

Život u ekstremnom okolišu - Deinococcus radiodurans

Semen, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:391330>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Nikolina Semen

**Život u ekstremnom okolišu - *Deinococcus
radiodurans***

Završni rad

Zagreb, rujan 2022.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Nikolina Semen

**Life in extreme environments - *Deinococcus
radiodurans***

Bachelor thesis

Zagreb, September 2022.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa molekularne biologije na Botaničkom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv.prof.dr.sc. Sunčice Bosak).

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Život u ekstremnom okolišu - *Deinococcus radiodurans*

Nikolina Semen

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Svako novo otkriće organizama na mjestima prethodno smatranim negostoljubivim za život pomiče ranije postavljene granice i mijenja paradigmu o uvjetima koji su potrebni da bi život uspijevao. U ovom završnom radu objašnjen je pojam ekstremofila te su opisani ekstremni uvjeti okoliša i adaptacije koje su organizmi razvili da bi živjeli u takvim sredinama. Posebno je opisana bakterija *Deinococcus radiodurans*, organizam koji karakterizira otpornost na niz nepovoljnih uvjeta poput ionizirajućeg zračenja, vakuuma, suše i vrlo niskih temperatura, što je čini poliekstremofilom. Prikazane su prilagodbe stanice na oštećenja uzrokovana ionizirajućim zračenjem na razini aktivne obrane u vidu enzimatske mašinerije za popravak DNA i kontinuirano prisutne pasivne obrane. Saznanja o ekstremofilima tek pronalaze primjenu u biotehnologiji i medicini te imaju potencijal u budućnosti odigrati još veću ulogu u pronalasku novih lijekova i enzima relevantnih za biomedicinska istraživanja, novih načina proizvodnje energije i biomaterijala te korištenja rekombinantnih ekstremofila u bioremedijaciji okoliša.

Ključne riječi: ekstremofili, rezistencija, radijacija, astrobiologija
(22 stranice, 4 slike, 0 tablica, 42 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv.prof.dr.sc. Sunčica Bosak

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Life in extreme environments- *Deinococcus radiodurans*

Nikolina Semen

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Each new organism discovery in a place previously thought inhabitable pushes the boundaries earlier established and changes the paradigm of conditions necessary for life to thrive. In this bachelor thesis the term extremophile is explained and extreme environmental conditions are described along with the adaptations developed by the organisms that live in such areas. I focused on bacteria *Deinococcus radiodurans*, an organism resistant to several unfavorable factors, such as ionizing radiation, vacuum, desiccation and very low temperature, which makes it a polyextremophile. Adjustments of the cell to the effects of ionising radiation are presented in the context of both active defense - enzyme machinery for DNA repair, and the continually present passive defense. Knowledge about extremophiles has just started to find its application in biotechnology and medicine, but has a potential of playing a much bigger role in the future in finding new drugs and enzymes relevant for biomedical research, new methods of energy and biomaterial production, as well as using recombinant extremophiles in environmental bioremediation.

Keywords: extremophiles, resistance, radiation, astrobiology
(22 pages, 4 figures, 0 tables, 42 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: izv.prof.dr.sc. Sunčica Bosak

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Ekstremofili	2
2.1. Što su ekstremofili	2
2.2. Raznolikost ekstremofila	3
3. Ekstremni uvjeti i adaptacije	4
3.1. Temperatura	5
3.2. pH vrijednost	6
3.3. Salinitet	7
3.4. Tlak	7
3.5. Radijacija	8
4. Deinococcus radiodurans	9
4.1. Opće karakteristike	10
4.2. Radiorezistencija	11
5. Biotehnološke implikacije ekstremofila	15
6. Zaključak	17
7. Literatura	18
8. Životopis	22

1. Uvod

Nova otkrića o sposobnostima organizama na prilagodbu za rast i razvoj u donedavno nezamislivim uvjetima za život, u posljednjih nekoliko desetljeća znatno su promijenila percepciju ograničenja okolišnih uvjeta u kojima život može postojati. Za svaki ekstremni okolišni uvjet za koji se mislilo da je preživljavanje živog organizma nemoguće, pronađene su vrste koje su pomaknule granice. Upoznavanje ovih ekoloških niša na Zemlji vodi nas k boljem razumijevanju karakteristika nastanjivog okoliša i potencijalno sugerira da je život u svemiru vjerojatniji nego što se mislilo (Rampelotto, 2010).

Saznanja o ekstremofilima, organizmima koji žive u ekstremnim okolišnim uvjetima, impliciraju i nove mogućnosti postanka i evolucije života. Najnovija demonstriranja preživljavanja mikroorganizama u ekstremnim uvjetima, koji simuliraju one u svemiru, ruše sve barijere prihvaćanja panspermije, teorije širenja života po svemiru putem svemirskih tijela (Rampelotto, 2010).

Bakterija *Deinococcus radiodurans* jedan je od prvaka rezistencije na višestruke nepovoljne uvjete i biokemijska podloga kojom se stječe takva otpornost predmet je brojnih istraživanja (Battista, 1997).

S klimatskim promjenama i sve većim ekstremima vremenskih uvjeta, kao i ekološkim katastrofama, znanje o adaptacijama najotpornijih organizama može poslužiti kao predložak u razvijanju tehnologije i medicine korisne u suočavanju s navedenim problemima (Orellana i sur., 2018; DasSarma i sur., 2010; Rothschild i Mancinelli, 2001).

2. Ekstremofili

2.1. Što su ekstremofili?

Ekstremofili su organizmi koji mogu živjeti u ekstremnim okolišnim uvjetima, bilo fizikalnim (ekstremna temperatura, radijacija, tlak), geokemijskim (ekstremni pH, salinitet, redoks potencijal, količine reaktivnih kisikovih vrsta, nedostatak vode) ili biološkim (nedostatak nutrijenata, populacijska gustoća, prisutnost parazita) (Rothschild i Mancinelli, 2001). Po definiciji, ekstremofili ne samo da preživljavaju, već optimalno žive na područjima ekstremnih temperatura, saliniteta i tlaka koji zahvaljujući adaptacijama postaju njihova preferirana ekološka niša (Coker, 2019.) Međutim, za neke okolišne stresore kao što su radijacija, vakuum i prisutnost teških metala, dovoljno je da ih organizam može uspješno preživjeti da bi ga se smatralo ekstremofilom (Rothschild i Mancinelli, 2001).

Okolišni uvjeti u kojima je organizmima otežano preživljavanje smatraju se ekstremnima i nalaze se na granicama unutar kojih se i dalje odvijaju biokemijski procesi koji omogućuju život. U ekstremnim uvjetima prestaje biti moguće održavanje homeostaze stanica i dolazi do uništavanja biomolekula te je zbog toga prisutno ograničenje ekološke niše života. Ekstremofili stoga moraju ili steći način preživljavanja na granicama koje i dalje podržavaju funkcioniranje organske kemije na kojoj se temelji život ili se zaštititi od vanjskog svijeta kako bi intracelularno održali povoljne uvjete (Rothschild i Mancinelli, 2001).

Ipak, svrstavanje organizama u skupinu ekstremofila ne može biti sasvim objektivno jer se uvijek polazi iz antropocentričnog stajališta. Iz vlastite perspektive tipično ocjenjujemo okolišne uvjete ekstremnima kao one u kojima ljudska bića (bez pomoći tehnologije) ne bi mogla samostalno preživjeti. Najbolji su primjer za to aerobi, koji mogu preživjeti u prisutnosti kisika premda iz njega lako nastaju reaktivni radikali koji uzrokuju letalna oštećenja na proteinima, lipidima i nukleinskim kiselinama pa bi se tu visoka prisutnost kisika smatrala ekstremnim uvjetom (Tyrell, 1991.) Aerobe, koji su pronašli način za kontrolu razine reaktivnih radikala u stanicama i uspješno žive u visokom prisustvu kisika, ne smatramo ekstremofilima, iako bi po definiciji to bili, upravo zbog toga što ljudi, kao i veliki broj organizama koji poznajemo, zauzimaju tu nišu.

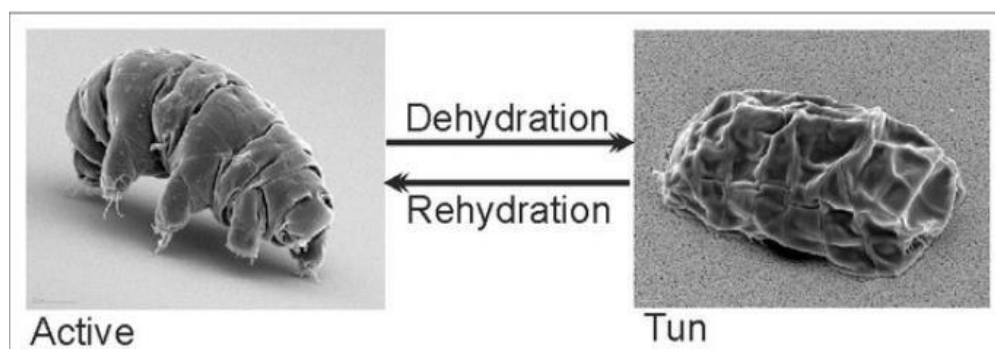
Iako se o ekstremofilima uglavnom priča u kontekstu dominantnog okolišnog pritiska, u stvarnosti su često prisutni okolišni ekstremi u kombinaciji (npr. niska temperatura i visoki salinitet

ili visoka temperatura i niski pH). Ekstremofili koji su sposobni tolerirati i preživjeti višestruke nepovoljne uvjete zovu se poliekstremofili (Rothschild i Mancinelli, 2001).

2.2. Raznolikost ekstremofila

Premda su prokarioti najčešći primjeri, ekstremofili se mogu pronaći u svim trima domenama života. Sposobnost rezistencije kod nekih vrsta varira unutar životnih stadija i oblika koje poprimaju ovisno o okolišu. Biljne spore, sjemenke i stadiji jajeta znatno su otporniji na vanjske uvjete od vegetativnih oblika. Tijekom sezonskih promjena vremena višesezonske biljke, insekti, ribe, vodozemci mijenjaju vlastitu fiziologiju i metabolizam kako bi se prilagodili vanjskim uvjetima. Neke bakterije u uvjetima nepovoljnim za rast i razmnožavanje (često kod rodova *Bacillus* i *Clostridium*) mogu formirati spore, iznimno rezistentan dormantni oblik (Rothschild i Mancinelli, 2001).

Dugoživci (*Tardigrada*) su koljeno mikroskopskih životinja koji se smatraju jednim od najrezistentnijih višestaničnih organizama. Pronađeni su u različitim biosferama Zemlje, od dubokog mora, planinskih vrhova, tropskih šuma, do ledenih pustinja. U posebnom stanju kriptobioze sposobni su preživjeti ekstremnu sušu, visoki tlak, radijaciju, vrlo visoke i niske temperature te štetne toksine u okolišu.



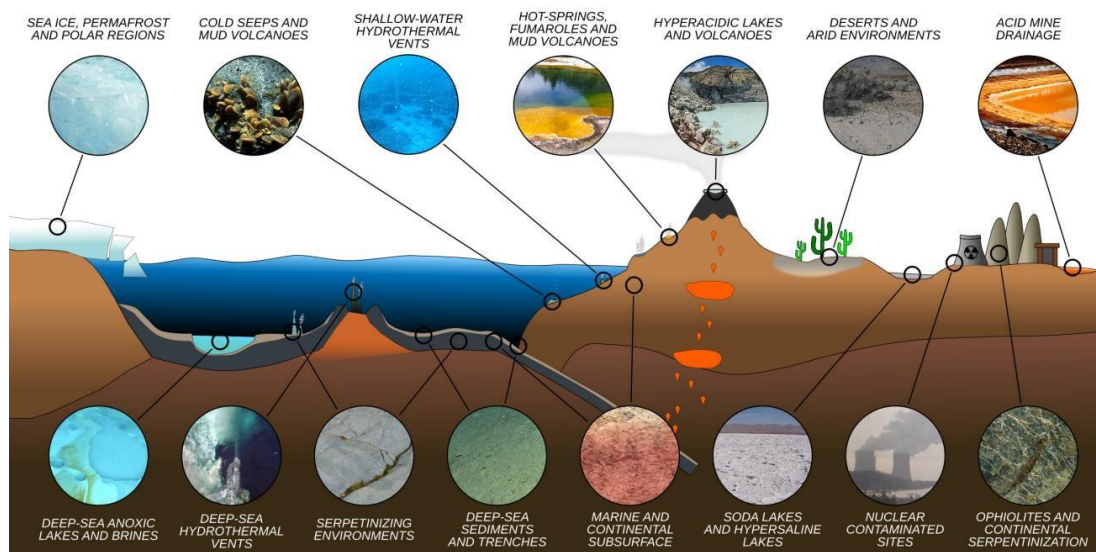
Slika 1. SEM fotografije dugoživaca u aktivnom metaboličkom stanju (lijevo) i u stanju kriptobioze (desno). (Preuzeto iz Schokraje i sur., 2010.)

U kriptobiozi (Slika 1), rad metabolizma pada na 0,01% normalnog i sadržaj vode se smanjuje na 1% normalnog. U takvom stanju mogu preživjeti preko mjesec dana bez vode i hrane.

Europska svemirska agencija (ESA) je 2007. poslala 3000 jedinki dugoživaca u stanju kriptobioze u Zemljinu orbitu na 12 dana, gdje su bili izloženi vakuumu, kozmičkim zračenjima i jakom sunčevom UV-zračenju. Impresivnih 68% jedinki koje su bile dodatno zaštićene od UV-zračenja uspješno se reanimiralo nakon 30 minuta rehidracije, dok je značajno manje njih uspjelo preživjeti i bez zaštite (Sloan i sur., 2017.)

3. Ekstremni uvjeti i adaptacije

Zbog toga što je Zemlja planet pogodan za razvoj života česta je percepcija da su umjereni uvjeti okoliša u kojima ljudi žive tipični i prosječni na Zemlji, no u stvarnosti na našem planetu u najvećem dijelu vladaju ekstremni uvjeti (Coker, 2019). Čak 90% oceana se nalazi na temperaturi nižoj od 5 °C (Cavicchioli i sur., 2011), a ako se uključe još i polarna i visinska planinska područja, vrlo hladan okoliš sačinjava više od tri četvrtine Zemlje (Coker, 2019). Diljem planete nalaze se brojna ekstremna staništa nezamislivih uvjeta za čovjeka koja pak vrve fascinantnim oblicima života (Slika 2.).



Slika 2. Prikaz raznolikih ekstremnih okoliša na Zemlji u kojima se javlja život. (Preuzeto iz Merino i sur., 2019)

3.1. Temperatura

Termofili su organizmi kojima je optimalna temperatura rasta između 45 °C i 80 °C, dok je za hipertermofile optimalna čak iznad 80 °C. Takvi su uvjeti prisutni u geotermalnim izvorima na Zemlji, poput najpoznatijeg u nacionalnom parku Yellowstone u SAD-u. U vrućim izvorima prisutne su velike količine minerala i reduciranih spojeva koje mikrobi koriste za kemolitoautotrofnu proizvodnju energije. Osim visoke temperature, takva staništa najčešće karakteriziraju i ekstremi pH i saliniteta, kao i prisutnost visoke koncentracije plinova i teških metala. Dubokomorske hidrotermalne otvore karakteriziraju vrlo niska koncentracija kisika i temperature vode iznad 100 °C koja zbog visokog tlaka ostaje u tekućem agregacijskom stanju (Rothschild i Mancinelli, 2001).

Ekstremno visoke temperature predstavljaju izazov stanicima jer uzrokuju denaturaciju proteina i nukleinskih kiselina te povećavaju fluidnost biomembrana što narušava njihovu važnu funkciju semipermeabilnosti. Termofili postižu veću stabilnost DNA povećanim omjerom GC parova i povećanom koncentracijom monovalentnih i bivalentnih soli poput KCl i MgCl₂ u stanicima, koje stabiliziraju negativan naboj molekule DNA, što povisuje temperaturu denaturacije te štiti od hidrolize i depurinacije (Stetter, 1999). Stabilizacija se postiže i DNA-vezujućim proteinima te kompakcijom kromatina uvođenjem pozitivnih superzavoja reverznom girazom, enzimom prisutnim kod hipertermofilnih prokariota (Jamroze, 2019). Enzimi termofila imaju povišeni temperaturni optimum, a termostabilnost proteina postignuta je povećanom mrežom vodikovih veza, van der Waalsovih i ionskih interakcija, većom hidrofobnošću jezgre proteina i većom gustoćom pakiranja (Brininger, 2018). Fluidnost membrane prilagođava se povećanjem razine zasićenih masnih kiselina, a membrane arheja sadrže etersku fosfolipidnu okosnicu koje je znatno rigidnija od bakterijske i eukariotske (Ulrich, 2009).

Psihrofili su organizmi koji optimalno rastu na temperaturi nižoj od 15 °C, a mogu rasti i na temperaturi ispod 0 °C. Budući da povećana koncentracija soli snižava ledište i omogućuje život u tekućoj vodi, psihrofili su često ujedno i halofili, rastu pri povišenim koncentracijama soli (Rampelotto, 2010). Glavni izazovi stanicima pri niskim su temperaturama oštećenja staničnih struktura prilikom formiranja kristalića leda, znatno smanjenje brzine enzimatskih reakcija, hladna denaturacija proteina i povećanje rigidnosti membrane. Prilagodbe se postižu povećanjem omjera nezasićenih i razgranatih masnih kiselina u membrani čime se povećava njena fluidnost, strukturnom i funkcionalnom adaptacijom proteina i enzimatske aktivnosti pri niskim

temperaturama, proizvodnjom krioprotektorskih molekula koje snižavaju temperaturu kristalizacije vode unutar stanice i sintezom antifriz proteina koji se vežu na mjesta nukleacije kristala leda, čime sprječavaju njihovo širenje (Coker, 2019).

Trenutno poznate granice temperaturnih ekstrema na kojima organizam može preživjeti protežu se od $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (*Deinococcus geothermalis*) (Frösler i sur., 2017) do $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ (*Geogemma barossii*) (Kashefi i Lovley, 2003). Znanstvenici pak, ponukani dosadašnjim iskustvom pomicanja granica mogućeg, zasad pretpostavljaju da bi teoretski limit života bio od $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Merino i sur., 2019.)

3.2. pH vrijednost

Unutarstanična pH vrijednost važan je faktor homeostaze koji omogućava stabilnost i normalni metabolizam. Koncentracija protona utječe na strukturu proteina te formira elektrokemijski gradijent u stanici koji određuje mnoge važne procese u stanici, poput sinteze ATP-a.

Mikroorganizmi se uglavnom prilagođavaju ekstremnim pH vrijednostima okoliša postizanjem unutarstaničnog neutralnog pH. Za razliku od drugih nepovoljnih uvjeta (temperature, radijacije, saliniteta i tlaka), pH vrijednost može se metabolički kontrolirati na unutarstaničnoj ili lokalnoj razini (Merino i sur, 2019).

Acidofili optimalno rastu pri $\text{pH} \sim 2,0$ (Morozkina, 2010), premda su pronađene i hiperacidofilne vrste koje mogu preživjeti na pH vrijednosti od $-0,06$ (Schleper, 1996) Prilagodbe acidofila uključuju membranu manje propusnu za protone, reduciranu veličinu pora membranskih kanala, aktivno ispumpavanje protona iz stanice, neto-pozitivni unutarstanični naboj, proteine s više neutralnih aminokiselina te pretežno manji genom od neutrofila, premda se točan razlog tomu i predstavlja li evolucijsku prednost još uvijek ne zna (Baker-Austin, 2007).

Alkalofili optimalno rastu pri $\text{pH} \sim 10,0$ (Horikoshi, 1999), a dosad najveća pH vrijednost pri kojoj je pronađen živi organizam je $12,5$ (Suzuki i sur., 2014). Kao prilagodbu na visoki pH, alkalofili imaju negativno nabijenu primarnu staničnu stijenkku i sekundarnu staničnu stijenkku građenu od kiselih peptida koji privlače protone i odbijaju hidroksilne ione. Vrlo niske koncentracije H^+ unutar stanice predstavljaju problem za proizvodnju energije preko ATP-sintaze

koju pokreće gradijent protona, stoga se sekundarnim aktivnim transportom Na^+ ili K^+ antiporterima u stanicu unose protoni (Moran-Reyna i Coker, 2014).

3.3. Salinitet

Koncentracija soli u otopini važan je faktor koji određuje sastav populacija ekosustavu, a raspon saliniteta koji podržava život je od 0% do 35% NaCl (Blum i sur., 2009). Osmofilija se referira na aspekte života u okolišu s visokim salinitetom koji se tiču osmotskog tlaka, gubitka vode iz stanice i isušivanja, dok se halofilija referira na potrebu za visokom koncentracijom iona u otopini. Premda su fiziološki odvojeni fenomeni, u prirodi su uvijek zajedno svojstveni organizmima koji žive u uvjetima visokog saliniteta (Rothschild i Mancinelli, 2001).

Evoluirala su dva načina adaptacije na okoliš visokog saliniteta. Prvi je „*Salt-in*“ pristup, u kojem citosol stanice ima približno isti visoki salinitet kao i okoliš. Visoka ionska jakost citosola uklanja hidratacijske ljuske s proteina što uzrokuje agregaciju proteina preko hidrofobnih regija. Kako bi to izbjegli, proteom ovih halofilnih organizama pretežno sadrži kisele aminokiseline s vanjske strane nativno smotanog proteina. Takva ljuska proteina dobro koordinira molekule vode zbog povoljnih interakcija negativno nabijene karboksilne skupine bočnih ogranaka aminokiselina i pozitivno nabijenog vodika u molekuli vode te je otežano otklanjanje hidratacijske ljuske (Brininger i sur., 2018). Za preživljavanje ovim tipom adaptacije potrebne su velike evolucijske promjene sastava proteina, stoga ti organizmi žive u okolišima u kojima nema velikih fluktuacija saliniteta (Coker, 2019).

U drugom, „*Salt-out*“ načinu adaptacije koncentracija soli u citosolu i okolišu razlikuje se jer stanica blokira ulazak otopljenih soli. Kako bi se izjednačio osmotski tlak, u stanici se aktivno sintetiziraju organski osmoliti. Ovaj pristup znatno je energetski zahtjevniji, ali organizmi koji su se adaptirali na ovaj način mogu rasti u puno većem rasponu saliniteta, reguliranjem metabolizma osmolita ovisno o salinitetu okoliša (Oren, 2008).

3.4. Tlak

Organizmi kojima je rast optimalan pri hidrostatskom tlaku znatno većem od atmosferskog su piezofili. Prisutni su u ekosustavima dubokomorskog dna i dubokoj unutrašnjosti Zemljine kore. S povećanjem tlaka, slično kao i kod niskih temperatura, membrana gubi fluidnost i permeabilnost,

stoga je jedna od adaptacija piezofila uvođenje većeg udjela nezasićenih, razgranatih lipida te zamjena fosfatidiletanolamina fosfatidilkolinom i fosfatidilglicerolom (Jebbar i sur., 2015).

Zbog velikog izazova izvođenja bioloških eksperimenata u laboratoriju pri visokom tlaku, ali i uzorkovanja na dubokomorskom dnu, ovo polje još je uvijek slabije istraženo (Rampelotto, 2010).

Suprotno onima visokog, uvjeti niskog tlaka prisutni su na najvišim vrhovima planina i u svemirskom vakuumu. Premda dugo izlaganje vakuumu može dovesti do stanične smrti izazvane dehidracijom i denaturacijom DNA, smatra se da niski tlak nije jedini uzrok detrimentalnih posljedica boravka u vakuumu svemira, već tomu pridonose i niske temperature, isušivanje, UV i kozmičko zračenje (DasSarma i DasSarma, 2018).

3.5. Radijacija

Radijacija je energija koja se prenosi u obliku atomskih i subatomskih čestica ili elektromagnetskog vala (radiovalovi, mikrovalno, infracrveno zračenje, vidljiva svjetlost, UV, rendgensko i gama-zračenje). Ionizirajuće zračenje ima dovoljno energije da izmijeni strukturu kemijskih tvari i zbog toga može nanijeti direktnu ili indirektnu štetu živim bićima. Gama-zračenje spada u ionizirajuća zračenja jer može direktno oštetiti RNA, proteine, lipide i DNA molekulu, u koju uvodi dvolančane lomove, ali i interakcijom s makromolekulama te radiolizom vode stvoriti reaktivne kisikove vrste, koje će prouzrokovati daljnja oštećenja u stanici i dovesti do stanične smrti (Azzam i sur., 2012). UV zračenje ne može uvesti dvolančane lomove na DNA, ali ipak na njoj uzrokuje oštećenja u obliku ciklobutanskih pirimidinskih dimera koji interferiraju s normalnim procesima replikacije i transkripcije te lako dovode do pojave mutacija. UV zračenje je vrlo vjerojatno bilo jedan od pokretača evolucija u doba prije nastanka ozonske atmosfere, a najraniji oblici života morali su imati strategiju preživljavanja u periodu intenzivnog ionizirajućeg i UV zračenja. Dan danas na Zemlji postoje ekosustavi na mjestima s prirodnim izvorom radijacije (podzemni okoliš u kojem se odvija radioaktivni raspad radiogenih izotopa), ali i na ljudskim djelovanjem radioaktivno kontaminiranim područjima (Merino i sur., 2019).

Radiorezistentni organizmi moraju imati dobro razvijene mehanizme popravka DNA, visoki stupanj kondenzacije kromosoma koji smanjuje mogućnost difuzije DNA fragmenata nakon

oštećenja i omogućava precizniji popravak, a važno je i da imaju ekstenzivnu strategiju prevencije i tolerancije oksidativnog stresa uzrokovanog ROS-ovima (*reactive oxygen species*).

Organizmi izloženi UV zračenju sintetiziraju fotoprotektivne pigmente koji ih štite od štetnog djelovanja, a pribjegavaju i duplikaciji gena putem poliploidije koja osigurava dobivanje funkcionalnog genskog produkta s druge molekule DNA u slučaju nul-mutacije na jednoj, ali i omogućavaju popravak oštećenja. Također, kod organizama kontinuirano izloženih UV-zračenju evolucijski dolazi do promjene genske kompozicije smanjivanjem broja bipirimidinskih sekvenci koje su podložne oštećenjima (Coker, 2019).

4. *Deinococcus radiodurans*

Deinococcus radiodurans spada u bakterijsku porodicu *Deinococcaceae* koju karakterizira izvanredna sposobnost tolerancije letalnih oštećenja u DNA izazvanih ionizirajućim zračenjem, UV-zračenjem, isušivanjem i toksičnim kemikalijama, što ih čini poliektremofilima (Rainey i sur., 1997). Unatoč spekulacijama o izvanzemaljskom podrijetlu ove bakterije, na genetskoj razini vrlo je jasno da je porodica *Deinococcaceae* zajedničkog podrijetla sa svim ostalim organizmima na Zemlji, filogenetski srodna radiorezistentnim bakterijama roda *Deinobacter* i termofilnim bakterijama roda *Thermus* (Battista, 1997). Široko su rasprostranjene te izolirane iz vrlo različitih okoliša, od Antarktike do pustinja, vrućih izvora, životinjskih fecesa i prehrambenog mesa (Blasiusi sur., 2008).

Najistraživaniji pripadnik ove porodice je bakterija *Deinococcus radiodurans*, prvi put izolirana iz konzerve mesa prethodno izložene gama zračenju od 4000 Graya (Gy). Cilj je bio sterilizirati konzervu jer se mislilo da nijedan mikroorganizam ne može preživjeti toliku dozu zračenja, stoga je bilo veliko iznenađenje kada se meso iz konzerve pokvarilo (Anderson i sur., 1956). Kasnije se otkrilo da ne samo da može kontinuirano rasti u prisutnosti kroničnog zračenja od 60 Graya/h, već je sposobna i preživjeti akutna izlaganja zračenju od 15 000 Graya (Makarova i sur., 2001). Zbog ovakve iznimne mogućnosti preživljavanja nepovoljnih uvjeta, *D. radiodurans* svrstana je u *Guinnessovu knjigu rekorda* kao najotpornija bakterija na svijetu. Sama etimologija

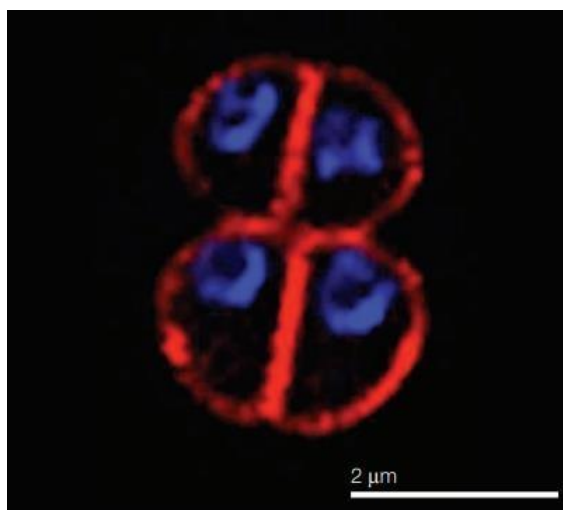
imena ove bakterije sugerira njene sposobnosti- u doslovnom prijevodu s grčkog bi bila „čudesna bobica koja preživljava zračenje“.

Fiziološka podloga iznimno efikasne radiotolerancije još uvijek nije u potpunosti razjašnjena, ali pretpostavka je da se radi o kombinaciji metoda pasivne zaštite genoma, različitih načina popravaka DNA molekule i zaštite proteina od oksidativnog oštećenja.

D. radiodurans vrlo je privlačna znanstvenicima zbog otkrivanja raspona metoda popravka DNA, mogućnosti primjene u bioremedijaciji i rješavanja problema nuklearnog otpada, ali i kao zanimljivi modelni organizam u astrobiologiji.

4.1. Opće karakteristike

Deinococcus radiodurans aerobna je, kemoorganotrofna, nesporulirajuća i nepatogena bakterija promjera 1,5-3,5 μm . Stanice formiraju tetrade (Slika 3) i vrijeme udvostručivanja je između 1,5 i 3 h. Lako se uzgaja u kulturi, pri 30 °C na hranjivoj podlozi, a kolonije su konveksne, glatke površine, roze do narančaste boje. Premda je pozitivna na bojanje po Gramu, stanični omotač više podsjeća na one Gram-negativnih bakterija i sastoji se od 6 slojeva s vrlo unikatnim sastavom lipida u vanjskoj i unutrašnjoj membrani (Makarova i sur., 2001).



Slika 3. Tetrada *Deinococcus radiodurans* u stacionarnoj fazi pod epifluorescentnim mikroskopom.

(Preuzeto iz Cox i Battista, 2005).

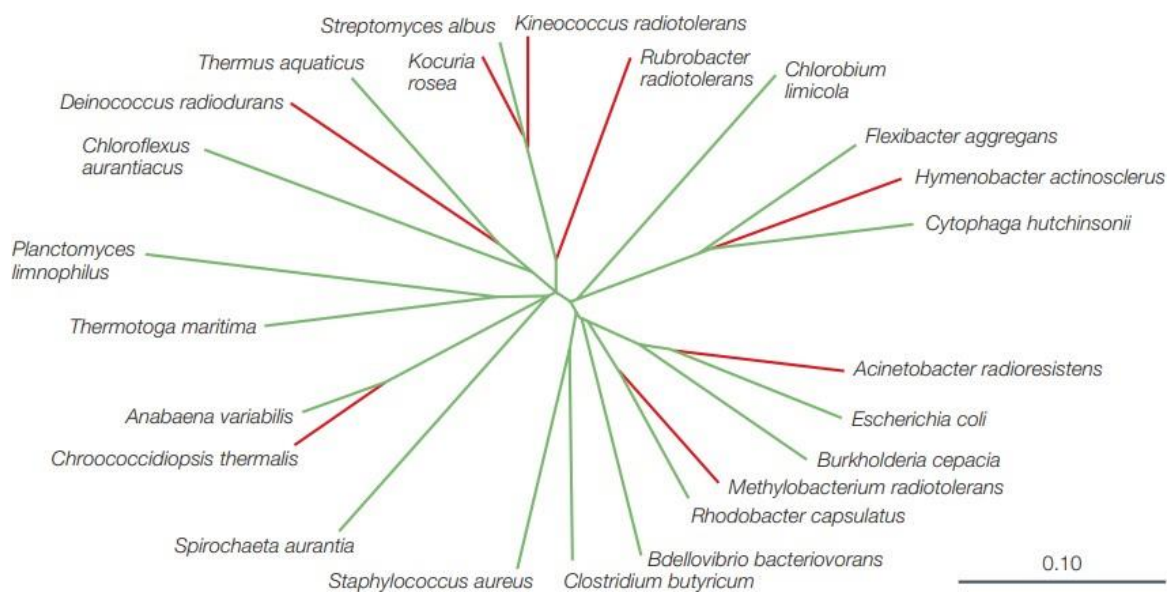
Genom *D.radiodurans* poliploidan je i svaka stanica u stacionarnoj fazi sadrži barem 4 kopije. Konkretno, soj R1 ima genom koji se sastoji od jednog megaplazmida, jednog malog plazmida te 2 kromosoma, DR_Main od 2,65 Mpb i DR412 od 412 kpb, a oba su kovalentno zatvorene cirkularne molekule. Sastav baznih parova karakterizira visoki udio GC, u rasponu 65-71% (White i sur., 1999).

4.2. Radiorezistencija

Deinococcus radiodurans sposobna je bez gubitka vijabilnosti biti izložena dozi zračenja od 5000 Gy, koja procijenjeno uvodi oko 200 dvolančanih lomova u DNA po haploidnom genomu (Cox i Battista, 2005). Za usporedbu, dovoljno je samo nekoliko dvolančanih lomova da usmrte stanicu *E.coli* (Krasin i Hutchinson, 1977).

Evoluciju rezistencije na tako visoke doze zračenja samu po sebi teško je objasniti jer na Zemlji nema prirodnih izvora zračenja koji bi mogli rezultirati izlaganjima većim od 400mGy godišnje. Ipak, pronađene su vrste koje imaju sposobnost preživjeti znatno veće doze radijacije što ukazuje na to da su oštećenja uzrokovana jakim gama-zračenjem vrlo slična oštećenjima uzrokovanim nekim drugim okolišnim stresorima na koje su se organizmi adaptirali. Primjerice, dehidracija i isušivanje stanice uvodi veliki broj dvolančanih lomova na DNA kod *D. radiodurans* i kod *Chroococcidiopsis* cijanobakterija, a oboje pokazuju visoki stupanj radiorezistencije, što može značiti da je radiorezistencija samo posljedica razvijenog mehanizma rezistencije na isušivanje (Cox i Battista, 2005).

Radiorezistentne vrste sporadično se javljaju u različitim nesrodnim bakterijskim porodicama (Slika 4), što može značiti dvije stvari: ili da su se složeni mehanizmi popravka DNA javili kod ancestralnih vrsta (predaka) i zadržali kod bakterija kojima je bio potreban taj fenotip (podložni oštećenju DNA), dok su ih ostale bakterijske vrste izgubile, ili da je sposobnost radiorezistencije na različite načine konvergentno evoluirala. Druga teorija je vjerojatnija jer pojava rezistencije kod dijela bakterija uključuje manji broj nezavisnih evolucijskih događaja od gubitka rezistencije kod svih ancestralnih vrsta koji je danas nemaju (Cox i Battista, 2005).



Slika 4. Filogenija linija bakterijske domene dobivena sekvenciranjem 16s rRNA gena. Crvene grane predstavljaju vrste rezistentne na ionizirajuće zračenje. (Preuzeto iz Cox i Battista, 2005).

Obrana od radijacije kod *D. radiodurans* ne ostvaruje se preveniranjem oštećenja DNA. Pokazano je da, kad su kulture *E. coli* i *D. radiodurans* u istim uvjetima izložene zračenju, nema razlike u stopi pojavljivanja dvolančanih lomova (Daly i sur., 2004). No, kada se uspoređi broj dvolančanih lomova kod *E. coli* i *D. radiodurans* pri D_{37} (doza radijacije pri kojoj preživljava 37% populacije), *D. radiodurans* ih ima 30ak puta više (Krasin i sur, 1977; Burel i sur. 1971).

Pasivni načini tolerancije oštećenja u DNA prisutni su u stanici bez obzira dogodilo se oštećenje ili ne te služe kao predadaptacija na stresnu okolinu prije nego se aktivira enzimatski sustav koji će popraviti oštećenja.

a) Broj kopija genoma

Veći broj kopija genoma povećava šansu preživljavanja radijacije jer se smanjuje vjerojatnost inaktivacije esencijalnog gena. Primjerice, uvođenjem 100 nasumičnih lezija u genom *D. radiodurans* koji sadrži otprilike 2,897 gena, vjerojatnost inaktivacije nekog specifičnog gena je

3,4%. Vjerojatnost inaktivacije tog istog gena u svim kopijama smanjena je na 0,12% kada su prisutne dvije, a 0,004% kada su prisutne tri kopije genoma (Cox i Battista, 2005).

Višak genetske informacije također služi kao predložak prilikom popravka oštećenja na jednoj molekuli DNA. Broj kopija genoma *D. radiodurans* uvijek je iznad 4, ali nema razlike u radiorezistenciji stanica kada se broj kopija poveća na 10 (Harsojo i sur., 1981). Međutim, brojne druge bakterije poput *E. coli* i *Azotobacter vinelandii* su radiosenzitivne iako imaju redundanciju genetskog materijala, stoga ovo svojstvo sigurno nije dovoljno, ali je nužno za otpornost na oštećenja uzrokovana zračenjem (Cox i Battista, 2005).

b) Organizacija nukleoida

Kromosom *D. radiodurans*a gusto je pakirana molekula prstenastog oblika koja ostaje nepromijenjene strukture prilikom zračenja. Predloženo je da ovakva struktura minimalizira difuziju fragmenata odlomljenih dvolančanim oštećenjem, što olakšava preciznost popravka i zadržavanje točne linearne strukture genoma (Levin-Zaidman i sur., 2003).

c) Visoka koncentracija Mn^{2+}

Stanica *D. radiodurans*a prirodno sadrži visoku koncentraciju mangana. Demonstrirano je da deprivacijom Mn^{2+} razina oštećenja radijacijom ostaje ista, ali značajno se smanjuje stopa tolerancije zračenja (Daly i sur., 2004). Najveće oštećenje na DNA i proteinima nakon izlaganja radijaciji uzrokovano je ROS-ovima, a mangan ima sposobnost vezanja tih molekula i zaustavljanja njihovog razornog djelovanja (Ghosal i sur., 2005). Premda spada u pasivne načine zaštite, smatra se jednim od ključnih alata preživljavanja radijacije. Oštećenje proteina ROS-ovima progresivno dovodi do stanične smrti, a bez funkcionalnog proteoma nije moguća ni aktivnost mašinerije za popravak DNA, stoga se ovakva neenzimatska obrana smatra primarnom u borbi s posljedicama zračenja (Krisko i Radman, 2010).

Također, multivalentni kationi poput Mn^{2+} pripomažu kondenzaciji molekule DNA zbog stabilizacije negativno nabijene fosfatne okosnice, pa na taj način potencijalno predstavljaju prednost pri popravku, kako je opisano u prethodnom paragrafu.

d) Regulacija replikacije prilikom zračenja

Prilikom izlaganja stanice *D. radiodurans* radijaciji i oštećenju DNA, dolazi do niza fizioloških procesa koji uključuju i zaustavljanje ciklusa replikacije DNA. Kod subletalnih doza zračenja, pauza replikacije bit će duža od vremena potrebnog za popravak svih oštećenja na DNA (Moseley i sur., 1975).

e) Enzimatski popravak DNA

U konačnici, sva nastala oštećenja moraju se popraviti specijaliziranom enzimatskom mašinerijom. Geni koji kodiraju proteine važne za popravak otkriveni su gubitkom ili smanjenjem rezistencije na zračenje prilikom njihove inaktivacije, ali i dalje nisu poznate točne funkcije i mehanizmi djelovanja svih tih gena. Popravci dvolančanih lomova neovisni o RecA proteinu su SSA (*single-strand annealing*) i NHEJ (*non-homologous end joining*) za koje nije važno prisustvo homolognog slijeda, već direktno ligiraju DNA krajeve u regijama mikrohomologije. Ovi tipovi popravka skloni su pogreškama, premda je visokokondenzirani nukleoid potencijalno jedna od adaptacija koja osigurava veću preciznost (Cox i Battista, 2005).

DdrA protein pokazao se važan u zaštiti krajeva oštećene DNA, vezajući se za njih kako bi spriječio degradaciju nukleazama. Poznato je da je ključan kod popravka genoma nakon isušivanja stanice u uvjetima s manjkom nutrijenata. Popravak DNA iziskuje velike količine metaboličke energije koje u takvim uvjetima stanici nedostaje, stoga DdrA protein štiti krajeve DNA od razgradnje sve dok se stanica ne nađe u povoljnijoj sredini. Analogno tome, pokazano je da delecijom *ddrA* gena u uvjetima rasta *D. radiodurans* u bogatom mediju dolazi do malog povećanja osjetljivosti na radijaciju, dok je kod bakterija koje su izgladnjivane, smrtnost nakon zračenja 100 puta veća nego kod divljeg tipa (Harris i sur., 2004).

Rekombinacijski popravak DNA vođen je prepoznavanjem preklapajućih homolognih sekvenci na istoj molekuli DNA ili na redundantnim kopijama gena, što omogućuje znatno precizniji popravak od nerekombinacijskog. Rekombinaza RecA važan je protein u tom procesu: formira DNA filamente, hidrolizira ATP i dATP te vodi izmjenu DNA lanaca i formiranje rekombinacijske petlje. Zanimljivo je da je ova rekombinaza kod *D. radiodurans*a vrlo specifična jer se, obrnuto od RecA kod drugih vrsta, prvo veže za dvolančane krajeve u DNA i zatim napada

jednolančani homologni slijed (Kim i Cox, 2002). Takav inverzni mehanizam vjerojatno je u službi popravka dvolančanih lomova koji su najčešći tip oštećenja DNA kod *D.radiodurans*, premda ovaj fenomen i dalje nije potpuno objašnjen.

Teško je odrediti koji je od navedenih mehanizama popravka i obrane najvažniji u rezistenciji protiv ionizirajućeg zračenja kod *D.radiodurans*. Vjerojatno je u pitanju kombinacija koordiniranih pasivnih i aktivnih mehanizama obrane evolucijski razvijenih u svrhu preživljavanja okolišnih stresora kao što je isušivanje. Klasični putevi popravka DNA svojstveni prokariotima, uz dodatna specijalizirana svojstva, potpomognuti karakterističnom građom genoma u konačnici rezultiraju radiorezistencijom.

5. Biotehnološke implikacije ekstremofila

Ekstremofili i njihove izvanredne sposobnosti inspiracija su za pronalazak novih alata u borbi protiv modernih problema ili pronalazak modernih rješenja za drevne probleme. Mnoge industrijski važne kemijske reakcije mogu se kvalitativno i ekonomski optimizirati provođenjem u ekstremima temperature, pH, tlaka i saliniteta (Coker, 2016).

DNA polimeraze izolirane iz termofilnih bakterija *Thermus aquaticus*, *Pyrococcus furiosus* i *Thermococcus litoralis* revolucionarizirale su laboratorijska istraživanja, omogućivši automatiziranu verziju PCR reakcije, bez koje bi danas teško bilo zamisliti ne samo provođenje znanstvenog eksperimenta, već i kliničku i forenzičku dijagnostiku (Coker, 2016). Osim polimeraza, drugi ekstremozimi (enzimi ekstremofila) zbog svoje otpornosti imaju potencijal široke primjene u industriji, od korištenja lipaza i proteaza u detergentima, prerade prehrambenih proizvoda do biorudarenja. Ekstremozimi također mogu poslužiti kao izvor inspiracije za strukturne modifikacije enzima mezofila za njihovu optimizaciju (Rothschild i Mancinelli, 2001).

Proizvodnja biogoriva često uključuje uvjete ekstremnih pH vrijednosti, visoke temperature, stoga su ekstremofili idealni kandidati za zamjenu mezofila koji se tradicionalno koriste prilikom proizvodnje. Neki ekstremofili stvaraju polihidroksialkanoate (PHA), heterogenu grupu poliestera od koje se može proizvesti bioplastika (DasSarma i sur, 2010).

Nekolicina se ekstremofilnih vrsta testirala i pokazala uspješnom u bioremedijaciji okoliša, metaboliziranjem i detoksikacijom onečišćenja teškim metalima, radioaktivnim izotopima, naftom i poliklorbifenilima (Orellana i sur., 2018).

UV-rezistentni organizmi zanimljivi su za proučavanje zbog pronalaska formule molekula sa zaštitnim faktorom protiv štetnog zračenja za primjenu u kremama za sunčanje.

Dulaniella salina halofilna je zelena alga koja se koristi za komercijalnu proizvodnju β -karotena koji ona stvara u svrhu zaštite od sunčevog zračenja, ali i glicerola, koji sintetizira kao osmolit kojim balansira izvanjski osmotski tlak. Zbog bogatstva antioksidansa, sušena *Dulaniella* se prodaje kao dodatak prehrani. Antifriz proteini psihrofila zanimljivi su za primjenu kao potencijalni krioprotektanti u zamrzivanju organa (Rothschild i Mancinelli, 2001).

6. Zaključak

Premda na Zemlji trenutno postoje uvjetna ograničenja mogućeg života, konstantno nailaze na izuzetke i vrlo je vjerojatno da pravi limit, ako uopće postoji, još uvijek nije otkriven. Unatoč napretku, još smo uvijek u počecima razumijevanja i karakterizacije organizama koji žive u ekstremnom okolišu. Veliki dio biosfere podmorja i podzemlja je nepoznat, a tek se neznatni dio mikroorganizama uspješno kultivirao i opisao.

Proučavanjem ekstremofila dobivamo uvid u limite života na Zemlji, ali i u svemiru. Iako očekivani život drugdje u svemiru ne mora biti sličan ovome na Zemlji, zakoni fizike i kemije sugeriraju osnovne potrebe života: povoljne gradivne molekule, izvor energije i tekuće otapalo. Planovi o kolonizaciji nastanjivih planeta moraju imati podlogu znanja o rezistenciji na višestruke nepovoljne uvjete kojima bi život u svemiru bio izložen. Istraživanja u budućnosti moraju se fokusirati na poliekstremofile kao prave modelne organizme u astrobiologiji.

Komercijalni potencijal ekstremofila tek je prepoznat i u budućnosti se očekuje široka primjena njihovih metaboličkih produkata i enzima u industriji i medicini.

7. Literatura

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 gamma radiation. *Food Technology* 575–582.
2. Azzam EI, Jay-Gerin JP, Pain D. (2012). Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer Lett.* 31;327(1-2):48-60.
3. Baker-Austin C, Dopson M. (2007). Life in acid: pH homeostasis in acidophiles. *Trends Microbiol.* 15(4): 165–71.
4. Battista JR. (1997) Against all odds: the survival strategies of *Deinococcus radiodurans*. *Annu Rev Microbiol.* 51:203-24.
5. Blasius M, Sommer S, Hübscher U. (2008). *Deinococcus radiodurans*: what belongs to the survival kit? *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 43(3):221-38.
6. Blum, J. S., Han, S., Lanoil, B., Saltikov, C., Witte, B., Tabita, F. R., et al. (2009). Ecophysiology of “*Halarsenatibacter silvermanii*” strain SLAS-1 T, gen. nov., sp. nov., a facultative chemoautotrophic arsenate respirer from salt-saturated Searles Lake, California. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 1950–1960.
7. Brininger C, Spradlin S, Cobani L, et al. (2018) The more adaptive to change, the more likely you are to survive: Protein adaptation in extremophiles. *Semin Cell Dev Biol.* 84: 158–69
8. Burrell, A. D., Feldschreiber, P. & Dean, C. J. (1971). DNA membrane association and the repair of double breaks in X-irradiated *Micrococcus radiodurans*. *Biochim. Biophys. Acta* 247, 38–53
9. Caldwell, M. M., Teramura, A. H., and Tevini, M. (1989). The changing solar ultraviolet climate and the ecological consequences for higher plants. *Trends Ecol. Evol.* 4, 363–367.
10. Cavicchioli R, Charlton T, Ertan H, i sur. (2011). Biotechnological uses of enzymes from psychrophiles. *Microb Biotechnol.* 4(4): 449–60.
11. Coker JA. (2016). Extremophiles and biotechnology: current uses and prospects. *F1000Res.* 5: 396.
12. Daly, M. J. et al. (2004) Accumulation of Mn(II) in *Deinococcus radiodurans* facilitates γ -radiation resistance. *Science* 306, 1025–1028

13. DasSarma P, Coker JA, Huse V, et al. (2010). "Halophiles, industrial applications". In: Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology. John Wiley & Sons, Inc.
14. DasSarma, P., and DasSarma, S. (2018). Survival of microbes in Earth's stratosphere. *Curr. Opin. Microbiol.* 43, 24–30.
15. Ghosal, D. et al. (2005). How radiation kills cells: survival of *Deinococcus radiodurans* and *Shewanella oneidensis* under oxidative stress. *FEMS Microbiol. Rev.* 29, 361–375
16. Harris, D. R. et al. (2004). Preserving genome integrity: the DdrA protein of *Deinococcus radiodurans* R1. *PLoS Biol.* 2, 1629–1639
17. Harsojo, Kitayama, S. & Matsuyama, A. (1981). Genome multiplicity and radiation resistance in *Micrococcus radiodurans*. *J. Biochem. (Tokyo)* 90, 877–880
18. Horikoshi, K. (1999). Alkaliphiles: Some applications of their products for biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63, 735-750.
19. Jamroze A, Perugino G, Valenti A, et al. (2014). A Novel Extremely Thermophilic DNA Topoisomerase Endowed with DNA Unwinding and Annealing Activities. *J Biol Chem.* 289(6): 3231–43
20. Jebbar M, Franzetti B, Girard E, et al. (2015). Microbial diversity and adaptation to high hydrostatic pressure in deep-sea hydrothermal vents prokaryotes- Extremophiles. 19(4): 721–40.
21. Kim, J. I. & 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
22. Krisko, Anita & Radman, Miroslav. (2010). Krisko A, Radman M Protein damage and death by radiation in *Escherichia coli* and *Deinococcus radiodurans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:14373-14377.
23. Levin-Zaidman, S. et al. (2003). Ringlike structure of the *Deinococcus radiodurans* genome: a key to radioresistance? *Science* 299, 254–256
24. Makarova KS, Aravind L, Wolf YI, Tatusov RL, Minton KW, Koonin EV, Daly MJ. (2001). Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 65(1):44-79.

25. Merino N, Aronson HS, Bojanova DP, Feyhl-Buska J, Wong ML, Zhang S i Giovannelli D. (2019). Living at the Extremes: Extremophiles and the Limits of Life in a Planetary Context. *Front. Microbiol.* 10:780.
26. Moran-Reyna A, Coker JA .(2014). The effects of extremes of pH on the growth and transcriptomic profiles of three haloarchaea. *F1000Res.* 2014; 3: 168
27. Morozkina, E.V.; Slutskaya, E.S.; Fedorova, T.V.; Tugay, T.I.; Golubeva, L.I.; Koroleva, O.V. (2010). Extremophilic microorganisms: Biochemical adaptation and biotechnological application. *Appl. Biochem. Microbiol.* 46, 1-14
28. Moseley, B. E. & Copland, H. J. R. (1975). Involvement of a recombination repair function in disciplined cell division of *Micrococcus radiodurans*. *J. Gen. Microbiol.* 86, 343–357
29. Orellana R, Macaya C, Bravo G, et al. (2018). Living at the Frontiers of Life: Extremophiles in Chile and Their Potential for Bioremediation. *Front Microbiol.* 9: 2309
30. Oren A .(2008). Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Systems.* 4: 2.
31. Rothschild, L., Mancinelli, R. (2001). Life in extreme environments. *Nature* 409, 1092–1101
32. Rampelotto, P. H. (2010). Resistance of Microorganisms to Extreme Environmental Conditions and Its Contribution to Astrobiology. *Sustainability* 1602-1623.
33. Schleper, C., Puhler, G., Klenk, H.-P., and Zillig, W. (1996). *Picrophilus oshimae* and *Picrophilus torridus* fam. nov., gen. nov., sp. nov., two species of hyperacidophilic, thermophilic, heterotrophic, aerobic archaea. *Int. J.* 46, 814–816.
34. Schokraie, E., Hotz-Wagenblatt, A., Warnken, U., Mali, B., Frohme, M., Förster, F., Dandekar, T., Hengherr, S., Schill, R.O. and Schnölzer, M. (2010). Proteomic analysis of tardigrades: towards a better understanding of molecular mechanisms by anhydrobiotic organisms. *PloS one*, 5(3), p.e9502
35. Sloan D, Alves Batista R, Loeb A. (2017). The Resilience of Life to Astrophysical Events. *Sci Rep.* 7(1):5419.
36. Stetter KO. (1999). Extremophiles and their adaptation to hot environments. *FEBS Lett.* 452(1–2): 22–5.

37. Suzuki, S., Kuenen, J. G., Schipper, K., Van Der Velde, S., Ishii, S., Wu, A., et al. (2014). Physiological and genomic features of highly alkaliphilic hydrogen-utilizing Betaproteobacteria from a continental serpentinizing site. *Nat. Commun.* 5:3900.
38. Tyrell, R. M. (1991). in *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*(ed. Sies, H.) Academic, London, 57–83
39. Ulrih, N.P.; Gmajner, D.; Raspor, P. (2009). Structural and physicochemical properties of polar lipids from thermophilic archaea. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84, 249-26
40. 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, Fraser C M. (1999). Genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1. *Science.*;286:1571–1577.
41. White O, Eisen JA, Heidelberg JF, Hickey EK, Peterson JD, Dodson RJ, Haft DH, Gwinn ML, Nelson WC, Richardson DL, Moffat KS, Qin H, Jiang L, Pamphile W, Crosby M, Shen M, Vamathevan JJ, Lam P, McDonald L, Utterback T, Zalewski C, Makarova KS, Aravind L, Daly MJ, Minton KW, Fleischmann RD, Ketchum KA, Nelson KE, Salzberg S, Smith HO, Venter JC, Fraser CM. (1999). Genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1. *Science*; 286(5444):1571-7.
42. Krasin, F. and Hutchinson, F. (1977). Repair of DNA double-strand breaks in *Escherichia coli*, which requires recA function and the presence of a duplicate genome. *J Mol Biol* 116:81–98

8. Životopis

Rođena sam 5. prosinca 2000. godine u Splitu u Republici Hrvatskoj. Nakon završetka osnovnoškolskog obrazovanja 2015. godine upisujem Prirodoslovno-matematičku gimnaziju u Splitu. Srednju školu završavam 2019. godine i započinjem preddiplomski studij Molekularne biologije na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu na kojem završavam treću godinu.