

细菌中整合性接合元件的研究进展

别路垚 徐海*

(山东大学 微生物技术国家重点实验室 山东 济南 250100)

摘要: 整合性接合元件是近年来在细菌中发现的一种可移动的基因元件,它位于染色体上,可通过接合转移的方式介导细菌间基因的水平转移。这种基因的水平转移有助于细菌适应特定的环境条件,但许多整合性接合元件包含耐药基因,这些遗传元件的水平转移极大地加速了耐药基因在同种及不同种属之间的传播,造成细菌的耐药以至多重耐药问题日益严重,耐药机制日趋复杂;同时整合性接合元件与基因岛有着密切的联系,因此对其特征及转移机制进行研究很有必要。

关键词: 整合性接合元件, 基因的水平转移, 抗生素耐药性, 基因岛

Progresses of study on integrative and conjugative elements of bacteria

BIE Lu-Yao XU Hai*

(State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan, Shandong 250100, China)

Abstract: Integrative and conjugative element (ICE) is a kind of novel mobile genetic elements found in bacteria, which is a chromosomal mobile element and can transfer between bacteria through conjugation. The horizontal gene transfer contributes to the adaptation of microorganisms under special environmental conditions. Because of many ICEs associated with antibiotic resistant genes, the transfer of these genetic elements would speed up the dissemination of antibiotic resistance genes within and between microbial genera. It results in the growing problems of drug resistance, even multi-drug resistance and makes the mechanism of resistance become exceedingly complex. In addition, ICEs are closely related with genomic islands, and intensive research leading to deeper understanding is imperative.

Keywords: Integrative and conjugative elements, Horizontal gene transfer, Antibiotic resistance, Genomic islands

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No. 31170112); 国家科技重大专项项目(No. 2013ZX10004217-003); 山东大学微生物技术国家重点实验室自主项目

*通讯作者: Tel: 86-531-88362362; 信箱: haixu@sdu.edu.cn

收稿日期: 2015-01-13; 接受日期: 2015-03-26; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-04-08

随着抗生素在医疗卫生上的广泛使用,细菌在抗生素的选择压力下产生许多耐药菌株,大多数临床分离的耐药菌株是通过细菌间质粒和转座子引起的遗传信息交换方式获得耐药基因。此外,移动的基因盒和整合子也会介导细菌间快速和广泛的遗传信息的交换^[1]。最近,另外一种可移动的基因元件——整合性接合元件(Integrative and conjugative element, ICE)越来越被认为是介导细菌间基因水平转移的重要元件,与ICE相关的耐药基因转移的研究也日趋增多。

ICE是一大类可移动的基因元件,它具有吸收和传播包括耐药基因在内的多种特性基因进入细菌宿主细胞的功能。这类基因元件兼有质粒和噬菌体的特征,与接合性质粒相似,它可通过接合的方式进行转移,但与质粒不同的是,它们不能自主复制。其复制方式与温和噬菌体相似,通过整合进宿主染色体,随宿主染色体一起复制^[2]。ICE因其在细菌耐药基因水平转移中的重要作用而受到研究者的关注。

1 整合性接合元件的发现及结构

1.1 整合性接合元件的发现

在2002年首次对那些可以从染色体上剪切并整合进宿主染色体,通过接合的方式在细菌细胞之间进行转移的复杂元件进行了分类,称之为ICE^[3]。在此之前,有很多关于该元件的名称出现,如IncJ质粒、CTn和constins等,这些名称是人们根据当时对这些元件的了解而命名的。

在对革兰氏阴性肠道细菌研究的时候,最初关注的ICE是R391,它是从雷氏普罗威登斯菌(*Providencia rettgeri*)中被发现的,这种菌是1967年在南非从人类的排泄物中分离得到的,一开始被称为IncJ质粒^[4],但基因组分析表明R391是一种长度约为89 kb的ICE。R391编码对汞和卡那霉素的抗性,同时也包含许多编码与DNA修复和突变有关的酶类。

目前,各种研究更关注的一大类ICE是SXT,

SXT是在霍乱弧菌(*Vibrio cholera*) O139中首次发现的,*V. cholera* O139是1992年在印度发现的一种新型的引发流行性霍乱的菌株,在当时*V. cholera* O139是第一个非-O1血清型的能引发流行性霍乱菌株,明显表现出对磺胺甲恶唑(Sulphamethoxazole)、甲氧苄胺嘧啶(Trimethoprim)、链霉素和氯霉素的抗性。当时根据其携带的基因编码对磺胺甲恶唑和甲氧苄胺嘧啶的抗性而命名为SXT^[5]。

SXT为一段长度为62 kb基因片段。随后的分子生物学分析表明SXT与O1血清型的E1 Tor向非-O1血清型*V. cholera* O139转变有关。编码O139血清型抗原的基因簇可以从供体菌中转移进E1 Tor O1受体菌中,这些基因可以与E1 Tor O1的染色体进行重组,从而产生O139血清型的*V. cholera*^[6],因此*V. cholera* O139的微生物学特征与E1 Tor O1非常相似。

ICE不同家族之间的整合酶存在差异,并以此为依据,区分整合接合元件的种类SXT/R391家族成员因编码近乎相同的整合酶(99.5%相同氨基酸序列,96%相同核苷酸序列)而被列为一个家族,这类整合酶介导元件整合进宿主染色体的*prfC*基因(编码蛋白质链释放因子3)的5'端^[7],它们在几乎相同的位置有一个*oriT*区域,有近乎一样的骨架结构,并且在其两端存在相似的反向重复序列。

最近的比较基因组分析表明,SXT/R391家族包括30余种不同的元件,SXT/R391家族成员之间有52个同线基因组成的骨架结构是几乎一样的,各元件的不同之处在于,在骨架结构的4个高频插入位点处插入了不同种类的DNA片段,这些ICE各自特有的DNA片段编码一些特殊的功能,如对抗生素的抗性等。

随着生物信息学方法在细菌整合性接合元件研究中的广泛应用,Bi等^[8]创建了整合性接合元件数据库ICEberg (<http://db-mml.sjtu.edu.cn/ICEberg/>),ICEberg通过生物信息学预测和文献挖掘,系统地

识别了 333 株细菌中 428 个 ICEs, 并且包含 400 余篇与之直接相关的参考文献。提出了首先根据整合酶相似性, 其次根据核心结构同线性的特征对 ICEs 进行分类, 按照这种方法把 ICEs 分为 28 个家族, 对细菌 ICEs 的高效、多领域以及创新性研究有很好的促进作用。

1.2 整合性接合元件的结构

ICE 有一些比较保守的核心基因, 包括 *int*、*xis* 和 *tra* 基因, 其两端一般为反向重复序列 *attL* 和 *attR*。ICE 具有典型的模块化结构, 依据基因簇介导功能的不同, 可分为 4 个模块: 整合与剪切模块 (Integration and excision, *int-xis*), 接合对形成模块 (Mating-pair formation, *mpf*), DNA 移动和加工模块 (Mobilization and processing, *mob*), 调节模块 (Regulation, *reg*), 如图 1 所示。此外, ICE 还含有一些外源基因的高频插入位点(Hot spots, HS)和可变区(Variable region, VR)。它们携带的基因不仅赋予 ICE 及其宿主遗传特异性, 而且其中的一些功能基因提高了宿主对环境变化的适应性。

ICE 的整合与剪切模块主要包括整合酶(*int*)及切离酶(*xis*)基因, *int* 基因编码的整合酶可催化 ICE 特异性整合进宿主染色体; *xis* 基因编码切离酶, 使 ICE 从宿主染色体上切离。

ICE 的接合对形成模块与 IV 型分泌系统(Type

IV secretion system, T4SS)有关, 基因组分析表明, 在许多含有 ICE 的革兰氏阴性细菌中存在与 T4SS 有高度相似性的基因。T4SS 包含一些复杂的蛋白质, 这些蛋白质可以形成一个跨膜的分泌通道, 包含一些细胞外组件, 如菌毛^[9], 进而形成接合的通道, 介导细胞与外界的蛋白质和 DNA 进行交换, 散播它们所携带的生物学性状, 如耐药性和致病性等重要性状。T4SS 数据库 SecReT4 (<http://db-mml.sjtu.edu.cn/SecReT4/>) 通过文献深度挖掘和生物信息学精确预测, 在 524 株已测序细菌基因组中识别出 808 个 T4SSs, 对 10 752 个 T4SSs 核心组分和 1 884 个效应蛋白进行了功能描述^[10]。SecReT4 通过比较分析对 T4SS 进行了系统分类, 为建立统一和定量的 T4SS 分类标准提供了新的参考。

DNA 移动和加工模块是在接合转移前对 ICE 的 DNA 进行加工处理, 其过程与质粒 DNA 的加工过程类似, 即释放酶共价结合到环状 DNA 上, 由于释放酶的催化作用, 在转移起始位点(Origin of transfer, *oriT*)处生成开环缺口, 并以滚环复制形式合成单链 DNA, 在接合转移蛋白 G (TraG)的协助下, 通过接合孔道转移至宿主菌内^[11]。

ICE 的转移是由一个复杂的调控网络调控的, 环境的刺激可以促进或抑制 ICE 的转移, 对 SXT/R391 家族的 ICE 来说, SetR 是其主要的调节

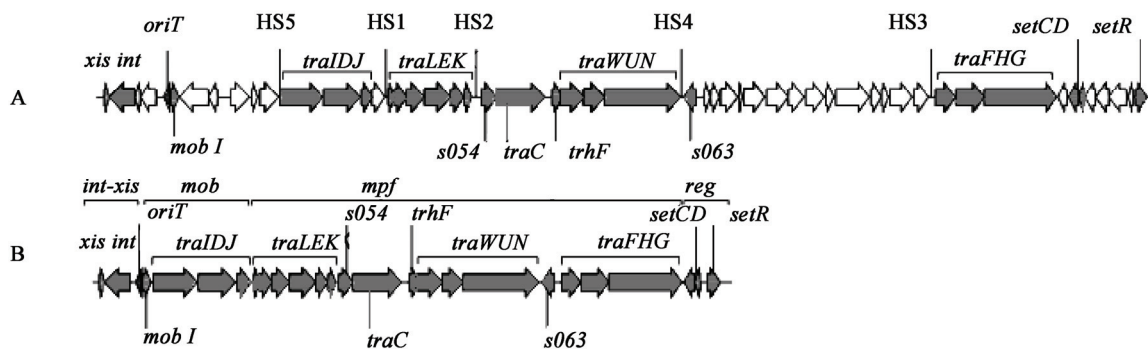


图 1 SXT/R391 家族 ICE 的基因结构示意图^[13]

Figure 1 Schematic of the genetic organization of SXT/R391 family ICE^[13]

注: A: SXT/R391 家族的 52 个核心基因, 在 5 个 HS 处可插入不同的 DNA 序列; B: SXT 所需的最基本的基因集合。

Note: A: All SXT/R391 family ICE have 52 nearly identical core genes, these ICE contain different DNA insertions at five hotspots; B: The proposed minimal gene set required for SXT function.

因子, 该蛋白可结合在 *setR110* 上游的操纵子上, 从而抑制 *setC* 和 *setD* 的表达, *setC* 和 *setD* 编码 SXT 转移所需的转录激活因子^[12]。研究发现 DNA 损伤和 SOS 反应可激发 SetR 自溶, 从而激活 *setC* 和 *setD* 基因以启动 *int* 和 *tra* 基因的表达, 刺激切离, 而在不同宿主菌间水平横向传播 ICE。

2 ICE 与基因岛

基因岛(Genomic island, GEI)是一些比较大的相对独立的 DNA 片段, 有些可移动, 有些不可移动, 有些不再进行移动。许多 GEI 可以整合进宿主的染色体中, 并且可以从染色体上剪切下来, 也可以通过接合、转化、转导的方式转移进入新的宿主细胞中。GEI 通常携带一些能给宿主提供选择优势的基因, 如毒性基因、合成基因、代谢基因、耐药基因和适应性基因等。

2.1 ICE 与 GEI 的关系

ICE 是 GEI 的一个子集(图 2), GEI 包含许多类型的元件, 例如: ICE、接合性质粒、不能复制但可以转移的元件、神秘的或损坏的前噬菌体^[14]。

ICE 与 GEI 有一些共有的特征, 比如, 它们都是大片的 DNA, 并且可通过水平转移获得; 含有与其他染色体不同的 G+C 含量; 特异性整合进某些位点; 两端均存在反向重复序列; 通常含有编码整合酶的基因以及与噬菌体、质粒接合转移有关的因子; 常含有插入序列或转座子结构等。

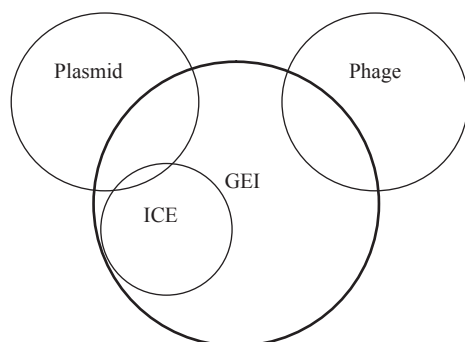


图 2 GEI 的不同类型

Figure 2 Variable types of GEI

2.2 ICE 与 MGI 的联系

在 GEI 中有一类移动的基因岛(Mobilizable genomic island, MGI), MGI 与 ICE 有特殊的联系, MGI 是一些片段长度小于 35 kb 的小基因岛, 含有整合酶基因以及与 SXT/R391 家族 ICE 相似的转移起始(Origin of transfer, *oriT*)序列, MGI 具有从染色体上剪切并特异性整合进宿主染色体的功能, 不过, 它接合转移功能的发挥需要依赖于与其共存的 ICE 的协助, 当细胞中没有相应的 SXT/R391 家族 ICE 共存时, 则 MGI 无法整合进宿主染色体。不过, MGI 向宿主细胞的转移并不需要 ICE 的共转移。

最先发现的 3 种 GEI 是从不同的弧菌中得到的, 即: MGI $V_{vu}Tai1$ 、MGI $V_{fl}Ind1$ 和 MGI $V_{ch}USA1$, 它们分别来自于创伤弧菌(*V. vulnificus*) YJ016、河流弧菌(*V. fluvialis*) H-08942 和 *V. cholerae* RC385。这 3 种 GEI 整合进相同的位点, 即 *yicC* 位点的 3' 末端, 该基因编码应激蛋白 *yicC*^[15]。除了都含有 *oriT*_{SXT-like} 序列外, 它们还有 4 个保守的基因: *int*_{MGI} (编码 MGI 剪切和整合的酪氨酸重组酶), *rdfM* (编码剪切所需的重组定向因子), 以及两个编码未知功能的基因 *cds4*、*cds8*, 如图 3 所示。

对 MGI 的转移, 当一个 SXT/R391 家族 ICE 与其共存时, ICE 编码的转录激活因子 SetCD 激发 *rdfM* 和 *int*_{MGI} 的表达, 从而促进 MGI 发生特异性剪切^[16]。一旦 MGI 以共价闭合环状的形态剪切下之后, *oriT*_{MGI} 就被 ICE 编码的释放酶识别, 使 MGI 以单链 DNA 的形式穿过 ICE 编码的接合孔道进入宿主细胞内。

MGI 的转移是通过 ICE 识别其 *oriT*_{SXT-like} 序列而驱动的, 通过基因序列比较分析发现, *oriT*_{MGI} 和 *oriT*_{SXT} 具有保守的直接和反向重复序列^[17], 在接合转移起始的过程中, 这些结构可能在 *oriT* 被释放酶 TraI 或其他辅助蛋白特异性识别时发挥作用。

不同的 MGI 在可变区含有不同的基因, MGI 之间可变区基因的变化标志着这些元件是镶嵌结构, 并且也说明 MGI 内部重组对其进化来说是一

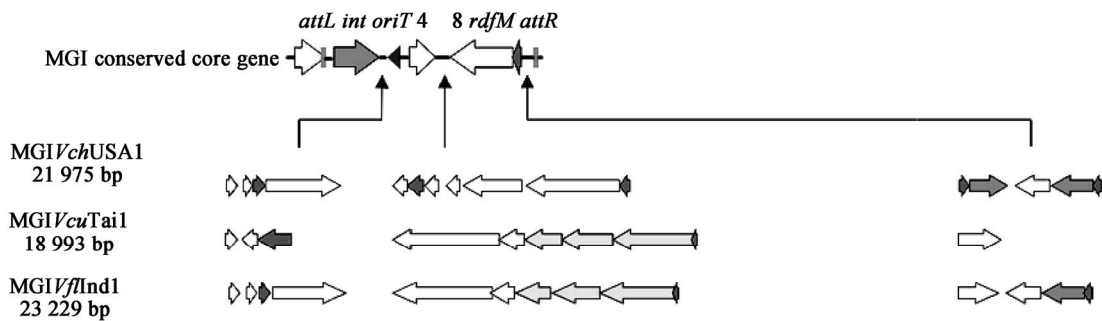


图3 MGI 的保守基因及 3 个 MGI 的基因结构^[19]

Figure 3 The conserved core gene of MGI and the genomic structure of three MGI^[19]

个重要的驱动因素，而这种进化方式与 SXT/R391 家族 ICE 也是很相似的^[18]。

3 ICE 与耐药性

一般认为，在革兰氏阴性细菌中，除了 SXT 以外的其他 ICE 并不是耐药基因的重要载体，但随着基因组测序及序列比较分析技术的应用，揭示了 ICE 与耐药性有着紧密的联系，耐药基因一般整合进高频插入位点，有趣的是，由 SXT 携带的抗性基因并不是位于高频插入位点的间隔区，而是整合进 SXT 5'端附近的 *rumB* 基因。

ICE 的耐药基因与转座子有一定的联系，有些 ICE 含有复合型转座子结构，这些转座子结构由 IS16 或 IS26 组成，IS16 或 IS26 包围着耐药基因。在副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)的 ICE_{HpaT3T1} 和流感嗜血杆菌(*H. influenzae*)的 ICE_{Hin1056} 中发现有 Tn10，在这两种 ICE 中 IS10 位于四环素抗性基因的两端，ICE_{Hin1056} 的复合型 Tn10 同时携带由 IS5 包围的氯霉素抗性基因^[20]。

R391 中包含 3 个 IS26，在其 5'端存在编码卡那霉素抗性的基因^[3]，另外一种 ICE_{PmiJpn1}，它是 R391 的变体，是从奇异变形杆菌(*Proteus mirabilis*)中发现的，它包含一种存在 IS10 的 Tn10-like 类型的复合型转座子。IS10 围绕在一段包含编码广谱 β-内酰胺酶的 *bla*_{CMY-2} 基因的两端，这些转座子可能有助于抗性基因的获得^[21]。还有另外一种从 *P. mirabilis* 中发现的 ICE_{PmiSpn1}，其中也存在

*bla*_{CMY-2} 基因^[22]。*bla*_{CMY-2} 基因表达的头孢菌素酶对多种 β-内酰胺类抗生素起作用，β-内酰胺类抗生素(主要是青霉素类和头孢菌素类)是目前临床抗感染治疗最普遍应用的一类抗生素，而 ICE 携带的 *bla*_{CMY-2} 基因的转移无疑对人类解决细菌的耐药问题造成了不可忽视的困难。

对于 *H. influenzae* 的几种 ICE，包括 ICE_{Hin1056}、ICE_{Hin299}、ICE_{Hin2866}、ICE_{Hpa8f}、ICE_{Hin028} 和 ICE_{HinB}，它们携带含有编码 β-内酰胺酶的 *bla*_{TEM-1} 基因的 Tn3 转座子^[20]，ICE_{Ec2} 是从大肠杆菌(*Escherichia coli*) BEN374 中发现的，它获得一种 Tn7 转座子，Tn7 在其 5'端包含普通的 II 型整合子，并且包含 3 个抗性基因盒(*dfrA1*、*sat2* 和 *aadA1*)，他们分别编码对甲氧苄氨嘧啶、链丝菌素、链霉素/奇霉素的抗性。Tn7 转座子既可以随 ICE 一起转移，也可独立转移^[23]。由此可见 ICE 与耐药基因的传播及转座子都有着紧密的联系，由其所介导的基因的水平转移对微生物本身及人类都有着重要的意义。

4 ICE 的转移及 ICE 间的相互作用

4.1 ICE 的转移

ICE 的转移机制几乎完全相同，其在转移的过程中一般以环状的中间形态存在。以 SXT 为例对 ICE 的转移进行介绍(图 4)。*xis* 基因编码的切离酶可在 *attL* 和 *attR* 位点催化逆向的重组反应，使 ICE 从宿主的染色体上切离。切离后 ICE 可自身进行环

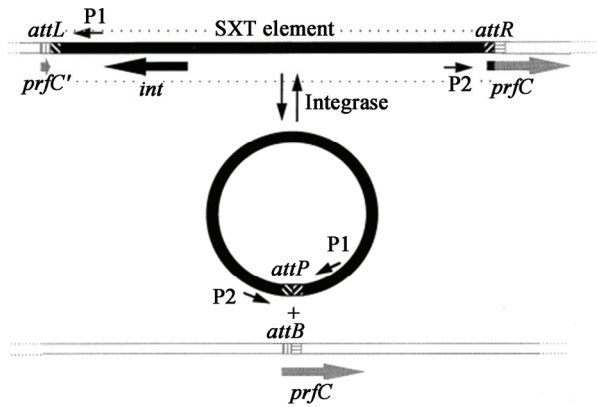


图4 SXT元件的特异性剪切和整合

Figure 4 Model of the site-specific integration and excision of the SXT element

化,在 *int* 基因编码的整合酶的作用下,催化 ICE 上的特异性位点(*attP*)与染色体上的靶位点(*attB*)之间发生同源重组反应,从而特异性地整合进入宿主染色体的基因中去,并形成边界两侧 *attL* 和 *attR* 位点。细胞与细胞之间的接触对 SXT 元件在细菌细胞间的转移是必需的,标志着接合是它转移的机制,并且在接合转移实验过程中,一个固体支持面对 ICE 的成功转移很有帮助。ICE 通过接合转移的方式把自身的基因整合进宿主染色体进行表达,从而赋予宿主独特的功能,并且促进宿主的进化。

4.2 ICE 间的相互作用

一般来说,含有 ICE 的宿主细胞会抑制与其相同类型的 ICE 转移进该细胞,以特异性抑制带有相同类型 ICE 的细胞之间发生重复的接合转移。不过,对 SXT 和 R391 来讲,虽然 SXT 和 R391 有近乎相同的接合转移基因,但这两类 ICE 并不相互排斥^[24],在受体细胞中其中一种元件的存在并不显著降低细胞获得另外一种元件的能力,这也意味着 SXT 和 R391 之间不编码表面排斥决定簇,在同时含有这两种元件细胞中,SXT 和 R391 以串联的形式整合于染色体上,同源重组对这种串联的排列方式的形成有很小或几乎没有影响。并且 R391 对 SXT 稳定性的影响要比 SXT 对 R391 的影响大,供体菌和受体菌表达的整合酶的强度和活性可能对这两

种元件的相互作用有一定的影响^[25]。

在 SXT 和 R391 中拥有一个由两种内膜蛋白介导的入口排斥系统,这种排斥系统与 F 质粒及其他接合性质粒中的相似。其中一种蛋白(*TraG*)位于供体菌中,另一种蛋白(*Eex*)位于受体菌中^[24],入口排斥系统主要用来特异性抑制带有相同类型 ICE 的细胞之间发生重复的接合转移。

这种元件特异性排斥活性是由 *Eex* 的变体 *EexS* 和 *EexR* 及 *TraG* 的变体 *TraG_S* 和 *TraG_R* (分别在 SXT、R391 中编码)介导的。当受体细胞中存在 *EexS*,供体中存在 *TraG_S*,就会发生排斥;当受体细胞中存在 *EexS*,供体中存在 *TraG_R*,就不会排斥 ICE 的转移^[26]。*Eex* 变体的特异性是由各自 C-末端的残基决定的,虽然 *EexS* 和 *EexR* 的前 86 个 N-末端残基有 87% 的相似性,但其余 56 个 C-末端残基仅有 41% 的相似性。有趣的是,对 *TraG* 来说,仅 3 个氨基酸(氨基酸 606、607 和 608)决定其变体的特异性,在这些位置,*TraG_S* 的氨基酸序列为 P-G-E,而 *TraG_R* 的氨基酸序列为 T-D-D^[27]。研究还发现,ICE 编码 S 组 *Eex* 的同时也编码 S 组的 *TraG*,这种联系也在 R 排斥组中观察到。

5 放线菌型 ICE

放线菌型 ICE 是在链霉菌基因组中发现的一类比较特殊的整合性接合元件,一般用(Actinomycete integrative and conjugative element, AICE)表示,在链霉菌遗传多样性中发挥了重要作用。与多数依赖四型分泌系统以单链的形式进行接合转移的 ICE 不同,AICE 的接合转移是通过菌丝体之间的紧密接触完成的,并且在接合转移过程中直接以双链的形式进入受体菌^[28]。此外,AICE 还具有自主复制的功能。

目前,徐珍等^[29]在已全测序的 12 条链霉菌染色体和 35 个质粒中识别出 29 个 AICEs,其中 12 个为首次报道,并且发现有 16 个 AICEs 携带与限制修饰系统相关的基因,这些基因的引入对宿主防范外来 DNA 的侵入有一定的作用。例如,天蓝色

链霉菌(*Streptomyces coelicolor*)中 SLP1 携带的 SCO_4631 就编码一个限制修饰系统相关蛋白 ScoA3McrA^[30]。ScoA3McrA 是一种四型甲基依赖型限制性内切酶,它在体外既可以切割硫修饰的 DNA 也可以切割 DCM-甲基化 DNA,因此,硫修饰的 DNA 不能进入含有 SLP1 的 *S. coelicolor*。

6 结语

ICE 的分布日趋广泛,并且陆续发现一些新的 ICE,目前报道最多的 ICE 多位于革兰氏阴性菌和硬壁菌门的部分革兰氏阳性菌中,通过 ICE 介导的基因水平转移,有助于提高细菌在特定环境下的适应性,同时有助于微生物的进化,但其上耐药基因的出现和传播对人类健康造成了严重的威胁,尤其是 ICE*PmiJpn1* 和 ICE*PmiSpn1* 的发现,它包含编码具有广谱 β -内酰胺抗性的 *bla*_{CMY-2} 基因,还有许多其他元件携带不同的耐药基因,这为人们控制细菌耐药性带来了极大的困难和挑战;但另一方面也为细菌耐药机制的研究提供了新的思路。

到目前为止,大多数报道的含有 ICE 的菌株都是从临床分离的,而对从环境中分离得到菌株的研究较少^[31]。在中国,由于抗生素药物在养殖业应用广泛,并且对养殖业废水、废物排放没有严格的管制,导致养殖业成为抗生素滥用的重灾区^[32]。本实验室以从养殖场的肉鸡生产链中分离的 79 株奇异变形杆菌为实验菌株,检测其所含的整合性接合元件并研究其转移机制,目前已鉴定部分奇异变形杆菌含有 ICE*Pm1*,并完成该元件一些保守位点的序列测定。由于这些菌株具有多重耐药性,并且有关耐药基因可接合转移至受体菌,因此其耐药基因的转移可能与 ICE*Pm1* 有关,进一步研究其与耐药基因转移的关系将更有利于检测和控制环境中耐药基因的转移。

Beaber 等^[33]指出,喹诺酮类抗生素的广泛使用会造成相关 ICE 转移频率的增加,从而使携带 ICE 的细菌在临床和环境中的频率逐渐增高,并借助环境及人类不断扩散。因此应当谨慎对待喹诺酮

类及其他抗生素药物的使用,并且应该加强对细菌中 ICE 的检测和监控。虽然已经解读了 ICE 的基本结构和部分基因的功能,但是对于长度为 60-90 kb 的 ICE 来说,研究者的了解仅如冰山一角。它捕获耐药基因及其他抗逆基因的能力需要引起足够的重视,因此,需要进一步研究 ICE 转移的实质,不断探索其构造和功能,从而找到应对方法,控制耐药基因的广泛传播。

参考文献

- [1] Xia RR, Ren Y, Xu H. Identification of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in multidrug-resistant gram-negative bacteria from hospital wastewaters and receiving waters in the Jinan area, China[J]. Microbial Drug Resistance, 2013, 19(6): 446-456
- [2] Burrus V, Marrero J, Waldor MK. The current ICE age: biology and evolution of SXT-related integrating conjugative elements[J]. Plasmid, 2006, 55(3): 173-183
- [3] Pembroke JT, MacMahon C, McGrath B. The role of conjugative transposons in the *Enterobacteriaceae*[J]. Cellular and Molecular Life Science, 2003, 59(12): 2055-2064
- [4] Coetsee JN, Datta N, Hedges RW. R factors from *Proteus rettgeri*[J]. Journal of General Microbiology, 1972, 72(3): 543-552
- [5] Spagnoletti M, Ceccarelli D, Rieux A, et al. Acquisition and evolution of SXT-R391 integrative conjugative elements in the seventh-pandemic *Vibrio cholerae* lineage[J]. mBio, 2014, 5(4): e01356-14
- [6] Comstock LE, Maneval D, Panigrahi P, et al. The capsule and O antigen in *Vibrio cholerae* O139 Bengal are associated with a genetic region not present in *Vibrio cholerae* O1[J]. Infection and Immunity, 1995, 63(1): 317-323
- [7] Beaber JW, Burrus V, Hochhut B, et al. Comparison of SXT and R391, two conjugative integrating elements: definition of a genetic backbone for the mobilization of resistance determinants[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2003, 59(12): 2065-2070
- [8] Bi DX, Xu Z, Harrison EM, et al. ICEberg: a web-based resource for integrative and conjugative elements found in bacteria[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(D1): D621-D626
- [9] Christie PJ, Atmakuri K, Krishnamoorthy V, et al. Biogenesis, architecture, and function of bacterial type IV secretion systems[J]. Annual Review of Microbiology, 2005, 59: 451-485
- [10] Bi DX, Liu LM, Tai C, et al. SecReT4: a web-based bacterial type IV secretion system resource[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(D1): D660-D665
- [11] Nguyen M, Vedantam G. Mobile genetic elements in the genus *Bacteroides*, and their mechanism(s) of dissemination[J]. Mobile Genetic Elements, 2011, 1(3): 187-196
- [12] Pradervand N, Sulser S, Delavat F, et al. An operon of three transcriptional regulators controls horizontal gene transfer of the integrative and conjugative element ICE*clc* in *Pseudomonas knackmussii* B13[J]. PLoS Genetics, 2014, 10(6): e1004441
- [13] Wozniak RAF, Waldor MK. Integrative and conjugative elements: mosaic mobile genetic elements enabling dynamic lateral gene flow[J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(8): 552-563
- [14] Juhas M, van der Meer JR, Gaillard M, et al. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2009, 33(2): 376-393

- [15] Daccord A, Ceccarelli D, Burrus V. Integrating conjugative elements of the SXT/R391 family trigger the excision and drive the mobilization of a new class of *Vibrio* genomic islands[J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 78(3): 576-588
- [16] Daccord A, Mursell M, Poulin-Laprade D, et al. Dynamics of the SetCD-regulated integration and excision of genomic islands mobilized by integrating conjugative elements of the SXT/R391 Family[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(21): 5794-5802
- [17] Ceccarelli D, Daccord A, René M, et al. Identification of the origin of transfer (*oriT*) and a new gene required for mobilization of the SXT/R391 family of integrating conjugative elements[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(15): 5328-5338
- [18] Wozniak RAF, Fouts DE, Spagnoletti M, et al. Comparative ICE genomics: insights into the evolution of the SXT/R391 family of ICEs[J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(12): e1000786
- [19] Daccord A, Ceccarelli D, Rodrigue S, et al. Comparative analysis of mobilizable genomic islands[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(3): 606-614
- [20] Juhas M, Power PM, Harding RM, et al. Sequence and functional analyses of *Haemophilus* spp. genomic islands[J]. *Genome Biology*, 2007, 8(11): R237
- [21] Harada S, Ishii Y, Saga T, et al. Chromosomally encoded *bla_{CMY-2}* located on a novel SXT/R391-related integrating conjugative element in a *Proteus mirabilis* clinical isolate[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, 54(9): 3545-3550
- [22] Mata C, Navarro F, Miró E, et al. Prevalence of SXT/R391-like integrative and conjugative elements carrying *bla_{CMY-2}* in *Proteus mirabilis*[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2011, 66(10): 2266-2270
- [23] Roche D, Flécharde M, Lallier N, et al. ICE_{Ec2}, a new integrative and conjugative element belonging to the pKLC102/PAGI-2 family, identified in *Escherichia coli* strain BEN374[J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(19): 5026-5036
- [24] Marrero J, Waldor MK. Interactions between inner membrane proteins in donor and recipient cells limit conjugal DNA transfer[J]. *Developmental Cell*, 2005, 8(6): 963-970
- [25] Huguet-Tapia JC, Bignell DRD, Loria R. Characterization of the integration and modular excision of the integrative conjugative element PAISt in *Streptomyces turgidiscabies* Car8[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99345
- [26] Marrero J, Waldor MK. Determinants of entry exclusion within Eex and TraG are cytoplasmic[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(17): 6469-6473
- [27] Marrero J, Waldor MK. The SXT/R391 family of integrative conjugative elements is composed of two exclusion groups[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(8): 3302-3305
- [28] Sezonov G, Hagège J, Pernodet JL, et al. Characterization of *pra*, a gene for replication control in pSAM2, the integrating element of *Streptomyces ambofaciens*[J]. *Molecular Microbiology*, 1995, 17(3): 533-544
- [29] Xu Z, Bi DX, Li P, et al. *In silico* identification of actinomycete integrative and conjugative elements in completely sequenced *Streptomyces* genomes[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(12): 2259-2270 (in Chinese)
徐珍, 毕德玺, 李鹏, 等. 链霉菌基因组中放线菌型整合性接合元件的识别[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(12): 2259-2270
- [30] Liu G, Ou HY, Wang T, et al. Cleavage of phosphorothioated DNA and methylated DNA by the type IV restriction endonuclease ScoMcrA[J]. *PLoS Genetics*, 2010, 6(12): e1001253
- [31] Song YZ, Yu P, Li BL, et al. The mosaic accessory gene structures of the SXT/R391-like integrative and conjugative elements derived from *Vibrio* spp. isolated from aquatic products and environment in the Yangtze River estuary, China[J]. *BMC Microbiology*, 2013, 13(1): 214
- [32] Peng HL. China's government regulation of food safety: taking the antibiotics abuse in aquaculture as an example[J]. *Ecological Economy*, 2012(10): 136-139 (in Chinese)
彭红利. 从养殖业抗生素滥用谈我国食品安全领域的政府规制[J]. *生态经济*, 2012(10): 136-139
- [33] Beaver JW, Hochhut B, Waldor MK. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance gene[J]. *Nature*, 2004, 427(6969): 72-74