



## 超嗜热古菌整合性遗传元件的研究进展

李臻<sup>1,2</sup>, 宋庆浩<sup>1,2</sup>, 徐俊<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>上海交通大学生命科学技术学院, 微生物代谢国家重点实验室, 上海 200240

<sup>2</sup>上海交通大学海洋研究院, 上海 200240

**摘要:** 细菌中整合性遗传元件与 DNA 修饰和防御、毒力因子传播以及次级代谢等生理功能存在关联, 而相关研究在超嗜热古菌中尚处于起步阶段。本文综述了超嗜热古菌中整合性病毒、质粒及基因组岛等整合性遗传元件的分类、整合及维持机制。展示了整合性遗传元件参与的水平基因转移过程在超嗜热古菌基因组演化中扮演的重要角色。整合性遗传元件相关功能基因组学研究为理解超嗜热古菌的多样性及其环境适应性机制提供了新的视角。

**关键词:** 超嗜热古菌, 整合性遗传元件, 基因组进化, 环境适应

整合性遗传元件是基因水平转移的重要载体, 微生物基因组中整合性遗传元件通过基因水平转移形式进入或者移出细胞, 可能带来特定条件下新的生理表型<sup>[1]</sup>。已报道整合性遗传元件与细菌毒力因子扩散、基因组 DNA 的修饰和防御、次级代谢等功能有关<sup>[2-3]</sup>。超嗜热古菌通常是指最适生长温度约 80 °C 或以上的古菌, 主要分布于火山、热泉和海底热液等高温环境<sup>[4]</sup>。研究表明, 水平基因转移在超嗜热微生物基因组的演化中扮演了重要角色<sup>[5]</sup>。以下从超嗜热古菌中整合性遗传元件的类型、整合和维持机制, 及其对环境适应性的影响进行介绍。

### 1 超嗜热古菌整合性遗传元件类型

整合性质粒、(原)噬菌体、转座子、接合子及基因组岛等是整合性遗传元件的重要类型。在泉古菌门中的硫化叶菌属(*Sulfolobus*)和酸菌属(*Acidianus*), 以及广古菌门中的热球菌属(*Thermococcus*)中都发现了超嗜热古菌的整合性病毒。伴随着超嗜热古菌基因组信息的大量出现, 更多整合性的质粒、转座子和基因组岛等遗传元件被鉴定出来。到目前为止, 已描述的超嗜热古菌整合性遗传元件主要有如下类型。

基金项目: 国家自然科学基金(41376137)

\*通信作者。Tel: +86-21-34207208; Fax: +86-21-34207205; E-mail: xujunn@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2017-06-11; 修回日期: 2017-07-02; 网络出版日期: 2017-07-11

## 1.1 超嗜热古菌整合性病毒

来自泉古菌门硫化叶菌科 *Sulfolobus* 属的 SSV 病毒目前包含 9 个成员(SSV1-9), 它们的宿主范围具有显著差异。其中 SSV1 病毒是研究最深入的超嗜热古菌病毒, 它以整合性的原病毒或低拷贝数的质粒形式存在于宿主体内。通常情况下, SSV1 在每个细胞中有 3-4 个拷贝, 而在 UV 辐射或丝裂霉素 C 处理后可以产生大量的病毒颗粒(每个细胞达到 100 拷贝)<sup>[6]</sup>。同属于硫化叶菌科的 *Acidianus convivator* 的 ATV 病毒是目前仅有的 1 株可在酸热条件下导致细胞裂解的病毒。从宿主细胞释放后, ATV 病毒仍然可以进行形态发育, 这可能是其面对严酷环境和宿主数量有限时的一种生存策略<sup>[7]</sup>。此外, 需氧型超嗜热泉古菌气火菌 *Aeropyrum pernix* 包含的 2 个原病毒 APSV1 和 APOV1 分别整合在其基因组 *tRNA<sup>Val</sup>* 和 *tRNA<sup>Leu</sup>* 位点处, 可以在非最适条件下(缺氧)被诱导复制<sup>[8]</sup>。

TPV1 是第 1 株分离自超嗜热广古菌 *Thermococcus* 属的病毒, 可感染的宿主包括 *T. prieurii*、*T. barophilus*、*T. celer*、*T. gorgonarius* 和 *T. kodakaraensis*。TPV1 感染后不会裂解细胞, 而是导致细胞生长迟缓<sup>[9]</sup>。TPV1 可以高拷贝的游离形态存在于宿主细胞中, 经 UV 辐射诱导后 TPV1 病毒粒子可达到约  $10^{11}$ /mL。TPV1 病毒基因组为 21.5 kb 的双链环状 DNA, 包含 28 个假定基因, 其中具有明确功能注释的基因可编码酪氨酸重组酶, 以及一些参与基因组复制和转录调控的蛋白<sup>[10]</sup>。*T. kodakaraensis* KOD1 基因组中存在有 4 个原病毒。其中 TKV1、TKV2 和 TKV3 分别整合在 *tRNA<sup>Val</sup>*、*tRNA<sup>Glu</sup>* 和 *tRNA<sup>Arg</sup>* 基因下游, 而 TKV4 的整合位点的序列则与其余 3 个原病毒明显不同<sup>[11]</sup>。此外, 在 *T. gammatolerans* 中也存在病毒状整合性

遗传元件 TGV1 和 TGV2<sup>[12]</sup>。TGV1 中整合酶的编码序列(*intC*和*intN*)与 *T. kodakaraensis* KOD1 以及 *P. horikoshii* 中的整合酶的编码序列高度相似, 表明这些移动元件之间的亲缘关系非常紧密。

## 1.2 超嗜热古菌整合性质粒

**1.2.1 *Sulfolobus* 属整合性质粒:** *Sulfolobus* 属 pRN 型隐秘质粒可来自多种地热环境, 大小从 5 kb 到 14 kb 左右不等。所有的 pRN 型质粒都包含有 3 个特征基因 *copG*、*plrA* 和 *repA*, 推测这类质粒具有共同的复制机制<sup>[13]</sup>。pRN 型质粒如 pXQ1 可以整合在 *S. solfataricus* 基因组中, 而 pST1 和 pST3 则整合在 *S. tokodaii* 基因组中<sup>[13]</sup>。此外, 在 *S. islandicus* REY15/4 中还发现了需要 SSV1 和 SSV2 作为辅助病毒而形成的病毒-质粒混合元件(pSSVx 和 pSSVi), 可通过包装成病毒的形式进行传播<sup>[14]</sup>。

pNOB8 是第一个古菌来源的接合质粒, 分离自超嗜热古菌 *Sulfolobus* NOB8-H2 菌株<sup>[15]</sup>。属于 pNOB8 型质粒的还有来源于 *S. islandicus* 菌株的 pING1 质粒及其一系列衍生体<sup>[16]</sup>, 以及 pSOG 家族的质粒(如 pSOG1、pSOG2)也相继被发现。pSOG 家族质粒均可位点特异性地整合在 *tRNA<sup>Glu</sup>* 处<sup>[17]</sup>。整合性接合质粒 pKEF9 通过接合转移方式进入受体菌 *S. islandicus* REY15A 中复制, 并快速产生大量拷贝导致强烈的生长迟滞, 同时可以激活宿主体内 CRISPR/Cas 系统做出响应<sup>[18]</sup>。

**1.2.2 *Thermococcus* 属整合性质粒:** pT26-2 质粒分离自超嗜热古菌 *Thermococcus* sp. 26-2 中, 其基因组中包含的 32 个 ORFs 中仅有 4 个可预测出功能, 包括 1 个 SSV 型整合酶、1 个丝氨酸重组酶和 2 个 ATP 酶<sup>[19]</sup>。pT26-2 质粒编码的蛋白与 TKV2、TKV3、TGV1 和 PHV1 病毒基因组编码的蛋白存在

相似性。在产甲烷球菌属 *Methanococcus*, 如 *M. maripaludis* 和 *M. voltae* 中同样发现了这些同源蛋白组成的基因簇<sup>[20]</sup>, 暗示了 *Thermococcus* 和 *Methanococcus* 这 2 个古菌种属中的整合性遗传元件在形式与功能上具有紧密的联系。

### 1.3 超嗜热古菌基因组岛

**1.3.1 基因组岛的一般特征:** 基因组岛存在于细菌和古菌基因组中, 是由整合性质粒、转座子、病毒(或原病毒)等遗传元件与其他功能基因组形成的大型可移动遗传元件<sup>[21]</sup>, 按其功能可分为致病性岛<sup>[22]</sup>、代谢性岛<sup>[23]</sup>以及修饰和防御性岛<sup>[3]</sup>等。基因组岛共有的特征包括: 基因组岛通常是位于宿主 *tRNA* 基因处的一段 10–200 kb 长的 DNA 片段; G+C 含量与核心基因组存在明显差异; 在基因组岛的两端形成正向重复序列(DRs)<sup>[21]</sup>。基因组岛可以在整合酶作用下整合到基因组或发生切离。一些与移动相关的基因(如整合酶、转座酶及 IS 序列)与防御相关基因[如限制-修饰(RM)系统和 CRISPR/Cas 系统], 以及与生理应激相关基因[如毒素-抗毒素(TA)系统]等也经常出现在基因组岛中<sup>[21]</sup>(图 1)。

**1.3.2 超嗜热古菌中的基因组岛:** White 等预测在 *P. furiosus* 基因组中存在有(G+C)%含量明显区别于基因组其他区域的 6 个假定的基因组岛, 在不同的 *P. furiosus* 菌株中基因组岛内基因的组织形式具有较大的差异<sup>[24]</sup>。这些基因组岛中包含的基因数目从 5 个到 126 个不等, 大多数编码了无法进

行功能注释的未知蛋白, 没有发现必需的或看家基因<sup>[24]</sup>。*P. furiosus* 中的这些基因组岛中携带的原病毒序列也出现在海洋蓝藻 *Prochlorococcus marinus* 和嗜盐古菌 *Haloquadratum walsbyi* 的基因组中<sup>[25–26]</sup>, 暗示这些基因组岛的形成可能和病毒介导的水平基因转移相关。此外, 在 *Aeropyrum* 和 *Sulfolobus* 中都存在多重复复制起始区, 其中 *A. pernix* 的 DNA 复制起始位点 *oriC2* 毗邻的基因序列呈现出马赛克排列特征, 并且与 *S. solfataricus* 中的 2 个复制起始位点 *SsoriC1* 和 *SsoriC3* 中毗邻的基因序列具有相似性。在这 2 个菌株的复制起始区都包含有 *tRNA* 基因和病毒整合酶, 如 *AporiC2* 中插入的 1 个 *tRNA<sup>Arg</sup>* 基因及相邻序列与 *SsoriC1* 中反向末端区域序列相似, 并且这段序列也存在于 *SsoriC3* 中。以上结果显示基因组岛的整合可能对于 DNA 复制起始区结构的塑造起着重要的作用<sup>[27]</sup>。

最近对国际上首例报道的一株超嗜热严格嗜压古菌 *P. yayanosii* 的基因组序列研究显示, 其基因组中包含了 15 个假定的基因组岛, 其中最大的基因组岛 PYG1 可以通过一个 Xer 类型的整合酶识别 43 bp (与 *tRNA<sup>Gln</sup>* 共有)的 *att* 序列而整合在 *tRNA<sup>Gln</sup>* 处, 或自发地从染色体中环出。有趣的是, PYG1 中的功能模块与另一超嗜热嗜压古菌 *T. barophilus* MP 的基因组岛 TBG1 及其内源质粒 pTBMP1 中部分区域的序列高度相似, 暗示该基因组岛的形成过程经历了基因水平转移和重排<sup>[28]</sup>。

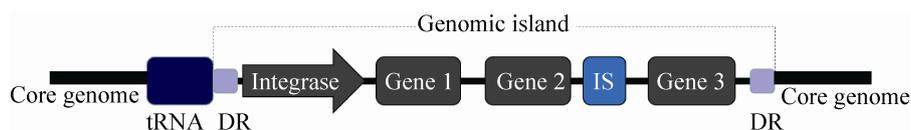


图 1. 基因组岛结构示意图<sup>[21]</sup>

Figure 1. Schematic diagram of genomic islands<sup>[21]</sup>. DR: direct repeat sequence; IS: insert sequence.

## 2 超嗜热古菌整合性遗传元件的整合及维持

大多数整合性遗传元件能在整合酶的作用下整合到基因组中特定的 *tRNA* 基因末端。这些整合性遗传元件中通常会携带有限制-修饰系统(RM)或毒素-抗毒素系统(TA)的编码基因, 推测这些基因与维持可移动性遗传元件在宿主体内稳定存在等生理功能相关。

### 2.1 整合性遗传元件的整合

整合性遗传元件可在宿主染色体中经历整合、环化和删除过程, 并通过接合转移等水平基因转移方式进入到其他宿主中去。酪氨酸重组酶介导整合性遗传元件上的 *attP* 位点与基因组 DNA 上的 *attB* 位点之间发生重组, 对该酶的晶体结构分析表明, 在保守的结构基元 His-X-X-Arg 中的 His 残基、Arg 残基及其上游的另外一个 Arg 残基和下游直接参与酯基转移反应的 Tyr 残基一起构成了酪氨酸重组酶的催化活性中心<sup>[29]</sup>。

**2.1.1 超嗜热古菌整合酶:** SSV1 病毒中的整合酶是首个通过体内及体外实验验证的超嗜热古菌整合酶。根据古菌整合性遗传元件整合酶的特征不同可分成两种类型: 一种被称为 SSV 型, 在发生整合之后整合酶基因分成两段序列存在于整合性

遗传元件两端; 另一种被称为 pNOB8 型, 在发生整合之后整合酶的基因序列仍然保持完整(图 2)。在当前已知的超嗜热古菌整合性病毒中(如 SSV、ATV 和 TPV)、隐秘质粒 pRN 家族的 pXQ1 以及 pT26-2 等整合性接合质粒所编码的整合酶均属于 SSV 型整合酶。SSV 整合酶可同时催化病毒的整合和删除反应, 27 bp 的特异性 DNA 序列是其酶反应所需最短序列<sup>[30]</sup>。对于 pNOB8 型整合酶, 目前仅发现存在于 *Sulfolobus* 的 pNOB8 质粒及 pING 家族的接合质粒中, 尚没有在 *Sulfolobus* 来源的病毒中发现此类整合酶。

系统发育分析显示古菌来源的 SSV 和 pNOB8 型整合酶可以形成独立的分支, 而古菌中的 XerC/D 类型的重组酶则与细菌中的 Xer 类型的整合酶形成一个家族分支<sup>[13]</sup>。在细菌中, XerC/D 蛋白参与了对染色体复制过程中二聚体的解除, 确保了细胞周期中染色体的正常分离<sup>[31]</sup>。我们在 *P. yayanosii* 基因组岛 PYG1 中发现其携带的酪氨酸重组酶含有 XerC/D 的保守结构域, 暗示了该重组酶不仅可以介导 PYG1 在基因组上的位点特异性整合和删除, 同时可能对于染色体复制过程中的 DNA 修复具有重要作用<sup>[28]</sup>。

**2.1.2 整合酶的目标序列:** 到目前为止古菌中所有已鉴定的整合性遗传元件, 如质粒、病毒、基

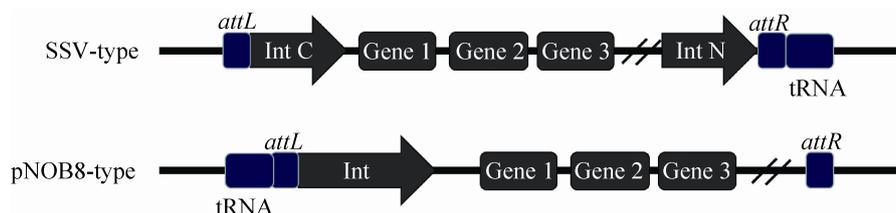


图 2. 古菌整合性遗传元件基本类型示意图<sup>[13]</sup>

Figure 2. Basic structure of two types of archaeal integrative genetic elements<sup>[13]</sup>. SSV-type: the integrase will be divided into two parts after integration; pNOB8-type: the integrase will be maintained as an intact gene after integration.

因组岛等几乎都以 *tRNA* 基因作为位点特异性重组的靶位点, 因此, 与 *tRNA* 基因连锁的重复序列 *attL* 或 *attR* 位点已经被作为古菌中鉴定整合性遗传元件的标准<sup>[32]</sup>。然而, 一个有缺陷的古菌 psiM100 病毒可以利用仅有 AT 碱基的序列作为 *att* 位点<sup>[33]</sup>, *S. solfataricus* SSV9 病毒可以整合在一个非 *tRNA* 位点, 表明除了 *tRNA* 基因外其他序列也可能是古菌整合性遗传元件的靶序列<sup>[34]</sup>。

## 2.2 整合性遗传元件的维持

整合性遗传元件在体内稳定存在的原因主要有: 一方面环境因子作为选择压力可维持这些元件的稳定遗传, 从而为宿主提供特定环境下的生态优势, 例如深海嗜压发光杆菌属 *Photobacterium profundum* SS9 菌株中 3 个基因组岛在压力敏感型的衍生菌株 3TCK 中会发生丢失<sup>[35]</sup>; 另一方面, 这些元件携带了维持其稳定遗传的相关基因, 如在铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* 中, 整合性接合元件 PAGI-1 的稳定遗传与其携带有和 *Bacillus subtilis* 中负责染色体分配和质粒稳定遗传的 Soj 蛋白的相似编码序列有关<sup>[36]</sup>。此外, 研究显示毒素-抗毒素系统和限制-修饰系统对于可移动整合性遗传元件在体内的稳定维持具有促进作用<sup>[37-38]</sup>。

**2.2.1 毒素-抗毒素(TA)系统:** 在细菌和古菌基因组中通常会有多个定位于染色体以及病毒、质粒等遗传元件上的 TA 系统。典型的 TA 系统由毒素蛋白和抗毒素蛋白构成, 抗毒素蛋白通过与毒素蛋白结合或抑制毒素蛋白翻译, 从而抵消毒素对细胞的毒性<sup>[39]</sup>。近来通过生物信息学分析在几个硫化叶菌、热球菌和产甲烷菌的移动元件中鉴定了一些 RelBE 和 VapBC 家族的 TA 系统<sup>[19]</sup>。*S. solfataricus* 中 VapBC 家族的 TA 系统可以在热激

状态(80–90 °C)下被诱导表达, 但此类 TA 系统在热应激反应中生理功能尚不得而知<sup>[40]</sup>。TA 系统可以稳定基因组中大的非必需(或不稳定) DNA 区域, 并且往往作为自私基因传播, 以增强 TA 系统自身出现的频率<sup>[41]</sup>。在弧菌属 *Vibrio cholerae* 中整合性接合元件 SXT 内部携带的 TA 系统(*mosT* 和 *mosA*)可以维持 SXT 在体内的稳定遗传<sup>[37]</sup>; 在乳球菌属 *Lactococcus lactis* 中 AbiE 型 TA 系统可以促进不稳定质粒在 *L. lactis* 体内的稳定遗传<sup>[42]</sup>。在古菌 *P. yayanosii* 的基因组岛 PYG1 中, 我们也发现存在一个假定的 AbiE 型 TA 系统<sup>[28]</sup>, 然而其是否参与维持 PYG1 稳定遗传尚未得到证实。

**2.2.2 限制-修饰(RM)系统:** 在细菌和古菌中, RM 系统经常存在于可移动元件中或通过水平基因转移获得, 具有限制质粒的传播和外源 DNA 侵入的功能<sup>[38]</sup>。与 TA 系统类似, RM 系统也被认为是一种自私基因。例如, 编码了 II 型 RM 系统的质粒如果在细胞分裂后的一些子细胞中发生随机丢失, 就会导致细胞的死亡, 这种行为被称为分离后致死<sup>[43]</sup>。因此, 携带 II 型 RM 系统的质粒倾向于在宿主细胞中稳定遗传。基因组上编码的 RM 系统也在维持基因组稳定方面发挥作用, 如基因组岛等整合在基因组中的遗传元件可能会在传代过程中发生丢失, 然而一些携带有 RM 系统的基因组岛则可以稳定存在于基因组中<sup>[38]</sup>。

## 3 超嗜热古菌整合性遗传元件与环境适应性

超嗜热古菌中, 整合性遗传元件等可移动元件对于宿主基因组的塑造作用至关重要。同时, 通过移动元件的整合带来新的功能基因也可改变

超嗜热古菌 *Thermococcus* 和 *Pyrococcus* 的环境适应性<sup>[5]</sup>。譬如, *P. furiosus* 和 *P. woesei* 在利用麦芽糖方面存在差异,是由于在 *P. furiosus* 中携带的一段含有海藻糖/麦芽糖转运系统的 16 kb DNA 区域与其两端的 IS 序列和相邻转座酶构成了一个复合型转座元件所致,而 *P. woesei* 中由于没有该转座元件,则不能利用麦芽糖<sup>[44]</sup>。此外,该转座元件还携带了与硫酸盐运输、过氧化物解毒以及多肽降解相关的基因,这些基因赋予了宿主菌株在不同营养环境下的生态优势及适应性。同时该元件可以在 *P. furiosus* 和 *T. litoralis* 之间发生转移,从而影响各自的基因组构成<sup>[44]</sup>。*P. furiosus* 菌株基因组中 6 个假定的基因组岛参与的基因组重排对于此类维持超嗜热古菌的遗传多样性,并应对快速变化的环境是必需的<sup>[24]</sup>。对 *T. kodakaraensis* KOD1 中 4 个病毒状整合性遗传元件的遗传研究发现,缺失了 4 个整合性遗传元件的突变株在 85 °C 培养条件下,细胞数量和生长速率降低,说明这些病毒状整合性遗传元件对细胞的正常生长是必需的<sup>[45]</sup>。将超嗜热嗜压古菌 *P. yayanosii* 中的基因组岛 PYG1 敲除后,发现突变株的生物量在高温(100 °C)培养条件下显著下降,而在高压(80 MPa)培养条件下反而显著上升<sup>[28]</sup>。该研究结果显示了该基因组岛在参与超嗜热古菌自身的代谢调节或环境应激调控中具有重要的作用。

## 4 小结

分离自海洋热液口、热泉及火山的超嗜热古菌显示出广泛的基因组重排现象,特别是在基因组中的特殊“热点”区域经常发现含有整合性遗传元件存在,被认为与基因组演化过程中发生的大量水平基因转移事件相关。这些整合性遗传元件

中携带的基因,既可看作是促进超嗜热古菌种属分化的分子印记,也可通过参与代谢过程或调控特定条件下基因表达而帮助超嗜热古菌适应不断变化的环境<sup>[46]</sup>。此外,对于超嗜热古菌整合性遗传元件的研究不仅可以增强对超嗜热古菌基因组与环境协同演化的理解,也将为开发相关的分子遗传学工具奠定基础。

## 参考文献

- [1] Wozniak RAF, Waldor MK. Integrative and conjugative elements: mosaic mobile genetic elements enabling dynamic lateral gene flow. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(8): 552–563.
- [2] Martin-Cuadrado AB, Pašić L, Rodriguez-Valera F. Diversity of the cell-wall associated genomic island of the archaeon *Haloquadratum walsbyi*. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 603.
- [3] Makarova KS, Wolf YI, Snir S, Koonin EV. Defense islands in bacterial and archaeal genomes and prediction of novel defense systems. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(21): 6039–6056.
- [4] Stetter KO. A brief history of the discovery of hyperthermophilic life. *Biochemical Society Transactions*, 2013, 41(1): 416–420.
- [5] van Wolferen M, Ajon M, Driessen AJM, Albers SV. How hyperthermophiles adapt to change their lives: DNA exchange in extreme conditions. *Extremophiles*, 2013, 17(4): 545–563.
- [6] Wang HN, Peng N, Shah SA, Huang L, She QX. Archaeal extrachromosomal genetic elements. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2015, 79(1): 117–152.
- [7] Häring M, Vestergaard G, Rachel R, Chen LM, Garrett RA, Prangishvili D. Virology: independent virus development outside a host. *Nature*, 2005, 436(7054): 1101–1102.
- [8] Daifuku T, Yoshida T, Sako Y. Genome variation in the hyperthermophilic archaeon *Aeropyrum*. *Mobile Genetic Elements*, 2013, 3(5): e26833.
- [9] Gorlas A, Koonin EV, Bienvenu N, Prieur D, Geslin C. TPV1, the first virus isolated from the hyperthermophilic genus *Thermococcus*. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(2):

- 503–516.
- [10] She Q, Shen B, Chen L. Archaeal integrases and mechanisms of gene capture. *Biochemical Society Transactions*, 2004, 32(2): 222–226.
- [11] Fukui T, Atomi H, Kanai T, Matsumi R, Fujiwara S, Imanaka T. Complete genome sequence of the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 and comparison with *Pyrococcus* genomes. *Genome Research*, 2005, 15(3): 352–363.
- [12] Zivanovic Y, Armengaud J, Lagorce A, Leplat C, Guérin P, Dutertre M, Anthouard V, Forterre P, Wincker P, Confalonieri F. Genome analysis and genome-wide proteomics of *Thermococcus gammatolerans*, the most radioresistant organism known amongst the Archaea. *Genome Biology*, 2009, 10(6): R70.
- [13] She QX, Brügger K, Chen LM. Archaeal integrative genetic elements and their impact on genome evolution. *Research in Microbiology*, 2002, 153(6): 325–332.
- [14] Arnold HP, She QX, Phan H, Stedman K, Prangishvili D, Holz I, Kristjansson JK, Garrett R, Zillig W. The genetic element pSSVx of the extremely thermophilic crenarchaeon *Sulfolobus* is a hybrid between a plasmid and a virus. *Molecular Microbiology*, 1999, 34(2): 217–226.
- [15] Schleper C, Holz I, Janekovic D, Murphy J, Zillig W. A multicopy plasmid of the extremely thermophilic archaeon *Sulfolobus* effects its transfer to recipients by mating. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(15): 4417–4426.
- [16] Stedman KM, She QX, Phan H, Holz I, Singh H, Prangishvili D, Garrett R, Zillig W. pING family of conjugative plasmids from the extremely thermophilic archaeon *Sulfolobus islandicus*: insights into recombination and conjugation in Crenarchaeota. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(24): 7014–7020.
- [17] Erauso G, Stedman KM, van de Werken HJG, Zillig W, van der Oost J. Two novel conjugative plasmids from a single strain of *Sulfolobus*. *Microbiology*, 2006, 152(7): 1951–1968.
- [18] Liu GN, She QX, Garrett RA. Diverse CRISPR-Cas responses and dramatic cellular DNA changes and cell death in pKEF9-conjugated *Sulfolobus* species. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(9): 4233–4242.
- [19] Krupovic M, Gonnet M, Hania WB, Forterre P, Erauso G. Insights into dynamics of mobile genetic elements in hyperthermophilic environments from five new *Thermococcus* plasmids. *PLoS One*, 2013, 8(1): e49044.
- [20] Krupovič M, Gribaldo S, Bamford DH, Forterre P. The evolutionary history of archaeal MCM helicases: a case study of vertical evolution combined with hitchhiking of mobile genetic elements. *Molecular Biology and Evolution*, 2010, 27(12): 2716–2732.
- [21] Juhas M, van der Meer JR, Gaillard M, Harding RM, Hood DW, Crook DW. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, 33(2): 376–393.
- [22] Hapfelmeier S, Stecher B, Barthel M, Kremer M, Müller AJ, Heikenwalder M, Stallmach T, Hensel M, Pfeffer K, Akira S, Hardt WD. The *Salmonella* pathogenicity island (SPI)-2 and SPI-1 type III secretion systems allow *Salmonella serovar typhimurium* to trigger colitis via MyD88-dependent and MyD88-independent mechanisms. *The Journal of Immunology*, 2005, 174(3): 1675–1685.
- [23] Xu MJ, Wang JH, Bu XL, Yu HL, Li P, Ou HY, He Y, Xu FD, Xu XY, Zhu XM, Ao P, Xu J. Deciphering the streamlined genome of *Streptomyces xiamenensis* 318 as the producer of the anti-fibrotic drug candidate xiamenmycin. *Scientific Reports*, 2016, 6: 18977.
- [24] White JR, Escobar-Paramo P, Mongodin EF, Nelson KE, DiRuggiero J. Extensive genome rearrangements and multiple horizontal gene transfers in a population of *Pyrococcus* isolates from Vulcano Island, Italy. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(20): 6447–6451.
- [25] Coleman ML, Sullivan MB, Martiny AC, Steglich C, Barry K, Delong EF, Chisholm SW. Genomic islands and the ecology and evolution of *Prochlorococcus*. *Science*, 2006, 311: 1768–1770.
- [26] Cuadros-Orellana S, Martin-Cuadrado AB, Legault B, D’Auria G, Zhaxybayeva O, Papke RT, Rodriguez-Valera F. Genomic plasticity in prokaryotes: the case of the square haloarchaeon. *The ISME Journal*, 2007, 1(3): 235–245.
- [27] Robinson NP, Bell SD. Extrachromosomal element capture and the evolution of multiple replication origins in archaeal chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(14):

- 5806–5811.
- [28] Li Z, Li XG, Xiao X, Xu J. An integrative genomic island affects the adaptations of the piezophilic hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus yayanosii* to high temperature and high hydrostatic pressure. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1927.
- [29] Esposito D, Scocca JJ. The integrase family of tyrosine recombinases: evolution of a conserved active site domain. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(18): 3605–3614.
- [30] Zhan ZY, Zhou J, Huang L. Site-specific recombination by SSV2 integrase: substrate requirement and domain functions. *Journal of Virology*, 2015, 89(21): 10934–10944.
- [31] Cortez D, Quevillon-Cheruel S, Gribaldo S, Desnoves N, Sezonov G, Forterre P, Serre MC. Evidence for a Xer/dif system for chromosome resolution in archaea. *PLoS Genetics*, 2010, 6(10): e1001166.
- [32] Reiter WD, Palm P, Yeats S. Transfer RNA genes frequently serve as integration sites for prokaryotic genetic elements. *Nucleic Acids Research*, 1989, 17(5): 1907–1914.
- [33] Luo YN, Pfister P, Leisinger T, Wasserfallen A. The genome of archaeal prophage  $\Psi$ M100 encodes the lytic enzyme responsible for autolysis of *Methanothermobacter wolfeii*. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(19): 5788–5792.
- [34] Contursi P, Fusco S, Cannio R, She QX. Molecular biology of *Fuselloviruses* and their satellites. *Extremophiles*, 2014, 18(3): 473–489.
- [35] Campanaro S, Vezzi A, Vitulo N, Lauro FM, D'Angelo M, Simonato F, Cestaro A, Malacrida G, Bertoloni G, Valle G, Bartlett DH. Laterally transferred elements and high pressure adaptation in *Photobacterium profundum* strains. *BMC Genomics*, 2005, 6(1): 122.
- [36] Klockgether J, Reva O, Larbig K, Tümmler B. Sequence analysis of the mobile genome island pKLC102 of *Pseudomonas aeruginosa* C. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(2): 518–534.
- [37] Wozniak RAF, Waldor MK. A toxin-antitoxin system promotes the maintenance of an integrative conjugative element. *PLoS Genetics*, 2009, 5(3): e1000439.
- [38] Vasu K, Nagaraja V. Diverse functions of restriction-modification systems in addition to cellular defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2013, 77(1): 53–72.
- [39] Yamaguchi Y, Park JH, Inouye M. Toxin-antitoxin systems in bacteria and archaea. *Annual Review of Genetics*, 2011, 45(1): 61–79.
- [40] Cooper CR, Daugherty AJ, Tachdjian S, Blum PH, Kelly RM. Role of *vapBC* toxin—antitoxin loci in the thermal stress response of *Sulfolobus solfataricus*. *Biochemical Society Transactions*, 2009, 37(1): 123–126.
- [41] van Melderen L, de Bast MS. Bacterial toxin—antitoxin systems: more than selfish entities? *PLoS Genetics*, 2009, 5(3): e1000437.
- [42] Dy RL, Przybilski R, Semeijn K, Salmond GPC, Fineran PC. A widespread bacteriophage abortive infection system functions through a Type IV toxin—antitoxin mechanism. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(7): 4590–4605.
- [43] Loenen WAM, Raleigh EA. The other face of restriction: modification-dependent enzymes. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(1): 56–69.
- [44] DiRuggiero J, Dunn D, Maeder DL, Holley-Shanks R, Chatard J, Horlacher R, Robb FT, Boos W, Weiss RB. Evidence of recent lateral gene transfer among hyperthermophilic archaea. *Molecular Microbiology*, 2000, 38(4): 684–693.
- [45] Tagashira K, Fukuda W, Matsubara M, Kanai T, Atomi H, Imanaka T. Genetic studies on the virus-like regions in the genome of hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakarensis*. *Extremophiles*, 2013, 17(1): 153–160.
- [46] Soucy SM, Huang JL, Gogarten JP. Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nature Reviews Genetics*, 2015, 16(8): 472–482.

# Advances in studies on the integrative genetic elements of hyperthermophilic archaea

Zhen Li<sup>1,2</sup>, Qinghao Song<sup>1,2</sup>, Jun Xu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> State Key Laboratory of Microbial Metabolism, School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

<sup>2</sup> Institute of Oceanology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

**Abstract:** The integrative genetic elements involved in the spreading of virulence factors, defense and DNA modification, and secondary metabolism have been characterized in bacteria, but similar investigations on the function of the hyperthermophilic archaeal counterparts are still very rare. This review summarizes the reported groups of integrative genetic elements, the mechanism of integration and maintenance of such genetic elements in hyperthermophilic archaea. The horizontal gene transfer processes mediated by integrative genetic elements play important roles in the genome evolution of hyperthermophilic archaea. Functional genomic studies of integrative genetic elements provide a new perspective for understanding the diversity and environmental adaptability of hyperthermophilic archaea.

**Keywords:** hyperthermophilic archaea, integrative genetic element, genome evolution, environmental adaptation

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41376137)

\*Corresponding author. Tel: +86-21-34207208; Fax: +86-21-34207205; E-mail: xujunn@sjtu.edu.cn

Received: 11 June 2017; Revised: 2 July 2017; Published online: 11 July 2017



徐俊, 2003 年获日本筑波大学博士学位。曾任国家海洋局第三海洋研究所责任研究员, 厦门大学海洋与环境学院兼职教授。现任上海交通大学微生物代谢国家重点实验室、上海交通大学海洋研究院研究员。上海市生态学会理事。参加中国大洋科学考察 2 次, 曾任大洋第 22 航次第一航段首席助理。参与了《中国大洋(国际海域)生物及基因资源发展战略及规划》的编写和“海洋微生物资源采集与国家海洋微生物资源共享平台”的建设工作。研究方向包括海洋微生物天然产物生物合成机制、极端微生物环境适应性机理和微生物海洋学。

主持完成国家自然科学基金、国家“863”项目、中国大洋专项等多项课题。鉴定了 6 个海洋微生物新种, 解析了抗纤维化活性化合物厦门霉素的生物合成途径, 建立了深海来源嗜压、超嗜热古菌 *Pyrococcus yayanosii* 的遗传操作系统。