

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.03.007

耐辐射奇球菌 *pprM* 基因增强大肠杆菌氧化抗性的研究*

阳志¹ 李伟³ 王五洲² 贺俊彦¹ 肖方竹¹ 贺特² 曹旭琴¹ 马云² 何淑雅^{1,2,Δ}

(1 南华大学公共卫生学院放射医学教研室 湖南 衡阳 421001;

2 南华大学生物化学与分子生物学教研室 湖南 衡阳 421001; 3 中南大学湘雅医院 湖南 长沙 410008)

摘要目的:探讨耐辐射奇球菌 *pprM* 基因对大肠杆菌氧化抗性的影响。方法:氯化钙法转化分别构建含 pGEX-6p-1-*pprM* 质粒的大肠杆菌 DH5 α 。测定不同浓度过氧化氢对含 pGEX-6p-1-*pprM*、pGEX-6p-1 和野生型大肠杆菌 DH5 α 活性的影响以及菌体内 SOD/GSH/CAT 水平的变化。**结果:**与空质粒组和野生型组相比,含 *pprM* 的大肠杆菌在同浓度过氧化氢情况下,其抑菌圈明显缩小,差异有统计学意义。与空质粒组和野生型组相比,含 *pprM* 的大肠杆菌体内 CAT 活力、SOD 活性明显提高,但 GSH 量并没有明显提高。**结论:***pprM* 基因能够提高大肠杆菌抗氧化能力,其机制可能与 *pprM* 基因增强细菌体内抗氧化酶的活性有关。

关键词:耐辐射奇球菌;大肠杆菌;*pprM*;过氧化氢;抗氧化

中图分类号:Q691; R117; Q789 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)03-429-05

Enhances of the Antioxidant Capacity in *Escherichia coli* by *Deinococcus radiodurans pprM* *

YANG Zhi¹, LI Wei³, WANG Wu-zhou², HE Jun-yan¹, XIAO Fang-zhu¹, HE Te², CAO Xu-qin¹, MA Yun², HE Shu-ya^{1,2,Δ}

(1 Department of radiology medicine, School of public health, University of South China, Hengyang, Hunan, 421001, China;

2 Department of biochemistry and molecular biology, School of pharmacy and biological Sciences, University of South China,

Hengyang, Hunan, 421001, China; 3 Xiangya Hospital of Central South University, Hengyang, Hunan, 410008, China)

ABSTRACT Objective: To study the effect of *pprM* gene on the antioxidant capacity of *Escherichia coli* and its mechanism.

Methods: pGEX-6p-1-*pprM* plasmids were constructed and transferred into *Escherichia coli*. The bacterial inhibition zone test of *pprM* group, empty plasmid group and wild type *Escherichia coli* group were carried out with hydrogen peroxide, and the activity of *Escherichia coli* and the change of SOD/GSH/CAT level in bacteria were measured. **Results:** Compared with empty plasmid group and wild type group, *pprM* group showed a significant smaller bacteriostatic ring under the same concentration peroxide circumstance in the bacterial inhibition zone test ($P < 0.05$). The *pprM* group also showed a significant increase of SOD and CAT activity ($P < 0.05$), but the increase of GSH quantity did not reach the significance. **Conclusion:** The above results suggest that *Deinococcus Radiodurans pprM* gene can enhance the antioxidant capacity of *E. coli* and the mechanism may due to its improvement of antioxidase in bacteria.

Key words: *Deinococcus radiodurans*; *Escherichia coli*; *pprM*; Hydrogen peroxide; Antioxidation

Chinese Library Classification(CLC): Q691; R117; Q789 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)03-429-05

前言

耐辐射奇球菌是一种以超强辐射抗性而闻名的古细菌,其抗辐射能力比大肠杆菌高 100 多倍,被"吉尼斯世界记录"收录并誉为是"世界上最顽强的细菌"^[1]。*pprM* 为耐辐射奇球菌重要的抗辐射及抗氧化基因,本课题组前期研究发现,敲除 *pprM* 的耐辐射奇球菌其辐射抗性明显降低,而将 *pprM* 转入真核细胞中它同样能够发挥抗辐射作用^[2,3]。但对于 *pprM* 是否可以直接在原核生物细菌中发挥其抗辐射、抗氧化功能目前还并不很清楚。

大肠杆菌是一种重要的工业微生物,其在生物制药、环境

治理等很多工业产业中都具有重要价值^[4,6]。与传统物理或化学方法相比,大肠杆菌在处理环境污染物(尤其是重金属污染物)时有着更加环保和高效的特点^[7,8]。但在极端恶劣环境下处理污染物时,由于大肠杆菌自身受到环境和污染物的损伤,其净化能力也会出现一定程度的下降^[9]。目前大肠杆菌在环境治理方面的应用主要为用野生型大肠杆菌吸附重金属和降解有机物,将其改造成基因工程菌以提高吸附效率的研究较少,而且主要集中在研究提高大肠杆菌对于某种特定金属的转运能力和络合能力^[10-13]。而通过提高大肠杆菌本身应对极端环境的能力来提高其环境净化能力的研究少有报道。

本研究通过将 *pprM* 基因转入大肠杆菌,观察该基因能否

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81741143);湖南省教育厅科研项目(17A186;2018JJ3458)

作者简介:阳志(1991-),硕士生,主要研究方向:放射毒理,E-mail: 623909636@qq.com

Δ 通讯作者:何淑雅(1957-),博士,教授,主要研究方向:生物化学与分子生物学、放射毒理学,

E-mail: heshuya8502@163.com,电话:(0734)8281293

(收稿日期:2018-07-21 接受日期:2018-08-16)

提高大肠杆菌抗氧化能力并研究其相关机制。同时也希望通过构建工程菌可以提高大肠杆菌在污水中的存活能力,最终提高大肠杆菌的处理污水能力。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

本研究采用的是大肠杆菌 DH5 α 菌株(本实验室保存)。原核表达载体 pGEX-6p-1 质粒(本实验室保存)。EcoRI 酶、XhoI 酶、T4 DNA 连接酶均自 Fermentas 有限公司(美国),过氧化氢自广东光华科技股份有限公司。LB 细菌液体培养基由 1% 蛋白胨,0.5% 酵母提取物,1% 氯化钠组成,并调节 pH 至 7.4; LB 固体培养基由液体培养基添加 1.5% 琼脂配制而成。紫外分光光度计(UV2550 型,日本岛津公司生产)。过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒、还原型谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒、总超氧化物歧化酶(T-SOD)测试盒(羟胺法)均自南京建成生物工程研究所。PBS、质粒小量抽提试剂盒均自碧云天生物技术有限公司(上海)。

1.2 实验方法

1.2.1 pGEX-6p-1 表达载体的构建 用 Primer Premier 6 软件设计 PCR 扩增引物,设计的上游引物 pprM-F 序列为:5'-CGGGAATTCGTGTGCCGAGTTTCG-3'(下划线为 EcoRI 酶切位点),下游引物 pprM-R 序列为:5'-GTCCTCGAGT-TACCAGCGGTCGTC-3'(下划线为 XhoI 酶切位点)。以提取的耐辐射奇球菌基因组 DNA 为模板,用以上引物进行 PCR 扩增得到目的基因 pprM。用核酸内切酶 EcoRI 和 XhoI 分别对 pGEX-6p-1 质粒和 PCR 纯化产物进行双酶切,将双酶切产物进行凝胶电泳,之后进行胶回收。将回收的酶切后的 PCR 产物与载体质粒 pGEX-6p-1 进行连接反应。后转入大肠杆菌,并通过菌落 PCR、双酶切和测序进行鉴定。

1.2.2 大肠杆菌对于过氧化氢敏感性实验 分别将野生型、空质粒转化大肠杆菌及 pGEX-6p-1-pprM 转化大肠杆菌于固体培养基培养复苏后,挑取单克隆菌株培养至 OD 值约为 1。13000 r/min 离心 1 min 收集细菌,用 1 \times PBS 洗涤细菌 2 次。重悬细菌于 1 \times PBS 中,小心吹打混匀,用 1 \times PBS 将菌液浓度调至 OD 值为 1.0。分别取以上三种细菌菌液 200 mL 均匀涂布在 LB 固体培养基上,在每个培养板的固体培养基表面放置直径 6 mm 已灭菌的小滤纸片 5 片,分别在每片小滤纸片上滴加浓度为 0 mol/L、1 mol/L、2 mol/L、4 mol/L、8 mol/L 的过氧化氢溶液(用 1 \times PBS 稀释)各 2 μ L,后于培养箱 37 $^{\circ}$ C 培养 5 小时(设三个平行组)。

1.2.3 大肠杆菌 SOD/GSH/CAT 的测定 通过 1200 rpm 离心 1min,各组收集相同体积的菌液于 1.5 mL EP 管中,用 1 \times PBS 将菌液洗涤两次,并重悬于不同浓度(分别为 0 μ mol/L、5 μ mol/L、10 μ mol/L)的过氧化氢溶液中 30 min,1000 rpm 离心收集细菌,再用 1 \times PBS 将菌液洗涤两次,以去除菌液中的过氧化氢,后重悬于 1 mL 的 PBS 溶液中。于冰上超声破碎 5 min (300 W 功率,破碎 10 s,间隔 10s),至菌液变清。后分别按 SOD/GSH/CAT 试剂盒说明书操作步骤测定其活性。

1.3 统计学分析方法

数据统计用 SPSS 19.0 统计软件进行。多组之间的比较采

用单因素方差分析,进一步采用 SNK-q 检验比较两组间差异,以 P 值小于 0.05 定义为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 pGEX-6p-1-pprM 质粒的鉴定

如图 1 所示,在第二泳道有明显约为 400 bp 的目的条带,大小与 pprM 基因一致。用 EcoRI 和 XhoI 对提取的质粒进行双酶切鉴定,如图 a、b 所示,得到大小为 4.9 kb 和 0.4 kb 的两个条带,表明目的基因 pprM 已经成功构建到了 pGEX-6p-1 载体中。最后把双酶切鉴定为阳性的菌株其质粒寄至上海 Invitrogen 公司进行测序分析,部分序列如如图 c 所示,利用 Blast 程序对所得序列进行对比分析,结果表明 pprM 基因插入位置正确,没有发生移码突变,载体构建成功。

2.2 pprM 基因可提高大肠杆菌的过氧化氢抗性

由图 4 可知,随着过氧化氢浓度的提高,三种大肠杆菌的抑菌圈都逐渐增大。在比较转入 pprM 基因的大肠杆菌与转入空载体大肠杆菌的差异时发现,转入 pprM 基因能明显提高大肠杆菌对于过氧化氢的抗性。当过氧化氢的浓度分别为 4 mol/L 和 8 mol/L 时,转入空质粒的大肠杆菌抑菌圈直径分别为 2.2 cm 和 2.5 cm,而在相同过氧化氢浓度下,含 pprM 基因的大肠杆菌抑菌圈直径分别下降到 1.6 cm 和 2.0 cm。相同过氧化氢浓度下,含 pprM 基因的大肠杆菌其抑菌圈直径明显较低,说明 pprM 可以提高大肠杆菌的抗氧化能力。

2.3 pprM 基因对于大肠杆菌 SOD 活力的影响

由图 5 可知,随着过氧化氢浓度的提高,三种大肠杆菌的 SOD 活力都呈下降趋势。通过比较发现,在没有过氧化氢刺激时,pprM 基因组大肠杆菌与空质粒组大肠杆菌 SOD 活力并没有统计学差异,说明在没有过氧化氢刺激条件下,pprM 并没有明显提高大肠杆菌 SOD 活性。当过氧化氢浓度为 5 mmol/L 和 10 mmol/L 时,pprM 组大肠杆菌的 SOD 活力都比野生型组及空质粒组要强很多。说明在过氧化氢压力下,转入大肠杆菌的 pprM 基因能提高大肠杆菌 SOD 的活力。

2.4 pprM 基因对大肠杆菌 GSH 含量的影响

由图 6 可知,随着过氧化氢浓度的提高,与空质粒组相比 pprM 组中还原型谷胱甘肽的量变化并不明显。三组大肠杆菌随着过氧化氢浓度的增加,GSH 的量并没有明显变化趋势,GSH 的量基本保持在 100 μ mol/L 左右。与空质粒组相比 pprM 组大肠杆菌 GSH 量有上升趋势,特别是在过氧化氢浓度为 5 mmol/L 时,两组之间 P 值为 0.047 差异有统计学意义。但从总体来说,pprM 对于提高大肠杆菌 GSH 含量的效果并不明显。

2.5 pprM 基因可提高大肠杆菌 CAT 活力

由图 7 可知,随着过氧化氢浓度的提高,三种大肠杆菌的 CAT 活力都呈下降趋势。通过比较发现,在没有过氧化氢刺激时,pprM 基因组大肠杆菌与空质粒组大肠杆菌 CAT 活力就有较大差异,说明在没有过氧化氢刺激情况下,pprM 基因仍然可以提高大肠杆菌 CAT 活性。不论过氧化氢浓度为 0 mmol/L、5 mmol/L 还是 10 mmol/L,pprM 组大肠杆菌其 CAT 活力都比野生型组和空质粒组要强很多。特别是当双氧水浓度为 5 mmol/L 和 10 mmol/L 时,pprM 组大肠杆菌 CAT 活力与空质粒组相比提高了近一倍。说明无论有没有过氧化氢氧化压力,转入大肠

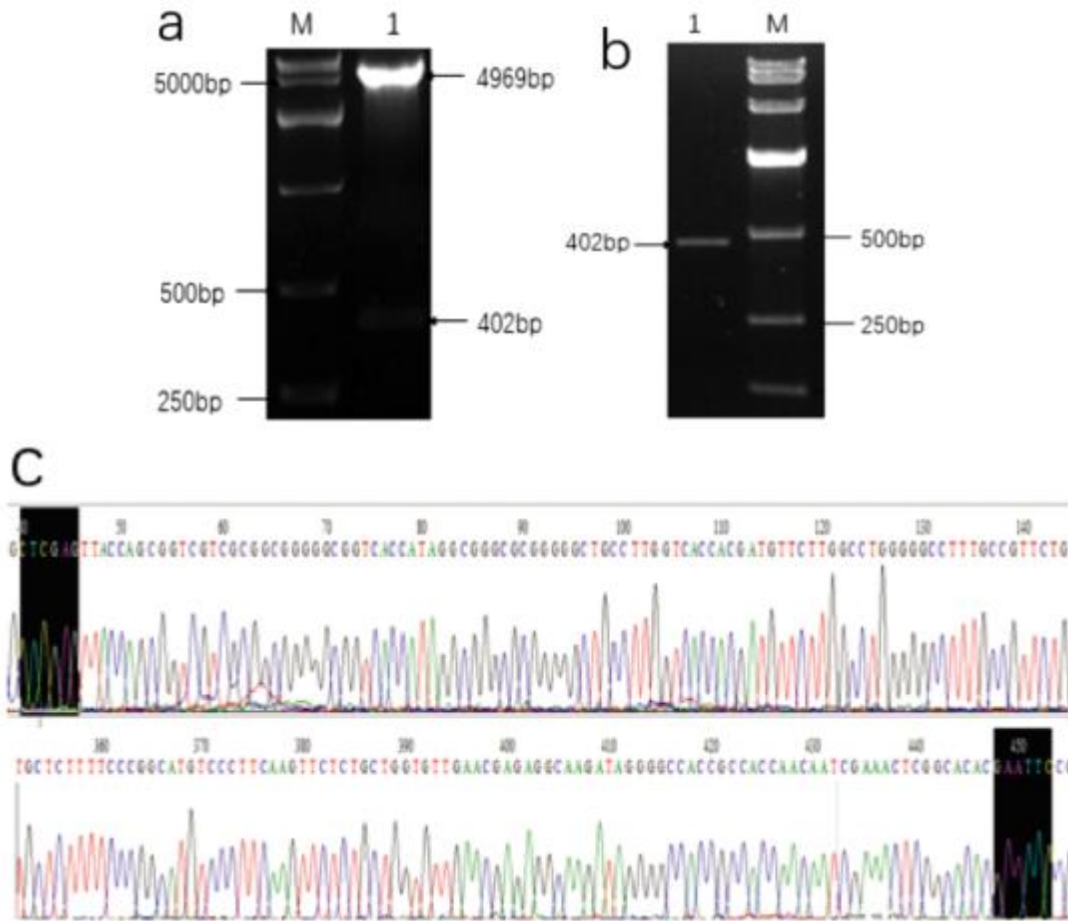


图1 pGEX-6p-1-pprM 质粒的鉴定。 a: pGEX-6p-1-pprM 重组质粒双酶切鉴定结果；
 b: pGEX-6p-1-pprM 重组质粒 PCR 鉴定结果；c: pGEX-6p-1-pprM 重组载体测序鉴定部分结果
 Fig.1 Identification of pGEX-6p-1-pprM plasmid . a: The double digested results of pGEX-6p-1-pprM;
 b: The double PCR results of pGEX-6p-1-pprM; C: The sequencing result of pGEX-6p-1-pprM
 注: a 中 Lane M: Maker; Lane 1: 双酶切产物; b 中 Lane M: Maker; Lane 1: PCR 产物;
 C 中两端黑色部分为 EcoRI 和 Xho I 酶切位点序列

Note: The a part of the Fig. 1 Lane M: Maker; Lane 1: Double enzyme products; The b part of the Fig. 1 Lane M: Maker; Lane 1: PCR Products;
 The c part of the Fig. 1: The black parts at both ends are sequences of EcoRI and Xho I restriction sites.

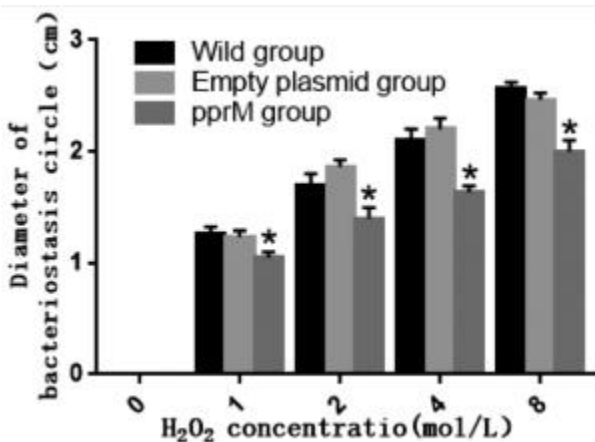


图2 pprM 基因对于大肠杆菌过氧化氢抗性的影响
 Fig.2 The effect of pprM gene on the resistance of H₂O₂ in Escherichia coli

注: 图中 * 表示: 与空质粒组相比, 差异有统计学意义 (P<0.05)。

Note: compared with empty plasmid group, * P<0.05.

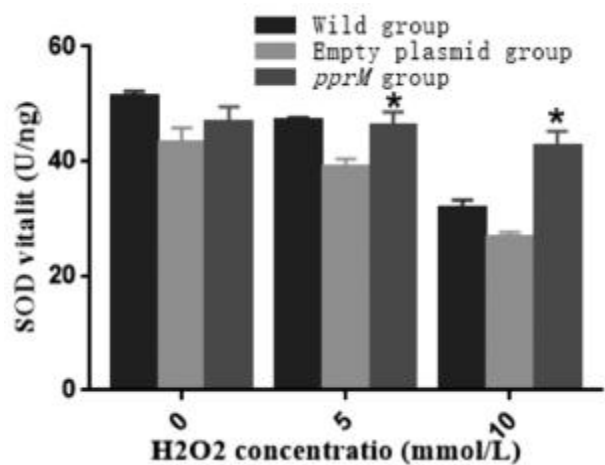


图3 pprM 基因对于大肠杆菌 SOD 活力的影响
 Fig.3 The effect of pprM gene on the activity of SOD in Escherichia coli

注: 图中 * 表示: 与空质粒组相比, 差异有统计学意义 (P<0.05)。

Note: compared with empty plasmid group, * P<0.05.

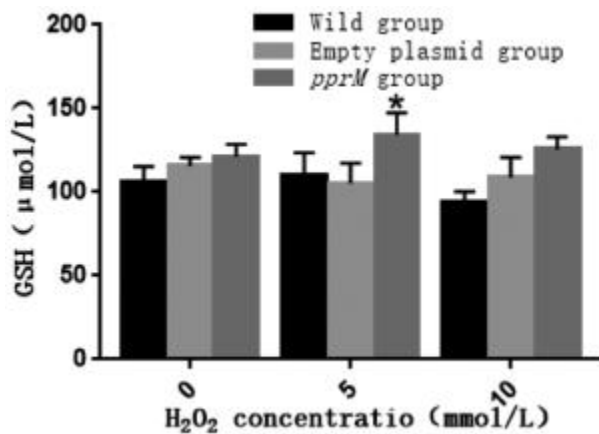


图4 *pprM* 基因对于大肠杆菌 GSH 活力的影响

Fig.4 The effect of *pprM* gene on the activity of GSH in *Escherichia coli*

注:图中*表示:与空质粒组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。

Note: compared with empty plasmid group, * $P<0.05$.

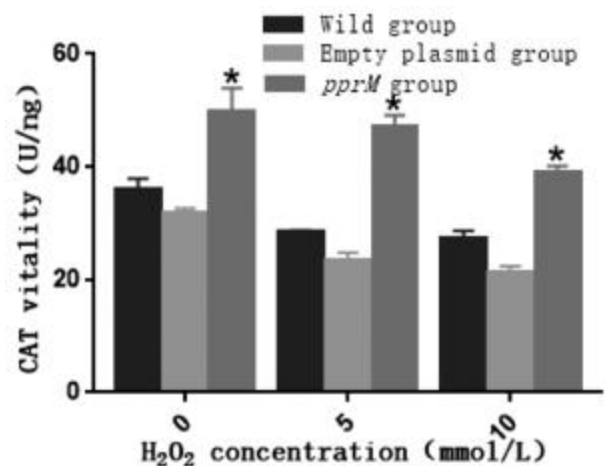


图5 *pprM* 基因对于大肠杆菌 CAT 活力的影响

Fig.5 The effect of *pprM* gene on the activity of CAT in *Escherichia coli*

注:图中*表示:与空质粒组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。

Note: compared with empty plasmid group, * $P<0.05$.

杆菌的 *pprM* 基因都能提高大肠杆菌 CAT 的活力。

3 讨论

耐辐射奇球菌以对于辐射的超强耐受而闻名,是目前人类研究抗辐射机制的重要模式生物之一^[14-16]。通过大量研究发现,耐辐射奇球菌其所具有的许多特有基因在抗辐射中发挥了重要作用。如有研究发现,耐辐射奇球菌特有基因 *pprI* 具有超强的抗辐射调节能力,*pprI* 敲除菌株其抗辐射能力明显减弱,并发现 *pprI* 可以调节其下游的近二十个基因的表达^[7]。之后,有研究将 *pprI* 转入大肠杆菌中,观察其是否能发挥抗氧化作用,结果发现 *pprI* 在大肠杆菌中依然能发挥抗氧化作用^[8]。本研究中的 *pprM* 基因同为耐辐射奇球菌特有的抗辐射基因,其最早由 Ohba H 等人发现,研究表明 *pprM* 基因被敲除之后,耐辐射奇球菌辐射抗性下降明显,表明 *pprM* 是耐辐射奇球菌重要的抗辐射基因^[9]。前期研究发现,敲除 *pprM* 的耐辐射奇球菌与野生型相比,不仅是抗辐射能力明显降低,而且抗氧化能力也明显降低,这也提示着 *pprM* 基因除了具有很强的抗辐射功能同时也具有较强的抗氧化能力^[20]。研究还将 *pprM* 基因转入真核细胞 293T 中,观察其是否能发挥抗辐射作用,结果发现,*pprM* 在真核细胞中依然能发挥其抗辐射作用^[21]。因为抗辐射功能在原核生物中同样有着广阔应用前景,于是开展了本研究来探讨 *pprM* 在原核生物中是否能发挥功能,探索将 *pprM* 强大的抗辐射抗氧化能力应用于大肠杆菌等原核生物。

大肠杆菌以易于培养、生长速度快、遗传背景清晰等优势成为了最重要的基因克隆表达和基因功能研究模式生物之一。大肠杆菌在作为外源蛋白表达菌株时,还具有成本低、效率高等优势,因此大肠杆菌也是最早用于表达外源蛋白的菌株之一。随着分子生物学技术的不断发展,外源蛋白在大肠杆菌中表达的相关技术已经比较成熟,现有技术可以让外源蛋白在大肠杆菌中稳定高效表达,这使得大肠杆菌成为了研究外源基因在原核生物中功能的重要模式生物。因此本研究选择大肠杆菌作为模式生物来研究 *pprM* 在原核生物中功能的发挥及其机制。并最终发现 *pprM* 蛋白在大肠杆菌中依然能发挥作用,这提示着 *pprM* 很可能在所以原核生物中都能发挥作用。因为 *pprM*

在耐辐射奇球菌体内发挥抗氧化功能的主要机制是通过提高其自身抗氧化酶的量 and 活性,所以本研究在进一步研究其在大肠杆菌中发挥功能的机制时,选择了检测转入 *pprM* 基因后大肠杆菌体内抗氧化酶的量 and 活性的变化。最终发现转入 *pprM* 的大肠杆菌,其体内抗氧化酶的量 and (或)活性明显提高,表明其在大肠杆菌中发挥抗氧化功能的机制与其在耐辐射奇球菌中时基本一致。这也与同为耐辐射奇球菌抗辐射基因的 *pprI* 在转入大肠杆菌之后发挥功能的机制一致。

随着工业的发展,人们在享受工业文明带来的巨大物质财富和生活便利的同时,也面临着工业化所带来了另一个严峻问题:环境污染。而在环境污染中水污染特别是水中重金属污染尤为严重。无论是国外的“水俣病”和“骨痛病”等环境污染事件,还是国内的“镉大米”事件都给人们的生命健康带来了巨大损害,环境污染已经成为影响人民生活质量的突出问题,同时,有研究表明在我国部分地区环境污染特别是水污染问题比较严重,我国对于环境治理新方法新技术有着迫切需求^[15]。

净化重金属污染废水的方法主要可以分为物理处理法、化学处理法和生物处理法。物理处理法主要包括:重力分离法、离心分离法和筛滤截留法等。化学处理法主要包括废水臭氧氧化处理法、废水电解处理法和废水化学沉淀处理法等。而生物处理法是一种较新颖的污水处理方法,以生物吸附法为主。生物吸附法主要是利用生物体本身的结构和成分吸附水中的重金属离子,再通过将已吸附重金属的大肠杆菌从水中分离,达到去除水中重金属的目的。生物吸附法与物理、化学处理法相比具有效率高、成本低等优势,这也使其成为了污水处理技术的研究热点之一。

近些年的研究发现,在污水处理中,大肠杆菌对铜、镉、铅等重金属都有着较好的吸附作用^[9]。在这些研究中,作为吸附剂吸附重金属离子的大肠杆菌主要为野生型大肠杆菌。虽然野生型大肠杆菌有着较高的吸附效率,但仍然有很大的优化改进空间,研究者也在不断探索着提高其吸附效率的方法。目前优化大肠杆菌对于重金属吸附效率的研究主要方式为增加大肠杆菌体内某种特定金属转运蛋白和(或)络合蛋白的量,以提高大

肠杆菌对于某种特定金属离子的吸附能力。例如有研究表明在大肠杆菌表面表达某种特定蛋白质可以增强大肠杆菌对于镉离子的吸附效率^[89]。但实际上影响重金属吸附效率的因素,除了菌体吸附结构和特定蛋白的量之外,细菌本身的存活率也是影响其吸附效果的重要因素。因为重金属本身对于大肠杆菌的毒性,会影响大肠杆菌的活性,从而可能降低大肠杆菌的吸附效率。因此,提高大肠杆菌对于恶劣环境(包括氧化压力环境)的抗性,是提高大肠杆菌生物吸附效率的有效途径之一。因此本基因工程菌的成功构建将可能很大程度上提高大肠杆菌在重金属环境中的生存率,最终提高大肠杆菌对于各类重金属的吸附能力。

4 结论

本研究发现转耐辐射奇球菌 *prrM* 进入大肠杆菌后能够明显提高大肠杆菌的抗氧化能力,并发现其具体机制是通过提高大肠杆菌抗氧化酶类的活性。这提示着 *prrM* 很可能再所有原核生物中都能发挥其作用。同时,转入 *prrM* 的大肠杆菌作为基因工程菌将在环境治理等领域有着重要价值和广阔的应用前景。而且,具有更强抗氧化能力的大肠杆菌在生物制药等其他领域将有着更加广阔的应用前景。

参考文献(References)

- [1] Gerber E, Bernard R, Castang S, et al. *Deinococcus* as new chassis for industrial biotechnology: biology, physiology and tools [J]. *J Appl Microbiol*, 2015, 119(1): 1-10
- [2] Ohba H, Satoh K, Sghaier H, et al. Identification of *prrM*: a modulator of the *PprI*-dependent DNA damage response in *Deinococcus radiodurans*[J]. *Extremophiles*, 2009, 13(3): 471-479
- [3] Park SH, Singh H, Appukuttan D, et al. *PprM*, a cold Shock domain-containing protein from *Deinococcus radiodurans*, Confers oxidative stress tolerance to *Escherichia coli* [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 2124
- [4] Kim S, Song MH, Wei W, et al. Selective biosorption behavior of *Escherichia coli* biomass toward Pd (II) in Pt (IV)-Pd (II) binary solution[J]. *J Hazard Mater*, 2015, 283: 657-662
- [5] Shen HJ, Hu JJ, Li XR, et al. Engineering of *Escherichia coli* for lycopene production through promoter engineering [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2015, 16(12): 1094-1103
- [6] Zhou Y, Lu Z, Wang X, et al. Genetic engineering modification and fermentation optimization for extracellular production of recombinant proteins using *Escherichia coli* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(4): 1545-1556
- [7] Jacob JM, Karthik C, Saratale RG, et al. Biological approaches to tackle heavy metal pollution: A survey of literature [J]. *J Environ Manage*, 2018, 217: 56-70
- [8] Nguyen TT, Lee HR, Hong SH, et al. Selective lead adsorption by recombinant *Escherichia coli* displaying a lead-binding peptide [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, 169(4): 1188-1196
- [9] Fathima A, Rao JR. Is Cr (III) toxic to bacteria: toxicity studies using *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* as model organism [J]. *Arch Microbiol*, 2018, 200(3): 453-462
- [10] Tafakori V, Ahmadian G, Amoozegar MA. Surface display of bacterial metallothioneins and a chitin binding domain on *Escherichia coli* increase cadmium adsorption and cell immobilization[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, 167(3): 462-473
- [11] Hui C-Y, Guo Y, Yang X-Q, et al. Surface display of metal binding domain derived from PbrR on *Escherichia coli* specifically increases lead(II) adsorption[J]. *Biotechnology Letters*, 2018, 40(5): 837-845
- [12] Jafarian V, Ghaffari F. A unique metallothionein-engineered in *Escherichia coli* for biosorption of lead, zinc, and cadmium; absorption or adsorption[J]. *Microbiology*, 2017, 86(1): 73-81
- [13] Qin W, Liu X, Yu X, et al. Identification of cadmium resistance and adsorption gene from *Escherichia coli* BL21 (DE3)[J]. *Rsc Advances*, 2017, 7(81): 51460-51465
- [14] Krisko A, Radman M. Biology of extreme radiation resistance: the way of *Deinococcus radiodurans* [J]. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2013, 5(7)
- [15] Minton KW. Repair of ionizing-radiation damage in the radiation resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* [J]. *Mutation research*, 1996, 363(1): 1-7
- [16] Timmins J, Moe E. A decade of biochemical and structural studies of the DNA repair machinery of *Deinococcus radiodurans*: major findings, functional and mechanistic insight and challenges [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2016, 14: 168-176
- [17] Hua Y, Narumi I, Gao G, et al. *PprI*: a general switch responsible for extreme radioresistance of *Deinococcus radiodurans* [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 306(2): 354-360
- [18] Gao G, Tian B, Liu L, et al. Expression of *Deinococcus radiodurans* *PprI* enhances the radioresistance of *Escherichia coli*[J]. *DNA Repair*, 2003, 2(12): 1419-1427
- [19] Ohba H, Satoh K, Sghaier H, et al. Identification of *PprM*: a modulator of the *PprI*-dependent DNA damage response in *Deinococcus radiodurans*[J]. *Extremophiles*, 2009, 13(3): 471-479