



细菌中介导多重耐药的 Tn7 转座子研究进展

陈璇, 毛铃雅, 王钦, 王红宁*, 雷昌伟*

四川大学生命科学学院 生物资源与生态环境教育部重点实验室 动物疫病防控与食品安全四川省重点实验室, 四川 成都 610065

陈璇, 毛铃雅, 王钦, 王红宁, 雷昌伟. 细菌中介导多重耐药的 Tn7 转座子研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(11): 4133-4143.
CHEN Xuan, MAO Lingya, WANG Qin, WANG Hongning, LEI Changwei. Research progress in Tn7 transposons mediating multidrug resistance in bacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(11): 4133-4143.

摘要: 转座子是介导细菌耐药性传播的重要可移动遗传元件。Tn7 转座子与细菌耐药密切相关, 其携带转座模块和 II 类整合子系统。Tn7 编码转座相关蛋白 TnsABCDE 进行“剪切-粘贴”机制转座, 转座核心 TnsABC 也可与三链 DNA 或 Cas-RNA 复合物结合实现转座。近年来新发现了多种介导多重耐药的 Tn7 转座子, 其在介导细菌抗生素、消毒剂 and 重金属抗性基因的获得、传播扩散等方面发挥了重要作用。本文综述了细菌中 Tn7 转座子的遗传结构、转座机制、流行以及新发现的介导多重耐药的 Tn7 转座子, 以期为细菌中 Tn7 转座子的深入研究提供参考。

关键词: 转座子; Tn7; 转座机制; 多重耐药

Research progress in Tn7 transposons mediating multidrug resistance in bacteria

CHEN Xuan, MAO Lingya, WANG Qin, WANG Hongning*, LEI Changwei*

Key Laboratory of Bio-resource and Eco-environment of Ministry of Education, Animal Disease Prevention and Food Safety Key Laboratory of Sichuan Province, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, Sichuan, China

Abstract: Transposons are important mobile genetic elements that mediate the spread of antimicrobial resistance. The transposon Tn7 is closely associated with antimicrobial resistance,

资助项目: 国家自然科学基金(32100147, 31830098)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32100147, 31830098).

*Corresponding authors. E-mail: WANG Hongning, whongning@163.com; LEI Changwei, leichangwei@scu.edu.cn

Received: 2023-04-03; Accepted: 2023-07-04; Published online: 2023-07-10

carrying a transposition module and a class II integrin. Tn7 encodes the transposition-associated proteins TnsABCDE for cut-and-paste transposition, and the transposition core machinery TnsABC can bind to triple-stranded DNA or Cas (clustered regularly interspaced short palindromic repeats associated)-RNA complexes to achieve transposition. In recent years, researchers have identified several novel Tn7 transposons mediating multidrug resistance, which play a role in mediating the acquisition and spread of bacterial genes conferring resistance to antibiotics, disinfectants, and heavy metals. In this paper, we review the genetic structure, transposition mechanism, prevalence of Tn7 transposons and novel Tn7 transposons mediating multidrug resistance in bacteria, with a view to providing a reference for the in-depth study of Tn7 transposons in bacteria.

Keywords: transposon; Tn7; transposition mechanism; multidrug resistance

细菌耐药是全球公共健康领域面临的重大挑战，水平基因转移是导致细菌耐药性传播的主要原因。可移动遗传元件介导的耐药性传播引起全世界范围的广泛关注，与多重耐药相关的可移动遗传元件主要包括质粒、基因岛、整合性接合元件、整合子、转座子和插入序列等^[1-2]。转座子(transposons)是一类重要的可移动遗传元件，广泛地存在于自然界绝大多数生物基因组中，能够介导基因的水平转移、插入位点基因的失活、基因的表达调控和基因组重组，在生物进化中发挥重要作用^[3-4]。转座子可分为复合转座子和复杂转座子(TnA 转座子)。复合转座子是由 2 个相同或相关插入序列组成的区域，可以将抗性基因作为转座子的一部分移动。复杂转座子以倒置重复序列为界，包括转座酶基因和其他外源基因^[2]。抗生素抗性基因通常与 Tn3 家族转座子和 Tn7 家族转座子有关。

细菌中 Tn7 转座子是研究最多、分布最广的 DNA 转座子之一。Tn7 转座子编码参与转座的多个基因，包括转座酶调节因子，与 Tn3 家族的单个长转座酶基因不同。Tn7 有 2 种转座途径，一种是靶向染色体的单个中性位点(*attTn7*)^[5-7]，一种靶向质粒^[8]，这种高度进化的

靶位点选择机制有利于其在不同宿主菌中扩散，并将插入事件对宿主菌的负面影响降至最低^[9]。近年来在细菌中发现多种与耐药相关的新型 Tn7 家族转座子，其在介导细菌抗生素、消毒剂 and 重金属抗性基因的获得、传播扩散等方面发挥了重要作用。本文对细菌中 Tn7 转座子的遗传结构、转座机制、流行以及近年来发现的介导多重耐药的 Tn7 转座子进行综述，以期对细菌中介导多重耐药的 Tn7 转座子的深入研究提供参考。

1 Tn7 的遗传结构

Tn7 转座子两端序列高度保守，Tn7 的转座蛋白 TnsA、TnsB、TnsC、TnsD 和 TnsE 的编码基因位于 Tn7 的右端，左端是 II 类整合子系统，包括 1 个发生终止突变的 II 类整合酶(class II integrase, IntI2)编码基因和 3 个抗生素耐药基因盒(*dfrA1-sat2-aadA1*)^[10]。不完全相同的反向重复序列划定了 Tn7 转座子的两端，包括 1 个 8 bp 的末端序列和一系列高度相似的 22 bp 的转座酶 TnsB 识别位点(图 1)。Tn7-L 为 150 bp 左右，包括 3 个 TnsB 结合位点，分别相隔 42 bp 和 31 bp；Tn7-R 为 90 bp 左右，包括 4 个 TnsB

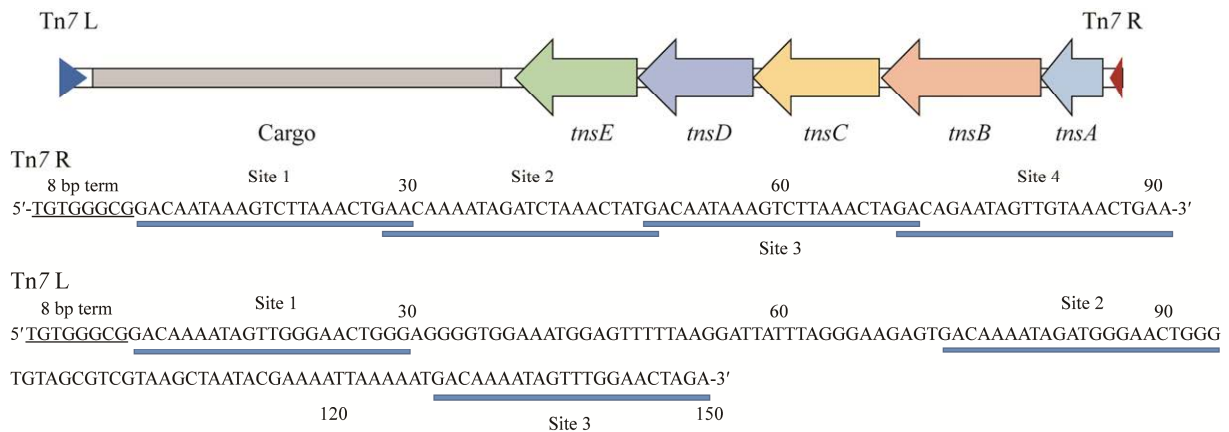


图1 Tn7 转座子的遗传结构

Figure 1 Genetic structure of the Tn7 transposon. The 8 bp terminal sequence is marked with an underscore. The 22 bp TnsB binding sites are shown as blue lines. Numbers indicate nucleotide positions.

结合位点, 彼此部分重叠。Tn7 相关元件的末端序列可以通过识别 5 bp 靶位点正向重复, 末端 8 bp 序列(以 5'-TGT-3'/3'-ACA-5'结尾)和 22 bp TnsB 结合位点来确定^[11-12]。

Tn7 衍生物的两端保守区域与 Tn7 转座子同源, 而 II 类整合子可变区可携带多种抗性基因和可移动遗传元件。虽然 Tn7 右端的同源重组酶没有活性, 但宿主表达的相关重组酶会介导基因盒的重排, 导致抗生素抗性基因的替代组合^[13]。此外, Tn7 衍生物还可以携带 CRISPR-Cas 系统 [clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/CRISPR-associated (Cas) systems, 簇状规则间隔的短回文重复序列(CRISPR)和相关蛋白(Cas)构成的系统], 与 CRISPR-Cas 系统相关的 Tn7 转座元件被统称为 CRISPR 相关转座子 (CRISPR-associated transposon, CAST)。2017 年, 康奈尔大学的 Peters 教授团队通过比较基因组首次分析发现 Tn7 转座子大家族包含了“最小”亚型 I-F CRISPR-Cas 系统, 其由 CRISPR 阵列和 3 种蛋白质组成: Cas6f、Cas7f 和 Cas5f 与 Cas8f 的融合^[11]。到目前为止, 已经发现包括 I-D 型、I-F 型、V-K 型和 I-B 型 CRISPR-Cas 系统与转座子有关联^[14-16]。

2 Tn7 的转座机制

2.1 Tn7 的一般转座机制

Tn7 通过“剪切-粘贴”机制易位, Tn7 两端的双链断裂导致 Tn7 从供体位点切除, 暴露的 Tn7 的 3'尖端与靶 DNA 连接而导致靶标插入^[10]。Tn7 编码 5 个转座相关蛋白, 1 个异构转座酶 (TnsA+TnsB), 1 个调节蛋白 (TnsC) 和 2 个不同的靶位选择蛋白 (TnsD 和 TnsE), 促进 Tn7 插入不同的目标位点(图 2)。TnsA 和 TnsB 一起形成转座酶, 从供体位点切除 Tn7 并将其连接到靶位点上。TnsB 是逆转录病毒整合酶超家族成员, 具有保守的 DDE 基序, 其特异性结合转座子末端内的多个位点, 并介导 3'端的 DNA 断裂和连接。TnsA 是 II 类限制性内切酶, 在转座子的 5'进行 DNA 断裂。TnsA 不与 DNA 特异性结合, 它通过与 TnsB 的相互作用被招募到末端并激活 TnsB^[17]。TnsB 与 Tn7 末端的特异性结合和 TnsB 介导的末端配对是转座的关键步骤, Tn7 的每一端存在不同数量的 TnsB 结合位点, 使得两端结构不对称, 这种差异决定了转座子的整合方向^[12]。另外, TnsB 可介导末端为 Tn7 L-Tn7 R 和 Tn7 R-Tn7 R 的元件形成配对末

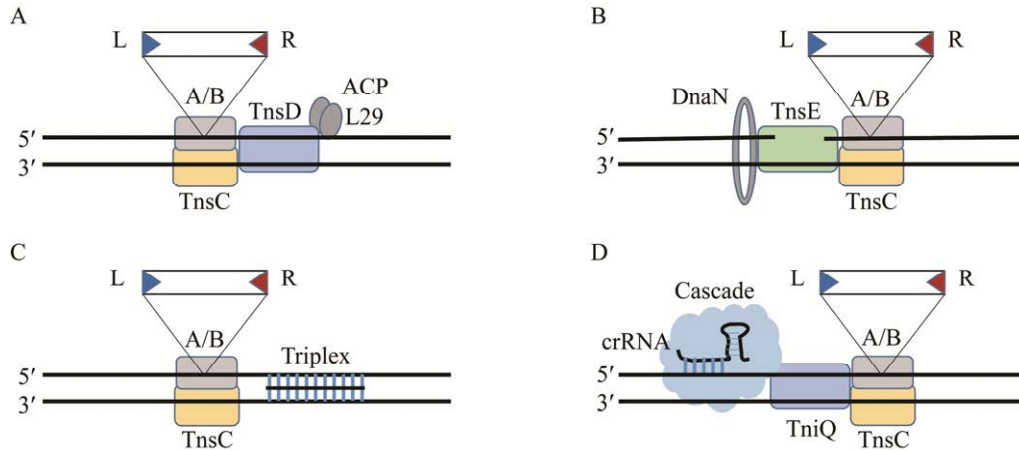


图 2 Tn7 转座子的转座途径模型

Figure 2 Transposition pathway model for the Tn7 transposon. The TnsABC+TnsD (A) and TnsABC+TnsE (B) transposition pathways, the synthetic transposition pathway that targets triplex DNA complexes with a mutant form of TnsC, TnsABC* (C), and the target pathway mediated by the Cas interference complex (D) are shown.

端复合物(pair end complexes, PEC), 而无法对末端为 Tn7 L-Tn7 L 的元件进行配对, 这种末端配对缺陷导致 Tn7 L-Tn7 L 元件无法转座。Tn7 的 3'端与靶 DNA 共价连接, 并在其 5'端有短间隙, 修复这些间隙会产生 5 bp 靶位点重复, 这是 Tn7 插入的特征^[10]。

TnsC 是一种 AAA+ (与各种细胞活动相关的) ATP 酶, 在 ATP 存在的情况下与双链 DNA 非特异性结合。TnsC 利用 DNA 扭曲来寻找靶点, ATP 结合驱动 TnsC 低聚物形成 1 个具有中心孔的七聚体环, 目标 DNA 像针一样穿过这个环, 一旦环在目标位点形成, TnsA 就结合在 TnsC 尾部末端, 并招募与供体 DNA 结合的 TnsB, 从而形成配对末端复合物^[18-19]。TnsC 激活转座酶的能力取决于它与目标 DNA 及其适当的靶向蛋白 TnsD 或 TnsE 的相互作用, 这决定了转座的特异性^[20]。TnsC 与目标 DNA 和 TnsAB 相互作用, 促进 Tn7 的切除和插入。TnsC 是转座的核心, 参与多种蛋白质-蛋白质和蛋白质-DNA 相互作用。TnsC 相关的靶免疫机制阻碍

插入事件发生在已经存在 Tn7 拷贝的靶 DNA 中。

TnsD 和 TnsE 都是 DNA 结合蛋白, 它们与特定靶标 DNA 相互作用的能力是 Tn7 选择靶点的关键。TnsE 与 DNA 聚合酶 III 的 β clamp (DnaN) 和 3'端凹陷的 DNA 结构相互作用, 介导 Tn7 插入共轭质粒中^[21]。质粒接合过程中, 受体细胞中质粒 DNA 的互补链的合成需要不断被启动, 这个过程被称为不连续或滞后链 DNA 合成, β clamp 和 3'端凹陷在滞后链中富集, TnsE 通过与滞后链复制相关的结构之间的相互作用, 靶向共轭质粒。这些质粒一般具有广泛的宿主范围, 可以在各种细菌之间移动, 这意味着 TnsABC+E 途径介导 Tn7 在不同物种之间传播。TnsABC+E 也可以介导 Tn7 低频率插入染色体, 但是存在于标准 DNA 复制叉上的蛋白质复合物可能比在共轭复制中发现的未偶联 DNA 复制更有效地限制 β clamp 和间隙 DNA 结构的暴露, 所以这种插入一般发生在 DNA 复制终止的区域和修复的 DNA 双链断裂附近的位点^[22]。TnsD 特异性识别细菌谷氨酰胺合成酶

(*glmS*)基因的 3'端,并结合到其下游的 *attTn7* 序列。由于谷氨酰胺合成酶在合成 N-乙酰葡萄糖胺中的作用,该基因高度保守,而在 *glmS* 基因下游发现的 *attTn7* 序列在广泛的细菌中也是高度保守的。根据惯例,插入位点的中心用 0 表示,正数表示向 *glmS* 基因的 3'延伸, TnsD 结合在插入点附近(+30 至+55),并在+27 附近引起 *attTn7* 的不对称畸变,从而招募 TnsC。宿主蛋白核糖体蛋白 L29 和酰基载体蛋白 (acyl carrier protein, ACP)可共同刺激 TnsD 与 *attTn7* 的结合^[23]。TnsABC+D 介导的转座不会导致基因被破坏也不会对细菌宿主产生任何不良影响。

2.2 Tn7 的特殊转座机制

野生型 TnsABC 不能单独促进转座,但当 TnsC 获得功能突变被激活时,允许 TnsC*进行靶标结合和转座酶激活,在没有 TnsD 或 TnsE 的情况下发生转座。TnsC*识别三链 DNA 转换成 B 型 DNA 时形成的扭曲,介导 Tn7 转座到三链 DNA 的一侧,同样具有方向特异性^[24]。

在 CAST 中, Tn7 以一种不寻常的方式与 CRISPR 起作用: Cas-RNA 复合物在 CAST 中的作用不是切割入侵的 DNA,而是这种特殊的 Cas-RNA 复合物,引导该 CAST 的转位^[25]。CAST 通常携带编码 TnsD-like (TniQ)蛋白的基因,但不使用典型的 *attTn7* 插入位点,且缺乏 TnsE-like 蛋白。靶向复合物 TniQ-Cascade 使用 gRNA 来指定转座子的整合位点^[26], TnsC 通过仅在正确的靶位点与 TniQ-Cascade 结合来驱动 RNA 引导转位的序列特异性^[18]。转座子相关的 CRISPR-Cas 系统在功能上取代了 TnsE, CRISPR-Cas 系统编码的效应复合物通过结合 crRNA 和 protospacer 之间的双链形成产生 R 环, DNA 的扭曲也会出现在 crRNA 结合的效应复合物附近,从而将转座子靶向这些位点^[11]。此

外, CAST 还具有不同的转位模式: CRISPR 阵列非依赖性归巢^[27]。V-K 型 CAST 系统使用一个短的、分散的 crRNA 进行 RNA 引导的归巢;而 I-B 型 CAST 系统,包含 2 个不同的目标选择蛋白,可使用 TniQ 进行 RNA 引导的 DNA 转位,使用 TnsD 归巢到一个附着位点。

3 Tn7 的流行

Tn7 转座子最早在大肠杆菌的 R483 质粒上被报道,后来发现 Tn7 也可以整合到大肠杆菌的染色体或其他接合质粒上^[28]。Tn7 具有广泛的宿主范围,在奇异变形杆菌、摩根菌、丁香假单胞菌、沙门菌、鲍曼不动杆菌、普罗维登斯菌、幽门螺杆菌和志贺氏菌等多种革兰氏阴性菌中均存在 Tn7 及 Tn7 家族转座子^[29-38]。Parks 等^[39]使用 TnsE 蛋白的氨基酸序列,采用 BLAST 和 PSIBLAST 算法比对了 GenBank 和综合微生物资源数据库 (comprehensive microbial resource databases),在 γ -变形菌门、 δ 变形菌门和低 GC 含量的革兰氏阳性厚壁菌门细菌中均发现了 TnsE 同源物。这些 TnsE 阳性菌株遍布陆地和海洋环境,上至地表水环境,下至深海热泉,分布极其广泛^[39]。II 类整合子嵌入 Tn7 转座子,与 Tn7 转位模块相连,大多数 II 类整合子伴有至少 1 个 Tn7 转座基因。II 类整合子与 Tn7 元件结合,增强了其作为抗菌基因盒整合和传播遗传库的作用。

4 近 5 年来发现的介导多重耐药的 Tn7 转座子

Tn7 转座子作为 1 种宿主范围广泛的位点特异性插入型转座子,可充当各种耐药基因的储存库。近年来发现了 Tn6450、Tn6451、Tn6667、Tn6668、Tn6669、Tn6670、Tn6765、Tn7091、

Tn7095、Tn7096、Tn7097 和 Tn7098 等新型 Tn7 衍生物和 Tn6666、Tn6777 这 2 个 Tn7 类似物 (表 1), 转座子大小范围为 12.03–111.24 kb, 可携带 1–18 种抗性基因, 包括 β -内酰胺类耐药基因 bla_{TEM-1b} 、 bla_{OXA-1} 和 bla_{PER-16} 、喹诺酮类耐药基因 $qnrA1$ 和多重耐药基因 cfr 等, 介导重要抗生素耐药。I 类整合子、插入序列 IS26 和 ISCR1 在介导耐药基因插入 Tn7 衍生物和 Tn7

类似物和传播中发挥重要作用。

4.1 介导多重耐药的 Tn7 衍生物

Tn7 携带 $dfrA1$ 、 $sat2$ 和 $aadA1$ 这 3 种耐药基因, 分别介导甲氧嘧啶、链霉素耐药。与 Tn7 相比, Tn6667 可变区的 $dfrA1$ 和 $sat2$ 之间插入了氯霉素耐药基因 $catB2$ (图 3A)。Tn7096 虽然也携带 3 个耐药基因, 但其基因盒组成是 $lnu(F)$ - $dfrA1$ - $aadA1$, 介导额外的林可霉素耐药^[32]。

表 1 近年来发现的与耐药相关的 Tn7 衍生物和 Tn7 类似物

Table 1 Tn7-derivatives and Tn7-like transposons associated with drug resistance identified in recent years

Tn7 transposon	Isolates	Size (bp)	Drug resistance gene	Location	GenBank accession No.	References
Tn6450	<i>Proteus mirabilis</i>	65 817	$aac(6')-Ib-cr$, $arr-3$, $qacE\Delta 1$, $sul1$, bla_{DHA-1} , $aphA1$, $mphE$, $msrE$, $qnrA1$, $aadA2$, $dfrA12$, $floR$, $sul2$, hph , $aacC4$, $aadA1$, $dfrA1$, $lun(F)$	Chromosome	MF805806	[29]
Tn6451	<i>Morganella morganii</i>	111 238	$aadA1$, $sat2$, $dfrA1$, $aac(6')-Ib-cr$, bla_{OXA-1} , $catB3$, $arr-3$, $dfrA27$, $tet(B)$, $aacC4$, hph , $sul1$, $sul2$, $floR$, cfr	Chromosome	MG832661	[30]
Tn6666	<i>Proteus mirabilis</i>	12 028	$dfrA14$	Chromosome	MK670979	[32]
Tn6667	<i>Proteus mirabilis</i>	14 806	$aadA1$, $sat2$, $catB2$, $dfrA1$	Chromosome	MK670986	[32]
Tn6668	<i>Proteus mirabilis</i>	16 552	$sul3$, $qacH2$, $aadA1$, $sat2$, $dfrA1$, $\Delta mef(B)$	Chromosome	MK670985	[32]
Tn6669	<i>Proteus mirabilis</i>	59 990	$msrE$, $mphE$, $aphA1$, $sul1$, $qacE\Delta 1$, bla_{DHA-1} , $aadA2$, $dfrA12$, $floR$, $sul2$, $aph(4)-Ia$, $aac(3)-IV$, $aadA1$, $dfrA1$, $lnu(F)$	Chromosome	MK630214	[32]
Tn6670	<i>Proteus mirabilis</i>	67 773	$aac(6')-Ib-cr$, $arr-3$, $qacE\Delta 1$, $sul1$, bla_{DHA-1} , $aphA1$, $mphE$, $msrE$, $qnrA1$, $aadA2$, $dfrA12$, $floR$, $sul2$, $aph(4)-Ia$, $aac(3)-IV$, $aadA1$, $dfrA1$, $lnu(F)$	Plasmid	MK630213	[32]
Tn6765	<i>Proteus mirabilis</i>	65 822	$aac(6')-Ib-cr$, $arr-3$, $qacE\Delta 1$, $sul1$, bla_{DHA-1} , $aphA1$, $mphE$, $msrE$, $qnrA1$, $aadA2$, $dfrA12$, $floR$, $sul2$, hph , $aacC4$, $aadA1$, $dfrA1$, $lun(F)$	Plasmid	CP047114	[31]
Tn6777	<i>Salmonella rissen</i>	65 414	$tet(A)$, $dfrA12$, $aadA2$, $sul3$, $aadA1$, bla_{TEM-1b} , $silE/S/R/C/F/B/A/P$, $pcoE/A/B/C/D/R/S/E$	Chromosome	MT321512	[33]
Tn7091	<i>Providencia stuartii</i>	65 822	$aac(6')-Ib-cr$, $arr-3$, $qacE\Delta 1$, $sul1$, bla_{DHA-1} , $aphA1$, $mphE$, $msrE$, $qnrA1$, $aadA2$, $dfrA12$, $floR$, $sul2$, hph , $aacC4$, $aadA1$, $dfrA1$, $lun(F)$	Chromosome	MW654183	
Tn7095	<i>Proteus mirabilis</i>	15 382	$sul1$, $qacE\Delta 1$, $aadA1$, $dfrA1$, $lnu(F)$	Chromosome	MW390880	[32]
Tn7096	<i>Proteus mirabilis</i>	16 145	$aadA1$, $dfrA1$, $lnu(F)$	Chromosome	MW390881	[32]
Tn7097	<i>Proteus mirabilis</i>	14 357	$aphA1$, $aadA1$, $dfrA1$, $lnu(F)$	Chromosome	MW390879	[32]
Tn7098	<i>Proteus mirabilis</i>	25 853	$aphA1$, $sul1$, bla_{PER-16} , $qacE\Delta 1$, $aadA1$, $dfrA1$, $lnu(F)$	Chromosome	MW390878	[32]

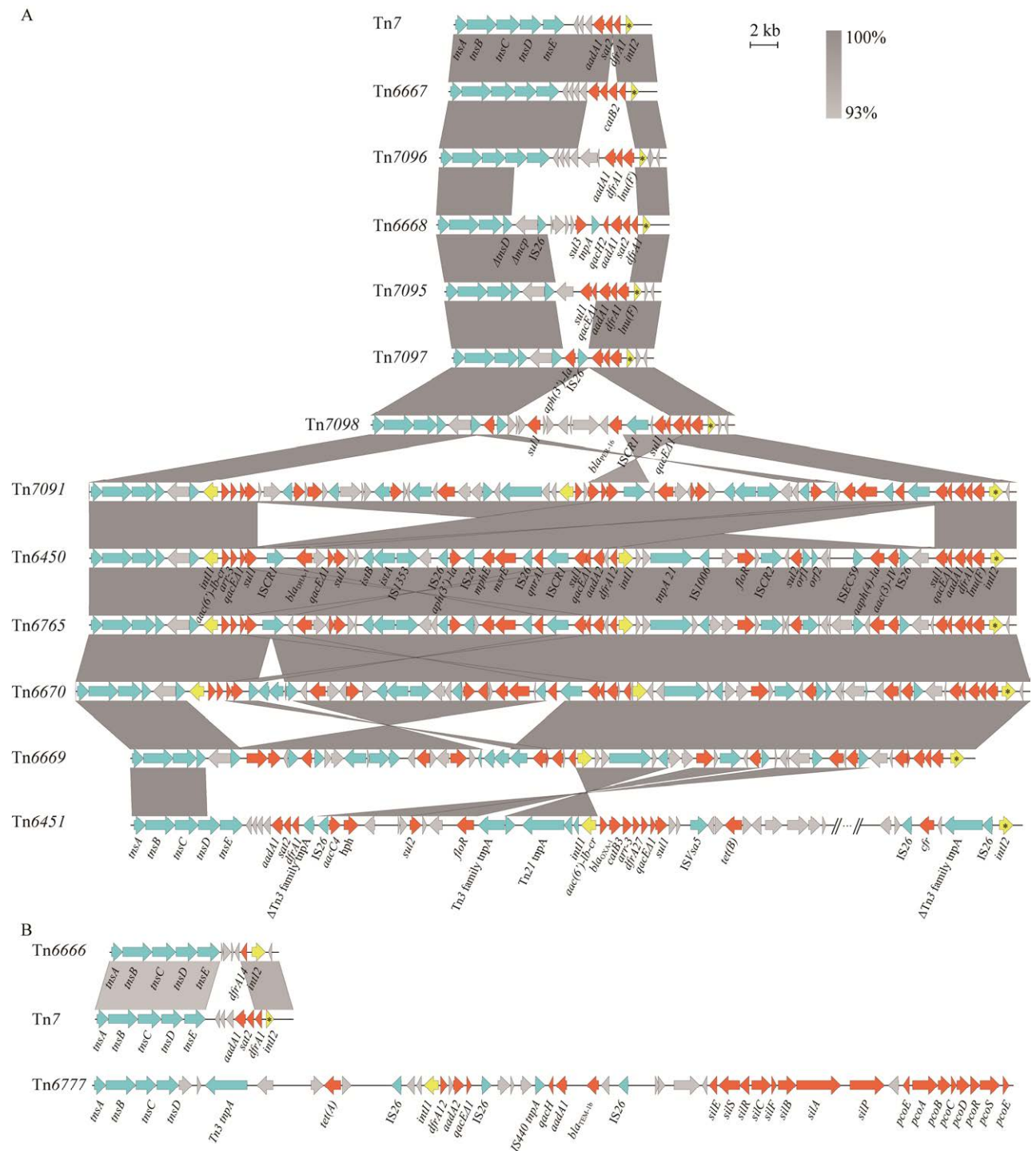


图 3 近年来发现的与耐药相关的 Tn7 衍生物(A)和 Tn7 类似物(B)遗传结构
Figure 3 Genetic structures of Tn7-derivatives (A) and Tn7-like transposons (B) associated with drug resistance identified in recent years. Arrows represent the location of genes and the direction of transcription. Antimicrobial resistance genes are in red. Transposase genes are in blue. Integrase genes are in yellow and * represents inactive integrase-encoding genes. Shading represents sequence similarity and homology is referenced to the icon in the upper right corner.

1 个截断的 Tn3 转座子插入 Tn7 的 *dfrA1* 和非活性 II 类整合酶基因之间, 形成新型转座子 Tn6451^[30]。插入的 Tn3 衍生物携带各种类型的遗传物质, 包括转座酶基因、I 类整合子、抗性决定因素、质粒相关片段和染色体相关片段。Tn6451 携带季铵盐类消毒剂抗性基因 *qacEΔ1* 和 15 种抗生素耐药基因, 包括 *floR* (氯霉素和氟苯尼考耐药)、*aac(6')-Ib-cr* (氨基糖苷类和氟喹诺酮类耐药) 和多重耐药基因 *cfr* (恶唑烷酮类、截短侧耳素类、链阳菌素 A、林可酰胺类和酰胺醇类耐药) 等。*cfr* 位于 IS26 组成的复合转座子中, 该结构可环化介导 *cfr* 的传播。Tn6667、Tn7096 和 Tn6451 也是近来发现的唯 3 被表征的具有完整转座模块的 Tn7 衍生物。

在多个 Tn7 衍生物(Tn6450、Tn6668、Tn6669、Tn6670、Tn6765、Tn7091、Tn7095、Tn7096、Tn7097 和 Tn7098)中, 左端序列均为 *tnsA-tnsB-tnsC-ΔtnsD-Δmcp-IS26*, 缺失的 *tnsD* 和 *tnsE* 可能会限制 Tn7 衍生物的转座。Tn6668 的耐药基因盒 *dfrA1-sat2-aadA1* 下游插入了 I 类整合子不寻常的 3'保守序列(3'-CS), 即 *qacH*, 和与其相连的 *sul3* 结构域(IS440-*sul3*), 形成了 1 个杂合整合子^[32,40]。类似的, Tn7095 的耐药基因盒 *lnu(F)-dfrA1-aadA1* 下游插入了 I 类整合子的 3'-CS (*qacEΔ1-sul1*), 也组成了 1 个杂合整合子。Tn7098 被插入了更长的 I 类整合子序列, 而 *ISCR1* 可介导该结构的切除和环化, 促进超广谱 β-内酰胺酶类耐药基因 *bla_{PER-16}* 的传播^[32,41]。在携带 Tn7098 的菌株的克隆相关菌株中发现了该结构缺失的新变体, Tn7097。在 Tn7097 和 Tn7098 的整合子下游还插入了 Tn4352 (IS26-*aphA1*-IS26), *aphA1* 介导卡那霉素和新霉素耐药。

在奇异变形杆菌以及普罗维登斯菌中发现了 1 组高度相似的复杂的 Tn7 衍生物(Tn6450、

Tn6669、Tn6670、Tn6765 和 Tn7091)^[29,31-32]。Tn6450 的可变区存在较多的可移动遗传元件和耐药基因, 转座模块下游的组分依次可被识别为截断的 Tn1721、In5 型 I 类整合子、Tn4352、In5 型 I 类整合子、截断的 Tn21 和杂合整合子^[29]。IS26 有 5 个拷贝, 可能在促进移动遗传元件和抗性基因的积累发挥重要作用。Tn6450 携带 *qacEΔ1* 和 17 种不同抗生素耐药基因, 包括 *bla_{DHA-1}* (头孢菌素耐药)、*mphE* 和 *msrE* (大环内酯类耐药)、*qnrA1* (喹诺酮类耐药)、*aph(3')-Ia* (氨基糖苷类抗生素耐药)、*aph(4)-Ia* (潮霉素耐药)、*aac(3)-IV* (安普霉素耐药)。Tn6765 与 Tn6450 的序列覆盖度为 96%, 相似度大于 99%, 在 3 个位点发生小片段的插入^[31]。与 Tn6450 相比, Tn6670 的 1 个 *ISCR1* 被 *ISPys4* 插入打断, Tn7091 在转座模块下游第二个 *ISCR1* 的介导下发生了 1 个大片段颠转, 而 Tn6669 可能由 IS26 介导的同源重组也有 1 个大片段颠转, 并在同源区域附近发生序列丢失, 随后 *ISPys4* 插入并打断 *ISCR1*。各种插入序列、整合子和转座子丰富了 Tn7 衍生物的组成, 携带多种耐药基因的 Tn7 衍生物在细菌耐药性塑造过程中占重要地位。

4.2 新型 Tn7 类似物

Tn6666 是在奇异变形杆菌中发现的 1 种新型 Tn7 类似物, 它的转座模块编码序列与 Tn7 显示出 93% 核苷酸相似性, 而且右端的 II 类整合酶编码基因没有发生终止突变, 只携带了 1 个耐药基因 *dfrA14* (图 3B), Tn6666 被认为是 Tn7 转座子进化的新分支^[32]。Tn6666 编码的 TnsA-like、TnsB-like、TnsC-like、TnsD-like 和 TnsE-like 分别与 Tn7 中的相应蛋白有 98.17%、96.86%、95.32%、89.37% 和 90.77% 的同源性, 5 种蛋白功能结构域保守^[9,21,42-43], Tn6666 可能具有转座能力。Tn6666 仍然可定位于 *glmS* 下

游的细菌染色体序列, 由于 TnsD-like 与 TnsD 差异较大, Tn6666 的插入位点在 Tn7/Tn7 衍生物的下游 197 bp 处, 并产生围绕 Tn6666 的 5 bp 直接重复。Tn6666 携带的 *IntI2* 已被证实可以在大肠杆菌中催化 *attI2*×*attC_{sat2}* 整合和 *attC_{dfrA1/sat2}*×*attC_{sat2/aadA1}* 切除^[44], 具有活性的整合酶基因 *intI2* 可能促进 Tn7 类似物的多样化。此外, Tn6666 还被发现与 Tn7097/Tn7098 共存于奇异变形杆菌染色体中。

在里森沙门菌 SCSW714 基因组中鉴定到 1 种新的多药抗性 Tn7 类似物, 命名为 Tn6777^[33]。其携带了 6 个抗性基因: *tet* (A)、*dfrA12*、*sul3*、*aadA2*、*aadA1* 和 *bla_{TEM-1b}*, 和金属抗性决定簇 *pcoE* 和 *silP* (铜、银耐受)。其他研究证明, Tn7-*pco-sil* 转座子可能是从质粒 pMG101 中转座到 *yhiM* 和 *yhiN* 之间染色体上的非标准 *attTn7* 位点, 揭示了 Tn7-*pco-sil* 转座子的可转移性, 促进金属和抗生素抗性基因的共同传播。

5 展望

Tn7 转座子是研究得比较清楚的细菌转座子, 它巧妙的转座机制以及招募 CRISPR-Cas 系统的能力引起学者的极大关注。随着结构生物学的发展, Tn7 转座相关蛋白的功能被进一步表征, 其也被开发为一种重要的遗传研究工具。在自然条件下, Tn7 转座子对塑造细菌耐药性的贡献不可忽视。Tn7 转座子宿主范围广泛, 具有 2 种靶向机制, 靶向细菌染色体有利于其稳定遗传, 靶向质粒有利于其水平传播, 能够促进其携带的耐药基因稳定遗传或水平传播扩散。携带多种耐药基因的 Tn7 衍生物和 Tn7 类似物的发现, 揭示了细菌中 Tn7 演化的复杂性和多样性。

细菌耐药性和可移动遗传元件介导的耐药性传播是不可回避的问题, Tn7 转座子介导的

细菌耐药值得持续监测, 以期寻找控制的方法, 后续可进一步开展以下研究: 一是对 Tn7 相关的转座子的流行进行监测, 追踪其演变趋势, 发现新的多重耐药或重要抗生素耐药的 Tn7 衍生物和 Tn7 类似物, 评估其对细菌甚至病原菌耐药性的贡献。二是揭示新型 Tn7 衍生物和 Tn7 类似物的形成机制, 确定插入序列、转座子、整合子等是否具有 Tn7 位点偏好性, 探究其如何促进耐药基因整合到 Tn7 相关的转座子中, 以及评估耐药基因在 Tn7 相关的转座子中的稳定性。三是研究 Tn7 相关的转座子传播能力。虽然其传播途径研究得比较透彻, 各种转座相关蛋白的结构与功能仍在持续被解析。研究 Tn7 相关的转座子传播能力与调节因子, 有助于评估其传播扩散风险。此外, 还可研究 Tn7 转座子与 CRISPR-Cas 系统互作, 探索 Tn7 转座子捕获 CRISPR-Cas 系统的能力, 以及 CRISPR-Cas 系统对 Tn7 转座子转座或捕获耐药基因的影响。深入开展 Tn7 相关的转座子的演化、形成机制和传播能力, 为更好地防控 Tn7 介导的耐药提供参考, 降低细菌耐药威胁。

参考文献

- [1] FROST LS, LEPLAE R, SUMMERS AO, TOUSSAINT A. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(9): 722-732.
- [2] PARTRIDGE SR, KWONG SM, FIRTH N, JENSEN SO. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2018, 31(4): e00088-e00017.
- [3] KAZAZIAN HH JR. Mobile elements: drivers of genome evolution[J]. *Science*, 2004, 303(5664): 1626-1632.
- [4] HICKMAN AB, DYDA F. DNA transposition at work[J]. *Chemical Reviews*, 2016, 116(20): 12758-12784.
- [5] LICHTENSTEIN C, BRENNER S. Unique insertion site of Tn7 in the *E. coli* chromosome[J]. *Nature*, 1982, 297(5867): 601-603.

- [6] GRINGAUZ E, ORLE KA, WADDELL CS, CRAIG NL. Recognition of *Escherichia coli attTn7* by transposon Tn7: lack of specific sequence requirements at the point of Tn7 insertion[J]. *Journal of Bacteriology*, 1988, 170(6): 2832-2840.
- [7] MCKOWN RL, ORLE KA, CHEN T, CRAIG NL. Sequence requirements of *Escherichia coli attTn7*, a specific site of transposon Tn7 insertion[J]. *Journal of Bacteriology*, 1988, 170(1): 352-358.
- [8] WOLKOW CA, DEBOY RT, CRAIG NL. Conjugating plasmids are preferred targets for Tn7[J]. *Genes & Development*, 1996, 10(17): 2145-2157.
- [9] PETERS JE. Tn7[J]. *Microbiology Spectrum*, 2014, 2(5): MDNA3-0010-2014.
- [10] PETERS JE, CRAIG NL. Tn7: smarter than we thought[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2001, 2(11): 806-814.
- [11] PETERS JE, MAKAROVA KS, SHMAKOV S, KOONIN EV. Recruitment of CRISPR-Cas systems by Tn7-like transposons[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(35): E7358-E7366.
- [12] KACZMARSKA Z, CZARNOCKI-CIECIURA M, GÓRECKA-MINAKOWSKA KM, WINGO RJ, JACKIEWICZ J, ZAJKO W, POZNAŃSKI JT, RAWSKI M, GRANT T, PETERS JE, NOWOTNY M. Structural basis of transposon end recognition explains central features of Tn7 transposition systems[J]. *Molecular Cell*, 2022, 82(14): 2618-2632.e7.
- [13] HANSSON K, SUNDSTRÖM L, PELLETIER A, ROY PH. IntI2 integron integrase in Tn7[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(6): 1712-1721.
- [14] BARABAS O, RICE PA. First full views of a CRISPR-guided system for gene insertion[J]. *Nature*, 2023, 613(7945): 634-635.
- [15] HSIEH SC, PETERS JE. Discovery and characterization of novel type I-D CRISPR-guided transposons identified among diverse Tn7-like elements in cyanobacteria[J]. *Nucleic Acids Research*, 2023, 51(2): 765-782.
- [16] PARK JU, TSAI AWL, RIZO AN, TRUONG VH, WELLNER TX, SCHARGEL RD, KELLOGG EH. Structures of the holo CRISPR RNA-guided transposon integration complex[J]. *Nature*, 2023, 613(7945): 775-782.
- [17] CHOI KY, LI Y, SARNOVSKY R, CRAIG NL. Direct interaction between the TnsA and TnsB subunits controls the heteromeric Tn7 transposase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(22): E2038-E2045.
- [18] HOFFMANN FT, KIM M, BEH LY, WANG J, LEO H VO P, GELSINGER DR, GEORGE JT, ACREE C, MOHABIR JT, FERNÁNDEZ IS, STERNBERG SH. Selective TnsC recruitment enhances the fidelity of RNA-guided transposition[J]. *Nature*, 2022, 609(7926): 384-393.
- [19] SHEN Y, GOMEZ-BLANCO J, PETASSI MT, PETERS JE, ORTEGA J, GUARNÉ A. Structural basis for DNA targeting by the Tn7 transposon[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2022, 29(2): 143-151.
- [20] STELLWAGEN AE, CRAIG NL. Gain-of-function mutations in TnsC, an ATP-dependent transposition protein that activates the bacterial transposon Tn7[J]. *Genetics*, 1997, 145(3): 573-585.
- [21] PARKS AR, LI ZP, SHI QJ, OWENS RM, JIN MM, PETERS JE. Transposition into replicating DNA occurs through interaction with the processivity factor[J]. *Cell*, 2009, 138(4): 685-695.
- [22] PETERS JE, CRAIG NL. Tn7 transposes proximal to DNA double-strand breaks and into regions where chromosomal DNA replication terminates[J]. *Molecular Cell*, 2000, 6(3): 573-582.
- [23] SHARPE PL, CRAIG NL. Host proteins can stimulate Tn7 transposition: a novel role for the ribosomal protein L29 and the acyl carrier protein[J]. *The EMBO Journal*, 1998, 17(19): 5822-5831.
- [24] RAO JE, MILLER PS, CRAIG NL. Recognition of triple-helical DNA structures by transposon Tn7[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(8): 3936-3941.
- [25] PETERS JE. Targeted transposition with Tn7 elements: safe sites, mobile plasmids, CRISPR/Cas and beyond[J]. *Molecular Microbiology*, 2019, 112(6): 1635-1644.
- [26] KLOMPE SE, VO PLH, HALPIN-HEALY TS, STERNBERG SH. Transposon-encoded CRISPR-Cas systems direct RNA-guided DNA integration[J]. *Nature*, 2019, 571(7764): 219-225.
- [27] SAITO M, LADHA A, STRECKER J, FAURE G, NEUMANN E, ALTAE-TRAN H, MACRAE RK, ZHANG F. Dual modes of CRISPR-associated transposon homing[J]. *Cell*, 2021, 184(9): 2441-2453.e18.
- [28] KRAFT CA, TIMBURY MC, PLATT DJ. Distribution and genetic location of Tn7 in trimethoprim-resistant

- Escherichia coli*[J]. Journal of Medical Microbiology, 1986, 22(2): 125-131.
- [29] CHEN YP, LEI CW, KONG LH, ZENG JX, ZHANG XZ, LIU BH, LI Y, XIANG R, WANG YX, CHEN DY, ZHANG AY, WANG HN. Tn6450, a novel multidrug resistance transposon characterized in a *Proteus mirabilis* isolate from chicken in China[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2018, 62(4): e02192-17.
- [30] CHEN YP, LEI CW, ZUO L, KONG LH, KANG ZZ, ZENG JX, ZHANG XZ, WANG HN. A novel *cfr*-carrying Tn7 transposon derivative characterized in *Morganella morganii* of swine origin in China[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2019, 74(3): 603-606.
- [31] HE J, LI C, CUI PF, WANG HN. Detection of Tn7-like transposons and antibiotic resistance in *Enterobacteriales* from animals used for food production with identification of three novel transposons Tn6813, Tn6814, and Tn6765[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 2049.
- [32] CHEN X, LEI CW, LIU SY, LI TY, CHEN YP, WANG YT, LI C, WANG Q, YANG X, HUANG ZR, GAO YF, WANG HN. Characterisation of novel Tn7-derivatives and Tn7-like transposon found in *Proteus mirabilis* of food-producing animal origin in China[J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2022, 28: 233-237.
- [33] ZHOU L, HAN YY, YANG X, WANG HN, LEI CW. Whole genome sequence of *Salmonella* Rissen SCSW714, a porcine strain harbouring a novel multidrug-resistant Tn7-like *pco*- and *sil*-containing transposon[J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2022, 29: 307-309.
- [34] APRILE F, HEREDIA-PONCE Z, CAZORLA FM, de VICENTE A, GUTIÉRREZ-BARRANQUERO JA. A large Tn7-like transposon confers hyperresistance to copper in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(5): e02528-20.
- [35] MANN R, RAFEI R, GUNAWAN C, HARMER CJ, HAMIDIAN M. Variants of Tn6924, a novel Tn7 family transposon carrying the *bla*_{NDM} metallo- β -lactamase and 14 copies of the *aphA6* amikacin resistance genes found in *Acinetobacter baumannii*[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(1): e0174521.
- [36] HAMIDIAN M, HALL RM. Dissemination of novel Tn7 family transposons carrying genes for synthesis and uptake of fimsbactin siderophores among *Acinetobacter baumannii* isolates[J]. Microbial Genomics, 2021, 7(3): mgen000548.
- [37] GUAN JY, BAO CM, WANG P, JING Y, WANG LL, LI XY, MU XF, LI BA, ZHOU DS, GUO XJ, YIN Z. Genetic characterization of four groups of chromosome-borne accessory genetic elements carrying drug resistance genes in *Providencia*[J]. Infection and Drug Resistance, 2022, 15: 2253-2270.
- [38] CRESPO O, CATALANO M, PIÑEIRO S, MATTEO M, LEANZA A, CENTRÓN D. Tn7 distribution in *Helicobacter pylori*: a selective paradox[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2005, 25(4): 341-344.
- [39] PARKS AR, PETERS JE. Transposon Tn7 is widespread in diverse bacteria and forms genomic islands[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(5): 2170-2173.
- [40] ANTUNES P, MACHADO J, PEIXE L. Dissemination of *sul3*-containing elements linked to class 1 integrons with an unusual 3' conserved sequence region among *Salmonella* isolates[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2007, 51(4): 1545-1548.
- [41] WU J, XIE LY, ZHANG FF, NI YX, SUN JY. Molecular characterization of ISCR1-mediated bla_{PER-1} in a non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* strain from China[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015, 59(7): 4293-4295.
- [42] HICKMAN AB, LI Y, MATHEW SV, MAY EW, CRAIG NL, DYDA F. Unexpected structural diversity in DNA recombination: the restriction endonuclease connection[J]. Molecular Cell, 2000, 5(6): 1025-1034.
- [43] RONNING DR, LI Y, PEREZ ZN, ROSS PD, HICKMAN AB, CRAIG NL, DYDA F. The carboxy-terminal portion of TnsC activates the Tn7 transposase through a specific interaction with TnsA[J]. The EMBO Journal, 2004, 23(15): 2972-2981.
- [44] WANG XT, KONG NN, CAO M, ZHANG L, SUN MZ, XIAO LL, LI G, WEI QH. Comparison of class 2 integron integrase activities[J]. Current Microbiology, 2021, 78(3): 967-978.