

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2018022701

赵方园, 杨新瑶, 陈芳敏, 等. 抗性 DNA 在水土环境中的迁移归趋与水平转移[J]. 环境化学, 2018, 37(8): 1804-1819.

ZHAO Fangyuan, YANG Xinyao, CHEN Fangmin, et al. Transport, fate and horizontal transfer of antibiotic resistance DNA in soil and water environment[J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(8): 1804-1819.

抗性 DNA 在水土环境中的迁移归趋与水平转移*

赵方园¹ 杨新瑶^{1**} 陈芳敏² 阮丽丽¹ 张海燕³ 杨悦锁¹

(1. 沈阳大学环境学院区域污染环境生态修复教育部重点实验室, 沈阳, 110044;

2. 沈阳大学生命科学与工程学院辽宁省城市有害生物治理与生态安全重点实验室, 沈阳, 110044;

3. 黑龙江省水文地质工程地质勘察院, 哈尔滨, 150030)

摘 要 抗性基因是与抗生素的滥用密切相关的一种新型环境污染物的载体,其在环境中的赋存、迁移与水平转移对于环境中抗药性的传播十分重要。基于文献,本文针对与抗药性传播密切关联的各个环节,系统讨论了环境因子对 DNA 分子的损伤、保护和修复等影响 DNA 的赋存与归趋的机制, DNA 吸附、解吸与迁移等影响其在环境中移动性的机制,以及水平转移等引发细菌产生抗药性的机制。文末提出了值得进一步研究的科学问题。

关键词 DNA, 抗性基因, 迁移, 保护, 损伤, 水平转移。

Transport, fate and horizontal transfer of antibiotic resistance DNA in soil and water environment

ZHAO Fangyuan¹ YANG Xinyao^{1**} CHEN Fangmin²
RUAN Lili¹ ZHANG Haiyan³ YANG Yuesuo¹

(1. Ministry of Education Key Lab for Eco-restoration of Regional Contaminated Environment, School of Environment, Shenyang University, Shenyang, 110044, China; 2. Liaoning Key Lab of Urban IPM and Eco-security, School of

Life Science and Engineering, Shenyang University, Shenyang, 110044, China;

3. Hydrogeology Exploration Institute of Heilongjiang, Harbin, 150030, China)

Abstract: Antibiotic resistance gene (ARG) is an emerging environmental contaminant closely related to the abuse of antibiotics. DNA as a carrier of ARG, its occurrence, transport and horizontal transfer govern the spread of the ARG in the broad environment. This paper reviewed the literature related to the above processes and comprehensively discussed the environmental factors and mechanisms related to DNA occurrence and fate such as DNA damaging, protection and repair. DNA mobility such as adsorption, desorption and transport. Incurrence of antibiotic resistance such as horizontal transfer. In the end, scientific questions that merit further study were proposed.

Keywords: DNA, antibiotic resistance genes (ARGs), transport, protection, damaging, horizontal transfer.

抗生素在医疗和畜禽养殖业中的滥用,产生了大量的抗药细菌和抗药基因^[1-2]。污水处理厂、畜禽养

2018 年 2 月 27 日收稿 (Received: February 27, 2018).

* 国家自然科学基金 (41672248, 41471409) 和黑龙江国土厅科技项目和辽宁省创新团队 (LT2015017) 资助。

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41672248, 41471409) and Science Foundation of Department of Land and Resources of Heilongjiang Province, Innovation Team Foundation of Liaoning Province (LT2015017).

* * 通讯联系人, Tel: 024-62267041; E-mail: yangxinyao@hotmail.com

Corresponding author, Tel: 024-62267041; E-mail: yangxinyao@hotmail.com

殖场和市政填埋场等抗生素含量较高的地方已成为环境中抗性基因的主要来源^[1,3-6]。抗性基因作为一种新型污染物,具有一些与传统的化学类污染物不同的性质,其生物学特性决定其可以在细菌间进行传播转移甚至是扩增^[7]。抗性基因在环境中的停留时间较抗生素更长,而且可通过多途径传播,在不同环境介质中迁移,其危害比抗生素更大^[8]。抗性细菌和抗性基因在环境中的传播可能引发重大安全事件。2011 年德国爆发的“毒黄瓜”事件就由 O104: H4 血清型肠出血性大肠杆菌引起,此菌株携带有氨基糖苷类、大环内酯类、磺胺类等抗生素的抗性基因,感染了欧洲 9 个国家^[7];携带耐药基因 NDM-1 (*New Delhi metallo-β-lactamase 1*,新德里金属 β 内酰胺酶-1)的“超级细菌”更是曾引发全球性的恐慌^[9]。2006 年 Pruden 等^[10]提出将抗药基因(ARGs)作为一种新型污染物来治理。2010 年世界卫生组织^[10-11]指出抗药基因在环境中的产生与传播将是下个世纪人类面临的最严重的健康挑战,需要全球性的策略应对。

在环境介质中,抗性基因具有一定的迁移特性,在一些未受抗生素直接污染的环境中抗性基因被检测出,且其浓度逐年增加^[12-20]。Pei 等^[21]在 Cache La Poudre 河未受抗生素干扰区域发现了四环素类及磺胺类抗性基因^[21]。施嘉琛等^[22]在北京榆河流域的河流中检测出 *tet(M)* 基因,并猜想这是由于抗性基因通过水平转移在微生物间传播引起。Cheesanford 等^[23]在养猪场的化粪池内检测到 8 种编码核糖体保护蛋白的抗四环素基因,且在距离化粪池 250 m 处的地下水中仍能检测出这八种抗性基因,说明这些基因可渗透至地下水中并随地下水迁移。Chen 等^[3]在市政垃圾填埋场的地下水中检测出 171 种抗药基因,进一步证明基因能渗透入地下水。范长征等^[24]采用高效液相色谱-质谱法分析了湘江长沙河段中 4 种抗性基因的赋存和丰度,发现底泥中的抗性基因丰度明显高于水中丰度,他们猜测这是基因迁移并被底泥中的粘土或矿物质吸附造成的。

DNA 是抗性基因的重要载体,携带抗药基因片段的自由态 DNA 进入环境后,附着在土壤或含水层介质表面,能够保存转化细菌的能力;环境微生物通过直接摄取这些 DNA 发生转化,从而获得抗药性。因此,环境中的抗性 DNA 构成了抗药性在土壤中的传播的基因库^[25],理解 DNA 分子在环境中迁移与归趋对于抗药基因的风险评价和控制十分重要。此外,抗药基因水平转移是人类致病细菌从环境中获取抗药性的重要途径,对于抗药性在环境中的传播十分重要^[3]。以提高对环境中抗药性的传播机制的理解为目标,本文综述了水土环境中控制抗性 DNA 迁移(吸附、解吸、迁移)、归趋(损伤、保护)和水平转移等过程的环境机制,并指出了研究中存在的空白及进一步研究需要解决的问题。

1 环境对 DNA 分子的损伤机制

DNA 结构通常分为一级结构、二级结构和三级结构^[26]。一级结构由脱氧核苷酸在分子内排列的顺序,也就是 DNA 分子内碱基的排列顺序决定,对阐明遗传物质的功能、结构以及其表达调控都极其重要。二级结构指两条多核苷酸链反向平行盘绕产生的双螺旋结构,分左右螺旋和右手螺旋。这种双螺旋结构很大程度上保证了 DNA 结构的稳定性。三级结构指双螺旋进一步扭曲盘绕所形成的一种特定空间结构,是比双螺旋更高层次的空间构象。这种三级结构与 DNA 的稳定性、特异性和多样性密切相关^[27]。此外 DNA 结构中的磷酸二酯键非常稳定,能使 DNA 维持稳定的结构,但某些金属离子、化合物或酶的胁迫可能导致 DNA 受到不同程度的损伤^[28]。

1.1 金属离子

近年来,学者们研究了一系列金属离子对 DNA 的损伤机理,包括稀土金属如镧系元素及其配合物^[29-30]以及 Cd^{2+} ^[31-33]、 Hg^{2+} ^[34]、 Ce^{4+} ^[35]、 Zn^{2+} ^[36]、 Cr^{6+} ^[37,40]、 Pb^{2+} ^[32,40]、 Cu^{2+} ^[40]和 Hg^{2+} 等^[32,34,41]。Komiyama 等^[29-30]发现镧系元素及其配合物能够切断磷酸二酯键,而被切断的低聚体 DNA 分子两端会有完整的磷酸基团和碱基,可以通过 DNA 连接酶再次连接。沈鹤柏等^[35]研究了溶液酸碱性对铈离子(Ce^{4+})切断只有 26 个碱基的单链低聚体(*Oligomers*)DNA 的影响,也发现 Ce^{4+} 可以切断 DNA 分子。该研究发现在酸性(pH=2.5),近似中性(pH=7.3)和碱性(pH=8.0)条件下, Ce^{4+} 对 DNA 均有切断作用,且在近似中性条件下作用最明显(图 1 所示)。作者认为可能是由于 Ce^{4+} 结合羟基形成配合物,而后羟基作用于低聚体 DNA 分子中的磷酸二酯键,同时磷酸二酯键也会与 Ce^{4+} 进行配位;在酸性条件下 Ce^{4+} 会与磷酸二酯键中的负氧离子相互结合,促使 P—O 键的断裂^[35]。这些研究表明金属元素及其配合物可导致磷酸二酯键断裂或与其形成配合物,从而损伤 DNA。除了溶液酸碱性,金属离子浓度是影响 DNA 损伤

程度的另一个重要参数.沈鹤柏等^[35]发现被 Ce^{4+} 离子切断的 DNA 片段数会随着 Ce^{4+} 离子浓度的增加而增加^[35].宋婕等^[33]用 RAPD 法(基于随机引物扩增多肽性法)分析了 Cd^{2+} 对拟南芥 DNA 的损伤,并且基于 Real-time PCR 研究了 DNA 损伤的修复程度.他们发现随着 Cd^{2+} 浓度的增加,拟南芥 DNA 的损伤加剧.在低浓度下, Cd^{2+} 主要引起 DNA 序列的错配损伤,且该损伤较易于修复;随着离子浓度升高, Cd^{2+} 会引起 DNA 断裂,甚至导致拟南芥染色体损伤,此种损伤较难修复^[33].张来军等^[40]研究了 Cr^{6+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Hg^{2+} 等 4 种重金属对罗非鱼血细胞中 DNA 的损伤.基于彗星电泳技术检测 DNA 损伤程度,发现 4 种重金属均引起了罗非鱼血细胞 DNA 损伤,且损伤程度随重金属浓度升高而加剧.图 2 示了 Cu^{2+} 损伤 DNA 的机制:罗非鱼血细胞核的荧光强度随着 Cu^{2+} 浓度的增强而降低,且其产生的彗星状拖尾增长,说明随着 Cu^{2+} 浓度的提高, DNA 链断裂程度由轻到重,且损伤的程度随重金属 Cu^{2+} 的浓度升高而加剧.这些研究表明 DNA 的损伤程度随金属离子浓度增加而加剧.但刘桂强等^[36]的研究,表明在不同浓度下,金属离子可能对 DNA 产生相反的效果.他们用拉曼光谱技术研究了 Zn^{2+} 对小牛胸腺 DNA 结构稳定性的影响,发现高浓度时 Zn^{2+} 会破坏 DNA 的结构稳定性^[36],但低浓度的 Zn^{2+} 对 DNA 的结构具有稳定作用.如图 3 所示,当浓度比 $R(=[Zn^{2+}]/[PO_4^{2-}]) \leq 2.0$ 时, 1095.0 cm^{-1} 峰的线宽与 R 存在线性关系且随 R 值增加而增加;当 R 从 2.0 增加到 2.5 时,线宽变化速度进一步增加.这是由于在不同的浓度下 Zn^{2+} 与 DNA 上不同的原子螯合,当 Zn^{2+} 与鸟嘌呤上的氮原子和磷酸二酯键中的氧原子螯合时,产生的螯合物可增加 GC 碱基对的氢键能使其更加稳定,而当 Zn^{2+} 浓度增大致使 $R > 2.0$ 时,谱线宽度剧增,这说明当 R 超过一定值后,大量的 Zn^{2+} 开始与 C(N3-O2) 螯合, GC 之间的氢键被打断, DNA 结构变得不稳定^[36].此研究说明金属离子浓度可能影响金属离子与 DNA 不同部位作用,导致对 DNA 结构产生不同的影响.

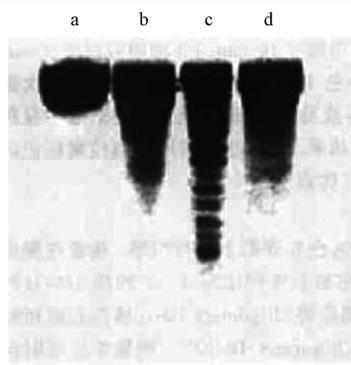


图 1 不同 pH 时 Ce^{4+} 水解切断低聚体 DNA 的电泳图谱^[35]

a, b, c, d 依次为未与 Ce^{4+} 反应(a)的低聚体 DNA 以及在 pH=2.5(b)、pH=7.3(c) 和 pH=8.0(d)的条件下与 Ce^{4+} 反应后的低聚体 DNA

Fig.1 Electrophoretogram of hydrolyzed oligomers of Ce^{4+} at different pHs

a, b, c and d respectively refer to the unreacted oligomer DNA (a) and oligomer DNA reacting with Ce^{4+} at pH 2.5 (b), pH 7.3 (c) and pH 8.0 (d).

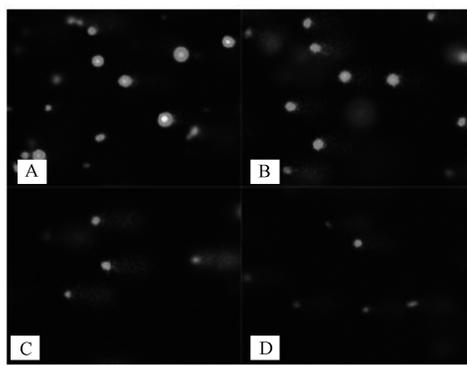


图 2 不同浓度 Cu^{2+} 引起罗非鱼血细胞 DNA 受损典型彗星电泳图像 ($\times 200$)^[40]

(注: A: 空白对照组; B: $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; C: $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; D: $15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Fig.2 Representative cometary image ($\times 200$) showing the damage of the tilapia blood cell DNA at different Cu^{2+} concentrations (note: a: control, b: $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, c: $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, d: $15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

在重金属离子等环境毒性物质的胁迫下,生物体有氧呼吸会产生活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)物质^[42].ROS 主要包括 O_2^- 、 H_2O_2 及 $HO_2\cdot$ 、 $\cdot OH$ 等基团^[43],这些基团会攻击 DNA 而产生 DNA 位点突变、双链畸变等氧化性应激损伤^[44],这种氧化性应激损伤甚至可以引起 DNA 双链断裂(DSBs)^[45-46],这种双链结构的断裂被认为是 DNA 损伤中最严重的类型^[45].肖经纬等^[39]发现六价铬化合物与 H_2O_2 共同作用于 DNA 产生的羟基自由基($OH\cdot$)可引起 DNA 的断裂^[37]造成氧化损伤.Liang 等^[47]在用定量 PCR 技术检测 H_2O_2 对人体 RPE 细胞的损伤和修复中发现,相比核 DNA 线粒体 DNA 更容易发生氧化损伤.线粒体 DNA 发生损伤会影响生物体正常的呼吸作用,进一步促进 ROS 的产生,这说明 ROS 的氧

化应激损伤与 DNA 损伤是可循环促进的^[48].Wang 等^[49]研究发现 ROS 会将 DNA 分子中的鸟嘌呤(G)氧化成为 8-氧鸟嘌呤(8-OXOG),这种 8-氧鸟嘌呤将不会与胞嘧啶(C)进行配对,反倒与 A 进行配对,使 DNA 序列中的 G 转变为 A,形成错配.这种损伤机制与六价铬作用于 DNA 产生 8-羟脱氧鸟嘌呤(8-OHdG)的机制类似,都是氧化损伤^[39].

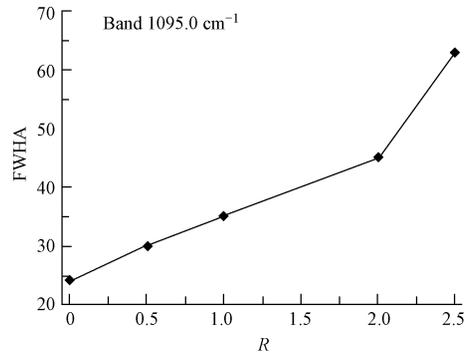


图3 Zn²⁺-DNA 混合溶液的拉曼光谱线宽度随浓度比 $R(=[\text{Zn}^{2+}]/[\text{PO}^{2-}])$ 的变化^[36]

Fig.3 Variation of the FWHM of the Zn-DNA mixture with the change of concentration ratio $[\text{Zn}^{2+}]/[\text{PO}^{2-}]$

上述研究大都关注环境中的某一种金属元素的影响,但环境中更普遍的情况是多种金属元素共同存在.目前,复合金属离子对 DNA 的损伤的研究相对较少.周新文等^[50]研究了 Cd²⁺、Zn²⁺、Pb²⁺、Cu²⁺ 等 4 种重金属混合对鲫鱼组织 DNA 的毒性,发现 Cd²⁺、Zn²⁺ 和 Pb²⁺ 是主要毒性成分,而 Cu²⁺ 能降低前三者的毒性作用.侯丽萍等^[51]研究了镉和锌对草鱼组织 DNA 的毒性作用,发现随着时间的推移,两种金属间的交互作用由拮抗作用转为协同作用.胡晓磐等^[32]针对低剂量重金属混合物对 DNA 的作用进行了实验.他们选择水体中常见的 Cd、Zn、Pb 和 Hg,采用单细胞凝胶电泳方法(SCGE)研究了混合重金属对鲫淋巴细胞 DNA 的损伤效应,发现 DNA 的损伤与重金属混合物的浓度存在一定的剂量效应关系.

1.2 酶的作用

除了重金属,广泛存在于水-土壤环境中的酶也能造成 DNA 分子的损伤^[52].在贫营养和溶解碳贫乏的环境^[53]或者当有机物和 DNA 等生物聚合物分子量大于 600Da 不能直接渗透细菌膜被其吸收时^[54],异养细菌会分泌胞外酶(extracellular enzymes)降解天然聚合物,帮助细菌摄取营养^[53,55-56].已有文献表明,土壤微生物是土壤酶的重要来源^[57-58].同时,由于地下水环境中超过 80% 的有机物(相对总有机物)是大分子且通常处于贫营养(oligotrophic)状态,异养微生物会产生大量胞外酶来帮助它们摄取有机物作为新陈代谢的营养,且在一定条件下酶的浓度会随营养物的浓度增加而提高^[55,59].海口区域是海洋咸水与河流淡水的交界带,也含有大量的胞外酶,它们的作用活性在海水区表现更强,而在淡水区却有所下降^[59].

胞外酶主要通过水解、氧化及空间结构的改变作用来破坏 DNA 分子.磷酸酶、脱氧核糖核酸酶和限制性内切酶对 DNA 具有一定的损伤能力^[60].酸性磷酸酶(acid phosphatase)可以水解有机磷底物(RNA、DNA、3-磷酸甘油酸、磷酸己糖等)上的磷酸基团^[59-61]并生成磷酸根离子和自由羟基.在土壤环境中,酸性磷酸酶的活性与其存在形式有关,例如,粘土表面吸附态的酶活性远低于自由态的酶活性^[62-63].但由于自由态的酶在环境中难以长存^[52],因此土壤环境中的酶通常以与矿物颗粒或有机物胶体吸附结合的形式存在^[64-66].碱性磷酸酶是海洋环境中的一种重要的酶^[67],主要来源于细菌、浮游植物和浮游动物^[68-71].由于碱性磷酸酶具有非特异性,它们可以催化几乎所有磷酸单酯的水解反应,生成无机磷酸和相应的醇、酚、糖等,还可以催化磷酸基团的转移反应^[67].

脱氧核糖核酸酶(DNase I, deoxyribonuclease),是一种可以消化单链或双链 DNA,产生单脱氧核苷酸或单链或双链的寡脱氧核苷酸的核酸内切酶.Bezanilla 等^[72]发现 DNase I 具有相对非特异性,可切断附着在固体表面上的双链 DNA.X 射线晶状结构显示 DNase I 粘连在 DNA 双螺旋的小沟(Minor groove)表面,与磷酸盐骨架产生交互作用,切开磷酸二酯链接.与二型内切酶(如 PvuII)不同, DNase I 的序列特异性很小,同时,不同于外切酶, DNase I 不需要找到 DNA 的端部^[72].李铭峰^[73]研究耐辐射球菌所分泌

的唯一胞外核酸酶 DRB0067,发现其具有核酸内切酶和核酸外切酶的活性,可以切割质粒以及单链或双链 DNA 等.限制性核酸内切酶可以为宿主抵御外来 DNA 的侵袭.根据酶的切割特性、催化条件及是否具有修饰性可分为 I 型、II 型、III 型三大类型^[73-74].I 型酶具有核酸内切酶、甲基化酶、ATP 酶和 DNA 解旋酶四种活性,其内切酶的识位点和切割部位不一致,无固定的切割点,不产生特异片段^[75].II 型酶可以限制修饰系统,分别由限制酶和修饰酶组成.II 型限制酶需要 Mg^{2+} 作为催化反应辅助因子,能识别双链 DNA 的特定序列,一般为 4 至 6 个碱基的反转重复序列.另外,II 型限制酶一般在识别序列内进行切割,产生特异的 DNA 片段^[76-79].III 型酶和 I 型酶类似,也有甲基化功能,但无 ATP 酶和 DNA 解旋酶活性.此类酶可以在 DNA 链的特异位点切割,但切割位点在识别位点之外,一般相距几十个碱基.孙连魁等^[80]用酶促反应的动力学和热力学法研究内切酶对环状 DNA 分子的专一性和非专一性的结合及切割过程,发现不论反应底物的构型如何(线状或环状),内切酶都可以相似的动力学和热力学过程对其进行结合与切割^[80].

2 环境对 DNA 分子的保护机制

环境中某些天然胶体颗粒(如粘土颗粒)、纳米颗粒、抗氧化剂和酶可保护 DNA 分子抵抗环境中的不利因素,因而有助于 DNA 在环境中的长久赋存和传播^[81-85].

2.1 天然胶体与工程纳米颗粒

插层现象^[83,86-88]和吸附作用是粘土颗粒保护 DNA 分子免受重金属或酶等损伤的主要方式:通过粘土矿物独特的层状结构,使 DNA 在颗粒结构上吸附时产生插层现象^[87];同时,粘土颗粒表面吸附重金属及其他外源损伤因子,使其难以接触到 DNA 分子.侯雅琨^[83]发现累托石可降低重金属离子 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 对鲑鱼精 DNA(一种平均大小为 1000 bp 的双链 DNA 分子)的损伤,并推断这是由于鲑鱼精 DNA 分子吸附到累托石的层间结构中,而降低了 DNA 与水溶液中的 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 接触率.另一方面,累托石粘土颗粒通过表面吸附这两种重金属离子降低了它们在溶液中的浓度,从而进一步减少了 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 对鲑鱼精子 DNA 的损害^[83].侯雅琨等^[89]采用 CTAB(十六烷基三甲基溴化铵)改变累托石粘土的性质,并研究其对鲑鱼精双链 DNA 的吸附性能.他们发现 CTAB 可通过阳离子交换作用以插层方式进入累托石粘土层间域,扩大粘土层间距,并增加了粘土的表面正电荷.改性前原土累托石对 DNA 的吸附主要依靠配位交换、分子引力和静电引力等作用力,而改性后累托石对 DNA 的吸附主要依靠静电力.层间间距和表面电荷的增加均有助于 DNA 的吸附;改性后累托石对 DNA 的吸附量是原累托石的 3 倍,且吸附稳定性增强.吸附在粘土层间的 DNA 受到粘土保护而不易被外界环境因素如 pH 值、离子强度、重金属和脱氧核糖核酸酶影响.当 pH 值在 5.0—9.0 范围内时, DNA 在累托石上的吸附量不随 pH 而变化,且吸附稳定性明显增强;离子强度降低,被吸附的 DNA 也不能被释放^[89].另一方面,电解质浓度的降低会影响 DNA 吸附层的结构,导致 DNA 的压缩^[89].粘土颗粒的插层结构也可以保护 DNA 免受环境中的核酸酶的损伤,提高其在环境中的赋存能力.Khanna 等^[90]发现结合在蒙脱石上的枯草芽孢杆菌 DNA 不易被 DNA 酶降解.这些研究,提出了粘土颗粒的层状结构对 DNA 在环境应力下长久赋存的重要性,揭示了粘土颗粒对于环境中抗药基因传播的重要作用.

除了天然的粘土胶粒,某些工程纳米颗粒也可以保护 DNA 不受脱氧核糖核酸酶的损伤.丁诚实等^[84]研究了 4 种纳米氧化物(Nano- Al_2O_3 , Nano- TiO_2 , Nano- Fe_2O_3 和 Nano- SiO_2)对环状质粒 pBR322 DNA 和线型 λ DNA 的保护,发现这些纳米颗粒可增强两种 DNA(线型和环形)对核酸内切酶(*Hind* III、*Hinc* II、*Sal* I、*Sty* I、*Nco* I、*Nde* I)和非限制性内切酶 *DNase* I 的防御,保护效果从强到弱依次为: Nano- Al_2O_3 >Nano- Fe_2O_3 >Nano- TiO_2 >Nano- SiO_2 .他们认为这是由于 DNA 分子以紧密压缩折叠的形态缠绕在金属纳米颗粒上,导致 DNA 分子中的节点和突起不再明显,核酸酶的作用位点变得隐蔽.由于不同的金属纳米颗粒对 DNA 分子的静电吸引能力不同(Nano- Al_2O_3 >Nano- Fe_2O_3 >Nano- TiO_2 >Nano- SiO_2),金属纳米颗粒对 DNA 的保护作用能力也不同,且不同金属纳米颗粒对 DNA 的保护能力与静电吸引能力排列顺序一致.工程纳米对 DNA 的这一保护机理,不同于天然粘土胶体的插层结构保护机理.

2.2 抗氧化剂

环境中的抗氧化剂对于 DNA 的氧化损伤有一定抑制作用.韩卫娟等^[91]研究了沉香茶对鱼精子

DNA 的氧化损伤的影响,发现沉香茶所含的黄酮类物质对于 DNA 具有重要的保护作用.黄酮类化合物可以被氧化为醌类物质,这种化学特性使其具备抗氧化的特性.黄酮类物质除了可以阻断自由基链的传递过程还可以经由单电子转移的方式直接清除羟基自由基和超氧阴离子等自由基.除了黄酮类化合物以外,维生素也是环境中常见的抗氧化剂.范丽君等^[81]采用单细胞凝胶电泳技术和 CASP 软件测试了 3 种抗氧化剂:维生素 C(Vc)、维生素 E(Ve)和 Zn_2SO_4 对河蟹精子 DNA 抵抗氯化镉损害的效果^[81],发现上述 3 种抗氧化保护剂均对 DNA 具有一定的保护效果,其中 Ve 和 Zn^{2+} 的保护作用随浓度的增加而增强.而 Vc 既具有抗氧化性又具有促氧化性作用,抗氧化或促氧化作用的产生主要取决于 Vc 的浓度^[92].在一定范围的低浓度条件下,Vc 的保护作用随其浓度增加而加强,这是由于 Vc 可以清除生物体内的超氧化物、羟自由基、过氧化氢、过氧自由基和单线态氧^[81].Ve 除了具有阻止自由基形成的作用外,还可抑制由细胞内氧化应激诱发的核酸内切酶的激活,并通过提高损伤 DNA 的清除率而增强损伤 DNA 的修复能力^[93].锌可与一些过氧化剂发生螯合作用,从而控制过氧化作用,最终降低了河蟹精子 DNA 的损伤程度^[81].一些蛋白质水解物也是很好的抗氧化剂,对 DNA 的氧化损伤也有保护作用.赵磊等^[94]等研究了大豆分离蛋白和鹿茸蛋白对过氧化氢(H_2O_2)胁迫下 pBR322 质粒化的保护作用.他们发现两种蛋白质水解物对 pBR322 质粒均有保护作用,且大豆分离蛋白具有更好的抗氧化作用,能够保护离体 DNA 免受自由基诱导的氧化损伤.

2.3 酶效应

环境中某些胞外酶,对 DNA 也具有保护或修复效果.胞外酶主要通过抑制 DNA 的氧化、水解以及运载 DNA 来保护其免受破坏^[82,95-96].抗氧化酶系中的过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)被称作氧化物清除剂,可通过去除过氧化氢和自由基氧等机制来抑制环境 DNA 的氧化以及 DNA 链的断裂^[95-96].王玉林等^[82]发现激酶(属于磷酸化酶 Phosphorylase)可以利用能量分子(如 ATP)将磷酸基团加到对应底物分子上,以无机酸磷酸作为磷酸基团供体,从而抑制水解作用.除了保护,某些酶还具备 DNA 修复功能.Fojta 等^[85]总结了 DNA 修复酶对核碱基受损的 DNA 的修复机制,这包括酶对 DNA 损伤处的识别,通过催化反应去除 DNA 的受损部位,以及重建 DNA 双螺旋.这些酶包括脱氧核糖核酸(N-glycosylases)去除受损的核碱基(Nucleobase),内切核酸酶(Endonucleases)断裂双链,核酸外切酶(Exonucleases)去除与损伤部位相邻的部分 DNA 链,聚合酶(Polymerases)重新合成核酸外切酶消化(Digested)的片段,连接酶(Ligases)封闭 SSB 完成修复程序. DNA 修复过程是一个通过内切酶、DNA 聚合酶和连接酶共同作用的过程.但是由于酶对 DNA 切除的位点不同或连接的位点不同,使得修复后的 DNA 片段的遗传信息可能有所改变.

3 环境介质中 DNA 的迁移过程

3.1 吸附

DNA 在饱和多孔介质表面的吸附过程已有大量研究,这些研究发现吸附强度与 DNA 分子尺寸、形状和表面物理化学性质、pH、离子强度和离子价态、多孔介质粒径及化学组分等因素相关^[97-98].研究表明 pH 的升高会减少 DNA 在土壤和矿物介质表面的吸附^[46,88,90].来自枯草芽孢杆菌的 DNA 在蒙脱土矿物上的吸附量在 pH 值为 1.0 时达到最大,在 pH 值为 9.0 时最少^[90],其整体趋势为吸附量随着 pH 的升高而降低.王慎阳等^[88]研究鲑鱼精子 DNA 在蒙脱土、高岭土和针铁矿上的吸附,发现了类似的规律,即在 pH 值为 3.5 时,高岭土对鲑鱼精子 DNA 的吸附率大约为 90%,而在 pH 值为 6—7 时,吸附率降至 18%—50%.王志刚等^[99]又将源自黑龙江省克山县的黑土制成有机胶体和无机胶体,探究了鲑鱼精 DNA 在不同 pH 条件下在黑土胶体上的吸附和解吸过程机制,发现黑土胶体表面的 DNA 吸附量也随着 pH 值的上升而降低(图 4).Saeki 等^[100]研究鲑鱼精 DNA 在铝英石上的吸附作用时,也发现了相似的作用.他们发现当体系的 pH 值在 3—9 之间时,随着 pH 的升高 DNA 在铝英石表面的吸附量不断下降.由于 DNA 的等电点约为 5,所以 DNA 在 $pH < 5$ 时,表面带正电荷,而当 $pH > 5$ 的时候,DNA 的磷酸基团会发生去质子化而使 DNA 带负电^[99].因此,低 pH 促进 DNA 与吸附面之间的静电吸附,被认为是导致 DNA 吸附量增加的原因^[88,99,101].这些研究结果一致表明,pH 可以通过调控吸附介质的电荷数量和类型,从而改变 DNA 与介质面间的双电荷交互作用,控制 DNA 的吸附.

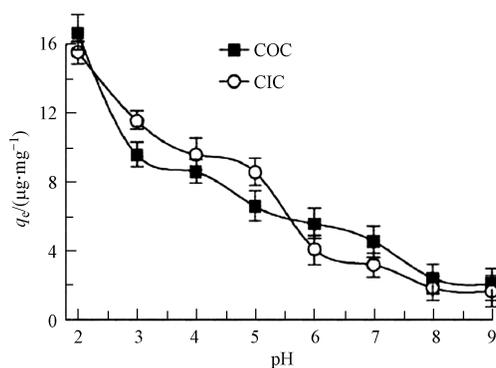


图4 pH对DNA在黑土胶体表面吸附的影响^[103]

Fig.4 Effect of pH on DNA adsorption on black soil colloids

(COC and CIC respectively refer to black soil colloids containing high and no organic substances)

离子强度和离子价态对DNA吸附也有着重要影响,在一定的阳离子浓度范围内,DNA在多孔介质上的吸附量与离子浓度成正相关性.Saeki等^[100]研究鲑鱼精子DNA在水铝英石表面的吸附,发现离子强度(NaCl溶液)在 $0.1\text{--}4\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内时,DNA在水铝英石表面的吸附量随离子强度增加而增加.廖敏等^[102]研究了鲑鱼精DNA在红壤胶体表面的吸附,发现在一定离子强度范围内($\text{NaCl} < 60\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{CaCl}_2 < 10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),DNA的吸附量也随离子强度的增大而增加,这与Saeki等的研究结果一致.离子价态不同,对DNA吸附的作用也不相同.Franchi等^[103]比较了 Na^+ 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 等3种阳离子对DNA吸附的影响,发现二价阳离子介导DNA的吸附比单价阳离子更有效.廖敏等^[102]也发现了类似规律,即钙离子相比钠离子对DNA吸附的促进作用更强,说明阳离子价态越高对DNA吸附的促进作用越明显.而有机阴离子的浓度升高会抑制DNA的吸附^[102].Saeki等^[100]发现在NaCl溶液中,当离子强度为 $0.1\text{--}0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,鲑鱼精DNA在铝英石上的吸附量受离子强度的影响很小,但添加磷酸氢钠以后,DNA在铝英石表面的吸附作用减弱,这说明DNA分子与磷酸根离子间存在竞争吸附.Cai等^[98]的研究验证了此猜想,他们比较了不同离子类型对鲑鱼精DNA吸附的影响,发现磷酸盐、柠檬酸盐和酒石酸盐会占据鲑鱼精DNA的吸附点位而抑制DNA的吸附,其影响程度从强到弱依次为磷酸盐>柠檬酸盐>酒石酸盐.Saeki等^[104]认为DNA通过两种作用方式吸附在铝英石表面:一是DNA分子中的磷酸基团直接与铝英石中的氧化铝的羟基基团结合,另外一种方式是DNA和表面带负电的铝英石之间通过无机阳离子形成键桥而吸附在铝英石表面^[100].Romanowski等^[105]认为质粒分子主要通过静电力和阳离子键桥作用吸附到矿物质表面且在环境中阳离子键桥的作用主导质粒的吸附.上述研究一致表明,高价态阳离子键桥效率更高,从而促进DNA吸附;而阴离子与DNA的磷酸基团竞争吸附点位,从而抑制DNA的吸附.

除了水化学环境,吸附界面的物理化学特征,如粒径和组分等,也会影响DNA的吸附效率.Cai等^[101]研究了鲑鱼精DNA在不同粘土矿物表面的吸附,发现吸附量依次减小,其顺序为:蒙脱石>细无机粘土>细有机粘土>高岭土>粗无机粘土>粗有机粘土.他们发现静电作用主导有机粘土和蒙脱石上的DNA吸附,带负电的DNA与有机粘土之间的静电排斥力较高因而比在无机粘土上吸附更困难^[101].Cai等^[106]研究了细菌(苏云金芽孢杆菌和恶臭假单胞菌)对鲑鱼精子DNA在不同矿物(蒙脱土、高岭石和针铁矿)表面吸附的影响.他们发现苏云金芽孢杆菌可促进DNA在有机粘土上的吸附,而恶臭假单胞菌则降低了DNA在高岭石和针铁矿上的吸附,并猜想这是因为恶臭假单胞菌细胞表面的脂多糖等大分子物质与矿物表面的DNA分子竞争吸附点位造成.Cai等^[106]认为静电力和配体交换是鲑鱼精子DNA吸附在细菌、蒙脱土和针铁矿上的主要动力,其中配体交换是针铁矿吸附鲑鱼精子DNA的主要方式;与高岭石和针铁矿相比,静电力对蒙脱土和有机粘土吸附DNA的作用更明显,而疏水力与氢键等作用力可能对DNA在高岭石上的吸附更重要.

DNA自身的结构和性质也会影响其在环境介质面上的吸附能力.Franchi等^[103]发现单链DNA需要更高的阳离子浓度才可达到与双链DNA相同程度的吸附量.Romanowski等^[105]发现超螺旋质粒DNA在砂上的吸附量要略小于线性化或开放的环状质粒DNA.他们认为,这是由于超螺旋质粒表面电荷的可用

率比开放的环状质粒分子低,而且其分子构型的灵活性较开放的环状质粒更差,可以更好地克服空间位阻,所以吸附量较少.Pietramellara 等^[107]发现在 Ca-蒙脱土胶体和 Ca-高岭土胶体两种吸附面上,分子量低的 DNA 吸附能力更强,认为这是由于分子量较高的 DNA 分子会占据更多的吸附位点。

对 DNA 解吸过程的研究相对吸附研究较少.王慎阳等^[91]研究了两种解吸剂 (NaOAc 和 NaH_2PO_4) 对 3 种黏土胶体表面 (针铁矿、蒙脱石和高岭土) 上的鲑鱼精 DNA 的解吸效果 (图 5). 他们发现,NaOAc 基本不引起针铁矿表面的 DNA 解吸,但对蒙脱土和高岭土上的 DNA 会产生较好的解吸效果,且这一效果受 pH 的影响较大.当以 NaH_2PO_4 为解吸剂时,针铁矿吸附的 DNA 解吸率较高,且 pH=3.0 和 pH=5.0 时,蒙脱土和高岭土的解吸率差异均不大,在 pH=7.0 时两者解吸率稍有差异.作者认为这一差异是由于两种解吸剂的作用机制不同产生,NaOAc 通过静电引力促使吸附在胶体上的 DNA 分子解吸,而 NaH_2PO_4 以 8 配位体交换促进胶体上的 DNA 解吸^[101,104,107]. 在 pH < 5.0 时,蒙脱土和高岭土上 DNA 吸附主要是通过静电吸附,因此 NaOAc 的静电效应对蒙脱土和高岭土上 DNA 的解吸产生差异不大;而在 pH=7.0 时,蒙脱土上约 63% 的 DNA 吸附是静电力的吸附作用,在高岭土上的静电吸附比率约为 30%,因此在高 pH 条件下,NaOAc 的静电效应对两种黏土上 DNA 的解吸效率不同.Crecchio 等^[108]研究了枯草芽孢杆菌 DNA 在蒙脱石-腐殖酸与 Al 或 Fe 羟基聚合物形成的络合物 (Al-M-HA 或 Fe-M-HA) 上的吸附、解吸过程,发现 pH 值在 3—10 区间内,DNA 在 Al-M-HA 上的吸附水平比在 Fe-M-HA 上高,且在聚合物表面会形成一些配合物,形成配合物的这部分 DNA 难以解吸。

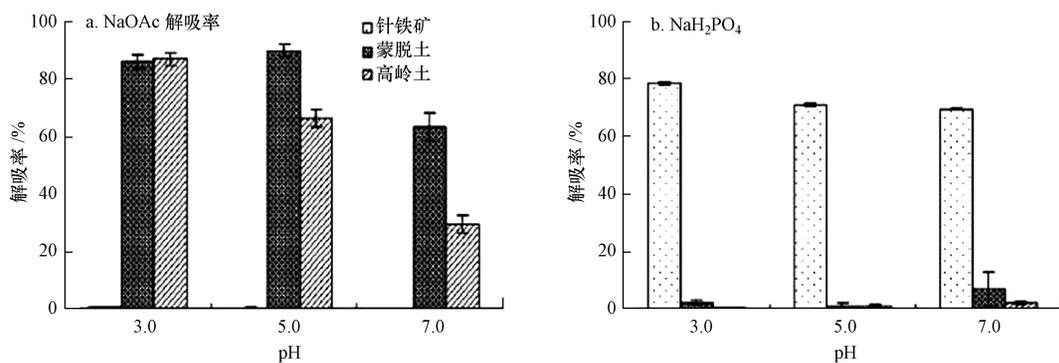


图 5 不同解吸剂对矿物吸附 DNA 的解析率 (NaCl 电解质)^[91]

Fig.5 Desorption rate of DNA from mineral solids induced by different desorbents (NaCl solution)

3.2 迁移

携带抗药基因的质粒在多孔介质中的迁移是造成环境中抗药性传播的重要过程,但目前对质粒在多孔介质中的迁移研究相当有限^[109].Pote 等^[110]用携带抗药基因的超螺旋质粒 DNA 和线型质粒 DNA 做模型,研究了抗药基因在饱水土柱中的迁移与转化.他们发现超螺旋质粒 DNA 在土柱上的沉降大于线型质粒,表明 DNA 结构对其迁移能力有一定影响.Shogren 等^[111]尝试用传统的弥散对流模型来模拟天然 DNA (从鱼池中的大鳍鳞鳃太阳鱼采集的 DNA) 在砂柱中的迁移.他们发现天然的 DNA 粒径分布极不均匀,其中部分小粒径 DNA 的迁移更贴近溶质迁移,而大粒径 DNA 迁移与颗粒迁移近似.因此,传统的 ADE 模型 (假设单一的粒径) 难以准确模拟天然 DNA 的迁移沉降过程,今后的模型开发中需要考虑环境 DNA 的粒径分布引起的这种溶质-颗粒双重性的特点因素。

Chen 等^[109]比较了阴性表面活性剂 (SDS) 和阳性表面活性剂 (CTAB) 对质粒迁移的影响,发现阴性表面活性剂由于与质粒带同种电荷,因而难以吸附在质粒表面,对质粒迁移的影响不明显;反之,阳性表面活性剂可以吸附在质粒表面并改变其表面电性,从而促进了质粒的沉降,该研究验证了上述猜想.Rysz 等^[25]的研究也验证了上述结论.他研究了溴化钠对携带抗四环素基因的质粒 DNA 在饱和多孔介质 (氧化锆-二氧化硅珠) 中的迁移规律,发现钠离子通过吸附在氧化锆-二氧化硅珠表面并改变其表面的电性,可以降低 DNA (带负电) 与氧化锆-二氧化硅珠表面的静电排斥,增强 DNA 在柱内的过滤,并延迟 DNA 流出柱子的时间.反之,若先注射质粒 DNA 再注射溴化钠溶液,则由于多孔介质对质粒 DNA 的尺寸排除 (size exclusion) 效应以及质粒 DNA 与介质表面的强静电排斥作用,质粒 DNA 会比溴化钠提前

流出柱子.这一研究也表明地下水或者土壤环境化学性质的改变均可影响抗性质粒在环境中的迁移.而且工程质粒与土著质粒在迁移上没有本质区别.最近,Chen 等^[109]通过砂柱实验研究了 8 种具有抗药性的工程质粒(pUC18, pBlueScript II SK(+), pBR322, pFastBac HT A, pBAGE-Puro, pcDNA3.1(+)/myc-His A, pcDNA3.1(+)/Flag-His A + ATM, and pAdEasy-1) 在石英砂介质中的迁移.他们发现质粒在多孔介质中的迁移与已被研究较多的胶体(如聚乙烯乳胶球和细菌)的迁移规律较一致,能迁移相当长的距离.Chen 等^[109]进一步研究了土壤中的土著抗药质粒的迁移行为,他们从农场表土(0—5 cm)中采集了质粒 DNA (pK5)并比较了土著质粒与工程质粒在石英砂和天然土介质中的迁移规律,发现土著质粒与工程质粒在石英砂和天然土中的迁移行为高度一致,这意味着工程质粒可作为土著质粒的模型来研究各环境因素对天然质粒迁移的影响.

4 环境中抗性基因的水平转移

抗性基因在环境中的转移分为水平转移和垂向转移两大类^[112].垂向转移的范围是在亲代和子代间,传播范围有限^[113],而水平转移是抗性基因在环境中传播的重要途径^[3,114],这一过程中抗性基因结合质粒、整合子、转座子等可移动遗传密码子,进入到环境微生物体内并且表达,其具体有 3 种方式:接合、转化和转导^[115].本文讨论范围限于抗性基因的水平转移,分析了几种环境污染物,如抗生素、金属离子和金属纳米颗粒对于水平转移的影响.

在畜禽养殖业中,抗生素往往与微量金属元素添加剂(如 Cu、Zn、As)一起施用^[116].这些微量金属元素与未被吸收的抗生素一起排泄到环境中^[117-118],故而畜禽废水中常常含有较高浓度的抗生素和金属元素^[4,6].研究表明抗生素和重金属离子会促进抗性基因的水平转移^[5,49,116,119].抗生素能够增加整合酶和转移酶的活性,因而能促进抗性基因的水平转移^[5].当重金属离子浓度较高时,会对抗性基因产生定向压力,引起抗性基因复制,并与可移动遗传密码子(如转座子和质粒等)结合进入微生物体内,从而加剧抗性基因的抗性并产生更大范围的影响^[116,119-120].生物体对重金属的抗性机制主要为:外排泵、酶解毒、降低受体敏感度、细胞通透性障碍和细胞内外螯合几种方式^[121].如表 1 所示,某些重金属和抗生素的抗性机制类似,故在重金属抗性增加的同时,可能会产生或强化抗性基因的抗性.

表 1 重金属和抗生素胁迫下细胞产生的抗性机制^[120]

Table 1 Resistance generation mechanisms under the impact of heavy metal and antibiotics

抗性机制	重金属	抗生素
细胞通透性障碍	As, Cu, Zn, Mn, Co, Ag	Cip, Tet, Chlor, β -lactams
酶失活	As, Hg	β -lactams, Chlor
外排泵	Cu, Co, Zn, Ni, As	Tet, Chlor, β -lactams
胞外受体的改变	Hg, Zn, Cu	Cip, β -lactams, Trim, Rif
螯合	Zn, Cd, Cu	CouA

最新研究表明,金属纳米颗粒可以促进抗性基因的水平转移^[84,122-123].魏欣等^[123]采用荧光定量 PCR 方法检测分析了几种四环素抗性基因(*tetA*, *tetC*, *tetG*, *tetM*, *tetW* 和 *tetX*)与第一类整合子(*intI1*) 在添加有零价纳米铁的活性污泥中发生的厌氧消化过程中的变化特征,发现污泥厌氧消化过程在一定程度上可以减少四环素抗性基因的丰度,但是加入零价纳米铁以后抗性基因丰度反而有上升趋势,说明零价铁对抗性基因的接合有一定促进作用.丁诚实^[84]选用带 P4 质粒的大肠杆菌 HB101 作为供体菌,以沙门氏菌 MS1 和 大肠杆菌 K12 作为受体细菌构建了多重耐药质粒接合转移的模型,研究了纳米氧化铝对 RP4 质粒接合转移的影响,发现不同浓度的纳米氧化铝均可以显著促进 RP4 质粒在两种大肠杆菌或者大肠杆菌和沙门氏菌之间的接合转移,且纳米氧化铝浓度为 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的时候效率最明显,是空白对照组速率的 200 多倍;而大颗粒的氧化铝对 RP4 质粒的转接没有明显作用,说明促进效果主要来源于纳米氧化铝的纳米结构.纳米氧化铝促进耐药基因转化的可能机制如图 6 所示.同时,丁诚实^[84]还发现纳米氧化铝可以促进耐药基因的水平转移,对 pBR322 这种较小的人工质粒和 RP4 和 pCF10 这两种大的天然质粒均有促进效果^[87].

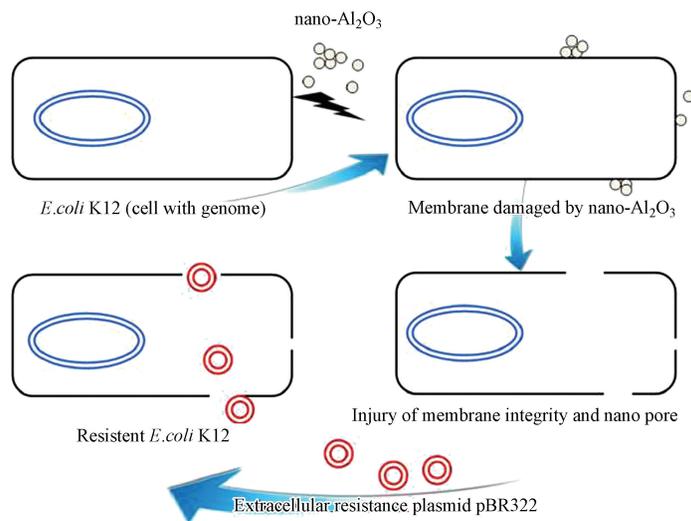


图 6 纳米氧化铝促进耐药基因转化的机制^[84]

Fig.6 The promoted transformation mechanism of ARG by nano- Al_2O_3

钱迪等^[122]研究了纳米二氧化钛(Nano- TiO_2)对带有卡那霉素、氨苄青霉素和四环素三重抗性的质粒 RP4 接合转移的影响,发现 Nano- TiO_2 可以显著促进质粒 RP4 在大肠杆菌 HB101 和大肠杆菌 K12 之间的接合转移,并且随着 Nano- TiO_2 的浓度的升高,这种促进作用呈现先增强而后逐渐减弱的变化趋势.在浓度为 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的时候纳米二氧化钛的促进作用最强,且为空白对照组的 150 倍左右.透射电镜图片显示 Nano- TiO_2 会对细菌细胞膜产生影响,会使细胞膜表面变得不光滑甚至会致使部分细胞膜溶解,而大颗粒的二氧化钛并不能促进质粒的接合作用,也不会损害细胞膜,表明纳米结构产生细胞膜损伤,可能有助于质粒的接合转移.

5 结语和展望

抗性 DNA 作为一种新型的环境污染物,同时具有纳米材料和生物物质的特征,在环境介质中,抗性 DNA 的传播受吸附、沉降、迁移等物理化学过程和降解、复制、修复、水平转移、转化等生物化学过程的共同控制.理解这些过程,有助于提升对抗药性产生和传播过程的预测和干预.本文系统综述了水土环境中携带抗性基因片段的 DNA 的传播过程以及影响其传播的环境因素.DNA 的吸附沉降与迁移等界面物理化学过程与非均一尺度且无定型的胶体材料近似,常规水化学条件如 pH 和离子强度等对其界面过程的影响机制已基本清楚,但环境中存在着土壤胶体物质、土著微生物、有机物以及矿物质等复杂物质,进一步的研究应致力于解释在更复杂的水文地球化学条件下,这些物质对 DNA 吸附与迁移过程的影响,建立控制抗药基因在环境中传播的主导环境因子.其次,复合污染协同作用对细菌产生抗药性的影响机制尚不清楚.在胞外酶、重金属、抗生素和环境纳米材料等环境污染物单独或复合作用下,抗药基因引起细菌产生和传播抗药性的机制需要进一步的研究.其三,环境中携带抗性基因的 DNA 往往展现出粒径分布不均一,浓度不均匀等特点,其迁移具有溶质迁移和胶体迁移的双重特征,难以用传统的迁移模型模拟和预测,进一步的研究建议致力于更新现有的取样、浓度分析和过程模拟工具,更好地预测环境 DNA 物理化学过程的关键因子,如浓度、吸附率、降解率和沉降率等.

参考文献 (References)

- [1] YING G G, HE L Y, YING A J, et al. China must reduce its antibiotic use[J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(3): 1072-1073.
- [2] QIAO M, YING G G, SINGER A C, et al. Review of antibiotic resistance in China and its environment[J]. Environment International, 2018, 110:160-172.
- [3] CHEN Q L, LI H, ZHOU X Y, et al. An underappreciated hotspot of antibiotic resistance: The groundwater near the municipal solid waste landfill.[J]. Science of the Total Environment, 2017, 609:966-973.

- [4] TOLEMAN M A, BENNETT P M, BENNETT D M, et al. Global Emergence of Trimethoprim/Sulfamethoxazole Resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* Mediated by Acquisition of *sul* Genes[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2007, 13(4):559-565.
- [5] ÉMILIE G, CAMBRAY G, SANCHEZ-ALBEROLA N, et al. The SOS Response Controls Integron Recombination[J]. *Science*, 2009, 324(5930):1034.
- [6] CARATTOLI A. Plasmids and the spread of resistance[J]. *International Journal of Medical Microbiology Ijmm*, 2013, 303(6-7):298-304.
- [7] 苏建强,黄福义,朱永官. 环境抗生素抗性基因研究进展[J]. *生物多样性*, 2013, 21(4): 481-487.
SU J Q, HUANG F Y, ZHU Y G. Antibiotic resistance genes in the environment[J]. *Biodiversity Science*, 2013, 21(4): 481-487 (in Chinese).
- [8] 王双玲,王礼,周贺,等. 饮用水系统中抗生素抗性基因的研究进展[J]. *环境化学*, 2017, 36(2):229-240.
WANG S L, WANG Li, ZHOU He, et al. An overview on antibiotic resistance genes in drinking water systems[J]. *Environmental Chemistry*, 2017, 36(2): 229-240 (in Chinese).
- [9] YONG D, TOLEMAN M A, GISKE C G, ET AL. Characterization of a New Metallo- β -Lactamase Gene, bla_{NDM-1}, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from india[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(12):5046-5054.
- [10] PRUDEN A, PEI R, STORTEBOOM H, et al. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: Studies in northern Colorado[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(23):7445-7450.
- [11] 周志男,雷海潮. 2010 年世界卫生报告综述[J]. *卫生经济研究*, 2011(2):3-5.
ZHOU Z N, LEI H C. Review of world health report 2010[J]. *Health Economics Research*, 2011(2):3-5 (in Chinese).
- [12] RAN T, GUANG G Y, HAO-C S, et al. Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in enterobacteriaceae isolated from the pearl rivers in South China[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(6):2102-2109.
- [13] SIYA R, VAJPAYEE, R L S, RISHI S. Surface water of a perennial river exhibits multi-antimicrobial resistant shiga toxin and enterotoxin producing *Escherichia coli*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 72(2):490-495.
- [14] GUNNARSDÓTTIR R, JENSSEN P D, JENSEN P E, et al. A review of wastewater handling in the Arctic with special reference to pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and microbial pollution[J]. *Ecological Engineering*, 2013, 50(50):76-85.
- [15] GRAHAM D W, OLIVARESRIEUMONT S, KNAPP C W, et al. Antibiotic Resistance gene abundances associated with waste discharges to the Almendares River near Havana, Cuba[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(2):418-424.
- [16] 邹世春,朱春敬,贺竹梅,等. 北江河水中抗生素抗性基因污染初步研究[J]. *生态毒理学报*, 2009, 4(5):655-660.
ZOU S C, ZHU C J, HE Z M, et al. Preliminary studies on the pollution levels of antibiotic resistance genes in the water of Beijiang River, South China[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(5): 655-660 (in Chinese).
- [17] YAN G, VEILLETTE M, DUCHAINE C. Airborne bacteria and antibiotic resistance genes in hospital rooms[J]. *Aerobiologia*, 2010, 26(3):185-194.
- [18] LIS D O, PACHA J Z, IDZIK D. Methicillin resistance of airborne coagulase-negative staphylococci in homes of persons having contact with a hospital environment.[J]. *American Journal of Infection Control*, 2009, 37(3):177-182.
- [19] JI X, SHEN Q, LIU F, et al. Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai; China[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 235-236(20):178-185.
- [20] SEGAWA T, TAKEUCHI N, RIVERA A, et al. Distribution of antibiotic resistance genes in glacier environments[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2013, 5(1):127-134.
- [21] PEI R, KIM S C, CARLSON K H, et al. Effect of river landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG)[J]. *Water Research*, 2006, 40(12):2427-2435.
- [22] 施嘉琛,胡建英,常红,等. 北京温榆河流域耐药大肠杆菌的调查研究[J]. *中国环境科学*, 2008, 28(1):39-42.
SHI J C, HU J Y, CHANG H et al. Investigation on the antibiotic-resistance *E. coli* in Wenyu River in Beijing[J]. *China Environmental Science*, 2008, 28(1):39-42 (in Chinese).
- [23] CHEESANFORD J C, AMINOV R I, KRAPAC I J, et al. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2001, 67(4):1494-1502.
- [24] 范长征,王聪,鲁伦慧,等. 湘江四环素及抗性基因含量特征及其季节变化[J]. *湖南大学学报(自然科学版)*, 2015, 42(6):107-112.
FAN C Z, WANG C, LU L H, et al. Occurrence and Seasonal Changes of Tetracycline Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in the Xiang River[J]. *Journal of Hunan University(Napolety Science)*, 2015, 42(6):107-112 (in Chinese).
- [25] RYSZ M, ALVAREZ P J. Transport of antibiotic-resistant bacteria and resistance-carrying plasmids through porous media.[J]. *Water Science & Technology A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 2006, 54(11-12):363-370.
- [26] XING X J, LIU X G, HE Y, et al. Amplified Fluorescent Sensing of DNA Using Graphene Oxide and a Conjugated Cationic Polymer[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(1):117-123.
- [27] 毛芳芳,蒋伍玖,李雪. 浅谈金属离子与 DNA 的相互作用[J]. *山东化工*, 2017, 46(20):49-52.
MAO F F, JIANG W J, LI X. A Brief Talk on the Interaction between Metal Ions and DNA[J]. *Shandong Chemical Industry*, 2017, 46(20): 49-52 (in Chinese).

- [28] 吴尚荣, 金冰, 张楠, 等. 一种不对称菁染料及其与不同结构 DNA 的相互作用[J]. 高等学校化学学报, 2014, 35(10):2085-2092. WU S R, JIN B, ZHANG N, et al. An asymmetric cyanine dye and its interaction with different structural DNA[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2014, 35(10):2085-2092(in Chinese).
- [29] MATSUMURA K, ENDO M, KOMIYAMA M. Lanthanide complex? oligo-DNA hybrid for sequence-selective hydrolysis of RNA[J]. Chemical Communications, 1994, 17(17):2019-2020.
- [30] KOMIYAMA M, TAKEDA N, SHIGEKAWA H. Hydrolysis of DNA and RNA by lanthanide ions: Mechanistic studies leading to new applications[J]. Chemical Communications, 1999, 16(16):1443-1451.
- [31] LIU J, HABEERU S S, LIU Y, et al. Acute CdMT injection is not a good model to study chronic Cd nephropathy: Comparison of chronic CdCl₂ and CdMT exposure with acute CdMT injection in rats[J]. Toxicology & Applied Pharmacology, 1998, 153(1):48-58.
- [32] 胡晓磐, 时夕金, 周建华. 重金属混合物对鲫淋巴细胞 DNA 损伤的研究[J]. 水生生态学杂志, 2005, 25(1):11-12. HU X P, SHI X J, ZHOU J H. A Study on the Lymphocytes DNA Damage of crucian carp by heavy metal mixtures[J]. Journal of Hydroecology, 2005, 25(1):11-12(in Chinese).
- [33] 宋婕, 王鹤童, 崔伟娜, 等. Cd 胁迫诱导拟南芥幼苗 DNA 损伤分析[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(4):635-642. SONG J, WANG H T, CUI W N, et al. Analysis of Cd-induced DNA damage in Arabidopsis seedlings[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2017, 36(4):635-642(in Chinese).
- [34] LIU J, LIU Y, HABEERU S S, et al. Susceptibility of MT-Null Mice to chronic CdCl₂-Induced nephrotoxicity indicates that renal injury is not mediated by the CdMT Complex[J]. Toxicological Sciences, 1998, 46(1):197-203.
- [35] 沈鹤柏, 夏静芬, 杨海峰, 等. Ce 离子水解断裂 Oligomers DNA 中磷酸二酯键[J]. 中国科学, 2001, 31(2):178-182. SHEN H B, XIA J F, YANG H F, et al. Phosphodiester bond in Oligomers DNA of Ce ion hydrolyzed[J]. Science In China, 2001, 21(2):178-182(in Chinese).
- [36] 刘桂强, 孟耀勇, 刘颂豪, 等. Zn²⁺ 对 DNA 稳定性影响的喇曼光谱研究[J]. 化学物理学报(英文版), 2005, 18(1):87-92. LIU G Q, MENG Y Y, LIU S H, et al. Studies on the Effect of Zn²⁺ on DNA Stability by Raman Spectroscopy[J]. Chinese Journal of Chemical Physics, 2005, 18(1):87-92(in Chinese).
- [37] LUO H, LU Y, SHI X, et al. Chromium (IV)-mediated fenton-like reaction causes DNA damage: Implication to genotoxicity of chromate. [J]. Annals of Clinical & Laboratory Science, 1996, 26(2):185-191.
- [38] O'BRIEN T, MANDEL H G, AND D E P, et al. Critical Role of Chromium (Cr)-DNA Interactions in the Formation of Cr-Induced polymerase arresting lesions[J]. Biochemistry, 2002, 41(41):12529-12537.
- [39] 肖经纬, 李斌, 钟才高. 六价铬致 DNA 损伤机制的研究进展[J]. 环境卫生学杂志, 2006, 33(2):97-100. XIAO J W, LI B, ZHONG C G. Research progress on the damaging mechanism of DNA by hexavalent chromium[J]. Chinese Journal of Environmental Hygiene, 2006, 33(2):97-100(in Chinese).
- [40] 张来军, 陈永敢, 杭瑜瑜. 重金属 Cr(VI)、Pb 及 Cu 胁迫对双齿围沙蚕体腔细胞的 DNA 损伤[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(2):216-221. ZHANG L J, CHEN Y G, HAN Y Y. DNA damage of coelomocyte in *Perinereis aiuhitensis* induced by chromium(VI), lead and copper [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 22(2):216-221(in Chinese).
- [41] 张来军, 李晓梅, 陈永敢, 等. 重金属胁迫对罗非鱼血细胞 DNA 损伤的影响[J]. 琼州学院学报, 2017, 24(5):31-35. ZHANG L J, LI X M, CHEN Y D, et al. Effects of heavy metal stress on DNA damage in blood cells of tilapia[J]. Jiongzhou University, 2017, 24(5):31-35(in Chinese).
- [42] YU Y, WANG P, CUI Y, et al. Chemical Analysis of DNA Damage[J]. Analytical Chemistry, 2017, 90(1):556-576.
- [43] 张建宏, 吴丽颖, 朱玲玲, 等. APE/Ref-1 在氧化应激损伤中的作用[J]. 军事医学科学院院刊, 2009, 33(2):193-196. ZHANG J H, WU L Y, ZHU L L et al. The role of APE/Ref-1 in oxidative stress injury[J]. Academy of Military Medical Sciences, 2009, 33(2):193-196(in Chinese).
- [44] 冉茂良, 高环, 尹杰, 等. 氧化应激与 DNA 损伤[J]. 动物营养学报, 2013, 25(10):2238-2245. YAN M L, GAO H, YIN J, et al. Oxidative stress and DNA damage[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(10):2238-2245(in Chinese).
- [45] PRAKASH S, JOHNSON RE, PRAKASH L. Eukaryotic translesion synthesis DNA polymerases: specificity of structure and function[J]. Annual Review of Biochemistry, 2005, 74(74):317-353.
- [46] KHANNA K K, JACKSON S P. DNA double-strand breaks: Signaling, repair and the cancer connection.[J]. Nature Genetics, 2001, 27(3):247-254.
- [47] LIANG F Q, BERNARD F GODLEY. Oxidative stress-induced mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: A possible mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration[J]. Experimental Eye Research, 2003, 76(4):397-403.
- [48] SHOKOLENKO I, VENEDIKTOVA N, BOCHKAREVA A, et al. Oxidative stress induces degradation of mitochondrial DNA[J]. Nucleic Acids Research, 2009, 37(8):2539-2548.
- [49] DAVID WANG, DEBORAH A, KREUTZER, JOHN M, Essigmann. Mutagenicity and repair of oxidative DNA damage: insights from studies using defined lesions[J]. Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 1998, 400(1):99-115.

- [50] 周新文, 朱国念, Jilisa Mwalilino, 等. Cu、Zn、Pb、Cd 及其混合重金属离子对鲫鱼 (*Carassius auratus*) DNA 甲基化水平的影响[J]. 中国环境科学, 2001, 21(6):549-552.
ZHOU X W, ZHU G N, J MWALILINO, et al. Influence of Cu, Zn, Pb, Cd and their heavy metal ion mixture on the DNA methylation level of the fish (*Carassius auratus*), 2001, 21(6): 549-552(in Chinese).
- [51] 侯丽萍, 马广智. 镉与锌对草鱼种的急性毒性和联合毒性研究[J]. 淡水渔业, 2002, 32(3):44-46.
HOU L P, MA G Z. Acute toxicity and joint toxicity of cadmium and zinc to grass carp species[J]. Freshwater Fisheries, 2002, 32(3): 44-46(in Chinese).
- [52] LUO L, MENG H, GU J D. Microbial extracellular enzymes in biogeochemical cycling of ecosystems[J]. Journal of Environmental Management, 2017, 197:539-549.
- [53] WALLENSTEIN M D, WEINTRAUB M N. Emerging tools for measuring and modeling the in situ activity of soil extracellular enzymes[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40(9):2098-2106.
- [54] HOPPE H G, ARNOSTI C. Ecological significance of bacterial enzymes in the marine environment[J]. Enzymes in the Environment, 2002:85-125.
- [55] MARXSEN J, FIEBIG D M. Use of perfused cores for evaluating extracellular enzyme activity in stream - bed sediments[J]. Fems Microbiology Ecology, 1993, 13(1):1-11.
- [56] ARNOSTI, GROSSART H P, MÜHLING M, et al. Dynamics of extracellular enzyme activities in seawater under changed atmospheric pCO₂: A mesocosm investigation[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2011, 64(3):285-298.
- [57] ISTLA S A, SCHIMEL J P. Seasonal patterns of microbial extracellular enzyme activities in an arctic tundra soil: Identifying direct and indirect effects of long-term summer warming[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2013, 66(11):119-129.
- [58] WEAVER L, WEBBER J B, HICKSON A C, ET AL. Biofilm resilience to desiccation in groundwater aquifers: A laboratory and field study[J]. Science of the Total Environment, 2015, 514:281-289.
- [59] MUDRYK Z J, SKÓRCZEWSKI P. Extracellular enzyme activity at the air-water interface of an estuarine lake[J]. Estuarine Coastal & Shelf Science, 2004, 59(1):59-67.
- [60] BARNES M A, TURNER C R, JERDE C L, et al. Environmental conditions influence eDNA persistence in aquatic systems. [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(3):1819-1827.
- [61] TARAFDAR J C, JUNGK A. Phosphatase activity in the rhizosphere and its relation to the depletion of soil organic phosphorus[J]. Biology & Fertility of Soils, 1987, 3(4):199-204.
- [62] NANAPIERI P, SEQUI P, FUSI P. Chapter 7-Humus and Enzyme Activity[M]. Humic Substances in Terrestrial Ecosystems, 1996: 293-328.
- [63] MARINARI S, MASCIANDARO G, CECCANTI B, et al. Kinetics of acid phosphatase in calcium chloride extractable soil organic matter [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40(9):2076-2078.
- [64] RAO M A, SCELZA R, ACEVEDO F, et al. Enzymes as useful tools for environmental purposes[J]. Chemosphere, 2014, 107:145-162.
- [65] PERRY M J. Alkaline phosphatase activity in subtropical Central North Pacific waters using a sensitive fluorometric method[J]. Marine Biology, 1972, 15(2):113-119.
- [66] NANAPIERI P, GIAGNONI L, RENELLA G, et al. Soil enzymology: classical and molecular approaches[J]. Biology & Fertility of Soils, 2012, 48(7):743-762.
- [67] SHARIFIAN S, HOMAIE A, KIM S K, ET AL. Production of newfound alkaline phosphatases from marine organisms with potential functions and industrial applications[J]. Process Biochemistry, 2017 64(1):103-115.
- [68] 曹秀云, 宋春雷, 彭亮, 等. 鱼类饲养对地下水中溶解态磷酸酶的影响[J]. 水生生物学报, 2004, 28(3):310-316.
CAO X Y, SONG CH L, PENG L, et al. Effects of Fish Rearing on Dissolved Phosphatase in Groundwater[J]. Journal of Aquatic Biology 2004, 28(3):310-316(in Chinese).
- [69] 楼秀余. 碱性磷酸酶异常在临床诊断中的作用[J]. 生物技术世界, 2015(1):142-142.
LOU X Y. Role of alkaline phosphatase abnormality in clinical diagnosis[J]. Biotech World, 2015(1):142-142(in Chinese).
- [70] 刘晓红. 藻华生物参与有机物质水解代谢的几种胞外酶的生理学特性研究[D]. 广州:暨南大学, 2016.
LIU X H. The study on physiological characteristics of ultracellular enzymes of harmful algal bloom species in the hydrolysis of organic matters[D]. GuangZhou: Jinan University, 2016(in Chinese).
- [71] 刘全全, 党宏月, 郑经堂. 水体及沉积物中碱性磷酸酶的生态意义及检测[C]//2013 中国环境科学学会学术年会论文集(第六卷)2013.
LIU Q Q, DANG H Y, ZHENG J T. [C]//2013 Proceedings of the annual conference of the Chinese society of environmental sciences(Vol. 6), 2013(in Chinese).
- [72] BEZANILLA M, DRAKE B, NUDLER E, et al. Motion and enzymatic degradation of DNA in the atomic force microscope[J]. Biophysical Journal, 1994, 67(6):2454-2459.
- [73] 李铭峰. 耐辐射球菌中胞外核酸酶的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2013.
LI M F. Study on the extracellular nuclease in deinococcus radiodurans[D]. HangZhou: Zhejiang University, 2013(in Chinese).

- [74] 洪华生,戴民汉.海水中碱性磷酸酶活力的测定及其在磷的循环中的作用初探[J].海洋与湖沼,1992,23(4):415-420.
HONG H SH,DAI M H. Determination of alkaline phosphatase activity in seawater and its role in phosphorus cycle[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 1992, 23(4):415-420(in Chinese).
- [75] 王佩,陈凯,高嵩.利用 CpG DNA 甲基化酶 M.Sss 共表达载体制备限制性内切酶 Not I [J]. 中国生物工程杂志,2017,37(8):51-58.
WANG P,CHEN C,GAO H. Preparation of restriction endonuclease Not I using CpG DNA methylase M.Sss co-expression vector[J].China Biotechnology, 2017, 37(8):51-58(in Chinese).
- [76] 邹国林. II 型限制性核酸内切酶的性质[J]. 生物学通报,1985(10):28-30.
ZOU G L. Nature of type II restriction endonuclease[J].Bulletin of Biology, 1985(10):28-30(in Chinese).
- [77] 陈德风,刘强,赵西林,等.识别序列外 DNA 甲基化对限制性核酸内切酶 Pvu II 酶切活性影响的研究[J]. 中国生物化学与分子生物学报,1996,12(1):36-41.
CHEN D F, LIU Q, ZHAO X L, et al. Effect of unrecognized sequence DNA methylation on the activity of restriction endonuclease Pvu II enzyme[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology,1996,12(1):36-41(in Chinese).
- [78] 安志东.质粒 pBR322 的体外扩建以及有关限制性核酸内切酶图谱[J].遗传学报,1983,10(3):167-174.
AN Z D. In vitro expansion of plasmid pBR322 and related restriction endonuclease maps[J].Journal of Genetics and Genomics,1983,10(03):167-174(in Chinese).
- [79] 范云六,姜书勤,郭殿瑞,等.体外建成带有 λ 噬菌体 DNA 片段的重组质体[J]. 遗传学报,1979,6(1):29-35.
FAN Y L,JIANG S Q,GUO D R, et al.In vitro construction of a recombinant plasmid containing pBR322 and lambda phage DNA segment [J]. Journal of Genetics And Genomics, 1979,6(3):29-35(in Chinese).
- [80] 孙连魁,阮宏. Bgl I 限制性核酸内切酶与环状 pBR322-DNA 专一性和非专一性相互作用的动力学及热力学[J]. 中国生物化学与分子生物学报,1990,6(4):334-338.
SUN L K,RUAN H. Kinetics and thermodynamics of the specific and non-specific interactions of restricted nucleic enzyme and annular pBR322-DNA[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 1990, 6(4):334-338(in Chinese).
- [81] 范丽君,曲迪,贾林芝,等.三种抗氧化剂对氯化镉所致河蟹精子 DNA 损伤的保护作用[J]. 水产学报,2007,31(5):561-567.
FAN L J, QU D, JIA L Z, et al. Protective effects of 3 kinds of antioxidants on CdCl₂-induced eriocheir sinensis sperm DNA damage[J]. Journal of Fisheries of China, 2007, 31(5):561-567(in Chinese).
- [82] 王玉林.禾谷镰刀菌丝/苏氨酸蛋白激酶 SCH9 基因的功能研究[D]. 咸阳:西北农林科技大学,2011.
WANG Y L. Functional characterization of the sch9 serine/threonine protein kinase in fusarium graminearum [D]. XianYang:Northwest Agriculture and Forestry University, 2011(in Chinese).
- [83] 侯雅琨.粘土矿物/DNA 界面反应特性及保护机理研究[D].广州:华南理工大学,2014.
HOU Y K. Interfacial reaction characteristic and protective mechanism between Clay minerals and DNA [D]. GuangZhou:South China University of Technology, 2014(in Chinese).
- [84] 丁诚实.纳米氧化铝引起裸耐药基因转移至大肠杆菌 K12 及其机制研究[D].济南:山东师范大学,2016.
DING C S. Study on naked drug resistance gene transfer to E.coli K12 by nano-Al₂O₃ and its mechanism[D]. JiNan:Shandong Normal University, 2016(in Chinese).
- [85] FOJTA M, DAÑHEL A, HAVRAN L, et al. Recent progress in electrochemical sensors and assays for DNA damage and repair[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2016, 79(5):160-167.
- [86] ABOLLINO O, ACETO M, MALANDRINO M, et al. Adsorption of heavy metals on Na-montmorillonite. Effect of pH and organic substances.[J]. Water Research, 2003, 37(7):1619-1627.
- [87] 王代长,王慎阳,蒋新,等.可变电荷与恒电荷土壤胶体对 DNA 吸附与解吸特征[J]. 环境科学,2009,30(9):2761-2766.
WANG D C, WANG S Y, JIANG X, et al. Characteristics of DNA adsorption and desorption in variable and constant charge soil colloids [J]. Environmental Science, 2009, 30(9):2761-2766(in Chinese).
- [88] 王慎阳,饶伟,王代长,等.蒙脱土、高岭土和针铁矿对 DNA 吸附与解吸特征[J].环境科学,2012,33(5):1736-1743.
WANG S Y, RAO W, WANG D C, et al. Characteristics of DNA adsorption and desorption in montmorillonite, kaoline and goethite [J]. Environmental Science, 2012,33(5):1736-1743(in Chinese).
- [89] 侯雅琨,吴平霄,朱能武.CTAB 改性累托石对 DNA 的吸附性能研究[J].南京大学学报(自然科学版),2013,49(6):762-766.
HOU Y K, WU P X, ZHU N W. Adsorption properties of salmon sperm DNA on CTAB modified rectories [J]. Journal of Nanjing University (Natural Science), 2013,49(6):762-766(in Chinese).
- [90] KHANNA M, STOTZKY G. Transformation of Bacillus subtilis by DNA bound on montmorillonite and effect of DNase on the transforming ability of bound DNA.[J]. Applied & Environmental Microbiology, 1992, 58(6):1930-1939.
- [91] 韩卫娟.沉香茶保护 DNA 氧化损伤的活性及其机制研究[D].广州:广州中医药大学,2013.
HAN W J. Protective effect and mechanism of aloeswood tea against hydroxyl radical-induced DNA damage [D]. Guangzhou:Guangzhou University of Chinese Medicine, 2013(in Chinese).
- [92] GUO B, YUAN Y, WU Y, et al. Assay and analysis for anti- and pro-oxidative effects of ascorbic acid on DNA with the bulk acoustic wave

- impedance technique[J]. *Analytical Biochemistry*, 2002, 305(2):139-148(in Chinese).
- [93] 张明, 陈学存, 马爱国. 维生素 E 对 DNA 稳定的影响[J]. *中华临床营养杂志*, 2003, 11(4):291-294.
ZHANG M, CHEN X C, MA A G. Effect of vitamin E on DNA stability[J]. *Chinese Journal of Clinical Nutrition*, 2003, 11(4):291-294 (in Chinese).
- [94] 赵磊, 郝添阳, 王旋, 等. 蛋白水解物对 DNA 和红细胞氧化损伤的保护作用[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(8):7-15.
ZHAO L, HAO T Y, WANG X, et al. Protective Effect of Protein Hydrolysates against the Oxidative Damage on the DNA and the Red Cell [J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2016, 16(8):7-15(in Chinese).
- [95] MORGAN A R, CONE R L, ELGERT T M. The mechanism of DNA strand breakage by vitamin C and superoxide and the protective role of catalase and superoxide dismutase[J]. *Nucleic Acids Research*, 1976, 3(5):1139-1149.
- [96] 刘润芝. 脱氧核糖核酸对机体内超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性影响初步研究[J]. *激光生物学报*, 2002, 11(2):119-121.
LIU R Z. The Effect of Deoxyribonucleic Acid on the Activity of superoxide Dismutase and Peroxidase [J]. *Acta Laser Biologica Sinica*, 2002, 11(2):119-121(in Chinese).
- [97] PIETRAMELLAR G, FRANCHI M, GALLORI E, et al. Effect of molecular characteristics of DNA on its adsorption and binding on homoionic montmorillonite and kaolinite. [J]. *Biology & Fertility of Soils*, 2001, 33(5):402-409.
- [98] CAI P, HUANG Q, ZHANG X. Microcalorimetric studies of the effects of $MgCl_2$, concentrations and pH on the adsorption of DNA on montmorillonite, kaolinite and goethite[J]. *Applied Clay Science*, 2006, 32(1):147-152.
- [99] 王志刚, 陈文晶, 胡影, 等. DNA 在黑土胶体微界面的吸附与解吸特性[J]. *农业环境科学学报*, 2017, 36(10):2058-2062.
WANG Z G, CHEN W J, HU Y, et al. Characteristics of DNA adsorption and desorption on micro-interfaces of black soil colloids[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(10):2058-2062(in Chinese).
- [100] SAEKI K, SAKAI M, WADA S I. DNA adsorption on synthetic and natural allophanes. [J]. *Applied Clay Science*, 2010, 50(4):493-497.
- [101] CAI P, HUANG QY, ZHANG XW, et al. Adsorption of DNA on clay minerals and various colloidal particles from an alfisol. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38:471-476
- [102] 廖敏, 谢晓梅, 方舒, 等. 不同粒径红壤胶体颗粒对 DNA 的吸附特性[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(3):764-770.
LIAO M, XIE X M, FANG S, et al. Characteristics of DNA adsorption on different sizes red soil colloidal particles[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(3):764-770(in Chinese).
- [103] FRANCHI M, FERRIS J P, GALLORI E. Cations as mediators of the adsorption of nucleic acids on clay surfaces in prebiotic environments[J]. *Origins of Life & Evolution of the Biosphere*, 2003, 33(1):1-16.
- [104] SAEKI K. The Comparison of Arsenite and Arsenate Adsorption on An Andosol[J]. *Soil Science*, 2008, 173(4):248-256.
- [105] ROMANOWSKI G, LORENZ M G, WACKERNAGEL W. Adsorption of plasmid DNA to mineral surfaces and protection against DNase I [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1991, 57(4):1057-1061.
- [106] CAI P, ZHU J, HUANG Q, et al. Role of bacteria in the adsorption and binding of DNA on soil colloids and minerals[J]. *Colloids & Surfaces B Biointerfaces*, 2009, 69(1):26-30.
- [107] PIETRAMELLARA G, ASCHER J, BORGOGNI F, et al. Extracellular DNA in soil and sediment: Fate and ecological relevance[J]. *Biology & Fertility of Soils*, 2009, 45(3):219-235.
- [108] CRECCHIO C, RUGGIERO P, CURCI M, et al. Binding of DNA from, on Montmorillonite-Humic Acids-Aluminum or Iron Hydroxypolymers[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2005, 69(3):834-841.
- [109] CHEN C, LI J, DEVRIES S L, et al. Transport of antibiotic resistance plasmids in porous media[J]. *Vadose Zone Journal*, 2015, 14(3), doi:10.2136/vzj2014.06.0068.
- [110] POTÉ J, CECCHERINI M T, VAN V T, et al. Fate and transport of antibiotic resistance genes in saturated soil columns[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2003, 39(2):65-71.
- [111] SHOGREN A J, TANK J L, ANDRUSZKIEWICZ E A, et al. Modelling the transport of environmental DNA through a porous substrate using continuous flow-through column experiments [J]. *Journal of the Royal Society Interface*, 2016, 13(119), doi: 10.1098/rsif.2016.0290.
- [112] 罗义, 周启星. 抗生素抗性基因 (ARGs) —— 一种新型环境污染物[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(8):1499-1505.
LUO Y, ZHOU Q X. Antibiotic resistance genes (ARGs) as emerging pollutants [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*. 2008, 28(8):1499-1505 (in Chinese).
- [113] MARYURY B-J, WILLIAM CALERO-CÁCERES, MAITE MUNIESA. Transfer of antibiotic-resistance genes via phage-related mobile elements[J]. *Plasmid*, 2015(79):1-7.
- [114] SZEKERES E, CHIRIAC C M, BARICZ A et al. Investigating antibiotics, antibiotic resistance genes, and microbial contaminants in groundwater in relation to the proximity of urban areas[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 236:734-744.
- [115] 杨凤霞, 毛大庆, 罗义, 等. 环境中抗生素抗性基因的水平传播扩散[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(10):2993-3002
YANG F X, MAO D Q, LUO Y, et al. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the environment [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*. 2013(10):2993-3002 (in Chinese)

- [116] 张俊亚, 魏源送, 陈梅雪, 等. 畜禽粪便生物处理与土地利用全过程中抗生素和重金属抗性基因的赋存与转归特征研究进展[J]. 环境科学学报, 2015, 35(4):935-946.
ZHANG J Y, WEI Y S, CHEN M X, et al. Occurrence and fate of antibiotic and heavy metal resistance genes in the total process of biological treatment and land application of animal manure: A review[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35 (4): 935-946 (in Chinese).
- [117] BOLAN N S, KHAN M A, DONALDSON J, et al. Distribution and bioavailability of copper in farm effluent[J]. *Science of the Total Environment*, 2003, 309(1-3):225-236.
- [118] NICHOLSON F A, SMITH S R, ALLOWAY B J, et al. An inventory of heavy metal input to agricultural soil in England and Wales[J]. *Science of the Total Environment*, 2003, 311(1-3):205-219.
- [119] MARTINEZ J L, BAQUERO F, ANDERSSON D I. Predicting antibiotic resistance[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(12): 958-965.
- [120] BAKERAUSTIN, CRAIG, WRIGHT, et al. Co-selection of antibiotic and metal resistance[J]. *Trends in Microbiology*, 2006, 14(4): 176-182.
- [121] BRUINS M R, KAPIL S, OEHME F W. Microbial resistance to metals in the environment.[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2000, 45(3):198-207.
- [122] 钱迪. 纳米二氧化钛对多重耐药质粒 RP4 接合转移的影响研究[D]. 合肥:安徽大学, 2013.
QIAN D. Effect of TiO₂ on the conjugative transfer of the RP4 plasmid[D]. HeFei: Anhui University, 2013 (in Chinese).
- [123] 魏欣, 薛顺利, 杨帆, 等. 零价铁对污泥高温厌氧消化过程中四环素抗性基因及第一类整合子的消减影响[J]. 环境科学, 2017, 38(2):697-702.
WEI X, XUE S L, YANG F, et al. Effect of zero valent iron on the decline of tetracycline resistance genes and class 1 integrons during thermophilic anaerobic digestion of sludge[J]. *Environmental Science*, 2017, 38 (2): 697-702 (in Chinese).