نقش محافظتی کاروتنوئیدها در مقاومت *Haloarcula* IRU1 در برابر پراکسید هیدروژن

عزت عسگرانی[1]

فاطمه خانقایی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۱/۲۶
تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۰۷/۱۵

چکیده

Haloarcula IRU1 آرکی بسیار نمک دوستی است که از آب دریاچهٔ ارومیه جداسازی شده است. این جدایه مقاومت بالایی در برابر عوامل آسیب رسان به DNA، مانند پراکسید هیدروژن نشان می‌دهد. این ارگانیسم مقاوم به پرتو دارای رنگداته‌های قرمز- نارنجی است. در این مطالعه شکستگی‌های DNA با پراکسید هیدروژن توسط واکنش فنتون (Fenton) در حضور و غیاب کاروتنوئید هالوآرکئون و بتا کاروتن به عنوان یک آنتی اکسیدان استاندارد ایجاد شد. کاروتنوئیدهای Haloarcula IRU1 در مقایسه با بتاکاروتن به طرز چشمگیری ایجاد شکستگی‌های DNA را کاهش دادند. پیشنهاد می‌شود مقاومت پرتویی Haloarcula IRU1 تا حدودی به دلیل وجود این کاروتنوئیدهاست که به عنوان آنتی اکسیدان کارآمدی در شرایط آزمایشگاهی عمل می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: *Haloarcula* IRU1، مقاوم به پرتو، پراکسید هیدروژن، کاروتنوئید.

---

۱. عزت عسگرانی، استادیار ژنتیک مولکولی، دانشگاه الزهرا، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی دانشگاه الزهرا (س) (نویسنده مسئول)/ Asgarani@gmail.com

۲. تهران، دانشگاه الزهرا (س)، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

مقدمه

زیستگاه طبیعی آرکی‌های بسیار نمک دوست دریاچه‌های نمک حوضچه‌های استخراج نمک، شورابه‌ها و خاک‌های بسیار شور و خشک است (Oren, 1999). این میکرو ارگانیسم‌ها در چنین شرایط سخت و خشن طبیعی با تنش‌های فراوان از جمله غلظت‌های بالای نمک، خشکی شدید و تابش نور فرابنفش خورشید مقابله کرده و با ایجاد راه‌کارهای مختلف زیستی از جمله تنظیم فشار اسمزی بقای خود را تضمین می‌نمایند (Das Sarma et al., 2001). در سال‌های اخیر، پتانسیل استفاده از این ارگانیسم‌ها در زمینه‌های مختلف بیوتکنولوژی به شدت مورد توجه قرار گرفته است. این پتاسیل بالا به دلیل خصوصیات منحصر بفرد آنها، متابولیسم متفاوت و سازگاری آنها به شوری، بسیار شدید است که سبب تسهیل در بسیاری از فرایندهای صنعتی می‌گردد، برای مثال هنگام کار با آنها به استریلیزاسیون نیازی نیست. از طرف دیگر، این میکروارگانیسم‌ها برای ادامه رشد قادر به مصرف منبع کربن واحد مانند قندها، استات یا سوکسینات هستند. بیوپلیمرهایی مانند بیوسورفکتانت‌ها در پاکسازی زیستی، اگزوپلی ساکاریدها برای بالا بردن باز یافت میکروبی نفت، لیپوزوم در صنایع آرایشی- دارویی، پلی هیدروکسی آلکونوات‌ها در تولید بیوپلاستیک، کاروتنوئیدها به عنوان رنگ‌دهنده‌های خوراکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. همچنین آنزیم‌هایی مانند آمیلاز، پروتئاز، نوکلئاز، لیپاز، ایزومرازها و هیدرولازهای جدید که در غلظت‌های نمکی بالا پایداری خود را حفظ می‌کنند، بخش دیگری از کاربردهای متعدد هالوفیل‌ها در صنایع گوناگون به شمار می‌آیند (Margesin, 2001).

یکی از آرکی‌های بسیار نمک دوست که از آب دریاچه ارومیه جداسازی شده و با روش‌های استاندارد میکروبیولوژیکی، بیوشیمیایی و توالی‌یابی ژن 16S rRNA مورد شناسایی قرار گرفته، به نام *Haloarcula* IRU1 نامگذاری شده است (شیرزاد ۱۳۸٤، خانقائی ۱۳۸۸). این جدایه عضوی از خانوادهٔ هالوباکتریاسه می‌باشد که شاخصهٔ مورفولوژیکی آنها رنگ قرمز- نارنجی کولونی‌های آن است. این رنگ عمدتاً به واسطهٔ وجود کاروتنوئید C-50 به نام باکتریروبرین، ایجاد می‌شود (Ronnekleiv and Rliaaen-Jensen 1992). در مطالعهٔ قبلی ما، مقاومت نسبتاً بالای این سویه در مقابل پرتوهای گاما، نور فرابنفش و پراکسید هیدروژن نشان داده شده است (Asgarani et al., 2007). از طرف دیگر رنگداته‌های کاروتنوئیدی این آرکی نیز جداسازی و شناسایی گردیده است (صفری، ۱۳۸۷). پرتوهای یونیزه‌کننده و عوامل اکسیدکننده‌ای مانند پراکسید هیدروژن با تولید رادیکال‌های آزاد آسیب‌های گوناگونی به DNA وارد می‌کنند. مهمترین این آسیب‌ها شکستگی‌های DNA است، در صورتی که این شکستگی‌ها فراوان بوده و یا ترمیم نشوند، منجر به مرگ سلول می‌گردند (Gill and Sigler, 1995). در مطالعه حاضر، اثر محافظتی رنگداته کاروتنوئیدی این سویه در جلوگیری از ایجاد شکستگی در DNA مورد بررسی قرار داده شد. برای این منظور سلول‌ها با واکنش فنتون در حضور و عدم حضور کاروتنوئید *Haloarcula* IRU1 با پراکسید هیدروژن تیمار گردیدند. در این آزمایش‌ها از بتاکاروتن نیز به عنوان یک آنتی

اکسیدان استاندارد جهت مقایسه استفاده شد. با انجام الکتروفورز، میزان شکستگی‌ها در DNA *Haloarcula* IRU1 بر روی ژل آگارز مورد مشاهده قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

استخراج عصاره کاروتنوئیدی و سنجش طیف جذب نوری آن

میزان مشخصی از توده سلولی باکتری درون یک لوله شیشه‌ای سرپوش‌دار ریخته شد و تقریباً به اندازه سه برابر وزن توده سلولی، به آن پودر شیشه نرم اضافه گردید. سپس حجم مشخصی از استون به توده سلولی و پودر شیشه افزوده و به مدت پنج دقیقه ورتکس شد. سپس لایه رویی جمع‌آوری و مجدداً به رسوب باقیمانده استون اضافه گردید و عمل ورتکس کردن تکرار شد تا توده سلولی به طور کامل بی‌رنگ گردد. پس از انتقال کامل رنگداته‌ها به استون، محلول حاصل به مدت ده دقیقه و با ۱۱۰۰۰ × g سانتریفیوژ شد تا ذرات پودر شیشه و باقی مانده سلول‌های باکتری متلاشی شده از محیط خارج شوند. سپس به آن معادل حجم محلول استون جمع‌آوری شده، هگزان اضافه گردید و به منظور جدا کردن دو فاز از یکدیگر، از روش شستشو توسط آب مقطر استفاده شد. این کار چندین بار تکرار گردید تا استون بطور کامل از هگزان جدا شده و تمامی رنگدانه‌ها به لایه هگزان منتقل شوند. سپس به لایه رویی جمع‌آوری شده، نمک سولفات سدیم بدون آب اضافه شد تا آب باقی مانده در محیط بطور کامل گرفته شود. به منظور تأیید روش و مراحل انجام شده برای استخراج رنگداته‌ها، این مراحل در شرایط مشابه سه بار تکرار گردید و هر بار بلافاصله جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. پس از استخراج کاروتنوئیدها در هگزان، محلول حاصل توسط دستگاه Rotary evaporator به طور کامل تغلیظ گردید و در پایان به صورت پودر درآمد. این پودر در حجمی از دی متیل سولفوکساید (DMSO) که به اندازه حجم هگزان به کار رفته بود، حل گردید و جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در ناحیه طول موج‌های ۶۰۰ -۳۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر ثبت شد و نقاط جذب حداکثر آن به دست آمد (Asker and Ohta, 2002)

تیمار *Haloarcula* IRU1 DNA با پراکسید هیدروژن

ابتدا DNA آرکی با استفاده از کیت (Fermentase) استخراج شد. پراکسید هیدروژن با غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۲ و ۵ میلی‌مولار در میکروتیوب‌هایی حاوی mM 10 Tris-HCl (pH7/8) و DNA *Haloarcula* به میزان ۱۰۰ نانوگرم به حجم ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. این واکنش‌ها در میکروتیوب‌هایی که دور آن‌ها به منظور ایجاد تاریکی فویل پیچیده شده بود، انجام گردید. این مخلوط برای ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. پس از آن با افزودن یک میکرولیتر 0.5 EDTA مولار، واکنش‌ها متوقف گردیدند. نمونه‌ها بر روی ژل آگاروز ۰/۷ درصد الکتروفورز گردیده و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید از ژل آنها تصویر گرفته شد. واکنش بعدی با افزودن 100 mM آسکوربیک اسید و 100 mM کلرید

آهن به عنوان مواد پرو اکسیدانت جهت افزایش میـــزان رادیکال‌های آزاد به همان غلظت‌ها از H_2O_2، DNA و Tris-HCl انجام گرفت و حجم نهایی به ۱۰ میکرولیتر رســـانده شـــد. پس از متوقف کردن واکنـــش، این محصول نیز الکتروفورز گردید. میزان آســـیب‌های وارده به DNA از روی مقدار اســـمیر ایجاد شـــده بر روی ژل آگارز یعنی میزان تخریب DNA ارزیابی گردید زیرا با افزایش آسیب‌ها اسمیر ایجـــاد شـــده از DNA روی ژل افزایش پیدا خواهد نمود (Shahmohammadi et al., 1998).

بررســـی اثـــر محافظتـــی کاروتنوئیـــد بـــر *Haloarcula* IRU1 DNA

برای بررســـی اثـــر محافظتـــی کاروتنوئید، غلظت‌هـــای ۰/۰۱، ۰/۱ ، ۱ و ۱۰ درصـــد از کاروتنوئید در محلول DMSO تهیه شد. سپس واکنش تیمار با H_2O_2 با غلظت ۱ میلی‌مولار و این بار با اضافه کردن کاروتنوئید استخراج شده انجام شـــد. پس از ۳۰ دقیقه با افزودن EDTA، واکنـــش متوقف شـــده و محصول جهت بررسی بر روی ژل آگارز ۰/۷ درصد الکتروفورز گردید. باید توجه داشـــت تمامی این مراحل باید در تاریکی و با ســـرعت زیاد انجام گیرد زیرا کاروتنوئیدها بسیار به نور و اکسیژن حساس می‌باشند. جهت مقایسه، تمام ایـــن واکنش‌ها در حضـــور بتاکاروتن استاندارد نیز انجام گرفت.

نتایج

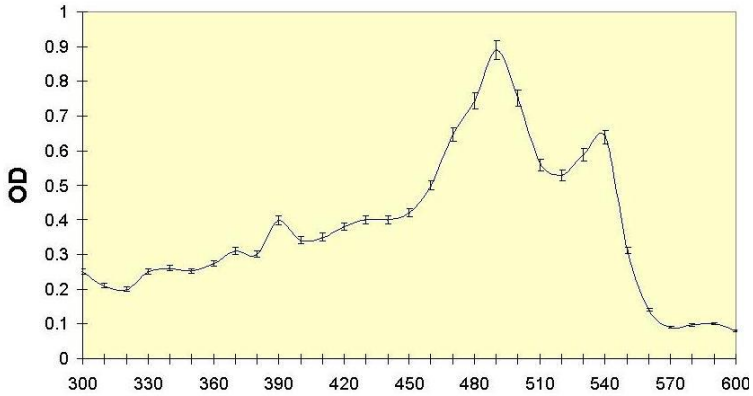
استخراج عصاره کاروتنوئیدی

برای اســـتخراج کاروتنوئیدها هر بار از ۰/۲ گرم توده ســـلولی اســـتفاده شـــد و در هر تکرار، نهایتاً ۸ میلی‌لیتر محلول هگزان حاوی رنگداته‌ها جمع‌آوری شد. سپس جذب آن‌ها در طول مـــوج ۴۹۰ نانومتر خوانده شـــد و مقدار جذب متوسط ۰/۸۴ به دست آمد. طیف جذبـــی رنگداته‌ها در هگـــزان در ناحیه طول موج‌هـــای ۶۰۰-۳۰۰ نانومتر نیز اندازه‌گیری شد (شکل ۱- الف).

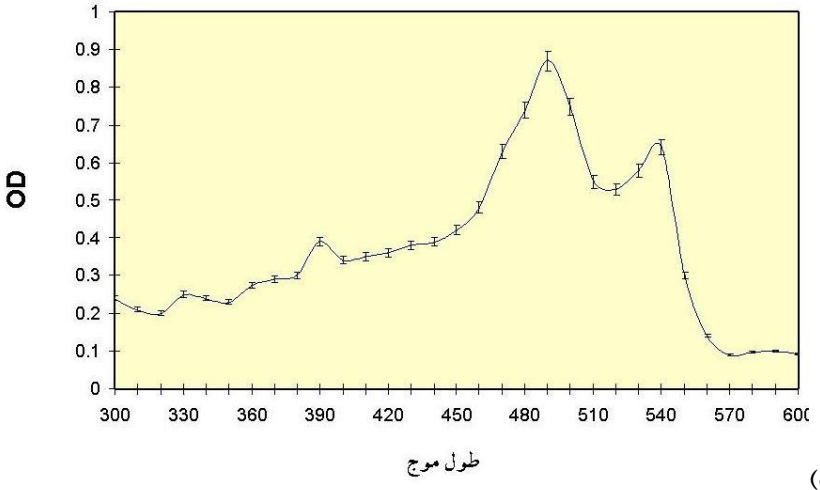
برای به دســـت آوردن کاروتنوئید استخراج شـــده در DMSO، عصاره به دست آمده از ۰/۲ گرم توده سلولی در ۸ میلی‌لیتر هگزان، به طور کامل تغلیظ شد و مجدداً در ۸ میلی‌لیتر DMSO حل گردید. سپس جذب آن در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار به دست آمـــده ۰/۸۷ بود. طیف جذبـــی رنگداته‌ها در DMSO در ناحیـــه طول موج‌های ۶۰۰-۳۰۰ نانومتر نیز اندازه‌گیری شد (شکل ۱- ب).

تیمار *Haloarcula* IRU1 DNA با پراکسید هیدروژن

به منظور بررســـی اثر H_2O_2 بر روی DNA *Haloarcula* IRU1، DNA جدایـــه مـــورد بررســـی با غلظت‌هـــای مختلف پر اکســـید هیـــدروژن تیمـــار شـــد و نتیجه تیمـــار با پراکســـید هیدروژن در حضـــور کلرید آهن و آسکوربیک اســـید نیز مورد سنجش قرار گرفـــت. واکنش‌هـــا در تاریکی انجام شـــد. مشاهده شـــد که با افزایش غلظت پراکسید هیدروژن آسیب‌های وارده به DNA افزایش می‌یابد و به همین دلیل میزان اسمیر بر روی ژل گســـترش یافت. همچنین اثر پراکســـید هیدروژن در حضور آســـکوربیک اســـید و کلریـــد آهن به دلیـــل انجام واکنـــش فنتون Fenton افزایش یافت (شکل ۲).



(الف)

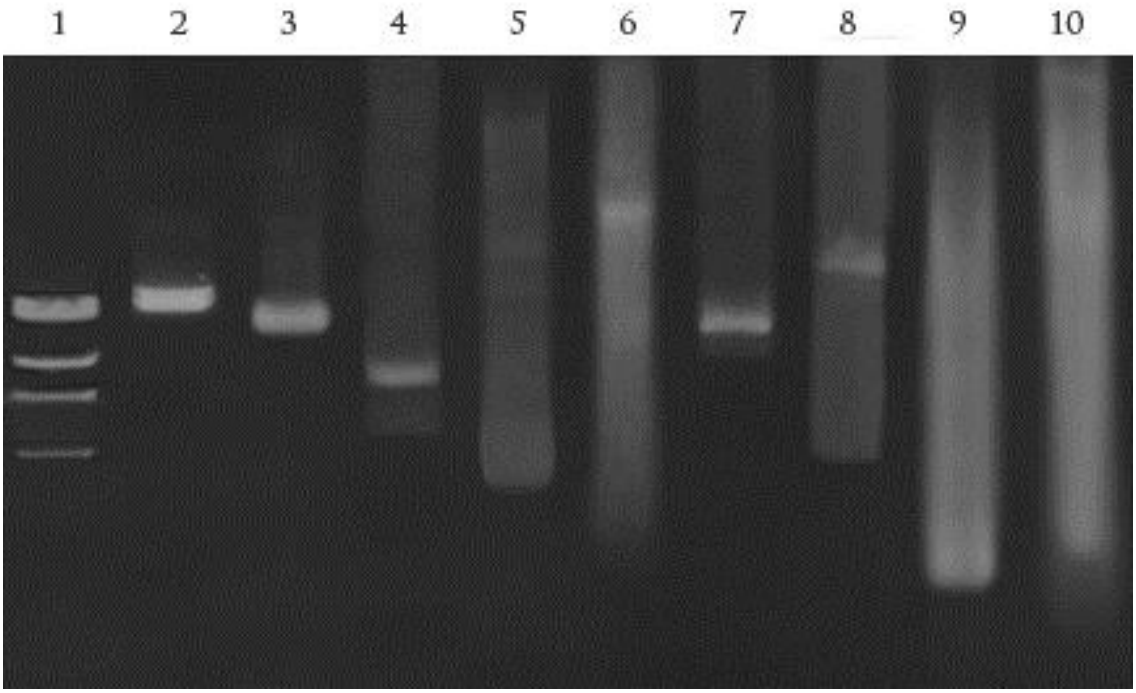


(ب)

شکل ۱. الف) طیف جذبی رنگداته در هگزان ب) طیف جذبی رنگدانه در DMSO

اثر محافظتی کاروتنوئید بر *Haloarcula* IRU1 DNA و مقایسه آن با بتاکاروتن

به منظور بررسی اثر محافظتی کاروتنوئید استخراج شده از آرکی مورد بررسی بر روی DNA آن، *Haloarcula* IRU1 DNA با غلظت‌های مختلف از کاروتنوئید و ۱ میلی‌مولار هیدروژن پراکسید تیمار شد. واکنش‌ها در تاریکی انجام گرفت. DNA ژنومی آرکی یک باند قوی بر روی ژل آگارز ایجاد می‌کند، لذا از روی میزان تخریب این باند و ایجاد اسمیر می‌توان به میزان آسیب‌های وارده به DNA ژنومی این هالوآرکی پی برد. برای بررسی اثر محافظتی رنگداته‌های کاروتنوئیدی از غلظت‌های مختلف عصاره کاروتنوئیدی آرکی مورد بررسی و استاندارد بتاکاروتن برای مقایسه استفاده شد. آنالیز ژل آگارز حاصل از الکتروفورز DNA هالو آرکی پس از تیمار با هیدروژن پراکسید نشان داد که با افزایش غلظت عصاره کاروتنوئیدی میزان آسیب‌ها به DNA آرکی کاهش می‌یابد. چنان که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در ستون شماره ۲ که DNA هالو آرکی تیمار شده

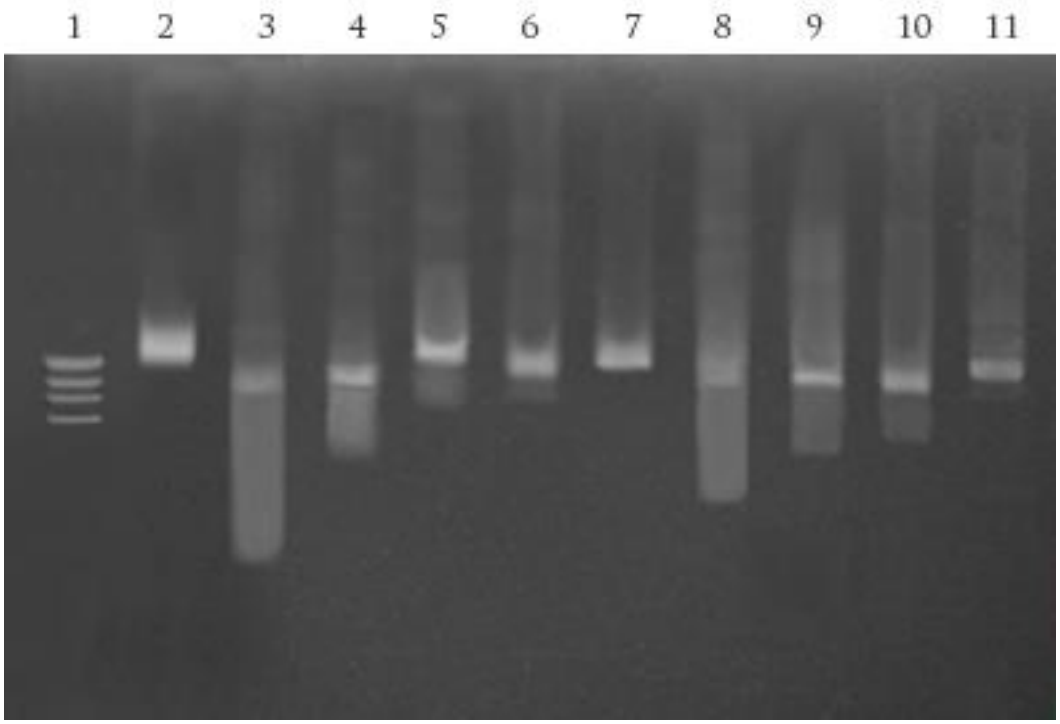


شکل ۲. نتایج تیمار DNA *Haloarcula* با هیدروژن پراکسید: ستون ۱ مارکر (λ *HindIII* DNA)، ستون 2 DNA Haloarcula، ستون ۳ تا ۶ DNA *Haloarcula* در حضور غلظت‌های مختلف H_2O_2 به ترتیب از ۰/۱، ۱، ۲، ۵ میلی‌مولار.
ستون ۷ تا ۱۰ DNA *Haloarcula* در مجاورت H_2O_2، آسکوربیک اسید و $FeCl_3$. غلظت H_2O_2 به ترتیب از ۰/۱، ۱، ۲، ۵ میلی‌مولار.

بدون حضور رنگداته‌های کاروتنوئیدی به صورت یک اسمیر غلیظ و طویل درآمده است. در ستون‌های ۳ تا ٦ به تدریج با افزایش غلظت عصاره کاروتنوئیدی میزان اسمیر کاهش یافته و حتی در غلظت‌های بالای کاروتنوئید تا حدودی می‌توان شاهد ظاهر شدن مجدد باند DNA ژنومی *Haloarcula* بود. این موضوع نشان‌دهنده اثر آنتی اکسیدانی وابسته به غلظت در این رنگداته‌ها می‌باشد. از سوی دیگر مقایسه اثر محافظتی این رنگداته‌ها با استاندارد بتاکاروتن که نتایج آن در ستون‌های ۷ تا ۱۰ مشخص شده است، نشان می‌دهد که اثرات محافظتی رنگداته‌های استخراجی از هالو آرکی مورد بررسی از بتاکاروتن بیشتر است.

بحث

مقاومت به پرتوهای یونیزه‌کننده به عنوان خصوصیت شاخص چندین باکتری ازجمله سویه‌های جنس *Deinococcus* (Groot et al., 2005) و *Rubrobacter* (Suzuki et al., 1988) شناخته شده است. مقاومت فوق‌العاده زیاد *Deinococcus radiodurans* در برابر پرتوهای یونیزه‌کننده، پرتوی فرابنفش، پراکسید هیدروژن و تعداد زیادی عوامل دیگری که به DNA آسیب وارد می‌کنند، به قابلیت ترمیم بالای DNA نسبت داده می‌شود (Minton, 1994 و Battista) نتایج تحقیقات جدید نشان داده که *Deinococcus* نسبت به باکتری‌های حساس به پرتوتابی دارای غلظت درون سلولی بالای منگنز و مقادیر پایین‌تر آهن است. انباشته شدن منگنز



شکل ۳. نتایج بررسی اثر محافظتی کاروتنوئیـــد بر *Haloarcula* DNA و مقایســه آن با β کاروتن. ستون ۱ مارکر (λ *HindIII* DNA)، ستون ۲ *Haloarcula* DNA، ستون۳ *Haloarcula* DNA در مجاورت H_2O_2 با غلظت۱ میلی‌مولار، آسکوربیک اسید و $FeCl_3$ ستون ۴ تا ۷ *Haloarcula* DNA در غلظت ۱ میلی‌مولار H_2O_2 ، آسکوربیک اسید و $FeCl_3$ در مجاورت غلظت‌های مختلف کاروتنوئید استخراج شده از *Haloarcula* به ترتیب ۰/۰۱ ، ۰/۱ ، ۱ ، ۱۰ درصد.
ستون ۸ تا ۱۱ *Haloarcula* DNA در مجاورت آسکوربیک اسید ، $FeCl_3$ و غلظت H_2O_2 برابر ۱ میلی‌مولار در مجاورت غلظت‌های مختلف β کاروتن به ترتیب ۰/۰۱ ، ۰/۱ ، ۱ ، ۱۰ درصد.

ســـبب جلوگیری از اکسیداسیون پروتئین‌ها می‌شـــود، بنابراین آنزیم‌هایی که در ترمیم DNA شـــرکت دارنـــد آســـیب نمی‌بیننـــد و کارآمدتر عمل می‌کننـــد و این باعث افزایش مقاومت به پرتوهای یونیزان می‌شود (Daly, Daly et al., 2007, 2009). اما شـــواهدی نیز وجود دارند که پیشـــنهاد می‌کنند سیســـتم دفاعی آنتی‌اکسیدانی این میکروارگانیسم از جمله آنزیم‌هایی مانند پراکســـیداز و کاتالاز (Kobayashi, et al., 2006) و سیســـتم‌های غیـــر آنزیمی نظیـــر ویتامین‌هـــای A و E و کاروتنوئیدهـــا، نیـــز در ایـــن مقاومت نقش دارنـــد (Carbonneau et al., 1989). به علاوه معلوم شده است که گونه‌های *Deinococcus radiodurans* و *Halobacterium salinarium* که در تولید کاروتنوئید نقص دارند در مقابل پرتوهای یونیزه‌کننده و پراکســـید هیدروژن نسبت به سویه‌های طبیعی حساسیت بیشتری از خود نشان می‌دهند (Shahmohammadi et al., 1998; Carbonneau et al., 1989).

در حال حاضر مشـــخص اســـت که برخی از باکتری‌های بســـیار مقاوم بـــه پرتوهای یونیزه‌کننده مانند *Deinococcus radiodurans* و *Rubrobacter radiotolerans* دارای رنگداته قرمز هستند و به ترتیب دارای داینوگزانتین و باکتریوروبریـــن می‌باشـــند. بر اســـاس تحقیقات قبلی انجام شـــده، مقاومت نســـبتاً بـــالای *Haloarcula* IRU1 در برابـــر عوامل آسیب رســـان به DNA (پرتوهای یونیزان، H_2O_2 و پرتو UV) نیز به اثبات رسیده است

(شیرزاد، ۱۳۸٤). این جدایه مقاوم به پرتو نیز رنگ قرمز- نارنجی شاخصی تولید می‌کند و بر اساس نتایج مطالعه قبلی ما، این رنگ به دلیل تولید رنگداته‌های کاروتنوئیدی است که مهمترین آنها مشتقی از باکتریوروبرین می‌باشد (صفری، ۱۳۸۷).

پراکسید هیدروژن یکی از انواع گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌باشد. موجودات به هنگام متابولیسم هوازی و بی‌هوازی و نیز در مواجه با شرایط بیرونی در معرض پراکسید هیدروژن قرار می‌گیرند. اثر کشندگی پراکسید هیدروژن مربوط به رادیکال‌های آزادی است که یا به ساختار دیواره سلولی و یا به ماکرومولکول‌های داخل سیتوپلاسمی نظیر پروتئین‌ها و DNA آسیب جدی وارد می‌کنند. در این پژوهش ابتدا اثر این ماده بر روی DNA *Haloarcula* IRU1 به تنهایی و در حضور آسکوربیک اسید و کلرید آهن (III) بررسی گردید. کلرید آهن (III) و آسکوربیک اسید (در غلظت‌های خاص) مواد پرو اکسیداتیو[1] می‌باشند. مواد پرواکسیدانت می‌توانند فلزات انتقالی[2] نظیر منیزیم، مس و آهن و یا برخی ویتامین‌ها مثل ویتامین C باشند. بعضی از مواد مثل آسکوربیک اسید قادرند هر دو نقش آنتی اکسیدانی و پرواکسیدانی را ایفا کنند که نوع عمل آنها بستگی به عوامل متعددی دارد که از جمله عوامل مؤثر بر نوع فعالیت آن‌ها غلظت ماده و حضور یا عدم حضور اکسیژن یا فلزات انتقالی می‌باشد (Hoon et al., 2006) در حضور فلزات انتقالی نظیر یون آهن و عواملی مانند پراکسید هیدروژن در تمام انواع سلول‌ها اعم از یوکاریوتی، آرکیایی و پرو کایوتی واکنش فنتونی[3] انجام می‌گیرد که منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد. در این پژوهش از ویژگی‌های ذکر شده دو ماده فوق استفاده شده و به عنوان القاکننده در تیمارها به کار برده شدند و پس از الکتروفورز DNA مجاور شده با پراکسید هیدروژن به تنهایی و در حضور این دو ماده مشاهده شد که میزان آسیب‌ها به DNA در حضور این دو عامل افزایش می‌یابد.

رادیکال‌های آزاد ایجاد شده توسط هیدروژن پراکسید و از طریق واکنش فنتون می‌توانند شکستگی‌هایی در DNA به وجود آورند. برآورد این آسیب‌ها از روی سنجش میزان ایجاد اسمیر در DNA آرکی صورت می‌گیرد. از آن‌جائی که کاروتنوئیدها به عنوان پاک‌کننده رادیکال[4] شناخته می‌شوند، مکانیسم حفاظتی باکتریوروبرین در جهت کاهش تشکیل شکستگی DNA به پاکسازی رادیکال‌های آزاد توسط این رنگداته‌ها نسبت داده می‌شود (Mandelli et al., 2012). نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثر محافظتی رنگداته‌های کاروتنوئیدی استخراج شده از *Haloarcula* بر مولکول‌های DNA است. مقایسه این اثرات با بتا کاروتن نشان می‌دهد که رنگداته‌های این هالوآرکی قویتر از بتا کاروتن که یک آنتی اکسیدان استاندارد می‌باشد، عمل می‌کند.

باکتریوروبرین مانند کاروتنوئیدهای دیگر دارای خاصیت هیدروفوب بوده و به سختی در محلول‌های آبی حل می‌شود. بنابراین تمایل دارد که در درون غشاءهای هیدروفوب قرار

1. Pro oxidative
2. Transition Metals
3. Fenton reaction
4. radical scavenger

بگیرد. با فرض این‌که باکتریوروبرین بتواند قادر به پاکسازی رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در مجاورت غشاء باشد، می‌تواند مانع از انتشار رادیکال‌های آزاد به سمت DNA گردد. در پروکاریوت‌ها، DNA کروموزومی در نقاط زیادی به غشای سلولی که محل تجمع رنگداته‌های کاروتنوئیدی در آرکی‌های اکستریم هالوفیل‌اند، چسبیده است. بنابراین، پاکسازی رادیکال‌های آزاد به وسیله باکتریوروبرین ممکن است به ویژه برای نواحی متصل به غشای DNA که ممکن است محصولات ژنی ضروری را کد نمایند، مهم می‌باشد (Kirnisky, 1994). بنابراین وجود این رنگداته در *Haloarcula* IRU1 در مقاومت آن به عوامل آسیب‌رسان به DNA مانند پرتوی یونیزه‌کننده یا H_2O_2 مؤثر می‌باشد. اما تنها وجود این عامل برای توجیه مقاومت بالای این آرکی اکستریم هالوفیل کافی نیست و پیشنهاد می‌شود نقش فاکتورهای دیگری نظیر آنزیم‌های ترمیم‌کننده DNA و محتوای GC یا ساختار فضایی خاص DNA نیز در ایجاد مقاومت بالای این میکروارگانیسم در برابر عوامل آسیب‌رسان مورد بررسی قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه الزهرا(س) و گروه زیست‌شناسی به جهت فراهم نمودن حمایت مالی لازم برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- شیرزاد، م.، پایان‌نامه (کارشناسی ارشد) دانشگاه الزهرا (س)، (۱۳۸٤). بررسی مقاومت آرکی اکستریم هالوفیل ایرانی در برابر عوامل آسیب‌رسان به DNA.
- خانقایی، ف.، پایان‌نامه (کارشناسی ارشد) دانشگاه الزهرا (س)، (۱۳۸۸). بررسی اثر رنگداته‌های کاروتنوئیدی بر مقاومت IRU1 *Haloarcula* در برابر استرس اکسیداتیو.
- صفری، ن.، پایان‌نامه (کارشناسی ارشد) دانشگاه الزهرا (س)، (۱۳۸۷). خالص‌سازی و شناسایی کاروتنوئید *Haloarcula*ی ایرانی و بررسی خواص بیولوژیکی آن.

- Asgarani, E., Shirzad, M., Soudi, M.R. and Shahmohammadi, H. R.,(2007). Study on the effects of 60Co gamma-rays, Ultraviolet light, and hydrogen peroxide on Haloferax IRU, The Int. J. Microbiol., Vol.3.
- Asker, D., and Ohta,Y., (2002). *Haloferax alexandrinus* sp. Nov. extremely halophiliccanthaxantin-production archeon from a solar saltern in Alexandria (Egypt), Int. J. syst. evol. Microbial., Vol.52, pp. 732-758.
- Battista, J. R., 1997. Against all odds: survival strategies of *Deinococcus radiodurans*, Annu. Rev. Microbiol. Vol. 51, pp. 202-3.
- Carbonneau, A. M., Mellin, A., M. Perromat, A. Clerc, M., (1989). The action of free radicals on *Deinococcus radiodurans carotenoids*, Arch.biochem.Biophys. Vol. 275, pp. 244-251.
- Daly, M.J., Gaidamakova, E.K., Matrosova, V.Y., Vasilenko, A., Zhai, M., Leapman, R., Lai, B., Ravel, B., Li, S.W., Kemners, K.M., Fredrickson, J.K.; (2007). Protein oxidation implicated as the primary determinant of bacterial radioresistance. PLoS Biol, DOI:10.1371/journal.pbio.0050092.
- Daly, M. J. A.; (2009). new perspective on radiation resistance based on *Deinococcus radiodurans*. Nature Rev. Microbiol.Vol. 7, pp. 237–245
- Das Sarma, S., Arora, P.; (2001). A general review on Halophiles. In Encyclopedia of life sciences. Nature publishing group/ www.els.net.
- Gill, G., and Sigler, K., 1995.Oxidative stress and living cell, Microbiol. Vol. 40, pp. 52-59.
- Groot, A de., Chapon, V., Servant, P., Christen, R., Fischer-Le Saux, M., Sommer, S., Heulin, T.; (2005). Deinococcus deserti sp. nov., a gamma-radiation-tolerant bacterium isolated from the Sahara Desert .Int. J. Syst. Evol. Microbiol. Vol. 55:6, pp.2441-2446.
- Hoon, N. Kim,A., and Hoon Kang, J.; (2006). Antioxidative damage of DNA induced by cytochrome C and hydrogen peroxide, System. J. Biochemistry and Molecular Biology, Vol.39, pp. 452- 456.
- Kirnisky,N. I.,1994. The biological properties of carotenoids, Pure. Appl. Chem., Vol. 63, pp. 141-146.
- Kobayashi, I., Tamura, T., Sghaier, H., ssay Narumi, I., Yamaguchi, S., Umeda, K., Inagak, K.; (2006). Characterization of Monofunctional Catalase KatA from Radioresistant Bacterium Deinococcus radiodurans. J. Biosci. Bioeng., Vol. 101, No. 4, 315–321.

- Mandelli, F., Mironda, V., Rodrigues, E., Mercadante, A. Z.; (2012). Identification of carotenoids with high antioxidant capacity produced by extremophilic microorganisms. World J. Microbiol. Biotechnol. Vol. 28, pp. 1781-1790.
- Minton, K. W.; (1994). DNA repair in the extremelyr adioresistant bacterium Deinococcus radiodurans, Mol. Microbiol., Vol. 13, pp. 9-15.
- Margesin, R., Schinner, F.; (2001). Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology. Extremophiles. Vol. 5, pp. 73–83.
- Oren, A.; (1999). Life at high salt concentrations, In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H. and Stackebrandt, E. (Eds.), The Prokaryotes, A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications. 3rd. ed. Springer-Verlag, New York (electronic publication).
- Ronnekleiv, M. and Rliaaen-Jensen, S.; (1992). Bacterial Carotenoids53. C50-Carotenoids naturally occurring geometrical isomers of bacterioruberin, Acta. Chem. Scand.Vol. 46. pp. 1092-1095.
- Shahmohammadi, H. R., Asgarani, E., Terato, H., Ohyama, Y., Yamamoto, K.; (1998). Protective roles of bacterioruberin and intracellular KCl in the resistance of *Halobacterium salinarium* against DNA-damaging agents, J. Radiation research, Vol. 39,pp. 251-262.
- Suzuki, K., Collins, M. D., Iijima, E., and Komagata, K., (1988). Chemotaxonomic characterization of aradiotolerant bacterium, Arthorobacter radiotolerans; description of Rubrobacter radiotolerans,. Nov., FEMS Microbiol. Lett., Vol. 52, pp.33-40.