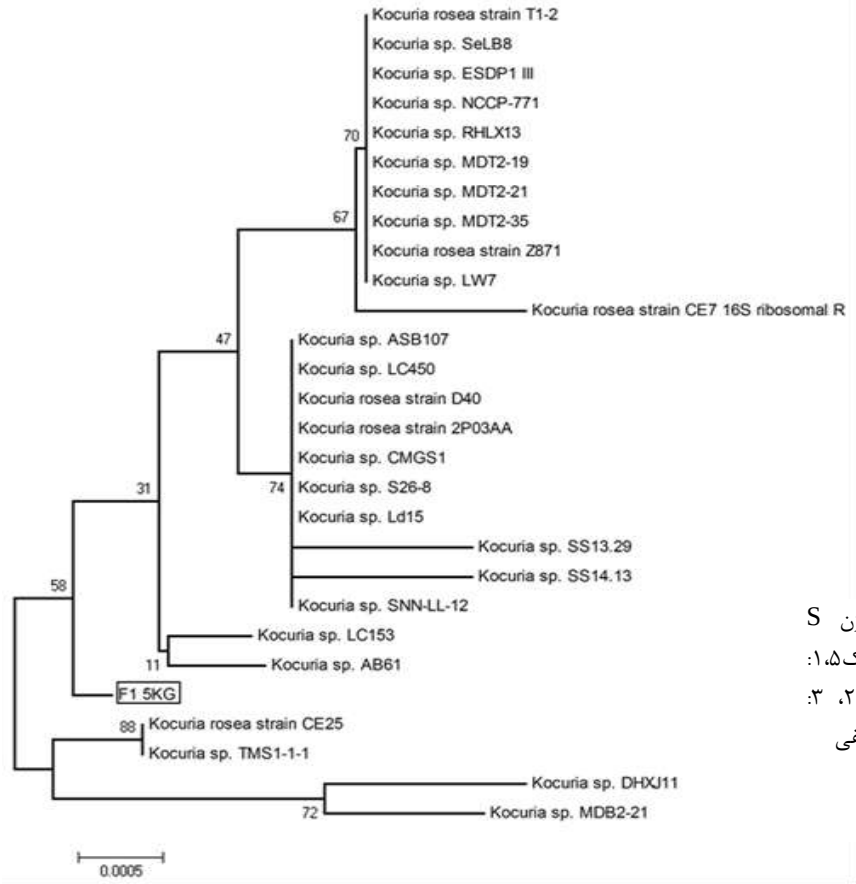
استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم انجام گرفت و برای تکثیر ژن ۱۶S rRNA، از پرایمرهای Eub 27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCCAG و Eub 1107R 5'-GCTCGTTGCGGGACTTAACC برای PCR استفاده شد. واکنش PCR توسط Master mix (آمپلیکون، دانمارک) در حجم ۲۵ میکرولیتری به صورت ۳ دقیقه در ۹۴ درجه سلسیوس ، سپس ۳۰ چرخه حرارتی بصورت ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس ، ۳۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه سلسیوس ، یک دقیقه و نیم در دمای ۷۲ درجه سلسیوس و در نهایت یک سیکل پایانی در ۷۲ درجه سلسیوس انجام شد (۳). بعد از انجام واکنش، ۵ میکرولیتر از نمونه PCR شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد به همراه سایز مارکر 1kb الکتروفورز شدند. در انتها محصول PCR توسط کیت PCR purification Kit (Bioneer, Korea) خالص شده و برای توالی یابی به شرکت Macrogen در کره جنوبی فرستاده شد.

آنالیز فیلوژنی و رسم درخت فیلوژنتیک

برای رسم درخت فیلوژنتیک، توالی ژن 16S rRNA باکتری مورد نظر با توالی‌های ۱۶S rRNA سایر باکتری‌های مشابه که در بانک ژنی GenBank/EMBL/DDBJ موجود بودند از طریق برنامه BLASTN مقایسه شد (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/). سپس توالی‌ها با نرم افزار MEGA5 همردیفی شدند. آنالیز فیلوژنی و رسم درخت فیلوژنتیک از طریق روش Neighbor-joining phylogeny و آنالیز Bootstrapping (1000 replicates) به منظور تخمین قابل اطمینان وابستگی سویه ها انجام گردید (۴).



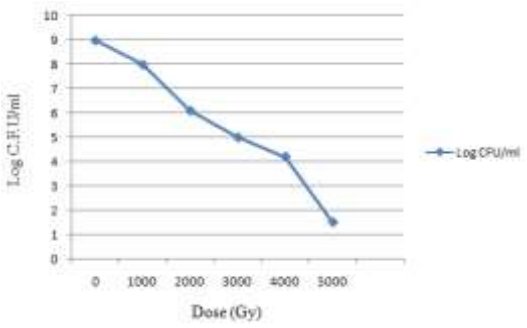
شکل ۱: نتایج ژل الکتروفورز محصول PCR ژن S ۱۶rRNAسویه مقاوم به پرتو .Kocuria spp. چاهک۱،۵: نشانگرمولکولی Ladder (Fermentase)، چاهک ۲، ۳: محصول PCR با اندازه 1100bp، چاهک ۴: کنترل منفی



شکل ۲: درخت فیلوژنتیکی بر اساس توالی ژن ۱۶S rRNA باکتری F1 5kG و سایر توالی های دردسترس در بانک ژنی NCBI که نشان دهنده موقعیت سویه F1 5kG در میان سایر سویه هاست. این درخت فیلوژنتیک بر اساس الگوریتم neighbor-joining و با Bootstrap values on 1000 replications

سنجش مقاومت به پرتو گاما و رسم نمودار مقاومت به پرتو برای سویهٔ باکتریایی مقاوم

ابتدا باکتری مقاوم جداسازی شده بر روی محیط TGY broth تا فاز Early stationary کشت داده شدند. سپس سانتریفیوژ شده و با بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۶۷ مولار در pH= 7 با سانتریفیوژ در ۴ درجه سلسیوس شستشو داده شدند و دوباره در بافر فسفات پتاسیم با همان غلظت ۰/۰۶۷ مولار با 10^7 CFU تا 10^8 دوباره سوسپانسیون شدند. سپس سوسپانسیون‌ها به نمونه‌های ۲ میلی‌لیتری تقسیم شدند و در دمای اتاق با استفاده از دستگاه گاما سل مدل ^{60}Co 220 از 0 Gy تا 30 kGy در یک سرعت ۰/۴۵ kGy/min^{-1}پرتودهی گاما شدند. نمونه‌های پرتو داده شده سریعاً به آزمایشگاه میکرب‌شناسی منتقل شدند و ۱۰۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون به محیط کشت TGY منتقل شده و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس انکوبه شدند. تشکیل کلنی‌ها روزانه مورد بررسی قرار گرفتند و در کنار هر کلنی با شرایط مساوی یک نمونه کنترل پرتو داده نشده با همان شرایط قرار داده شد تا بتوانیم تشکیل کلنی ها را پس از پرتودهی در هر کلنی بطور جداگانه‌ای با خود



نمودار ۱: نمودار بقای باکتری F1 5kG در مقابل دوزهای مختلف پرتو گاما.

آن کلنی در حالت بدون پرتو مقایسه کنیم. سپس میزان مقاومت به پرتو سویه مورد نظر با *E. coli* مقایسه شد (۵)

یافته ها:

جداسازی و شناسایی باکتری مقاوم به پرتو

تعداد باکتری‌های جداسازی شده در این مطالعه ۲۰ کلنی باکتریایی بود و تمام باکتری‌هایی که جداسازی شدند از نظر مقاومت به پرتو غربالگری گردیدند. از این مجموعه ایزوله شده، تنها یک سویه باکتریایی زنده باقی ماند و همان سویه به عنوان باکتری مقاوم به پرتو در نظر گرفته شد و سوش مورد نظر F1 5kGy نام گذاری شد. نمای ماکروسکوپی باکتری در پتری دیش محیط TGY agar نشان داد که دارای پیگمان زرد رنگ است.

همچنین نمای میکروسکوپ نوری باکتری F1 5kGy نشان داد که این باکتری کوکسی گرم مثبت است که بصورت دیپلوکوکوس یا تتراد بود. بنابراین مشخصات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیک نشان داد که این باکتری گرم مثبت، کوکسی، هوازی، غیر متحرک، فاقد اسپور، مزوفیل، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت می باشد. هم چنین این سویه توانایی استفاده از قندهای ترهالوز، لاکتوز، رامنوز، فروکتوز، مانوز را دارا می باشد.

نتایج PCR، تعیین توالی ژن 16S rRNA و رسم درخت فیلوژنتیک

PCR ژن 16S rRNA نشان داد که قطعه ژن مورد نظر دارای اندازه‌ای در حدود bp ۱۱۰۰ است (شکل۱). همچنین تطابق (Multiple alignment) توالی 16S rDNA باکتری مورد نظر با سایر توالی‌های 16S rRNA موجود در بانک ژنی NCBI نشان داد که باکتری مورد نظر به جنس *Kocuria* تعلق دارد و دارای درصد تشابه ۹۷٪ با *Kocuria* است. همچنین نتایج رسم درخت فیلوژنتیک نشان داد که این سویه می‌تواند به عنوان سویه‌ای جدید از نظر تاکسونومی قرار گیرد (شکل ۲).

نتایج سنجش مقاومت به پرتو گاما برای سویه F1 5kG

همانطوری که در نمودار ۱ نشان داده شده نمودار مقاومت باکتری F1 5kG نزولی است و مقاومت نسبی تا حدود Gy۵۰۰۰ از خود نشان داده است. با افزایش میزان دوز پرتو تعداد باکتری ها رو به کاهش است ولی با این وجود میزان مقاومت این باکتری ۴۰ برابر باکتری *E. coli* است. همچنین در مقایسه با انسان که دوز Gy ۸ میتواند کشنده باشد، این باکتری دارای مقاومت بسیار زیادی نسبت به سلول های انسانی است(۶).

بحث:

در این مطالعه باکتری مقاوم به پرتو به نام F1 5kGy شناسایی شد که به دوز Gy ۵۰۰۰ از پرتو گاما مقاوم بود که حدود ۴۰ برابر بیشتر از مقاومت *E. coli* به پرتو گاما است. همان طوری که در آنالیز فیلوژنی ژن S rRNA ۱۶نشان داده شده است (شکل۲)، سویه F1 5kGy متعلق به جنس Kocuria است. همچنین فیزیولوژی سلول و خصوصیات بیوشیمیایی آن نشان داد که می تواند از نظر سیستماتیک به عنوان یک سویه جدید معرفی شود. جداسازی ریزاندامگان های جدید مقاوم به پرتو از محیط که دایماً در برابر تابش پرتوهای یونیزان و سایر استرس ها هستند، بسیار مهم است زیرا حضور این باکتری های مقاوم به پرتو می تواند شاخص مناطق پرتوزا در نظر گرفته شود و مطالعات بیشتر در زمینه شناسایی مکانیسم های مولکولی درگیر در ایجاد مقاومت به این استرس ها می تواند در یافتن منشا تکاملی این باکتری ها مفید باشد (۷). منطقه ای که در این مطالعه بررسی شد به عنوان محیط استرس زا و خشن طبقه بندی می شود. در این مطالعه با استفاده از دوزهای مختلف پرتو گاما، مقاوم ترین باکتری از این محیط شناسایی شد. با توجه به نتایج به نظر می رسد که این باکتری به دلیل دارا بودن آنزیم هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز دارای سیستم آنتی اکسیدانی قوی می باشد که می تواند در محیط زنده بماند (۸). با توجه به اینکه این باکتری دارای پیگمان است، وجود پیگمان نیز به عنوان یکی دیگر از راه های مقاومت به پرتو است که در مطالعات سایر محققان نیز به این مطلب اشاره شده است (۹). همچنین به نظر می رسد به دلیل اینکه خاک منطقه مورد مطالعه دارای مقادیری از یون $Mn^{(2+)}$ می باشد (نتایج در این مقاله آورده نشده است)، این باکتری قادر است مقادیر بالایی از یون $Mn^{(2+)}$ را در داخل سلول ذخیره کند و از مکانیسم $Mn^{(2+)}$ dependent ROS scavenging استفاده کند و به حیات خود ادامه دهد (۱۰).

تاکنون چند مطالعه در مورد شناسایی باکتری های مقاوم به پرتو در ایران به انجام رسیده است که تمامی آنها از نمونه های محیطی رامسر (آب سیاه) بوده است، ولی اطلاعات کمی در مورد تنوع زیستی باکتریایی سایر مناطق پرتوزای ایران وجود دارد. بنابراین در این مطالعه تلاش شد که مناطق پرتوزای دیگری انتخاب شود و یک مطالعه سیستماتیک انجام شود. در مطالعه ای که توسط Siavoshi و همکاران در سال ۱۳۷۷ در دانشگاه تهران

بر روی نمونه های محیطی منطقه پرتوزای چشمه آبگرم رامسر انجام گرفت، باکتری *Deinococcus radiodurans* و *Deinococcus radiopugnans* جداسازی شد. همچنین در این مطالعه دو باکتری گرم منفی دیگر به نام S4 و S5 نیز جداسازی شد که مشخصات این دو با هیچ کدام از باکتری های میله ای گرم منفی مقاوم به پرتو گزارش شده، منطبق نبود (۱۱).

در مطالعه Yazdani و همکاران در سال ۱۳۸۸ بر روی نمونه های محیطی رامسر، ۳۰ کلنی خالص باکتریایی جداسازی شد و تنها یک سویه مقاوم به پرتو به نام Bacillus spp. WHO معرفی گردید که بیشترین قرابت فیلوژنتیکی را با *B. megaterium* داشت (۱۲). در مطالعهٔ Montero-Calasanaz و همکاران در سال ۲۰۱۳ در اسپانیا، ۳ گونه از جنس Geodermatophilus از خاک های خشک منطقه بیابانی Sahara شناسایی گردید. هم چنین مطالعات در مورد باکتری های گرمادوست مقاوم به پرتو نیز انجام شده است (۱۳)، بطوریکه Hanene Bouraoui و همکاران در سال ۲۰۱۲ در تونس یک سویه گرمادوست، گرم مثبت و حاوی رنگدانه را از چشمه آب گرم Saharan جداسازی کردند که مطالعات فیلوژنی بر پایه ۱۶S rRNA نشان داد که این باکتری متعلق به جنس Deinococcus است که دارای ۹۴٪ همولوژی با این باکتری می باشد (۱۴).

با توجه به نتایج این مطالعه و مقاوم بودن سویه جداسازی شده به پرتو گاما، این سویه می‌تواند به عنوان کاندیدی مناسب برای پاکسازی زیستی (Bioremediation) زباله‌های هسته‌ای بکار برده شود. (۱۵). همچنین مطالعات سال‌های اخیر نشان داده است که می‌توان ژن‌های مهم دخیل در فرایند مقاومت به پرتو را در *E. coli* کلون و بیان نمود و پروتئین آنها را بصورت نوترکیب تهیه نموده و به عنوان یک ترکیب ضد پرتو استفاده کرد. هنوز مطالعات در این زمینه در حد آزمایشگاهی می باشد (۱۶).

تشکر و قدردانی

در اینجا لازم است از تلاش‌های آقای ناصر ناصری به خاطر جمع‌آوری نمونه‌های خاک تشکر گردد. همچنین نویسندگان این مقاله از زحمات آقای امیر میرزایی برای کمک در تشخیص مولکولی باکتری‌ها تشکر می‌کنند.

References:

1. UNSCEAR. Effects of radiation on the environment. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, United Nations, New York. 1996.
2. Rainey FA, Ray K, Ferreira M, Bridget Z. Extensive diversity of ionizing-radiation-resistant bacteria recovered from Sonoran desert soil and description of nine new species of the genus *Deinococcus* obtained from a single soil sample. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71: 5225–5235.
3. Chaturvedi R, Archana G. Novel 16S rRNA based PCR method targeting *Deinococcus* spp. and its application to assess the diversity of deinococcal populations in environmental samples. *J Microbiol Methods* 2012; 90(3): 197-205.
4. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kunars S. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 2007; 24(8): 1596-9.
5. Ferreira AC, Nobre MF, Rainey FA, Silv MT, Waite R, Burghardt J, Chung AP and Da Costa MS. *Deinococcus geothermalis* sp. nov. and *Deinococcus murrayi* sp. nov., two extremely radiation-resistant and slightly thermophilic species from hot springs. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47: 939–947.
6. Bagwell, C.E., Bhat, S., Hawkins, M.G., et al., 2008. Survival in nuclear waste, extreme resistance, and potential applications gleaned from the genome sequence of Kineococcus radiotolerans SRS30216. *PLoS* ONE 3 (12), e3878.
7. Cox MM, Battista JR. *Deinococcus radiodurans* the consummate survivor. *Nat Rev Microbiol* 2005; 3: 882-892.
8. Daly MJ, Gaidamakova EK, Matrosova VY. Protein oxidation implicated as the primary determinant of bacterial radio resistance. *PLoS Biol* 2007; 5: 769-779.
9. Tian B, Xu Z, Sun Z. Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence, and DNA damage analyses. *Biochim Biophys Acta* 2007;1770(6):902-11
10. Daly MJ, Gaidamakova EK, Matrosova VY, Vasilenko A, Zhai M, Venkateswaran A, Hess M, Omelchenko MV, Kostandarithes HM, Makarova KS, Wackett LP, Fredrickson JK, Ghosal D. Accumulation of Mn(II) in *Deinococcus radiodurans* facilitates gamma-radiation resistance. *Science* 2004; 306(5698):1025-8.
11. Siavoshi F, Zarei M, Elahi E. Isolation and characterisation of microbia diversity in radioactive sites in north of Iran 1998; A thesis in university of Tehran.
12. Yazdan M, Naderi-Manesh H, Khaje KH, Soudi MR, Asghari SM, Sharifzade M. Isolation and characterization of a novel λ-radiation-resistant bacterium from hot spring in Iran. *JBM* 2009; 49: 119–127.

13. Montero-Calasanz MD, Göker M, Broughton WJ, Cattaneo A, Favet J, Pötter G, Rohde M, Spröer C, Schumann P, Klenk HP, Gorbushina AA. *Geodermatophilus tzadiensis* sp. nov., a UV radiation-resistant bacterium isolated from sand of the Saharan desert. *Syst Appl Microbiol* 2013; 36(3):177-82.
14. Bouraoui H, Aissa MB, Abbassi F, Touzel JP, O'donohue M, Manai M. Characterization of *Deinococcus sahariens* sp. nov., a radiation-resistant bacterium isolated from a Saharan hot spring. *Arch Microbiol* 2012; 194(5): 315-22.
15. Bagwell CE, Bhat S, Hawkins MG. Survival in nuclear waste, extreme resistance, and potential applications gleaned from the genome sequence of *Kineococcus radiotolerans* SRS30216. *PLoS ONE* 2008; 3 (12), e3878.
16. Gao G, Tian B, Liu L, Sheng D, Shen B, Hua Y. Expression of *Deinococcus radiodurans* PprI enhances the radioresistance of *Escherichia coli*. *DNA Repair* (Amst) 2003; 2(12):1419-27.