

- Rho guanine nucleotide exchange factor ARHGEF5 promotes tumor malignancy via epithelial-mesenchymal transition[J]. *Oncogenesis*, 2016, 5(9): e258-268.
- [26] SAITO K, OZAWA Y, HIBINO K, et al. FilGAP, a Rho/Rho-associated protein kinase-regulated GTPase-activating protein for Rac, controls tumor cell migration[J]. *Mol Biol Cell*, 2012, 23(24): 4739-4750.
- [27] CADAMURO M, NARDO G, INDRACCOLO S, et al. Platelet-derived growth factor-D and Rho GTPases regulate recruitment of cancer-associated fibroblasts in cholangiocarcinoma[J]. *Hepatology*, 2013, 58(3): 1042-1053.
- [28] ALBRENGUES J, BOURGET I, PONS C, et al. LIF mediates proinvasive activation of stromal fibroblasts in cancer[J]. *Cell Rep*, 2014, 7(5): 1664-1678.
- [29] SANZ-MORENO V, GAGGIOLI C, YEO M, et al. ROCK and JAK1 signaling cooperate to control actomyosin contractility in tumor cells and stroma[J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(2): 229-245.
- [30] CALVO F, EGE N, GRANDE-GARCIA A, et al. Mechanotransduction and YAP-dependent matrix remodelling is required for the Generation and maintenance of cancer-associated fibroblasts[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(6): 637-646.
- [31] REYMOND N, IM JH, GARG R, et al. RhoC and ROCKs regulate cancer cell interactions with endothelial cells[J]. *Mol Oncol*, 2015, 9(6): 1043-1055.
- [32] YAGI H, TAN W, DILLENBURG-PILLA P, et al. A synthetic biology approach reveals a CXCR4-G13-Rho signaling axis driving transendothelial migration of metastatic breast cancer cells[J]. *Sci Signal*, 2011, 4(191): ra60.
- [33] ROH-JOHNSON M, BRAVO-CORDERO J J, PATSIA-  
• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.06.041
- LOU A, et al. Macrophage contact induces RhoA GTPase signaling to trigger tumor cell intravasation[J]. *Oncogene*, 2014, 33(33): 4203-4212.
- [34] HUANG B, KRAFFT P R, MA Q, et al. Fibroblast growth factors preserve blood-brain barrier integrity through RhoA inhibition after intracerebral hemorrhage in mice[J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 46(1): 204-214.
- [35] FUJII M, DURIS K, ALTAY O, et al. Inhibition of Rho kinase by hydroxyfasudil attenuates brain edema after subarachnoid hemorrhage in rats [J]. *Neurochem Int*, 2012, 60(3): 327-333.
- [36] ZANIN-ZHOROV A, WEISS J M, NYUYDZEFE M S, et al. Selective oral ROCK2 inhibitor down-regulates IL-21 and IL-17 secretion in human T cells via STAT3-dependent mechanism[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(47): 16814-16819.
- [37] WEI L, SURMA M, SHI S, et al. Novel insights into the roles of Rho kinase in cancer[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016, 64(4): 259-278.
- [38] PAJIC M, HERRMANN D, VENNIN C, et al. The dynamics of Rho GTPase signaling and implications for targeting cancer and the tumor microenvironment[J]. *Small GTPases*, 2015, 6(2): 123-133.
- [39] ZANDVAKILI I, LIN Y, MORRIS J C, et al. Rho GTPases: Anti- or pro-neoplastic targets? [J]. *Oncogene*, 2017, 36(23): 3213-3222.
- [40] RATH N, OLSON M F. Rho-associated kinases in tumorigenesis; re-considering ROCK inhibition for cancer therapy[J]. *EMBO Rep*, 2012, 13(10): 900-908.

(收稿日期:2017-08-21 修回日期:2017-11-12)

## 细菌基因岛研究进展\*

邓 瑞综述,陈 亮<sup>△</sup>审校

(重庆医科大学附属第二医院骨科 400010)

[关键词] 基因组岛;致病性;抗生素耐药;基因组岛预测

[中图分类号] Q343.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)06-0846-03

近年来,随着基因测序技术迅猛发展,越来越多的研究开始通过比较细菌的基因组变化来研究细菌进化。研究者们发现,细菌基因组的进化除了传统的纵向遗传:基因突变,基因重排外,还有水平基因转移<sup>[1]</sup>。细菌可通过水平基因转移得到更多的机会去获得有益于适应某些特定环境的特性。这些参与水平基因转移并具有功能的基因序列被认为是细菌基因岛。基因岛的概念首次被 Hacker 和他的团队提出<sup>[2]</sup>。他们首先用

此来描述具有毒力的大肠杆菌功能性的基因组片段。后来人们发现了更多的具有抗生素耐药性相关的基因岛,代谢相关的基因岛。基因岛的相关研究对于生物医学和生物信息学的研究都极为重要<sup>[3]</sup>。因为可以用基因岛的概念去解释在同一种细菌里一些特定的属具有致病性而另一些却不具有的情况,并且可以用此来解释特定的细菌可以在极端条件生存而另一些不可以的情况。基因岛的概念也可以帮助理解细菌的功能和

\* 基金项目:重庆市基础与前沿研究计划项目(cstc2015jcyjA10087)。 作者简介:邓瑞(1993-),住院医师,硕士,主要从事骨科工作。

<sup>△</sup> 通信作者,E-mail:liang.chen\_cqmusah@hotmail.com。

细菌基因组的进化。因此,研究基因岛对研究细菌基因组的进化和细菌基因转移机制具有重要意义。

本文将对基因岛、移动基因池和水平基因转移机制作简介。同时也将集中阐述耐药基因岛和致病基因岛的特性并讨论现阶段基因岛预测的方法及对未来的展望。

### 1 基因岛和移动基因池的关系

基因岛是源于水平基因转移的一段基因组 DNA 片段<sup>[4]</sup>。基因岛具有一些基本共性:(1)具有重复序列或者能插入某些 tRNA 序列;(2)具有转座子原件;(3)异常的鸟嘌呤和胞嘧啶所占比率(GC 含量);(4)氨基酸的异常使用和二核苷酸;(5)其可在某一种菌株中存在但可能在某一种较类似的菌株中不存在。这些特性有助于预测未知的基因岛及区分基因岛和内源性突变。此外,基因岛可根据其功能的不同分为:抗生素耐药性基因岛、致病性基因岛、适应性岛、共生性岛、生态岛和腐生性岛<sup>[5]</sup>。

细菌基因可被分为核心基因池和移动基因池。核心基因池是染色体的一部分,主要用于编码基本蛋白用于满足细菌基本的生存需要,如自我增值、吸收营养和合成代谢中间产物<sup>[6]</sup>。在核心基因池中 GC 含量和氨基酸使用通常具有很强的相似性。然而,在弹性基因池中 GC 含量异常,氨基酸不正常使用并且编码许多非生存必须蛋白质。这些成分对于基本的生存不是必要的,但能促进细菌对环境的适应性,如某些基因岛可以使细菌拥有分泌特殊耐药蛋白,使其能在抗生素环境中生存。这类耐药性基因岛是基因岛弹性基因池的重要组成部分<sup>[7]</sup>。

### 2 水平基因转移的机制

基因岛因水平基因的转移而形成。水平基因转移具有 3 类基因交换机制:转化、转导和结合。这一现象发生在供体和受体中,预示着基因组遗传信息可以在不同细胞间通过水平基因转移而不是通过垂直的生殖方式来传递<sup>[8]</sup>。

**2.1 转化** 受者能够通过供者直接获得裸露 DNA 片段的过程称为转化。这个过程发生在当一个细胞死亡时候,将其细胞内物质释放到周围环境中。同时,在周围具有活性的相邻细胞(受者)检测并摄入死亡细胞释放的 DNA 片段,并将这些片段整合到自身 DNA 中的过程<sup>[9]</sup>。

**2.2 转导** 受者也可以通过噬菌体感染获得 DNA 片段。噬菌体侵袭宿主细胞,宿主细胞染色体 DNA 断裂,噬菌体包裹宿主细胞 DNA 碎片或染色体碎片到噬菌体头部,当噬菌体再次感染其他细胞时,将头部包含的细胞遗传物质带到另外一个细胞,从而实现供者 DNA 转移到受者的过程。总的说来,转导是供体 DNA 片段被细菌噬菌体俘获(这些片段可能含有细菌的基因组),然后当噬菌体感染下一个细胞时带入到下一个细胞中,实现遗传物质转移的过程<sup>[9]</sup>。

**2.3 接合** 接合是另一种基因转移的方式,其是供体和受体直接接合,实现基因转移。能表达 F 质粒的细菌具有菌毛,能促进细菌间质粒的相互转移。此过程为,供体的菌毛接触受体,然后菌毛形成受体和供体之间的链接通道。然后,F 质粒自我复制,从供体转移到相连接的受体。受体得到 F 质粒同时获得产生菌毛的能力,同时受体将成为新的供体<sup>[9]</sup>。

### 3 基因岛的作用

**3.1 耐药基因岛** 耐药基因岛是染色体 DNA 片段(>10 kb),这些片段包含较大相对分子质量的细菌耐药基因族,位于许多特殊的染色体位置或者是被自身质粒携带,因基因功能与耐药相关而被称为耐药基因岛<sup>[10]</sup>。两个位点的耐药基因具有

相同的重复序列和插入元件,并含有潜在不稳定的移动基因元件,如 integern。同时,耐药基因岛的 GC 含量和其他在核心基因池中的基因有着显著的不同。

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)对众多抗生素具有耐药性,被认为是潜在的超级细菌<sup>[11-12]</sup>。MRSA 耐药机制中 mecA 基因起了重要作用。mecA 编码 PBP2a 是青霉素结合蛋白,其对 beta 内酰胺类抗生素具有很弱亲和力。因此,mecA 让细菌具有抗 methicillin 抗性。研究表明,mecA 产生于基因水平转移,mecA 整合到 SCCmec DNA 基因片段,mecA 基因的转移只能发生在存在 SCCmec 序列的菌株中<sup>[13]</sup>。因此,SCCmec 为一种基因进化状态,其组成成分为 mec 基因复合物(mecA、mecR、IS/mecI、IS431)和 ccr 基因复合物(重组酶基因,ccrA、ccrB or ccrC)<sup>[14]</sup>。此外,基于结构和片段大小,SCCmec 能被分为 11 类(SCCmec I ~ SCCmec XI),被报道最多的 *S. aureus* 属于前 5 类(SCCmec I、II、III、IV、V)。位点特异的重组蛋白 ccr,被 ccr 基因复合物编码,是 SCCmec 基因岛的主要组成部分,具有抗药性。而且,Mec 基因复合物由显著的抗生素耐药基因 mecA 和其他抗生素抵抗协同因子组成<sup>[15]</sup>。总的说来,耐药基因岛是由水平基因转移而形成,它具有复杂的机制并会参与细菌对抗生素的耐药过程中。

**3.2 致病岛** 致病岛是基因岛的一个亚型,首先在致病性大肠杆菌中被报道,随后也在其他细菌的弹性基因池中被发现。在细菌中,一个细菌可以含有许多致病岛,同时一个致病岛可以在不同细菌间传递。这表明致病岛不仅存在于细菌的染色体 DNA 片段上同时也存在于质粒中<sup>[16]</sup>。此外,还有一个位于耶尔森氏鼠疫杆菌基因组 DNA 中的可致鼠疫的基因岛,是一个高致病岛编码的离子摄入系统<sup>[17]</sup>。同样,在致病性大肠杆菌的致病岛不仅让细菌对人类具有致病性同时也让其对其他动物如奶牛具有致病性。

### 4 预测基因岛的方法

**4.1 基于一个基因组的预测方法** 一个基因组分析方法主要基于基因突变和适应性选择作用于微生物基因组使得形成种属特异性的核苷酸构成特性的现象。其中有许多的方法试着去找到特异的序列作为区分组成不同的标准。许多序列特点已经被研究证明为可靠的标准,如基于 GC 含量、k-met 频率、氨基酸用法和密码子用法的算法<sup>[18]</sup>。通过分析序列的这些特性,可以提供粗略的、新的基因岛预测手段。然而,因为这种方法只纳入有限地影响因素并只利用了靶向细菌的序列信息,所以这类方法同时也具有许多缺点。例如,不能准确预测基因岛的边界,不能得到其准确的位置信息。同时,随着细菌的增值,基因岛和其他 dna 序列的位置关系变化越来越不确定,因此此类方法只能检测出细菌最新获得的基因岛。

**4.2 基于多个基因组的检测方法** 基于多个基因组检测基因岛的方法是基于基因岛散在分布于基因组中的特性的一类算法。这些算法通过比较多重相关的基因组序列去发现特定的亚型区域。这类方法一般借助于序列比对工具,如能被用来发现特异菌株的特殊区域的全基因组比对工具 MAUVE<sup>[19]</sup>,同时 MAUVE 也可用于分析菌株的保守区域,并作为其他研究,如噬菌体全基因组比对时的参照方法<sup>[20]</sup>。

**4.3 Ensemble 分析法** Ensemble 分析法是将不同的分析方法整合到一起。一种方式是整合不同软件的预测结果,如 EGID ADDIN EN. CITE<sup>[21]</sup>。运用集成算法的细菌基因岛探测方法(EGID)用投票法整合 5 个软件的预测结果:Alienhunter、IslandPath、SIGI-HMM、INDeGenIUS、PAI-IDA。另一种整

合方式是通过其他方法去筛选一种方法的预测结果。这种方法常用于致病岛的预测。许多致病岛的检测软件使用这种方法,比如 PAIDB v2.0<sup>[22]</sup>。

**4.4 不完全基因组分析法** 由于对不完全基因组中基因岛预测的探索。如 IslandViewer 4<sup>[23]</sup>。此类方法首先将不完整序列整合成完整的基因组序列,然后用类似于在完整基因组预测基因岛的方法进行预测。IslandViewer 4 将注释的重叠群体映射到完整的参考基因组以产生连锁的基因组,然后其用这个单一基因组进行分析。

基因岛位于细菌的弹性基因池,并可作为细菌基因的水平转移方式的佐证。越来越多的证据表明基因岛参与了微生物的基因进化。基因岛通过自体传递和丢失遗传信息等方式增加了基因的多样性。同时基因岛参与了多种微生物活动,特别是作为细菌致病性和耐药性的重要机制之一。伴随测序技术和生物信息学分析方法的空前发展,越来越多的新基因岛被发现。因此,很多过去因为假阳性和假阴性不能区分的结果,都逐渐被区分确定。不过基因岛的丰富程度仍然被严重低估,仍需要探索更加完善的方法去识别那些未知的基因岛,将有助于基因动力学、基因多样性方面的研究,并可对微生物相关的临床问题开辟新的研究领域。

#### 参考文献

- [1] BOBAY L M, OCHMAN H. The evolution of bacterial genome architecture[J]. *Front Genet*, 2017, 8(8): 72.
- [2] LU B, LEONG H W. Computational methods for predicting genomic islands in microbial genomes[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2016, 14(5): 200-206.
- [3] CHE D, HASAN M S, CHEN B. Identifying pathogenicity islands in bacterial patho- genomics using computational approaches[J]. *Pathogens*, 2014, 3(1): 36-56.
- [4] COUTINHO T J D, FRANCO G R, LOBO F P. Homology-independent metrics for comparative genomics [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2015, 132(5): 352-357.
- [5] RUZZINI A C, CLARDY J. Gene flow and molecular innovation in bacteria[J]. *Curr Biol*, 2016, 26(18): R859-R864.
- [6] LAND M, HAUSER L, JUN S R, et al. Insights from 20 years of bacterial genome sequencing[J]. *Funct Integr Genomics*, 2015, 15(2): 141-161.
- [7] GILMORE M S, LEBRETON F, VAN SCHAİK W. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2013, 16(1): 10-16.
- [8] PAPKE R T, CORRAL P, RAM-MOHAN N, et al. Horizontal gene transfer, dispersal and haloarchaeal speciation [J]. *Life (Basel)*, 2015, 5(2): 1405-1426.
- [9] JUHAS M. Horizontal gene transfer in human pathogens [J]. *Crit Rev Microbiol*, 2015, 41(1): 101-108.
- [10] COLAVECCHIO A, CADIEUX B, LO A, et al. Bacteriophages contribute to the spread of antibiotic resistance genes among foodborne pathogens of the enterobacteriaceae family—a review [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8(6): 1108.
- [11] ITO T, KUWAHARA-ARAI K, KATAYAMA Y, et al. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) analysis of MRSA[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1085(8): 131-148.
- [12] STEINIG E J, ANDERSSON P, HARRIS S R, et al. Single-molecule sequencing reveals the molecular basis of multidrug-resistance in ST772 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 388.
- [13] HANSEN A M, ERICSON S J. SCCmec in staphylococci: genes on the move[J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2006, 46(1): 8-20.
- [14] XU Z, LI L, ALAM M J, et al. First confirmation of integron-bearing methicillin-resistant staphylococcus aureus [J]. *Curr Microbiol*, 2008, 57(3): 264-268.
- [15] FIGUEIREDO A M S, FERREIRA F A. The multifaceted resources and microevolution of the successful human and animal pathogen methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2014, 109(3): 265-278.
- [16] BENTLEY S D, PARKHILL J. Genomic perspectives on the evolution and spread of bacterial pathogens[J]. *Proc Biol Sci*, 2015, 282(1821): 20150488.
- [17] ONORI R, GAIARSA S, COMANDATORE F, et al. Tracking nosocomial klebsiella pneumoniae infections and outbreaks by whole-Genome analysis; small-scale italian scenario within a Single hospital[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(9): 2861-2868.
- [18] ZHANG X, PENG C, ZHANG G, et al. Comparative analysis of essential genes in prokaryotic genomic islands [J]. *Sci Rep*, 2015, 5(7): 12561.
- [19] DARLING C E, MAU B, BLATTNER F R, et al. Mauve: Multiple alignment of conserved genomic sequence with rearrangements[J]. *Genome Res*, 2004, 14(7): 1394-1403.
- [20] BRARD S, CHATEAU A, POMPIDOR N, et al. Aligning the unalignable: bacteriophage whole genome alignments [J]. *BMC Bioinformatics*, 2016, 17(1): 30.
- [21] CHE D, HASAN M S, WANG H, et al. EGID: an ensemble algorithm for improved genomic island detection in genomic sequences[J]. *Bioinformatics*, 2011, 7(6): 311-314.
- [22] YOON S H, PARK Y K, KIM J F. PAIDB v2.0: exploration and analysis of pathogenicity and resistance islands. *Nucleic Acids Res*, 2015, 4(1): D624-D630.
- [23] BERTELLI C, LAIRD M R, WILLIAMS K P, et al. IslandViewer 4: expanded prediction of genomic islands for larger-scale datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(5): W30-W35.