

• 基础实验研究论著 •

B 组碳青霉烯酶基因 *bla*_{VIM-2} 的基因环境分析*

袁 敏, 龚 林, 刘 佳, 徐建国, 李 娟[△]

(中国疾病预防控制中心传染病预防控制所细菌耐药室/传染病预防控制国家重点实验室, 北京 102206)

摘 要:目的 探讨 *bla*_{VIM-2} 基因的基因环境。方法 采用“Blast”比对分析 GenBank 数据库中 *bla*_{VIM-2} 基因所处的基因环境。分析 *bla*_{VIM-2} 基因分布的种属、地域及基因环境特征。结果 所有的 *bla*_{VIM-2} 基因都以基因盒的形式定位于 I 型整合子内部。*bla*_{VIM-2} 基因大多在假单胞菌属中检出, 偶尔在肠杆菌中检出。结论 不同国家、不同菌属报道的 *bla*_{VIM-2} 的基因环境有极大的相似性。

关键词: VIM-2 基因; 碳青霉烯酶; 肠杆菌属; 假单胞菌属

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 12. 004 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2014)12-1529-02

Analysis of the genetic context of class B carbapenemase gene *bla*_{VIM-2} *

Yuan Min, Gong Lin, Liu Jia, Xu Jianguo, Li Juan[△]

(Department of Bacteria Resistance/State Key Laboratory for Infectious Diseases Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100026, China)

Abstract: **Objective** To analyze the genetic context of *bla*_{VIM-2}. **Methods** "Blast" was used to analyze sequences harboring *bla*_{VIM-2} submitted to GenBank database. **Results** *bla*_{VIM-2} mostly embedded in class I integron in the form of gene cassettes and *bla*_{VIM-2} gene was most commonly detected in *Pseudomonas* and occasionally detected in *Enterobacter*. **Conclusion** *bla*_{VIM-2} gene reported in different species and recovered from geometrical locations could be with some common characteristics.

Key words: *bla*_{VIM-2}; carbapenemase; *Enterobacter*; *Pseudomonas*

近年来关于金属酶的报道不断增多, 金属酶因其底物谱广、水解碳青霉烯类药物的活性强而受到广泛关注。截至目前金属酶最大的两个家族, 分别是 VIM 和 IMP 家族分别有 39 和 46 个成员。假单胞菌属是金属酶的主要宿主^[1]。

2000 年, 法国科学家首次报道从分离到的 1 株绿脓假单胞菌中检出了金属酶基因 *bla*_{VIM-2}^[2], 随后陆续在世界范围内出现关于 *bla*_{VIM-2} 被检出的报道, 但是绝大多数都是在假单胞菌属中检出, 偶尔在不动杆菌属和肠杆菌属中也有检出。本课题组观察到一个有趣的现象, B 组碳青霉烯酶基因 *bla*_{VIM-2} 绝大多数分布于假单胞菌属, 而 *bla*_{VIM-1} 几乎只在肠杆菌科细菌中检出, 耐药基因的播散更大程度上取决于耐药基因的侧翼序列, 而不是耐药基因本身^[3]。基于此, 本研究对目前 NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) 上提供的有关 *bla*_{VIM-2} 基因的

基因环境做了系统分析比对, 以期能找到一些规律, 为研究国内 VIM-2 阳性株的基因环境提供依据。

1 方 法

在 http://www.lahey.org/Studies/ 网站查询 *bla*_{VIM-2} 基因参考 GenBank 号 AF191564, 在 NCBI 网站 Nucleotide 数据库输入 AF191564 下载 *bla*_{VIM-2} 基因参考序列, 在 NCBI 网站“Blast”入口提交检索与参考序列 100% 相同的序列。筛选含 *bla*_{VIM-2} 基因及其侧翼环境的基因序列进行分析。下载描绘基因排列图, 比较分析序列异同、检出的种属、国家等信息。

2 结 果

GenBank 中已有的 *bla*_{VIM-2} 基因及其侧翼环境的菌株及序列相关信息, 见表 1。*bla*_{VIM-2} 基因环境绘图, 见图 1 (见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”)。

表 1 不同国家和地区分离的携带 *bla*_{VIM-2} 基因盒的整合子分析

种属	菌株名称	GenBank 号	定位	提交时间	分离国家
铜绿假单胞菌	COL-1	NC_020452	整合子	2012-6-10	美国
琼氏不动杆菌	118FFC	JX235356	整合子	2013-6-25	葡萄牙
弗氏克劳地菌	Cf594254	JX486753	整合子	2012-10-24	葡萄牙
恶臭假单胞菌	Pp1	FJ548856	整合子	2010-4-20	葡萄牙
铜绿假单胞菌	Pa4	GU731077	整合子	2010-4-12	葡萄牙
铜绿假单胞菌	In59. 2	EU118149	整合子	2009-5-31	希腊

* 基金项目: 传染病预防控制国家重点实验室面上项目(2012SKLID205)。 作者简介: 袁敏, 女, 助理研究员, 主要从事细菌耐药性研究。

[△] 通讯作者, E-mail: lijuan@icdc.cn。

续表 1 不同国家和地区分离的携带 *bla*_{VIM-2} 基因盒的整合子分析

种属	菌株名称	GenBank 号	定位	提交时间	分离国家
铜绿假单胞菌	MG2134	GU390402	整合子	2011-1-11	德国
铜绿假单胞菌	Pa30	FJ752629	整合子	2009-5-16	葡萄牙
铜绿假单胞菌	2005415	AJ515707	整合子	2005-4-15	英国
产酸克雷伯菌	115-13268A	FJ627181	整合子	2009-2-24	美国
铜绿假单胞菌	In493	AM392427	整合子	2011-10-26	法国
琼氏不动杆菌	YMC 06/10R1547	EU14075	整合子	2010-7-21	韩国
铜绿假单胞菌	YMC 98/1/3834	FJ624864	整合子	2009-2-18	韩国
恶臭假单胞菌	YMC 98/2/665	AY907717	整合子	2007-9-28	韩国

3 讨 论

*bla*_{VIM-2} 基因几乎全部以基因盒的形式定位于 I 型整合子内部,并且 *bla*_{VIM-2} 基因通常作为第 1 个和第 2 个基因盒,提示 *bla*_{VIM-2} 基因是较晚被 I 型整合子捕获的基因, I 型整合子内部基因盒通常不带调控自身表达的启动子,所有基因盒的启动子 P1 和 P2 均位于 I 型整合子 5 保守区的整合酶结构基因内部,调控下游所有基因盒的表达^[4]。由表 1 可见,携带 *bla*_{VIM-2} 基因的整合子主要由假单胞菌携带(10/14),偶尔见于琼氏不动菌(2/14)和肠杆菌科细菌,如弗氏克劳地菌(1/14)和产酸克雷伯菌(1/14)。VIM-2 阳性菌株主要分布于葡萄牙(5/13)、韩国(3/13),法国、希腊、德国、英国偶有报道(各 1/14)。分离时间从 2005 年 4 月 15 日至 2013 年 6 月 25 日。

不同地区报道的携带 *bla*_{VIM-2} 基因的整合子的基因平排列有相似性,如图 1 中,弗氏克劳地菌 cf594294 和铜绿假单胞菌 Pa4 菌株相比,前者在 *bla*_{VIM-2} 基因整合子下游插入新的基因盒 *aac*C1。铜绿假单胞菌 In493 与产酸克雷伯 115-13268A 相比在 *bla*_{VIM-2} 基因盒下游插入新的基因盒 *bla**oxa*-10,琼氏不动菌 YMC 06/10R1547、铜绿假单胞菌 YMC98/1/3834 与铜绿假单胞菌 Pa30 相比在 *bla*_{VIM-2} 基因盒下游插入新的基因盒 *aa*-*c*A7 基因盒。基因盒是最小的耐药基因转移单位, I 型整合子 5'端整合酶可以对基因盒进行剪切使其以环状形式脱落,也可以催化新的基因盒整合进入整合子。但是值得注意的是,整合子作为一个整体本身无法实现移动,根据目前对 I 型整合子有限的了解,在 2 种情况下整合子可以实现整体的转移:(1)当整合子外围侧翼序列中有转座子。转座子在转座酶的作用下可以将位于其间的序列整体转移。(2) I 型整合子 3'端 *qac*/*sul* 基因下游有 *ISCR1* 的情况下可以实现序列整体转移。*ISCR1* 是近年来新发现的介导耐药基因转移的元件,具体机制尚未明确^[5]。本研究在不同的种属间观察到的相同的携带 *bla*_{VIM-2} 基因盒 I 型整合子,比如弗氏克劳地菌 cf594294 和铜绿假单胞菌 Pa1 菌株、琼氏不动杆菌 YMC 06/10R1547 和铜绿假单胞菌 YMC98/1/3834 都具有相同的整合子,极有可能由转座子介导。但由于不知道这些整合子下游是否有 *ISCR1*,所以 *ISCR1* 介导转移的情况尚不能排除。

综上所述,*bla*_{VIM-2} 基因主要由假单胞菌属携带,偶见分离于琼氏不动菌和肠杆菌科细菌。*bla*_{VIM-2} 在世界范围内多个国

家均有分布,其中葡萄牙报道最多,不同种属分离的 *bla*_{VIM-2} 基因,其基因环境有较大的相似性,即都定位于 I 型整合子,中国尚未见关于该基因及其基因环境的报道。

参考文献

[1] Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, et al. Metallo-β-lactamases: the quiet before the storm? [J]. Clin Microbiol Rev, 2005, 18(2): 306-325.

[2] Poirel L, Naas T, Nicolas D, et al. Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-β-lactamase and its plasmid-and integron-borne gene from a Pseudomonas aeruginosa clinical isolate in France[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(4): 891-897.

[3] Walsh TR. Combinatorial genetic evolution of multiresistance[J]. Curr Opin Microbiol, 2006, 9(5): 476-482.

[4] Recchia GD, Hall RM. Gene cassettes: a new class of mobile element[J]. Microbiology, 1995, 141(12): 3015-3027.

[5] Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2006, 70(2): 296-316.

[6] Beyrouthy R, Robin F, Delmas J, et al. IS1R-mediated plasticity of IncL/M plasmids leads to the insertion of blaOXA-48 into the Escherichia coli chromosome[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(7): 3785-3790.

[7] Bertsch D, Muelli M, Weller M, et al. Antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance gene transfer analysis of foodborne, clinical, and environmental Listeria spp. isolates including Listeria monocytogenes[J]. Microbiologyopen, 2014, 3(1): 118-127.

[8] Venturini C, Hassan KA, Roy Chowdhury P, et al. Sequences of two related multiple antibiotic resistance virulence plasmids sharing a unique IS26-related molecular signature isolated from different Escherichia coli pathotypes from different hosts[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e78862.

[9] Kojima KK, Jurka J. A superfamily of DNA transposons targeting multicopy small RNA genes[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e68260.