

特集 : Crossover of Protistology ~原生生物をとりまく多様な世界~

Review

微生物生態系における細菌の遺伝子水平伝播現象

松井 一彰

近畿大学理工学部社会環境工学科 〒577-8502 大阪府東大阪市小若江3-4-1

Horizontal gene transfer in microbial ecosystem

Kazuaki MATSUI

Department of Civil and Environmental Engineering, Kinki University, Higashiosaka, Osaka 577-8502, Japan

SUMMARY

Horizontal gene transfer (HGT) plays an important role in bacterial evolution and the exchange of genetic material between different species and genera. Recently, whole genome analysis demonstrated that HGT also played an important role in the diversification of all three domains of organisms. Bacterial HGTs are mediated by one of three mechanisms: transformation, conjugation, or transduction. In addition to these distinct mechanisms, gene transfer agent (GTA) or membrane vesicles (MV) mediate a transduction-like process that has been reported as an alternative HGT process. The occurrence of HGT has been confirmed by both laboratory and field studies. Both biotic and abiotic parameters affect the success of gene transfer events in natural environments. However, the frequency and the role of HGT in natural environments are currently not well understood due to the difficult nature of defining the experimental conditions required in order to elucidate this important parameter in HGT events. This knowledge will help in the estimation of the emergence of antibiotic resistance genes among bacteria and the potential consequences of the environmental usage of genetically modified bacteria for bioremediation purposes. The aim of this review was to summarize the brief history of HGT and the biotic factors that may affect the frequency of HGT in the ecosystem.

Key words: Transformation, Conjugation, Transduction, Lateral gene transfer, Prokaryote-eukaryote interactions

はじめに

ヒトのように性をもつ生物では世代ごとに雌雄間で遺伝子がブレンドされ、遺伝子の多様性が維持されている。一方、二分裂により指数関数的に増える細菌においては、理論上、何世代経っても遺伝子のブレンドがおこらない。しかし細菌の多くは、周りの細菌や細菌以外の生物、さらには環境中にある細胞外の遺伝子まで、さまざまな方法で他生物の遺伝子を取り込み、自らの遺伝子として利用する能力を持っていることが古くから知られている。このように、同一種間あるいは異種間で世代交代を経ずに遺伝子が授受される現象を「遺伝子の水平伝播」と呼ぶ。毒素を生成する病原菌の突然の蔓延や、抗生物質が効かなくなる多剤耐性菌の出現は、細菌間での遺伝子水平伝播によるところが大きい (Aminov, 2011)。また DNA 解析技術の向上にともなう、ゲノム中に外来遺伝子が含まれていることが明らかにされてくると、細菌の進化においても遺伝子水平伝播が重要な役割を果たしていることがわかってきた (Darmon and Leach, 2014)。さらに現代社会では、細菌の遺伝子水平伝播を応用した遺伝子組換え技術がすでに産業化されており、農作物や医薬品の生産などを通じて人々の生活に深く根付いている (James, 2012; 松井ほか, 印刷中)。

このように遺伝子の水平伝播は生物界における普遍的な現象と捉えることができ、これに関する知見もすでに多く得られているように思える。しかし環境中における遺伝子の動態、特に生物間相互作用を含む環境因子が遺伝子の水平伝播頻度に及ぼす影響については不明な点が多く、生態系における遺伝子水平伝播が起こりやすい場所やその発生頻度についても解明されていないことが多い。また、人為的な生態系の改変が、生物種の多様性や生態系機能に及ぼす影響についての研究例が増えつつあるが、このような改変が遺伝子水平伝播を通して細菌の病原性や抗生物質耐性能の獲得に与える影響についてはほとんどわかっておらず、医学や公衆衛生の観点からも研究の進展が望まれる分野である。そこで本稿では、まず細菌の遺伝子水平伝播現象について概説し、次に微生物生態系において、特に原生生物などの捕食を含めた生物間相互作用が、遺伝子の水平伝播頻度におよぼす影響を調べた研究例を中心に、これまでの知見を整理してみたい。

遺伝子水平伝播現象に関する研究の歴史

細菌における遺伝子水平伝播現象の発見は古く Griffith (1928) や Avery et al. (1944) が肺炎双球菌 (pneumococcus) を用いた形質転換実験を通じて、

DNA が遺伝情報物質であることを証明した実験までさかのぼる。形質転換とは細菌が細胞外の DNA を取り込み、表現型の変化を起こす遺伝現象である。これに続く形で、接合 (Tatum and Lederberg, 1947) や形質導入 (Zinder and Lederberg, 1952) を通じた遺伝子水平伝播経路も発見された。いずれも細菌の表現型に変化を起こす遺伝現象であり、接合は性線毛を通じて細菌間で直接 DNA を伝達する伝播経路を、形質導入はバクテリオファージ (ファージ; 細菌に感染するウイルス) を介して DNA が伝達される伝播経路を指す。これら 3 つの様式が、細菌における遺伝子水平伝播の主な経路であると考えられている (Fig. 1)。また近年では gene transfer agents (GTAs) と呼ばれるファージ様の粒子を介した伝播 (Lang et al., 2012; Solioz et al., 1975)、DNase 非感受性の membrane vesicles (MV) を介して細菌間で遺伝子が水平伝達される経路 (Kolling and Matthews, 1999)、nanotubes と呼ばれる性線毛とは異なる管を介した伝達経路も報告されている (Dubey and Ben-Yehuda, 2011)。

三つの代表的な遺伝子水平伝播経路が発見された後、1970-80 年代頃の研究は、分子的な DNA 伝達機構の解明を目指す流れと環境中における遺伝子伝播現象を探索する流れに別れて進展していく (Davison, 1999; Droge et al., 1999; Lorenz and Wackernagel, 1994)。ここでは、環境中における遺伝子伝播現象を中心に取り上げてみたい。初期の研究では、大腸菌 (*Escherichia coli*) や枯草菌 (*Bacillus subtilis*) のようなモデル細菌を用いて、環境中での遺伝子伝播頻度を推測する研究が多くおこなわれた (Graham and Istock, 1978; Weinberg and Stotzky, 1972)。続いて環境中より分離した細菌や、環境中に生息する細菌を対象とした実験もおこなわれるようになり、河川のバイオフィームや海洋などの自然環境中においても遺伝子の水平伝播が起きていることが示される様になった (Bale et al., 1988; Mancini et al., 1987)。またマイクロゾム (フラスコサイズの実験生態系) を用いて、pH や温度をはじめとする様々な環境因子が、遺伝子の水平伝播頻度に及ぼす影響について検討されるようになってきたのもこの年代からである (Neilson et al., 1994; Stewart and Sinigalliano, 1990)。

さらに 1990 年頃からは、培養を介した微生物学的な検出手法に加えて、DNA を直接の検出対象とした分子生物学的な手法が取り入れられるようになった (Droge et al., 1999; Lorenz and Wackernagel, 1994)。

このような実験技術の発展は、遺伝子水平伝播現象の検出感度の向上と、野外生態系における伝播頻度を推測する際の精度向上に寄与したと考えられる。1990 年中頃に入ると、遺伝子伝播の研究にもさらに新しい潮流が生まれる。インフルエンザ菌

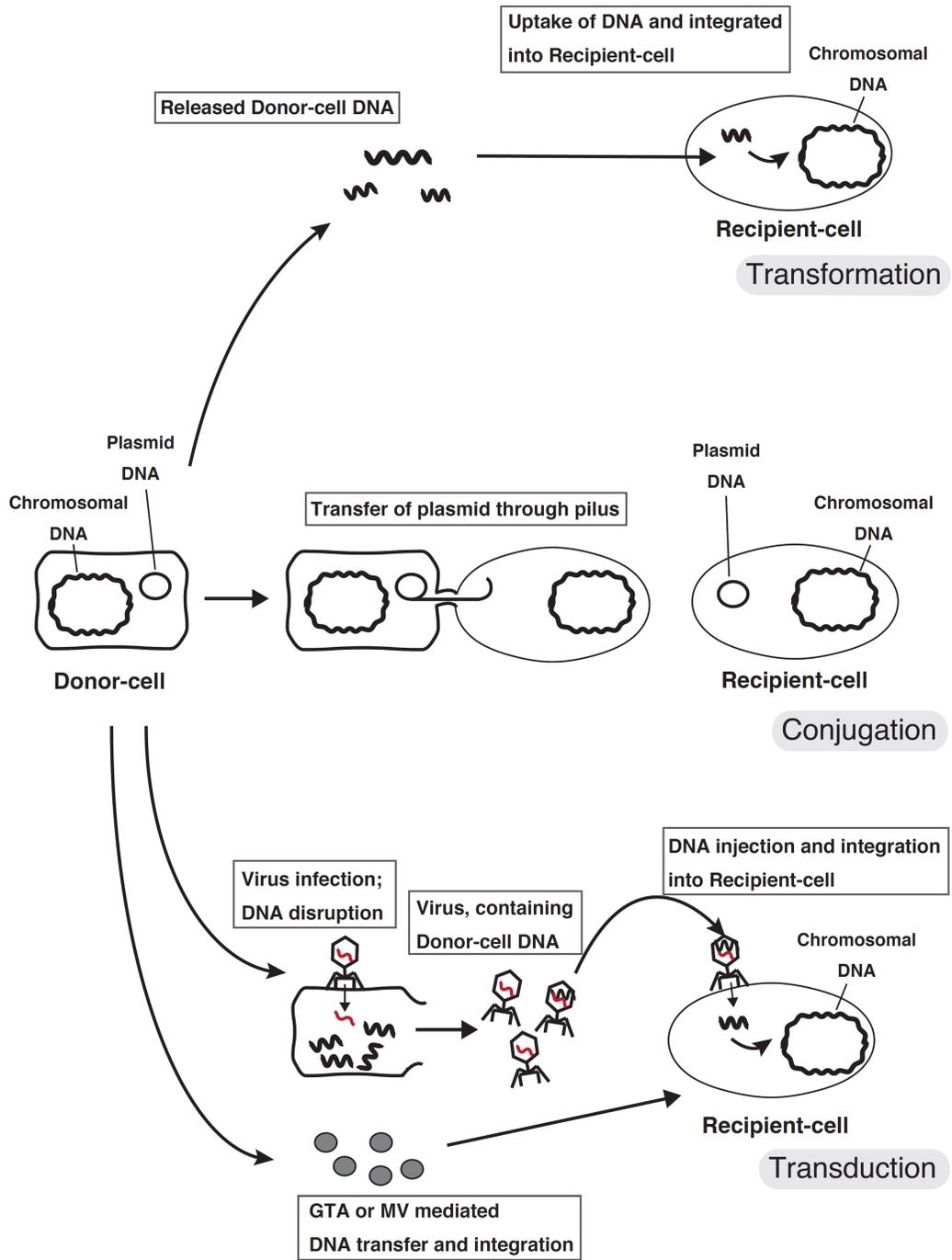


Fig. 1. Schematic illustrations of bacterial horizontal gene transfer processes by which DNA is transferred from donor cell to recipient cell.

(*Haemophilus influenzae*) の全ゲノムが 1995 年に報告されたのを皮切りに微生物のゲノム解析が進展すると (Fleischmann et al., 1995), データベース上から遺伝子の水平伝播の痕跡を解析する研究が次々とおこなわれるようになった (Lawrence and Ochman, 1998). 例えば, 大阪府堺市での集団食中毒の原因菌であった大腸菌 *E. coli* O157: H7 株のゲノムと, 非病原性大腸菌 *E. coli* K-12 株のゲノムの比較によって, O157: H7 株には K-12 株ではみられない *stx1*, *stx2*, *LEE* などの病原性に関わる遺伝情報が含まれていることが判明し, またこれらの情報が prophage (溶原化したファージ) 上にコードされていることも明らかになった (Hayashi et al., 2001). このことは, 形質導入による遺伝子の水平伝播によって, 大腸菌 O157: H7 が病原性に関する遺伝情報を後天的に獲得したことを示している. このように一般に原核生物 (真正細菌とアーキア) のゲノム上には水平伝播によって獲得されたと考えられる遺伝情報が多く含まれており, 原核生物 116 種を対象とした研究では, 全ての細菌より遺伝子水平伝播の痕跡が確認され, 遺伝子全体の 14.4% (116 種における平均) が水平伝播によって獲得されたと考えられている (Nakamura et al., 2004). 次世代シーケンサーの登場等によって, DNA 塩基配列解析技術が更に進展すると, 細菌以外の生物でも遺伝子水平伝播の痕跡が次々と報告されるようになった. 例えばヒルガタワムシ (*bdelloid rotifers*) は単為生殖で増殖する生物であるが, 細菌だけでなく菌類や植物由来の遺伝子を水平伝播によって獲得した痕跡が見つかっている. 頻繁に乾燥状態にさらされ, 細胞膜の破損や DNA の修復が常におこなわれるヒルガタワムシの生活史が, 周りからの外来 DNA の獲得につながった可能性が示唆されている (Gladyshev et al., 2008). また甲虫や線虫においてもバクテリア由来と考えられる遺伝子水平伝播の痕跡が見つかっており, 植物への寄生に有利となる機能遺伝子を新たに獲得した結果, 独自の生態的地位 (ecological niche) をその進化過程で確立したと考えられている (Acuna et al., 2012; Danchin et al., 2010). さらに陰生植物のシダ類が持つキメラ型の光受容体 (neochrome) は, マツモ (コケ類) より水平伝播した遺伝子だとする報告もある. 植物間での遺伝子水平伝播を示した例というだけでなく, シダが現在の生活史を得るに至った経緯を理解する上でも興味深い内容である (Li et al., 2014). 少し変わった研究例では, 日本人の腸内細菌に関する報告がある. 日本人の腸内細菌からは, 北米人の腸内細菌では見つからない海苔の消化に関わる酵素遺伝子群が見つかるが, これらの消化酵素遺伝子群は, 日常的に海藻を食する日本人の腸内において, 海藻に生息する細菌から日本人の腸内細菌へと水平伝播し

たことが示唆されている (Hehemann et al., 2010).

このように様々な生物のゲノム配列解析が進展するにつれて, 遺伝子の水平伝播によって獲得した機能と, 生態的地位や人間文化を関連づける考察もおこなわれはじめている. 進化の過程における遺伝子水平伝播の意義を理解する上で, ゲノム解析は強力な手法だといえる. しかし一方で, 将来の遺伝子動態を予測する上で必要となる, 環境中での遺伝子水平伝播頻度に関する研究は, ここ 10 年程あまり進捗がみられない.

細菌間の遺伝子水平伝播に関わる環境要因

自然環境は多くの物理化学的 (非生物的) および生物的な因子が複雑に絡み合っており, 特定の因子の影響だけを対象とした解析が難しい. そこで実験生態系 (マイクロコズム) を用いて, 自然環境における現象を特定しようとする試みがおこなわれてきた. 生態系における生物的因子の影響についてはまだ不明な点が多く残されているが, ここでは遺伝子伝播の経路毎に, 遺伝子の水平伝播に関与する環境因子に関する知見をまとめてみたい.

形質転換による遺伝子水平伝播に関わる因子

形質転換は細胞外より DNA を取り込む機構である. そのため評価についても, 1) 取り込みの対象となる細胞外 DNA の生産, 2) 放出された細胞外 DNA の安定性, 3) 細菌による DNA の取り込みのそれぞれの項目に対する評価がおこなわれてきた (Tables 1-3). 形質転換に関連する項目に特化した総説については, 丸山ほか (2005) も参考にされたい.

DNA は生物由来の物質であるため, 生物細胞の破砕が細胞外 DNA の産生に関わっていることは想像に易い. 水域生態系においては放出された DNA の多くが, DNase などの細胞外酵素によって数時間から 7 日ほどで分解されるようである (Table 2). リンや窒素が不足しがちな水域生態系においては, 細胞外 DNA の多くが栄養塩として生物に再利用されていると考えられる (Jorgensen and Jacobsen, 1996). しかし粘土粒子に吸着した DNA や, 湖の底水層のように水温の低い場所では, DNA が分解を受けず, ときに遺伝情報を保持したままで長期間の生残が可能である (Lorenz and Wackernagel, 1994; Matsui et al., 2001). また土壌生態系においても, 土壌中の粒子に吸着した DNA は分解を受けにくいことが知られている (Pietramellara et al., 2009).

水域では物理化学的な変化によって, 細菌細胞から自発的に細胞外に放出される DNA 量が増加する例と, 捕食やファージの感染によって細菌細胞から DNA が放出される例が知られる (Table 2). 遺伝情

Table 1. Stability of DNA in various aquatic environments^a

Location	DNA conformation	Turn over life cycle (h)	Method	References
Marine water				
Ocean surface (Oligotrophic, Gulf of Mexico)	linear	25.5	Loss of acid precipitable material	Paul et al. (1989)
Surface (Puerto Rico)	plasmid	< 24	Loss of the transforming activity of plasmid DNA	Alvarez et al. (1996)
Estuarine	linear	6.6–10.3	Loss of acid precipitable material	Paul et al. (1989)
Estuarine	plasmid	24–36	Loss of hybridization signals of plasmid DNA	DeFlaun and Paul (1989)
Freshwater				
River water (oligotrophic, Southwest Florida)	linear	< 10	Loss of acid precipitable material	Paul et al. (1989)
River water (Puerto Rico)	plasmid	12–18	Loss of hybridization signals of plasmid DNA	Alvarez et al. (1996)
Reservoir (eutrophic, Southwest Florida)	linear	< 11	Loss of acid precipitable material	Paul et al. (1989)
Waste water	plasmid	1–3	Loss of the transforming activity of plasmid DNA	Fibi et al. (1991)
Lake water (epilimnion, Lake Biwa)	plasmid	72–170	Loss of the transforming activity of plasmid DNA	Matsui et al. (2001)
Lake water (hypolimnion, Lake Biwa)	plasmid	> 170	Loss of the transforming activity of plasmid DNA	Matsui et al. (2001)

^aSummarizes the stability of DNA in various aquatic environments, as measured by a number of different authors.

Table 2. Factors affecting the DNA production by bacteria

Determinant	Mechanisms for DNA production	Bacterial strain	Experimental system	Magnification of total extracellular DNA production ^a	References
Abiotic-factors					
Salinity	Salinity decrement (33 → 2‰)	<i>Pseudomonas capacia</i> PCO1224-1	Monoculture in artificial seawater	13.7	Paul and Devid (1989)
Salinity	Salinity increment (2 → 33‰)	<i>Escherichia coli</i> HB101 (R388)	Monoculture in artificial seawater	3.2	Paul and Devid (1989)
Temperature	Temperature shift (25 → 37°C)	<i>Pseudomonas capacia</i> PCO1224-1	Monoculture in NaCl based buffer	2.5	Paul and Devid (1989)
Temperature	Temperature shift (25 → 37°C)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KYU-1	Monoculture in jar fermentor	2.6	Hara and Ueda (1981)
pH	pH alternation (8 → 7)	<i>Pseudomonas capacia</i> PCO1224-1	Monoculture in NaCl based buffer	3	Paul and Devid (1989)
pH	pH alternation (7 → 9)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KYU-1	Monoculture in jar fermentor	3.8	Hara and Ueda (1981)
Inorganic polyphosphate	Alternation of concentration (0.1 → 0.5%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KYU-1	Monoculture in sodium acetate based medium	7.9	Ueda and Hara (1981)
Growth phase	Auto cell lysis in the death phase	<i>Bacillus subtilis</i> DG2	Monoculture in minimal medium	28 ^c	Lorenz et al. (1991)
Growth phase	Auto cell lysis in the stationary phase	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> LO25	Monoculture in complete medium	4.7 ^c	Lorenz et al. (1991)
Biotic-factors					
Nanoflagellates	Grazing	Marine bacterial community	Continuous seawater culture	5	Turk et al. (1992)
Virus	Infection	<i>Chlorella</i> spp. ^b	Co-cultivation with virus	12	Reisser et al. (1993)
<i>Tetrahymena thermophila</i>	Grazing	<i>Escherichia coli</i> DH5α	Co-cultivation with protist	3	Kawabata et al. (1998)
<i>Euglena gracilis</i>	Stimulation of DNA release by <i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> LE392 (pKZ105)	Co-cultivation with alga	50 <	Matsui et al. (2003b)
<i>Tetrahymena thermophila</i>	Grazing	<i>Escherichia coli</i> LE392 (pKZ105)	Co-cultivation with protist	0	Matsui et al. (2003b)

^aCompared with a result from the experiment without the listed determinant. ^bEukaryotic phytoplankton. ^cCompared with the DNA production at logarithmic growth phase.

報をもった DNA が、藻類との共培養によって細菌細胞より放出される事例も報告されており、生態系には捕食やファージによる直接的な細胞破砕以外にも、細胞外 DNA の生産に関わる生物間相互作用があることを示唆している (Matsui et al., 2003b)。

肺炎双球菌に代表されるように、野外環境中には人為的な処理を施さなくても細胞外より DNA を取り込む能力を示す「自然形質転換能」をもった細菌が存在する。これまでに 90 種程の細菌において、その形質転換能が確認されているが (Davison, 1999; Lorenz and Wackernagel, 1994; Brigulla and Wackernagel, 2010), 自然形質転換能を持たないとみなされていた大腸菌も条件によっては細胞外 DNA を取り込む事が示されてきており (Baur et al., 1996; Woegerbauer et al., 2002), 環境中には未確認の自然形質転換能を持つ細菌が存在している可能性が高い。また海水から分離した細菌の 10~14% は、細胞外より DNA を取り込む能力を保持していたという報告もある (Frischer et al., 1994)。枯草菌 *B. subtilis* や *Vibrio* 科細菌 (*Vibrionaceae*) などのモデル細菌を用いて、自然形質転換能の生化学的な機構の多くが明らかにされており (Chen and Dubnau, 2004; Sun et al., 2013), 塩濃度や細胞の状態などが DNA の取り込みに深く関与することが知られてきている (Table 4)。生物学的因子の影響に関する報告はほとんどないが、土着の生物群集によって自然形質転換頻度が下がるという報告がある (Paul et al., 1991)。また我々の研究では、テトラヒメナの捕食や排出される代謝産物によって、枯草菌 *B. subtilis* の自然形質転換が抑制されることも観察された (Matsui et al., 2003a)。細菌の自然形質転換現象が起こる条件と、影響を調べたい生物の培養条件の両方を満たす実験設定が困難なため、実験的な証明はあまり進んでいないが、今後さらなる解明が期待される項目である。

接合伝達による遺伝子水平伝播に関わる因子

接合伝達では、細胞が性線毛を通じて直接接触することによって遺伝子が授受される。このため生態系においても細胞の密度が高くて栄養が得やすい場所、例えば活性汚泥、バイオフィルム中や植物の根の周り、さらにミミズなどの生物の腸管のような場所で頻繁に起こると考えられている (Aminov, 2011; Droge et al., 1999)。接合伝達では、抗生物質耐性や重金属耐性など、表現型に変化をもたらす遺伝子を指標とした実験が早くから可能だったため、他の水平伝播経路よりも環境因子の影響を評価した研究例が多い。Table 4 は、接合伝達に影響を及ぼす環境因子の影響について整理したものである。実験操作が行い易い pH, 温度, 栄養塩などの影響を検討した研

究例が多いが、原生生物による捕食の影響など、微生物生態系における生物学的因子に注目した研究例もいくつかある。

生態系にはアメーバ、鞭毛藻類、繊毛虫類などの細菌を捕食する真核生物が多く存在する。水域生態学では、これらの生物が細菌を捕食することによって、細菌に蓄積された栄養塩や有機物が残渣として生態系に還元される現象を *microbial loop* と呼び、微生物生態系における物質循環を駆動する関係として細菌-捕食者関係に注目する研究が進められてきた (Azam et al., 1983; Legendre and Rassoulzadegan, 1995; 中野, 2015)。また原生生物の食胞中の細菌の多くが分解されずに生残し、再度細胞外に放出されることも明らかにされはじめた (Barker and Brown, 1994; King et al., 1988)。さらに細菌の代謝活性が原生生物の捕食によって刺激されること (Ekelund and Ronn, 1994)、接合伝達による遺伝子伝播が、細菌の代謝活性と正の相関を示すことなどが報告され (Smets et al., 1993)、細菌-捕食者関係は、生態系において遺伝子の水平伝播に影響を及ぼす関係としても取り上げられるようになった (O'Morchoe et al., 1988; Otto et al., 1997)。例えば、野外土壌中における大腸菌から土着性細菌への接合伝達に影響を与える要因を評価した研究では、土壌中の原生生物の活性を止めて細菌への捕食圧を緩和したところ、接合伝達によって大腸菌から遺伝子を受け取った細菌の総数が上昇したことを報告している (Sørensen et al., 1999)。この実験では接合伝達効率 (大腸菌数に対する遺伝子を受け取った細菌の数) に変化が見られなかったため、捕食による総細菌数の減少が、そのまま接合によって遺伝子を受け取った細菌数の減少に繋がっていた。その一方で、繊毛虫テトラヒメナ (*Tetranymena thermophila* あるいは *T. pyriformis*) を用いた実験では、テトラヒメナの存在によって接合伝達頻度 (遺伝子受容細菌に対する遺伝子を受け取った細菌の数) が上昇することが報告されている (Matsuo et al., 2010; Schlimme et al., 1997)。野外土壌を用いた実験では原生生物種が特定されていないこと、また実験株の大腸菌は野外の土着細菌ではないという点は考慮しないといけないが、細菌にとって原生生物の捕食は個体数減少という負の側面だけでなく、遺伝子を水平伝播させる側面からは正の影響があるとするとこれらの報告は、被食-捕食関係が物質循環以外の面で与える効果を示す事例として興味深い。他にも生物間相互作用が接合伝達頻度に関わる例として、アオコ形成ラン藻 (*Microcystis aeruginosa*) の細胞外代謝産物が細菌の活性を上昇させ、細菌の接合頻度を高めたという研究報告もある (Ueki et al., 2004)。

Table 3. Factors affecting the bacterial natural transformation^a

Determinant	Mechanisms	Bacterial strain (recipient)	Magnification of Transformation frequency	References
Abiotic factors				
NaCl	Addition of NaCl (0.5 → 100 mM)	<i>Bacillus subtilis</i> 1G20 (tpC2)	× 27	Romanowski et al. (1993)
CaCl ₂	Addition of CaCl ₂ (1 → 10 mM)	<i>Escherichia coli</i> JM109	× 2,000	Baur et al. (1996)
Nutrients	Nutrient amelioration	marine <i>Vibrio</i> strain WJT-1C	not altered	Frischer et al. (1993)
Bovine serum albumin (BSA)	Supplementation (0 → 10%)	<i>Bacillus subtilis</i> 0G1	× 1/3	Brautigam et al. (1997)
Casein	Supplementation (0 → 10%)	<i>Bacillus subtilis</i> 0G1	× 3	Brautigam et al. (1997)
Salinity	Salinity shift (2 → 33‰)	marine <i>Vibrio</i> strain WJT-1C	× 100	Frischer et al. (1993)
Temperature	Temperature shift (29 → 37°C)	marine <i>Vibrio</i> strain WJT-1C	× 1/100	Frischer et al. (1993)
Growth phase	Growth phase → stationary phase	marine <i>Vibrio</i> strain WJT-1C	× 10–100	Frischer et al. (1993)
Biotic factors				
Ambient population	Microbial interaction?	marine <i>Vibrio</i> strain WJT-1C	not altered–× 1/29	Paul et al. (1991)
<i>Tetrahymena thermophila</i>	Repression by both grazing and metabolites	<i>Bacillus subtilis</i> ISW1214	× 1/100	Matsui et al. (2003a)
<i>Tetrahymena thermophila</i> with <i>Euglena gracilis</i>	<i>E. gracilis</i> attenuate the metabolite mediated repression by <i>T. thermophila</i>	<i>Bacillus subtilis</i> ISW1214	× 20	Matsui et al. (2003a)

^aSummarizes the factors affecting the bacterial natural transformation under various experimental conditions, as determined by a number of different authors.

Table 4. Factors affecting the bacterial conjugation in aquatic environments

Determinant	Effect	References
Abiotic-factors		
Presence of nutrients (organic matter)	Enhancement of bacterial activity	Rozsak and Colwell (1987); Fernandez-Astorga et al. (1992); Goodman et al. (1993)
Presence of food matrices (full-cream and skimmed milks)	Stimulate the conjugation	Modrie et al. (2009)
Presence of surfaces	Provide colonizable space	Hausner and Wuertz (1999); van Elsas et al. (2000)
Presence of liquid layer	Aquatic environment is preferred for bacterial conjugation	Shintani et al. (2008b)
pH	Extreme pH values detrimental to bacterial activity	Khalil and Gealt (1987); Rochelle et al. (1989); Fernandez-Astorga et al. (1992)
Presence of ions	Bivalent cations enhance bacterial activity High salinity induce stress	Khalil and Gealt (1987); van Elsas et al. (2000); Shintani et al. (2008b)
Presence of selective agents (e.g. catabolize xenobiotics)	Enhancing the growth of donors and transconjugants	Shintani et al. (2008a, b)
Temperature	Physiological temperature enhance bacterial activity	Khalil and Gealt (1987); Fernandez-Astorga et al. (1992)
Humic acids	Prevent conjugative transfer in the liquid layer of soils	Shintani et al. (2008b)
Biotic-factors		
Incompatibility groups of plasmids	Host ranges are varied by plasmids	Shintani et al. (2010)
Predation by protozoa	Digestive vacuoles are favorable for conjugation	Matsuo et al. (2010); Schlimme et al. (1997); Otto et al. (1997)
Predation by protozoa	Reduction of prey population	O'Morchoe et al. (1988)
Presence of plant roots	Stimulate the growth and the bacterial activity	Zhang et al. (2014)

形質導入による遺伝子水平伝播に関わる因子

形質導入は、ファージを介して細菌間で遺伝子が授受される機構である。そこでファージの感染先である、宿主細菌の感受性や、感染菌からのファージ産出能力に関与する因子として、紫外線や細菌ストレスとの関係に着目した研究が進められてきた (Weinbauer, 2004; Wommack and Colwell, 2000)。またファージは宿主特異性が高いため、限られた細菌間でしか遺伝子の授受がされないとこれまでは考えられてきた。しかし、個々の細胞レベルで形質導入を追跡する手法 (CPRINS-FISH) を用いて単離ファージの環境細菌への感染を評価した研究では、ファージが様々な細菌に形質導入している様子が示されている (Kenzaka et al., 2010)。また海洋を模した形質導入の実験結果を元に、Tampa Bay の汽水域 (アメリカフロリダ州) における形質導入頻度を求めた研究では、一年間に 1.3×10^{14} 回の形質導入が Tampa Bay で起こっていると見積もられている (Jiang and Paul, 1998)。他にも海洋では、GTA を介して高頻度で遺伝子の水平伝播が行われていることを報告した例もあり、培養できる細菌の 47% が GTA を介した形質導入の対象になりうると推定されている (McDaniel et al., 2010)。これらの結果を裏付けるかのように、海洋から分離された細菌 113 株のゲノムを調べた研究では、64 株より溶原ファージ様の配列が見つかり、21 株より GTA だと思われる配列が見つかったとの報告もある (Paul, 2008)。現在のところ GTA 粒子に関する報告は海洋における研究例のみで、淡水域や陸域などの環境からの報告例はない。MV は、病原細菌が病原因子を宿主へ輸送する粒子として注目されてきた直径 50–250 nm の小胞様構造体である。大腸菌 *E. coli* や院内感染原因菌として知られる *Acinetobacter baumannii* では、MV を介して細菌間で遺伝子が授受されることが報告されている (Rumbo et al., 2011; Kolling and Matthews, 1999)。また近年では、海洋の *Prochlorococcus* においても MV を介した遺伝子の水平伝播が確認されている (Biller et al., 2014)。貧栄養海域で卓越し、地球の炭素循環への関与も深いと考えられているラン藻であるため、同種間で広範囲に渡って遺伝子が水平伝播されている可能性も高い。

環境中でも形質導入が起こることはおもに 1980–1990 年代に確認されてきたが (Miller, 2001)、GTA や MV を介した遺伝子伝播の例を含めると、2000 年以降も報告例が続いている。しかし形質転換や接合とは異なり、生物因子が形質導入の頻度に及ぼす影響を検討した研究例は報告されていない (2015 年 3 月現在)。

まとめ

これまで見てきたように、DNA の塩基配列決定技術の革新と情報処理技術の飛躍的な向上により、細菌だけでなく、高等生物においても遺伝子の水平伝播現象が生じていることが明らかにされつつある。約 25 年前の 1990 年代初頭には分からなかった事だが、細菌だけではなく多くの生物の進化過程において、新しい表現型や生態的地位の獲得に遺伝子の水平伝播が深く関与してきた可能性が高い。ここで注意したいのは、我々がゲノム情報より認知している遺伝子水平伝播の痕跡は、ほとんどの場合、生物の進化過程において有益だった水平伝播のみを観察している点である。生物に対して有害性を示す遺伝子や、有益性を示さない中立的な遺伝子が水平伝播されていたとしても、その遺伝子のほとんどは水平伝播後に消失してしまい、その生物種の中で保持されてこなかったと考えられている (Berg and Kurland, 2002)。

動物や植物を中心とした生物多様性の創出に関する研究では、生物間の相互作用や環境との関わりが多様性の創出に深く関与してきたことが広く知られている (東北大学生態適応グローバル COE, 2013)。前述の甲虫やシダ類の遺伝子水平伝播の例でも見られるように、遺伝子水平伝播が起こるためには、競争や共生などの生物間相互作用の多様性や、遺伝子の供給源となる生物種の多様性などが必要である。日本の生物多様性国家戦略 2010 では生物多様性減少の原因を、①人間活動が直接的にもたらす影響、②人間活動の変化に伴う環境の質的变化、③外来種や化学物質などによる生態系の攪乱、④地球温暖化による影響の 4 つに分類しているが (環境省, 2010)、ここで取り上げられている個々の原因が、生物多様性の減少を通じて遺伝子の水平伝播頻度にも影響を及ぼす可能性は高い。Table 3, 4 で紹介したように、構成生物種を簡素化した実験生態系を用いた実験では、生物間相互作用が遺伝子の水平伝播効率に対して正負両方の影響を及ぼす事が報告されている。しかしこれらの結果だけでは、野外生態系における生物多様性の減少が遺伝子の水平伝播頻度に及ぼす影響を予測できる段階には至っていない。今後生物多様性の損失と遺伝子水平伝播頻度の関係性を明らかにするためには、まず生態系における遺伝子伝播頻度を正確に評価する方法の確立が必要となる。

また近年では、人間活動によって、遺伝子の水平伝播頻度が劇的に上昇する状況が生み出されることもわかってきた。その代表例に薬剤耐性菌の蔓延がある。抗生物質は医療目的以外でも、畜産や水産の

現場において大量に使用されている。このため都市部や酪農場近くの土壌や水域は、日々抗生物質にさらされた環境となり、抗生物質耐性遺伝子を持つ細菌が、抗生物質使用の影響を受けていない場所の水に較べて、数百倍から数千倍多く存在するとの報告がされている (Pruden et al., 2006)。これらの環境中で抗生物質耐性菌の存在率が高い理由として、抗生物質の連用による耐性菌の選択だけではなく、水平伝播を介して環境中の細菌間で耐性遺伝子が拡散したことが指摘されている (Allen et al., 2010; Aminov, 2011)。また途上国では、下水が未処理の状態で海洋に流れ込むことが多く、その中に含まれている人間や動物の病原細菌に養殖環境由来の抗生物質耐性遺伝子が伝播することもわかってきた (Cabello, 2006)。このように遺伝子の水平伝播を考慮した生態系利用のあり方や、病原菌が抗生物質耐性遺伝子を獲得する経路や頻度の解析が危急の問題となっている (Allen et al., 2010)。

他方、土壌の汚染物質の除去に遺伝子の水平伝播を活用しようとする研究も数多くなされている。生物を活用して汚染土壌や地下水を浄化する手法をバイオレメディエーションと呼ぶが、汚染地に汚染物質を分解できる細菌が居ない場合には、他所より汚染物質の浄化能を持った細菌を移入する手法が用いられる (バイオオーグメンテーション)。しかし移入した細菌が、汚染地の土着細菌との競争に負けてしまって浄化が進まない事も多い。そこで浄化に関する遺伝子群を、移入細菌から土着細菌へ水平伝播させて浄化効率を安定させる試みがある (Ikuma et al., 2012; Top et al., 2002)。土壌中では、周りに共存している細菌が導入した遺伝子の安定性に関与していることも明らかにされつつあり (Shintani et al., 2011)、生態系における遺伝子水平伝播現象を理解する上でも興味深い研究分野である。

遺伝子の水平伝播に関連してよく懸念されることの一つに、遺伝子組換え生物が生態系に影響を及ぼす可能性が挙げられる。遺伝子組換え生物が生態系に悪影響を及ぼした事例報告はないが、カルタヘナ法に基づいた組換え生物の影響評価項目には、遺伝子の水平伝播に関する評価が含まれている。しかし遺伝子水平伝播の定量的な評価方法については何も定まっておらず (松井ほか, 印刷中)、社会の懸念に対して科学的に答えるためにも、生態系における遺伝子水平伝播の動態予測への需要は高い。今後は、生態系における遺伝子水平伝播現象に関わる環境因子の特定や、生態系における水平伝播現象の頻度の測定、さらに定量的に遺伝子伝播頻度を評価できる手法の開発がますます必要になってくると考えられる。

引用文献

- Acuna, R., Padilla, B. E., Florez-Ramos, C. P., Rubio, J. D., Herrera, J. C., Benavides, P., Lee, S. J., Yeats, T. H., Egan, A. N., Doyle, J. J. and Rose, J. K. (2012) Adaptive horizontal transfer of a bacterial gene to an invasive insect pest of coffee. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 109, 4197–4202. doi:10.1073/pnas.1121190109.
- Allen, H. K., Donato, J., Wang, H. H., Cloud-Hansen, K. A., Davies, J. and Handelsman, J. (2010) Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat. Rev. Microbiol.*, 8, 251–259. doi:10.1038/nrmicro2312.
- Alvarez, A. J., Yumet, G. M., Santiago, C. L. and Toranzos, G. A. (1996) Stability of manipulated plasmid DNA in aquatic environments. *Environ. Toxicol. Wat. Qual.*, 11, 129–135. doi:10.1002/(sici)1098-2256(1996)11:2<129::aid-tox8>3.0.co;2-b.
- Aminov, R. I. (2011) Horizontal gene exchange in environmental microbiota. *Front. Microbiol.*, 2, doi:10.3389/fmicb.2011.00158.
- Avery, O. T., MacLeod, C. M. and McCarty, M. (1944) Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J. Exp. Med.*, 79, 137–158.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J., Gray, J., Meyer-Reil, L. and Thingstad, F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10, 257–263.
- Bale, M. J., Fry, J. C. and Day, M. J. (1988) Transfer and occurrence of large mercury resistance plasmids in river epilithon. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 972–978.
- Barker, J. and Brown, M. R. W. (1994) Trojan-horses of the microbial world - protozoa and the survival of bacterial pathogens in the environment. *Microbiology*, 140, 1253–1259.
- Baur, B., Hanselmann, K., Schlimme, W. and Jenni, B. (1996) Genetic transformation in freshwater: *Escherichia coli* is able to develop natural competence. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 3673–3678.
- Berg, O. G. and Kurland, C. (2002) Evolution of microbial genomes: sequence acquisition and loss. *Mol. Biol. Evol.*, 19, 2265–2276.
- Billler, S. J., Schubotz, F., Roggensack, S. E., Thompson, A. W., Summons, R. E. and Chisholm, S. W. (2014)

- Bacterial vesicles in marine ecosystems. *Science*, 343, 183–186.
- Brautigam, M., Hertel, C. and Hammes, W. P. (1997) Evidence for natural transformation of *Bacillus subtilis* in foodstuffs. *FEMS Microbiol. Lett.*, 155, 93–98.
- Brigulla, M. and Wackernagel, W. (2010) Molecular aspects of gene transfer and foreign DNA acquisition in prokaryotes with regard to safety issues. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 86, 1027–1041.
- Cabello, F. C. (2006) Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol.*, 8, 1137–1144.
- Chen, I. and Dubnau, D. (2004) DNA uptake during bacterial transformation. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2, 241–249. doi:10.1038/nrmicro844.
- Danchin, E. G. J., Rosso, M.-N., Vieira, P., de Almeida-Engler, J., Coutinho, P. M., Henrissat, B. and Abad, P. (2010) Multiple lateral gene transfers and duplications have promoted plant parasitism ability in nematodes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 107, 17651–17656. doi:10.1073/pnas.1008486107.
- Darmon, E. and Leach, D. R. (2014) Bacterial genome instability. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 78, 1–39. doi:10.1128/MMBR.00035-13.
- Davison, J. (1999) Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*, 42, 73–91. doi:10.1006/plas.1999.1421.
- Deflaun, M. F. and Paul, J. H. (1989) Detection of exogenous gene-sequences in dissolved DNA from aquatic environments. *Microb. Ecol.*, 18, 21–28. doi:10.1007/bf02011693.
- Droge, M., Puhler, A. and Selbitschka, W. (1999) Horizontal gene transfer among bacteria in terrestrial and aquatic habitats as assessed by microcosm and field studies. *Biol. Fert. Soils*, 29, 221–245. doi:10.1007/s003740050548.
- Dubey, G. P. and Ben-Yehuda, S. (2011) Intercellular nanotubes mediate bacterial communication. *Cell*, 144, 590–600. doi:10.1016/j.cell.2011.01.015.
- Ekelund, F. and Rønn, R. (1994) Notes on protozoa in agricultural soil with emphasis on heterotrophic flagellates and naked amoebae and their ecology. *FEMS Microbiol. Rev.*, 15, 321–353.
- Fernandez-Astorga, A., Muela, A., Cisterna, R., Iriberrí, J. and Barcina, I. (1992) Biotic and abiotic factors affecting plasmid transfer in *Escherichia coli* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 392–398.
- Fibi, M. R., Broker, M., Schulz, R., Johannsen, R. and Zettlmeissl, G. (1991) Inactivation of recombinant plasmid DNA from a human erythropoietin-producing mouse-cell line grown on a large-scale. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 622–630.
- Fleischmann, R. D., Adams, M. D., White, O., Clayton, R. A., Kirkness, E. F., Kerlavage, A. R., Bult, C. J., Tomb, J. F., Dougherty, B. A., Merrick, J. M. et al. (1995) Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science*, 269, 496–512. doi:10.1126/science.7542800.
- Frischer, M. E., Stewart, G. J. and Paul, J. H. (1994) Plasmid transfer to indigenous marine bacterial populations by natural transformation. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 15, 127–135.
- Frischer, M. E., Thurmond, J. M. and Paul, J. H. (1993) Factors affecting competence in a high-frequency of transformation marine *Vibrio*. *J. Gen. Microbiol.*, 139, 753–761.
- Gladyshev, E. A., Meselson, M. and Arkhipova, I. R. (2008) Massive horizontal gene transfer in bdelloid rotifers. *Science*, 320, 1210–1213. doi:10.1126/science.1156407.
- Goodman, A. E., Hild, E., Marshall, K. C. and Hermanson, M. (1993) Conjugative plasmid transfer between bacteria under simulated marine oligotrophic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 1035–1040.
- Graham, J. B. and Istock, C. A. (1978) Genetic exchange in *Bacillus subtilis* in soil. *Mol. Gen. Genet.*, 166, 287–290.
- Griffith, F. (1928) The significance of pneumococcal types. *J. Hyg.*, 27, 113–159.
- Hara, T. and Ueda, S. (1981) Studies on nucleic acid production and application II. A further study of extracellular DNA production by *Pseudomonas aeruginosa* KYU-1. *J. Appl. Biochem.*, 3, 11–18.
- Hausner, M. and Wuertz, S. (1999) High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 3710–3713.
- Hayashi, T., Makino, K., Ohnishi, M., Kurokawa, K., Ishii, K., Yokoyama, K., Han, C. G., Ohtsubo, E., Nakayama, K., Murata, T. et al. (2001) Complete genome sequence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 : H7 and genomic comparison with a laboratory strain K-12. *DNA Res.*, 8, 11–22. doi:10.1093/dnares/8.1.11.
- Hehemann, J. H., Correc, G., Barbeyron, T., Helbert, W., Czjzek, M. and Michel, G. (2010) Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to

- Japanese gut microbiota. *Nature*, 464, 908–912. doi: 10.1038/nature08937.
- Ikuma, K., Holzem, R. M. and Gunsch, C. K. (2012) Impacts of organic carbon availability and recipient bacteria characteristics on the potential for TOL plasmid genetic bioaugmentation in soil slurries. *Chemosphere*, 89, 158–163.
- James, C. (2012) Global status of commercialized biotech/GM crops: 2012, ISAAA Brief 44. ISAAA, Ithaca, NY.
- Jiang, S. and Paul, J. H. (1998) Gene transfer by transduction in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 2780–2787.
- Jorgensen, N. O. G. and Jacobsen, C. S. (1996) Bacterial uptake and utilization of dissolved DNA. *Aquat. Microb. Ecol.*, 11, 263–270. doi:10.3354/ame011263.
- 環境省 (編) (2010) 生物多様性国家戦略 2010. ビオシティ, 東京.
- Kawabata, Z., Ishii, N., Nasu, M. and Min, M.-G. (1998) Dissolved DNA produced through a prey-predator relationship in a species-defined aquatic microcosm. *Hydrobiologia*, 385, 71–76.
- Kenzaka, T., Tani, K. and Nasu, M. (2010) High-frequency phage-mediated gene transfer in freshwater environments determined at single-cell level. *ISME J.*, 4, 648–659. doi:10.1038/ismej.2009.145.
- Khalil, T. A. and Gealt, M. A. (1987) Temperature, pH, and cations affect the ability of *Escherichia coli* to mobilize plasmids in L-broth and synthetic wastewater. *Can. J. Microbiol.*, 33, 733–737.
- King, C. H., Shotts, E. B., Wooley, R. E. and Porter, K. G. (1988) Survival of coliforms and bacterial pathogens within protozoa during chlorination. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 3023–3033.
- Kolling, G. L. and Matthews, K. R. (1999) Export of virulence genes and shiga toxin by membrane vesicles of *Escherichia coli* O157 : H7. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 1843–1848.
- Lang, A. S., Zhaxybayeva, O. and Beatty, J. T. (2012) Gene transfer agents: phage-like elements of genetic exchange. *Nat. Rev. Microbiol.*, 10, 472–482. doi:10.1038/nrmicro2802.
- Lawrence, J. G. and Ochman, H. (1998) Molecular archaeology of the *Escherichia coli* genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95, 9413–9417. doi:10.1073/pnas.95.16.9413.
- Legendre, L. and Rassoulzadegan, F. (1995) Plankton and nutrient dynamics in marine waters. *Ophelia*, 41, 153–172.
- Li, F. W., Villarreal, J. C., Kelly, S., Rothfels, C. J., Melkonian, M., Frangedakis, E., Ruhsam, M., Sigel, E. M., Der, J. P., Pittermann, J. et al. (2014) Horizontal transfer of an adaptive chimeric photoreceptor from bryophytes to ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 111, 6672–6677. doi:10.1073/pnas.1319929111.
- Lorenz, M. G., Gerjets, D. and Wackernagel, W. (1991) Release of transforming plasmid and chromosomal DNA from two cultured soil bacteria. *Arch. Microbiol.*, 156, 319–326.
- Lorenz, M. G. and Wackernagel, W. (1994) Bacterial gene-transfer by natural genetic-transformation in the environment. *Microbiol. Rev.*, 58, 563–602.
- Mancini, P., Fertels, S., Nave, D. and Gealt, M. A. (1987) Mobilization of plasmid pHSV106 from *Escherichia coli* HB101 in a laboratory-scale waste treatment facility. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 665–671.
- 丸山史人, 谷佳津治, 那須正夫 (2005) 自然生態系における細胞外 DNA の動態と遺伝子伝播. 環境バイオテクノロジー学会誌, 4, 131–137.
- Matsui, K., Honjo, M. and Kawabata, Z. (2001) Estimation of the fate of dissolved DNA in thermally stratified lake water from the stability of exogenous plasmid DNA. *Aquat. Microb. Ecol.*, 26, 95–102. doi:10.3354/ame026095.
- Matsui, K., Ishii, N. and Kawabata, Z. (2003a) Microbial interactions affecting the natural transformation of *Bacillus subtilis* in a model aquatic ecosystem. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 45, 211–218. doi:10.1016/s0168-6496(03)00148-x.
- Matsui, K., Ishii, N. and Kawabata, Z. (2003b) Release of extracellular transformable plasmid DNA from *Escherichia coli* cocultivated with algae. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 2399–2404. doi:10.1128/aem.69.4.2399-2404.2003.
- 松井一彰, 横川太一, 上田匡邦, 道越祐一, 水口亜樹, 松田裕之, 三木健 (2015) カルタヘナ議定書にある「生物の多様性の保全及び持続可能な利用への影響」はどのように評価できるのか? : まとめと今後の展望. 日本生態学会誌, 印刷中.
- Matsuo, J., Oguri, S., Nakamura, S., Hanawa, T., Fukumoto, T., Hayashi, Y., Kawaguchi, K., Mizutani, Y., Yao, T., Akizawa, K. et al. (2010) Ciliates rapidly enhance the frequency of conjugation between *Escherichia coli* strains through bacterial accumulation in vesicles. *Res. Microbiol.*, 161, 711–719. doi:10.1016/J.resmic.2010.07.004.
- McDaniel, L. D., Young, E., Delaney, J., Ruhnau, F.,

- Ritchie, K. B. and Paul, J. H. (2010) High frequency of horizontal gene transfer in the oceans. *Science*, 330, 50. doi:10.1126/science.1192243.
- Miller, R. V. (2001) Environmental bacteriophage-host interactions: factors contribution to natural transduction. *Anton. Leeuw. Int. J. G.*, 79, 141–147.
- Modrie, P., Beuls, E. and Mahillon, J. (2009) Differential transfer dynamics of pAW63 plasmid among members of the *Bacillus cereus* group in food microcosms. *J. Appl. Microbiol.*, 108, 888–897.
- Nakamura, Y., Itoh, T., Matsuda, H. and Gojobori, T. (2004) Biased biological functions of horizontally transferred genes in prokaryotic genomes. *Nat. Genet.*, 36, 760–766. doi:10.1038/ng1381.
- 中野伸一 (2015) 湖沼・海洋沖帯の微生物ループにおける原生生物の生態学的役割. *原生動物学雑誌*, 48, 21–30.
- Neilson, J. W., Josephson, K. L., Pepper, I. L., Arnold, R. B., Digiovanni, G. D. and Sinclair, N. A. (1994) Frequency of horizontal gene transfer of a large catabolic plasmid (pJP4) in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 4053–4058.
- O'Morchoe, S. B., Ogunseitan, O., Saylor, G. S. and Miller, R. V. (1988) Conjugal transfer of R68.45 and FP5 between *Pseudomonas aeruginosa* strains in a freshwater environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 1923–1929.
- Otto, K., Weichart, D. and Kjelleberg, S. (1997) Plasmid transfer between marine *Vibrio* strains duping predation by the heterotrophic microflagellate *Cafeteria roenbergensis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 749–752.
- Paul, J. H. (2008) Prophages in marine bacteria: dangerous molecular time bombs or the key to survival in the seas? *ISME J.*, 2, 579–589. doi:10.1038/ismej.2008.35.
- Paul, J. H. and David, A. W. (1989) Production of extracellular nucleic-acids by genetically altered bacteria in aquatic-environment microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 1865–1869.
- Paul, J. H., Frischer, M. E. and Thurmond, J. M. (1991) Gene-transfer in marine water column and sediment microcosms by natural plasmid transformation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1509–1515.
- Paul, J. H., Jeffrey, W. H., David, A. W., DeFlaun, M. F. and Cazares, L. H. (1989) Turnover of extracellular DNA in eutrophic and oligotrophic freshwater environments of Southwest Florida. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 1823–1828.
- Pietramellara, G., Ascher, J., Borgogni, F., Ceccherini, M. T., Guerri, G. and Nannipieri, P. (2009) Extracellular DNA in soil and sediment: fate and ecological relevance. *Biol. Fert. Soils*, 45, 219–235. doi:10.1007/s00374-008-0345-8.
- Pruden, A., Pei, R. T., Storteboom, H. and Carlson, K. H. (2006) Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 7445–7450. doi:10.1021/es0604131.
- Reisser, W., Grein, S. and Krambeck, C. (1993) Extracellular DNA in aquatic ecosystems may in part be due to phycovirus activity. *Hydrobiologia*, 252, 199–201. doi:10.1007/bf00005469.
- Rochelle, P. A., Fry, J. C. and Day, M. J. (1989) Factors affecting conjugal transfer of plasmids encoding mercury resistance from pure cultures and mixed natural suspensions of epilithic bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 135, 409–424.
- Romanowski, G., Lorenz, M. G. and Wackernagel, W. (1993) Plasmid DNA in a groundwater aquifer microcosm-adsorption, DNAase resistance and natural genetic-transformation of *Bacillus subtilis*. *Mol. Ecol.*, 2, 171–181. doi:10.1111/j.1365-294X.1993.tb00106.x.
- Rozsak, D. B. and Colwell, R. R. (1987) Survival strategies of bacteria in the natural-environment. *Microbiol. Rev.*, 51, 365–379.
- Rumbo, C., Fernández-Moreira, E., Merino, M., Poza, M., Mendez, J. A., Soares, N. C., Mosquera, A., Chaves, F. and Bou, G. (2011) Horizontal transfer of the OXA-24 carbapenemase gene via outer membrane vesicles: a new mechanism of dissemination of carbapenem resistance genes in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 55, 3084–3090.
- Schlimme, W., Marchiani, M., Hanselmann, K. and Jenni, B. (1997) Gene transfer between bacteria within digestive vacuoles of protozoa. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 23, 239–247. doi:10.1016/s0168-6496(97)00028-7.
- Shintani, M., Fukushima, N., Tezuka, M., Yamane, H. and Nojiri, H. (2008a) Conjugal transfer of the IncP-7 carbazole degradative plasmid, pCAR1, in river water samples. *Biotechnol. Lett.*, 30, 117–122.
- Shintani, M., Horisaki, T., Yamane, H., Ohkuma, M. and Nojiri, H. (2011) Evolution of the IncP-7 carbazole-degradative plasmid pCAR1 improves survival of its host *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 in artificial

- water microcosms. *Microbiology*, 157, 2276–2286.
- Shintani, M., Matsui, K., Takemura, T., Yamane, H. and Nojiri, H. (2008b) Behavior of the IncP-7 carbazole-degradative plasmid pCAR1 in artificial environmental samples. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 80, 485–497.
- Shintani, M., Takahashi, Y., Yamane, H. and Nojiri, H. (2010) The behavior and significance of degradative plasmids belonging to Inc groups in *Pseudomonas* within natural environments and microcosms. *Microbes Environ.*, 25, 253–265.
- Smets, B. F., Rittmann, B. E. and Stahl, D. A. (1993) The specific growth rate of *Pseudomonas putida* PAW1 influence the conjugal transfer rate of the TOL plasmid. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 3430–3437.
- Soliz, M., Yen, H. C. and Marris, B. (1975) Release and uptake of gene transfer agent by *Rhodopseudomonas capsulata*. *J. Bacteriol.*, 123, 651–657.
- Sørensen, S. J., Schyberg, T. and Rønn, R. (1999) Predation by protozoa on *Escherichia coli* K12 in soil and transfer of resistance plasmid RP4 to indigenous bacteria in soil. *Appl. Soil Ecol.*, 11, 79–90.
- Stewart, G. J. and Sinigalliano, C. D. (1990) Detection of horizontal gene transfer by natural transformation in native and introduced species of bacteria in marine and synthetic sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1818–1824.
- Sun, Y., Bernardy, E. E., Hammer, B. K. and Miyashiro, T. (2013) Competence and natural transformation in vibrios. *Mol. Microbiol.*, 89, 583–595. doi:10.1111/mmi.12307.
- Tatum, E. L. and Lederberg, J. (1947) Gene recombination in the bacterium *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 53, 673–684.
- 東北大学生態適応グローバル COE (編) (2013) 生態適応科学：自然のしくみを活かし、持続可能な未来を拓く。日経 BP 社、東京。
- Top, E. M., Springael, D. and Boon, N. (2002) Catabolic mobile genetic elements and their potential use in bioaugmentation of polluted soils and waters. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 42, 199–208.
- Turk, V., Rehnstam, A. S., Lundberg, E. and Hagström, A. (1992) Release of bacterial DNA by marine nano-flagellates, an intermediate step in phosphorus regeneration. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 3744–3750.
- Ueda, S. and Hara, T. (1981) Studies on nucleic acid production and application I. Production of extracellular DNA by *Pseudomonas* sp. KYU-1. *J. Appl. Biochem.*, 3, 1–10.
- Ueki, M., Matsui, K., Choi, K. S. and Kawabata, Z. (2004) The enhancement of conjugal plasmid pBHR1 transfer between bacteria in the presence of extracellular metabolic products produced by *Microcystis aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 51, 1–8. doi:10.1016/j.femsec.2004.07.003.
- van Elsas, J. D., Fry, J., Hirsch, P. and Molin, S. (2000) Ecology of plasmid transfer and spread. In: The horizontal gene pool, bacterial plasmids and gene spread. Thomas, C. M. (ed.). Harwood academic publishers, Amsterdam, pp. 175–206.
- Weinbauer, M. G. (2004) Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol. Rev.*, 28, 127–181. doi:10.1016/j.femsre.2003.08.001.
- Weinberg, S. R. and Stotzky, G. (1972) Conjugation and genetic recombination of *Escherichia coli* in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 4, 171–180. doi:http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(72)90008-9.
- Woegerbauer, M., Jenni, B., Thalhammer, F., Graninger, W. and Burgmann, H. (2002) Natural genetic transformation of clinical isolates of *Escherichia coli* in urine and water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 440–443. doi:10.1128/aem.68.1.440-443.2002.
- Wommack, K. E. and Colwell, R. R. (2000) Virioplankton: Viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 64, 69–114. doi:10.1128/mmb.64.1.69-114.2000.
- Zhang, M., Pereira, E. S. M. D., Chaib De Mares, M. and van Elsas, J. D. (2014) The mycosphere constitutes an arena for horizontal gene transfer with strong evolutionary implications for bacterial-fungal interactions. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 89, 516–526. doi:10.1111/1574-6941.12350.
- Zinder, N. D. and Lederberg, J. (1952) Genetic exchange in *Salmonella*. *J. Bacteriol.*, 64, 679–699.