

基因转移因子——一类在海洋中广泛存在的介导水平基因转移的新型生物因子

蔡海元

中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京 210008

摘要: 基因转移因子 (Gene Transfer Agent, GTA) 是一种由细菌释放的、形态和有尾病毒类似的生物颗粒。GTA 颗粒携带的遗传物质是宿主基因组的随机小片段而不包含编码 GTA 自身的基因或病毒基因组。根据 4 个模式菌株释放的 GTA 的研究, GTA 具有高效的、种间介导基因水平转移的功能。近年来大规模细菌基因组测序, 发现编码 GTA 的基因簇广泛存在于海洋细菌基因组上, GTA 是在海洋环境中发生水平基因转移的重要模式。本文在总结 4 个模式菌株释放的 GTA 的认识的基础上, 着重描述海洋主要类群的细菌释放的 GTA 的特征, 讨论在海洋生态系统中, GTA 对水平基因转移的贡献, 并对未来的研究进行了展望。

关键词: GTA, 水平基因转移, 海洋浮游细菌

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2012) 01-0012-10

水平基因转移 (Horizontal Gene Transfer, HGT) 指的是生物体从其它的生物体上获取外源基因, 整合在自身基因组上并表达出特定功能的一种现象。HGT 使物种的基因组更加多样化, 例如, 转移可以传递抗光合基因^[1], 碳固定基因^[2], 硫还原基因^[3]等。HGT 也使细胞获得了更好的环境适应的能力。例如, HGT 增强了细菌对重金属污染^[4] 和有毒有机物污染^[5] 的环境的适应能力。

一般认为有 3 种机制介导了细菌之间的 HGT, 但是其中有些 HGT 的机制却难以用来解释发生在海洋浮游细菌间的 HGT。例如, “转化”是指细菌从环境中吸收游离的 DNA^[6], 但游离的 DNA 在大洋海域中的浓度很低 (0.6 - 88 $\mu\text{g/L}$)^[7,25], 而过低的游离 DNA 浓度不能发生高频率的“转化”; “结合”是指通常以质粒的形式, 通过直接的细胞间的接触

而发生的细胞间基因转移的机制^[8-9], 但在大洋中占数量优势的原核生物原绿球藻 (*Prochlorococcus*) 和 *Pelagibacter*, 它们都没有质粒^[10-11,25], 所以不可能发生“接合”; “转导”是指噬菌体通过侵染宿主细胞, 将误包的外源基因片段带入宿主细胞, 整合到宿主细胞遗传物质上并得以表达的基因转移机制^[12]。“转导”有可能是海洋普遍发生的 HGT 的机制^[13], 因为海洋中有数量众多的浮游病毒^[14], 而且在大量海洋细菌的基因组中也发现有前噬菌体 (prophage) 基因的存在^[13, 15-17]。

30 年前, 人们在光合紫色非硫细菌 *Rhodobacter capsulatus* 中发现了一类新的 HGT 机制, 该机制类似于病毒介导的普遍性转导, 但不是由典型的噬菌体所介导的^[18]。后来陆续发现在古细菌 *Methanococcus voltae* PS, 以及多类真细菌有这类基

基金项目: 中国科学院南京地理与湖泊研究所引进人才启动项目 (NIGLAS2010QD12)

作者简介: 蔡海元 (1977 -), 男, 湖北人, 助理研究员, 博士, 研究方向为微型生物生态学。Tel: +86-25-86882210; E-mail: hycail@niglas.ac.cn

收稿日期: 2011-07-20; **修回日期:** 2011-09-28

因转移物质和机制^[19-21]。人们将这种介导 HGT 的物质称为基因转移因子 (Gene Transfer Agent, GTA)。对已测序的 113 个海洋细菌的基因组分析发现, 其中有 64 个细菌的基因组含有原病毒的基因, 而 64 个细菌的前噬菌体基因中有 21 个是编码 GTA 的基因^[22]。因此至少 1/3 的前噬菌体基因是编码 GTA 的基因, 所以 GTA 有可能是海洋生态环境中发生 HGT 的主要机制。本文总结归纳了迄今与 GTA 相关的研究报道, 着重论述海洋浮游细菌的 GTA 生物学特征, 生态功能等, 并结合作者自己的工作展望了今后研究的发展趋势。

1 GTA 简介

GTA 比已知的任何病毒的重量要轻 (基于密度梯度离心实验结果), 在形态上, 比已知的大多数的病毒要小, 不能形成噬菌斑^[18, 23]。最为重要的是, GTA 头部包含的是被随机切割的宿主小片段 DNA 而不是编码 GTA 自身的基因^[23], 这表明 GTA 首要的功能是将基因转移给受体细胞^[24-25]。而且 GTA 功能只限于介导水平基因转移, 对受体细胞没有任何副作用。对 *Rhodobacter capsulatus* 基因组分析表明, 产生 GTA 需要 15 个基因, 分别命名为 orfg1-15^[26], 包括类似于病毒结构基因 (衣壳, 尾部), 但是没有类似于病毒 DNA 复制酶基因, 以及宿主裂解基因。

细菌基因组测序项目在近年来有了飞速的发展, 例如在 NCBI 原核生物基因组测序网站上

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/lproks.cgi>), 显示有 1747 个细菌基因组已经全部测序, 5230 个细菌基因组正在测序中。随着越来越多的细菌基因组测序的完成, GTA 基因的同源结构基因在许多细菌基因组中被发现^[21]。一般认为具有以下特征就表明该细菌含有 GTA 基因: (1) 拥有和 *Rhodobacter capsulatus* GTA 基因簇同源的 15 个 GTA 基因中的至少 8 个; (2) 在基因组结构上, 和 *Rhodobacter capsulatus* GTA 基因簇的排列顺序一致^[25]。依据这个标准识别的 GTA 基因广泛存在于 α -Proteobacteria 的基因组中, 包括有 *Rhodobacterales* (包括 *Roseobacter* 和 *Rhodobacterales*), *Caulobacterales*, *Parvularculales*, *Rhodospirillales*, *Rhizobiales* 和 *Sphingomonadales*。而在海洋重要的类群 *Roseobacter* 中, 除了一株 HTCC2255, 其他 *Roseobacter* 都包含保守 GTA 基因簇结构^[21-22, 25]。但是在其他主要的海洋细菌类群中如原绿球藻 (*Prochlorococcus*), 聚球藻 (*Synechococcus*) 和 *Pelagibacter*, 目前还没有发现 GTA 基因。

2 模式菌株 GTA 研究进展

虽然 GTA 基因广泛存在于海洋细菌的基因组中, 但目前对 GTA 的特征和功能认识来源于对紫色非硫细菌 *Rhodobacter capsulatus*, 严格厌氧菌 *Methanococcus voltae*, *Desulfovibrio desulfuricans* 和 *Brachyspira hyodysenteriae* 释放的 GTA 的研究 (表 1)^[18, 23-24, 26-33]。

表 1 GTA 的特征

Table 1 Characteristics of gene transfer agents (GTA)

GTA	Size (nm)		Size of packaged DNA (kb)	Size of GTA gene cluster (kb)	Induced by Mitomycin	Host	Ref.
	Head diameter	Tail length					
RcGTA	30	50	4.5	14.1	No	<i>Rhodobacter capsulatus</i>	[24, 26, 27, 30]
VSH-1	45	64	7.5	16.3	Yes	<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	[34-36]
VT A	40	61	4.4	-	-	<i>Methanococcus voltae</i>	[20, 37]
Dd-1	43	7	13.6	-	No	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	[3]

- , Unknown

2.1 RcGTA, *Rhodobacter capsulatus* 产生的 GTA

Rhodobacter capsulatus 属于红螺菌科 (*Rhodospirillaceae*), 是一种紫色非硫光合细菌。代谢方式多样, 可以通过不产氧光合作用、发酵、好氧或厌氧呼吸获得能量。*R. capsulatus* 细胞进入生长稳定期时 (stationary phase), 开始自发释放

RcGTA^[24]。RcGTA 基因的表达受控于细胞二元信号调控系统, 包括组氨酸-天冬氨酸信号基因和群体感应基因 (Quorum sensing gene)。CckA 和 CtrA 基因编码的组氨酸-天冬氨酸信号蛋白, 控制 RcGTA 基因的转录和表达。同时通过调控鞭毛基因转录, CckA 和 CtrA 基因也参与了对细胞的游动性的调

控^[27]。长链酰基高丝氨酸内酯(long-chain acyl-homoserine lactone)作为群体感应物质促进 RcGTA 的产生和释放^[30],但丝裂霉素 C(mitomycin C)或紫外线等常规用于诱导溶源性细菌细胞释放成熟病毒粒子的理化因子,不能促进 RcGTA 的产生和释放。RcGTA 头部包含的遗传物质是 4.5 kb 长,线性双链 DNA 片断。从一个细菌细胞释放的 RcGTA 的 DNA 只可以被其他的 *R. capsulatus* 细胞所吸收并发生 HGT,所以这种 HGT 具有物种特异性,基因转移的频率为 3×10^{-4} 到 4×10^{-4} 每个受体细胞^[24]。编码 RcGTA 的结构基因簇共有 15 个基因,其中多个基因与编码病毒头部和尾部蛋白的基因同源^[26-27],但没有发现其中有编码裂解细胞功能的基因,所以现在还不清楚 RcGTA 如何从 *R. capsulatus* 细胞释放的^[27]。

2.2 VSH-1, *Brachyspira hyodysenteriae* 产生的 GTA

短螺旋体属(*Brachyspira*)是一类严格厌氧螺旋菌,它们一般寄生在人和动物的肠道里。猪痢疾短螺旋体(*Brachyspira hyodysenteriae*)可引发猪痢疾,导致猪复发性腹泻^[34]。丝裂霉素可诱导 *B. hyodysenteriae* 产生 VSH-1。纯化的 VSH-1 粒子不具备侵染性,衣壳内包含的是被随机切割的 7.5 kb 长,宿主基因组的片断^[34-36]。自发释放的 VSH-1 粒子通过一般性转导方式,介导 *B. hyodysenteriae* 细胞之间的基因转移,基因转移的频率为 1.5×10^{-6} 每个 GTA 粒子^[34]。编码 VSH-1 的结构基因有 16.3 kb 长,是包裹在 VSH-1 头部的宿主 DNA 片断长度的 2 倍。VSH-1 结构基因组织形式类似于病毒的基因组,在转录方向上,依次是编码头部蛋白(7 个基因),尾部蛋白(7 个基因)和裂解蛋白(4 个基因)的基因簇^[35]。与编码 RcGTA 的结构基因不同,在 VSH-1 的结构基因中发现有编码降解细菌肽聚糖的基因,用于 VSH-1 从细胞体内释放^[35]。

2.3 VTA 和 Dd-1, *Methanococcus voltae* 和 *Desulfovibrio desulfuricans* 分别产生的 GTA

Methanococcus voltae 是一株严格厌氧,生活在海洋或淡水环境中古细菌,可将 H_2 和 CO_2 转化为 CH_4 。*Desulfovibrio desulfuricans* 则是一株严格厌氧,生活在土壤和水环境中的细菌,借助氧化有机物质(或者 H_2)还原硫化物为 H_2S 。

M. voltae 释放的 GTA (VTA),包含 4.4 kb 长宿

主基因组 DNA 随机片断。VTA 对 DNA 酶有抗性,可以由细胞自发产生,对一般的离心和 CsCl 梯度离心敏感,丧失其水平基因转移的活力^[20, 37]。VTA 可以介导这类细菌细胞之间的 HGT,而且转移的最大频率是 10^{-3} 每个供体细胞。

Desulfovibrio desulfuricans 释放的 GTA (Dd-1),在细胞处于指数生长的中期到晚期,开始自发产生并释放,不可被丝裂霉素诱导^[3]。Dd-1 衣壳中包含的 DNA 片断长度是 13.6 kb。Dd-1 介导的 HGT 的频率为 10^{-5} 到 10^{-6} 每个受体细胞^[3]。遗憾的是,目前还没有有关 VTA 和 Dd-1 更详细报道。

3 海洋细菌 GTA 及其生态学研究进展

3.1 海洋细菌 GTA 生物学研究进展

近年大规模海洋细菌基因组测序,发现在大量 α -Proteobacteria 特别是 *Roseobacter* 类群(>40 株)的细菌基因组上有保守的 GTA 基因^[21, 25]。而以上对模式菌株释放的 GTA 的研究总结为研究海洋细菌释放的 GTA 提供了技术方法和结论对照,以此去评估 GTA 颗粒是否广泛存在于海洋环境中,GTA 是否是海洋环境中介导 HGT 的重要机制。但目前对海洋细菌的 GTA 研究才刚刚起步。

Roseobacter 是一类属于 α -Proteobacteria 的异养细菌,普遍存在于海洋环境中,而且占总细菌数量的 25% 左右,尤其在近岸海水中,所占总细菌的比重更高^[38-39]。*Roseobacter* 对全球碳循环,硫循环以及全球气候都有十分重要的作用,因为它们拥有以下十分重要的特征:好氧不产氧的光合作用、氧化温室气体 CO_2 、通过降解浮游植物产生的渗透压调节物质而产生与气候相关的二甲基硫等^[40-41]。

Biers 等^[25]采用 *Roseobacter* 类群的一株代表细菌 *Silicibacter pomeroyi* DSS-3 作为研究对象,研究 GTA 的表达和对 HGT 的贡献。DSS-3 含有 GTA 基因簇 15 个基因的 13 个,而且在其基因组上没有发现前噬菌体基因。在指数生长期,GTA 的数量一般低于 *Silicibacter pomeroyi* 细胞数量的 2 个数量级,但和细胞的数量正相关。这与 *R. capsulatus* 产生 GTA 的情况不一样,RcGTA 一般在平衡期数量达到最大值,而 DSS-3 在整个培养期间均表达 GTA 的 g3 基因,最高值在指数生长早期,最低值为指数生长晚

期。

Bires 等^[25]也验证了 DSS-3 可以借助 GTA 发生 HGT。方法是:将具有不同抗生素抗性的 DSS-3 两个突变株混合,这两类突变株互为 GTA 的供体和受体,如果在同时含有这两类抗生素的培养基上生长出克隆,就表明发生了抗抗生素基因的水平基因转移。在含有两种抗生素培养基的平板上生长的细菌数量为 12000 CFU/mL,自发突变的频率仅为 10 CFU/mL。类似的,通过过滤方法将 GTA 过滤下来,然后将 GTA 和受体细胞混合,再将混合后的细胞铺在有抗生素的培养基的平板上,也发现了抗抗生素基因的水平转移,这表明通过 GTA 的 HGT 并不需要细胞之间的接触。遗憾的是,没有测量 DSS-3 释放的 GTA 介导的 HGT 的频率,以便和 RcGTA 或 VSH-1 比较。需要指出的是,通过过滤方法获得含有 GTA 的过滤液需要用 DNA 酶处理,以降解没有被 GTA 保护的游离 DNA,以防止其他的 HGT 的机制的发生。

Chen 等^[15]在海洋 *Roseobacter* 类群的另一株代表细菌 *Silicibacter sp.* TM1040 基因组发现有 5 个前噬菌体类似基因簇,其中有 3 个前噬菌体类似基因簇的表达可由丝裂霉素诱导,并被证明是前噬菌体基因。第 5 个前噬菌体类似基因簇 (prophage 5) 与 RcGTA 的编码基因同源,但在用丝裂霉素诱导出来的病毒粒子中没有检测到其编码基因。*Silicibacter sp.* TM1040 所释放的 GTA 有可能和 RcGTA 一样,也是非丝裂霉素诱导型的,或者和 VTA 一样,在用 CsCl 梯度离心纯化 GTA 粒子时,GTA 粒子不稳定,从而最终没有被检测出来。如果 prophage 5 的确编码了 GTA,即使 GTA 可以被丝裂霉素诱导,那么释放出的 GTA 头部包含的也是宿主基因组的随即片段,利用 prophage 5 的特异引物也是不能被检测出的。

3.2 海洋细菌 GTA 分子生态学研究进展

借助分子生物学手段,对含有 GTA 的纯培养细菌和不同的海洋环境 GTA 介导的 HGT 研究发现,GTA 介导的 HGT 的频率远远高于其他的 HGT 途径。GTA 介导的 HGT 的频率为 6.7×10^{-3} 至 4.7×10^{-1} ,是“转化”导致的基因转移频率的 1.9×10^3 至 4.59×10^8 倍,是“转导”基因转移频率的 6.5×10^5 至 3.1×10^7 倍^[42]。

由于 GTA 头部包含的是宿主基因组的随机片

断,我们不可能用固定的探针去研究释放在水体中的 GTA 的遗传多样性。但是编码 GTA 的部分结构基因却是保守的,可以设计特异的引物去探索在基因组上含有 GTA 基因的细菌的多样性,以此来推测 GTA 可能在海洋环境中的重要作用。

Lang 和 Beatty^[21]首次将 GTA 结构基因——衣壳蛋白基因 (major capsid protein, *g5*) 作为分子标记基因来研究含 GTA 基因的细菌的多样性,结果发现海洋细菌的 *g5* 基因单独聚类在一起。本文作者采用 GTA 其他的结构基因,例如终端酶基因 (terminase, *g2*),门户蛋白基因 (portal protein, *g3*),尾蛋白基因 (tail protein, *g12*) 等构建的进化树,也有和 *g5* 类似的现象。Zhao 等^[43]以 *g5* 基因作为分子标记基因研究含 GTA 基因的细菌在美国 Chesapeake Bay 表层海水的多样性。利用特异引物对 22 株 *Roseobacter* 和 *Rhodobacter* 的菌株的 *g5* 基因进行扩增。*Rhodobacter* 类群一般在淡水环境或河口环境中广泛存在^[44-45],而且可以在一定的海洋环境下高丰度的出现^[46]。同 *Roseobacter* 类群相似,*Rhodobacter* 基因组中也有 GTA 基因簇,为了适应复杂的海洋环境而展现出较为复杂的基因组^[47-48]。实验结果显示所有的测试的菌株都包含 *g5* 基因。*g5* 基因序列的进化分析表明在 Chesapeake Bay 中总共有 12 个含 *g5* 基因的 *Roseobacter* 和 *Rhodobacter* 的亚群,其中 11 个亚群属于 *Roseobacter*,另外一个亚群属于 *Rhodobacter*。在这 12 个亚群中,只有两个亚群中包含可培养细菌。其他的亚群都和已知菌株的 *g5* 序列有较大的差异 (<90% 氨基酸同源性),说明 Chesapeake Bay 中存在一些特有的 *Roseobacter*。

虽然 *g5* 基因已经成功地用于探索自然环境中含有 GTA 基因细菌的多样性,但不容忽视的是,不论终端酶基因 (terminase, *g2*),门户蛋白基因 (portal, *g3*),衣壳蛋白基因 (major capsid protein, *g5*) 还是尾蛋白基因 (tail protein, *g12*),它们与细菌基因组上的原病毒的结构基因同源,容易误将基因组上含有前噬菌体基因的细菌认为是含有 GTA 基因的细菌。而前噬菌体的基因广泛存在海洋细菌的基因组上,例如,Paul^[22]对已测序的 113 个海洋细菌的基因组分析发现,其中有 64 个细菌的基因组含有前噬菌体基因。因此,较其他与病毒同源的基因,作者认为采用 GTA 特有的基因作为探针,更能直接

证明这类细菌含有 GTA 基因。对比不同细菌的 GTA 基因簇,一个保守的现象是,所有的 GTA 基因簇都含有一个片段较长,功能未知的基因——*g15* 基因(例如 *Rhodobacter capsulatus* 的 *g15* 基因长度为 3912 bp),而在前噬菌体的基因组中没有发现该基因。作者将目前 NCBI 数据库中已有 *g15* 基因构建进化树,如图 1 所示。有意思的是,与 Lang 和 Beatty (2006) 利用 *g5* 基因构建的进化树相比,*g15* 基因构建的进化树显示含有 GTA 结构基因的细菌类群只有 4 个,分别是 *Rhodobacterales*, *Rhizobiales*, *Caulobacterles* 和 *Parvarculales*, 而没有 *Sphingomonadales*, *Rhodospirillales*, *Rickettsiales* 类群。而 *Sphingomonadales*, *Rhodospirillales*, *Rickettsiales* 类群的基因组上,无一例外只有部分的 GTA 结构基因。

含有 GTA 基因的 *Rhodobacterales* 和其他的 α -Proteobacteria 类群的浮游细菌在海洋生态群落中占有较高的比例^[40, 49]。因此 GTA 介导的 HGT 可能是海洋发生 HGT 的主要机制之一。作者以 GTA-G15 的蛋白序列作为索引序列,采用 BLASTX 程序,在表层海水的环境基因组学 (Global Ocean Sampling, GOS) 蛋白数据库 (<http://camera.calit2.net/>) 搜索,共发现 294 条与 G15 同源序列。采用相同的方法,Paul^[22] 以终端酶蛋白序列作为索引序列,在数据库中搜索到 249 条同源序列。有意思的是大部分同源序列来自 GS033 站位,我们不清楚是不是 GS033 站位和其他站位的采样方法不同造成的。Howard 等人^[50] 根据细菌基因组上的单拷贝基因 *recA* 在 GOS 数据库中的数量来估计细菌数量,结合 GOS 蛋白数据库中 GTA 同源基因的数量,最终得出 2.9% 的海洋细菌的基因组上含有 GTA 基因的结论。然而这个结论和 *Rhodobacterales* 类群细菌在海洋环境中高丰度性不一致,有可能低估了含有 GTA 基因的细菌的数量。在 GOS 采样过程中可能遗漏了这类细菌(过滤孔径是 0.1 到 0.8 μm ^[51]),因为含有 GTA 的细菌,特别是 *Roseobacter*, 容易和浮游植物共生,GOS 采样过程中将较大的颗粒去掉,而遗漏了这类细菌。例如, *Silicibacter sp.* TM1040 分离自甲藻 *Pfiesteria piscicida* 细胞周围独特的藻际 (phycosphere) 微环境^[52], *Pfiesteria piscicida*/TM1040 是目前唯一的甲藻和可培养细菌间的“严格的”共生关系。

4 展望

虽然 GTA 早在 1974 就被发现^[24],但在基因水平上阐明 GTA 的结构和功能却是在本世纪初^[19-22]。但真正开始引起研究者重视,是近几年大规模海洋细菌基因组测序出现之后,发现 GTA 基因广泛存在于海洋细菌的基因组上^[21],这引起了广大学者,特别是海洋生态学家的广泛重视。但 GTA 的研究,特别是海洋细菌的 GTA 的研究现在才刚刚起步。作者结合自己的工作,认为 GTA 的研究迫切需要回答以下问题。

4.1 完全注释 GTA 结构基因的功能

虽然基因组测序发现 GTA 结构基因广泛存在于海洋细菌的基因组中,但 GTA 每一个结构基因的功能并没有完全了解。已经注释的功能基因主要是类似病毒的结构基因,例如编码终端酶,门户蛋白,尾蛋白等基因,还有其他基因仍没有注释(例如 *g15*),因为这些基因在 NCBI 的数据库中找不到相似度较高的同源基因。有可能这些基因功能的注释可以解开 GTA 是如何随机切割宿主 DNA, GTA 如何从宿主细胞释放的等谜团。

4.2 前噬菌体和 GTA 对水平基因转移的贡献的比较

对 *Roseobacter* 的基因组的测序发现, *Roseobacter* 含有多种 HGT 的工具,例如前噬菌体, GTA 等。有些细菌,比如 *Silicibacter pomeroyi* DSS-3, 在其基因组上只发现有 GTA 基因^[25], 而另外一些细菌,例如 *Silicibacter sp.* TM1040, 基因组上同时存在前噬菌体和 GTA 基因^[15]。通过丝裂霉素,紫外线或其他的理化因子诱导细胞,细胞大量裂解,前噬菌体最终成为成熟的病毒粒子释放出来。前噬菌体在成为成熟的病毒粒子过程中,头部包裹的病毒基因有可能随机携带少量的宿主基因,再次侵染其他宿主时,发生 HGT。而 GTA 头部包含的遗传物质全部是宿主 DNA 片断,其全部的功能是将基因转移给受体细胞,并且释放 GTA 的同时并不伴随着宿主细胞的裂解。基因组上同时存在 GTA 和前噬菌体的细菌,发生 HGT 频率是否高于基因组上只有 GTA 的细菌? 前噬菌体对 GTA 的表达, HGT 的频率是否有影响,如何影响?

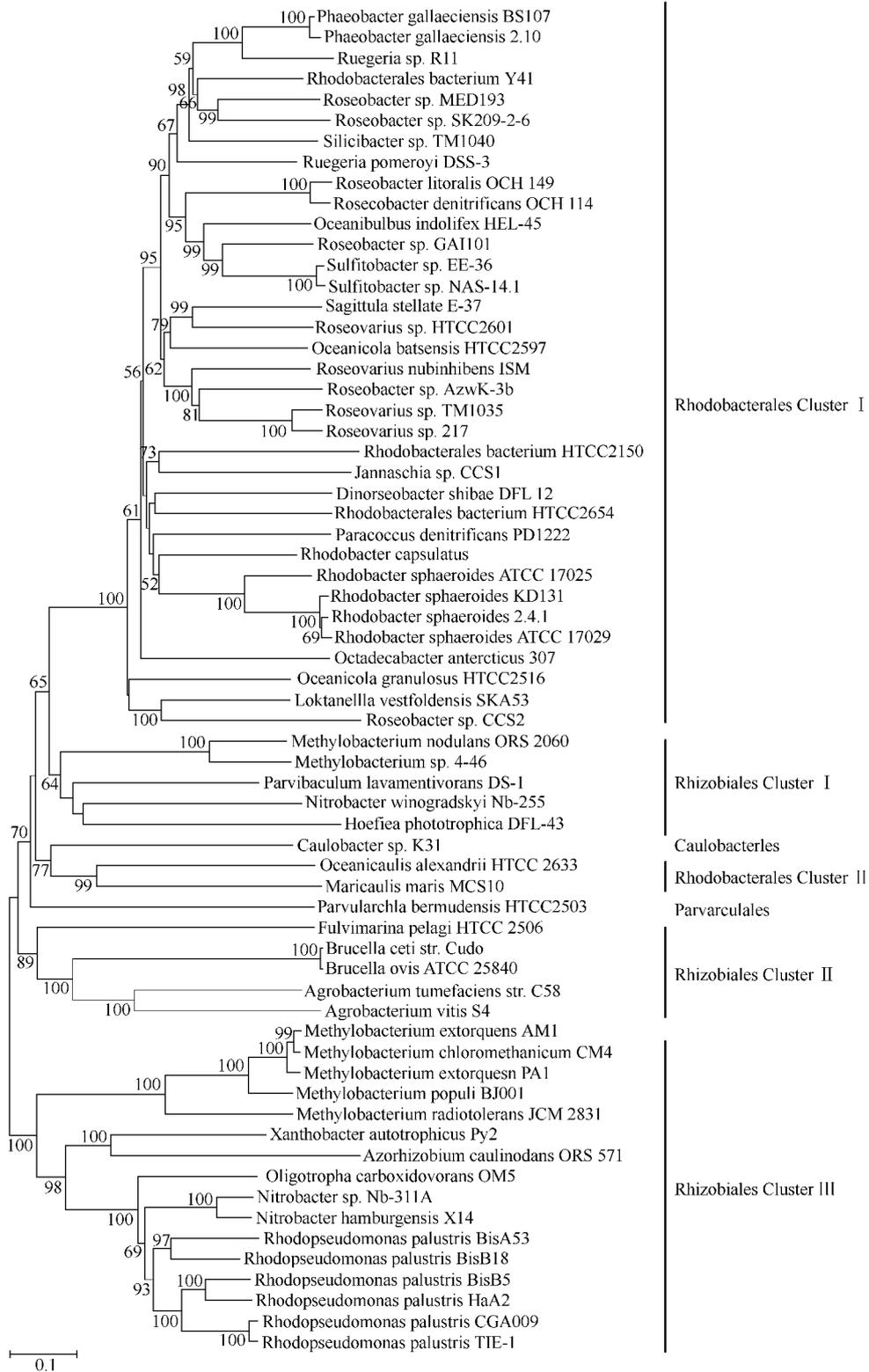


图 1 GTA-g15 基因编码的蛋白序列构建的进化树。

Fig.1 Phylogenetic tree of amino acid sequences encoded by GTA-g15 genes. Amino acid sequence encoded by *Rhodobacter capsulatus* GTA-g15 gene was used to Blastp against NCBI database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). To obtain all amino acid sequences encoded by GTA-g15 genes in the database, the max target sequences of the program blastp, was changed from 100 to 250. All the obtained amino acid sequences were phylogenetic analyzed by MEGA 4.0 (<http://www.megasoftware.net/>).

4.3 用功能基因作为基因标记物研究 GTA 对 HGT 的贡献

历史上,都是用抗抗生素基因作为标记基因来研究 GTA 对 HGT 的频率。如果抗抗生素突变株释放的 GTA 与野生菌株混合后,野生株获得抗抗生素特性,就被认为借助 GTA,发生了 HGT。但事实上,借助 HGT,细菌不仅可以获得光合基因^[1],还可以获得碳固定基因^[2],硫还原基因^[3]等。是否可以利用功能基因作为基因标记物研究 GTA 对水平基因转移的贡献?例如通过突变,将某一个功能基因,例如光合基因,使它失去功能,然后利用野生菌释放的 GTA 与突变株混合,研究突变株是否恢复了光合基因的功能。

4.4 野外实验证明 GTA 对 HGT 的贡献

尽管室内实验证明 GTA 是十分有效的水平基因转移的工具,在 Chesapeake Bay 也发现含有 GTA 基因的细菌多样性很高。但是目前还没有任何野外实验证据表明,GTA 也是有效的水平基因转移的工具。这将是海洋生态学家面临的一个难题。

参考文献

- [1] Sullivan MB, Lindell D, Lee JA, Thompson LR, Bielawski JP, Chisholm SW. Prevalence and evolution of core photosystem II genes in marine cyanobacterial viruses and their hosts. *Plos Biology*, 2006, 4: e234.
- [2] Paul JH, Sullivan MB. Marine phage genomics: what have we learned? *Current Opinion in Biotechnology*, 2005, 16: 299-307.
- [3] Rapp BJ, Wall JD. Genetic transfer in *Desulfovibrio desulfuricans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1987, 84: 9128-9130.
- [4] Liebert CA, Hall RM, Summers AO. Transposon Tn21, flagship of the floating genome. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1999, 63: 507-522.
- [5] Top EM, Springael D. The role of mobile genetic elements in bacterial adaptation to xenobiotic organic compounds. *Current Opinion in Biotechnology*, 2003, 14: 262-269.
- [6] Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance-inducing transformation of pneumococcal types. *The Journal of Experimental Medicine*, 1944, 79:137-158.
- [7] Karl DM, Bailiff MD. The measurement and distribution of dissolved nucleic-acids in aquatic environments. *Limnology and Oceanography*, 1989, 34: 543-558.
- [8] Salyers AA, Cooper AJ, Shoemaker NB. Lateral broad host range gene transfer in nature: How and how much? 1998, p. 40 - 50. In M. Syvanen and C. I. Kado (ed.) *Horizontal gene transfer*. Chapman & Hall, London.
- [9] Davison J. Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*, 1999, 42:73.
- [10] Dufresne A, Salanoubat M, Partensky F, Artiguenave F, Axmann IM, Barbe V, Duprat S, Galperin MY, Koonin EV, Le Gall F, Makarova KS, Ostrowski M, Oztas S, Robert C, Rogozin IB, Scanlan DJ, Tandeau de Marsac N, Weissenbach J, Wincker P, Wolf YI, Hess WR. . Genome sequence of the cyanobacterium *Prochlorococcus marinus* SS120, a nearly minimal oxyphototrophic genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100: 10020-10025.
- [11] Giovannoni SJ, Tripp HJ, Givan S, Podar M, Vergin KL, Baptista D, Bibbs L, Eads J, Richardson TH, Noordevier M, Rappé MS, Short JM, Carrington JC, Mathur EJ. . Genome streamlining in a cosmopolitan oceanic bacterium. *Science*, 2005, 309: 1242-1245.
- [12] Zinder ND, Lederberg J. Gene exchange in *Salmonella*. *Journal of Bacteriology*, 1952, 64: 679-699.
- [13] Jiang SC, Paul JH. Gene transfer by transduction in the marine environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64: 2780-2787.
- [14] Bergh O, Børsheim KY, Bratbak G, Heldal M. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature*, 1989, 340: 467-468.
- [15] Chen F, Wang K, Stewart J, et al. Induction of multiple prophages from a marine bacterium: a genomic approach. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72: 4995-5001.
- [16] Jiang SC, Paul JH. Occurrence of lysogenic bacteria in marine microbial communities as determined by prophage induction. *Marine Ecology Progress Series*, 1996, 142: 27-38.

- [17] Sullivan MB, Coleman ML, Weigele P, Rohwer F, Chisholm SW. Three *Prochlorococcus* cyanophage genomes: signature features and ecological interpretations. *PLoS Biology*, 2005, 3:790-806.
- [18] Mairs B. Genetic recombination in *Rhodospseudomonas capsulata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1974, 71: 971-973.
- [19] Humphrey SB, Stanton TB, Jensen NS, Zuerner RL. Purification and characterization of VSH1, a generalized transducing bacteriophage of *Serpulina hydysenteriae*. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179:323-329.
- [20] Bertani G. Transduction-like gene transfer in the methanogen *Methanococcus voltae*. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181: 2992-3002.
- [21] Lang AS, Beatty JT. Importance of widespread gene transfer agent genes in alpha-proteobacteria. *Trends Microbiology*, 2007, 15: 54-62.
- [22] Paul JH. Prophages in marine bacteria: dangerous molecular time bombs or the key to survival in the seas? *The ISME Journal*, 2008, 2: 579-589.
- [23] Solioz M, Mairs B. Gene transfer agent of *Rhodospseudomonas capsulata*—purification and characterization of its nucleic acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1977, 181:300-307.
- [24] Solioz M, Yen HC, Mairs B. Release and uptake of gene transfer agent by *Rhodospseudomonas capsulata*. *Journal of Bacteriology*, 1975, 123: 651-657.
- [25] Biers EJ, Wang K, Pennington C, Belas R, Chen F, Moran MA. Occurrence and Expression of Gene Transfer Agent Genes in Marine Bacterioplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74: 2933-2939.
- [26] Lang AS, Beatty JT. Genetic analysis of a bacterial genetic exchange element: the gene transfer agent of *Rhodospseudomonas capsulatus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97:859-864.
- [27] Lang AS, Beatty JT. The gene transfer agent of *Rhodospseudomonas capsulatus* and “constitutive transduction” in prokaryotes. *Archives of Microbiology*, 2001, 175: 241-249.
- [28] Lang AS, Beatty JT. A bacterial signal transduction system controls genetic exchange and motility. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184:913-918.
- [29] Lang AS, Taylor TA, Beatty JT. Evolutionary implications of phylogenetic analyses of the gene transfer agent (GTA) of *Rhodospseudomonas capsulatus*. *Journal of Molecular Evolution*, 2002, 55: 534-543.
- [30] Schaefer AL, Taylor TA, Beatty JT, Greenberg EP. Long-chain acyl-homoserine lactone quorum-sensing regulation of *Rhodospseudomonas capsulatus* gene transfer agent production. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184: 6515-6521.
- [31] Wall JD, Weaver P, Gest H. Gene Transfer agents, Bacteriophages and bacteriocins of *Rhodospseudomonas capsulata*. *Archives of Microbiology*, 1975, 105: 217-224.
- [32] Yen HC, Hu NT, Mairs BL. Characterization of the gene transfer agent made by an over-producer mutant of *Rhodospseudomonas capsulata*. *Journal of Molecular Biology*, 1979, 131: 157-168.
- [33] Stanton TB. Prophage-like gene transfer agents—novel mechanisms of gene exchange for *Methanococcus*, *Desulfovibrio*, *Brachyspira*, and *Rhodospseudomonas* species. *Anaerobe*, 2007, 13:43-49.
- [34] Hampson DJ, Atyeo RF, Combs BG. Swine dysentery. In: Hampson DJ, Stanton TB, editors. *Intestinal Spirochaetes in Domestic Animals and Humans*. Wallingford and New York: CAB International; 1997, 175-209.
- [35] Matson EG, Thompson MG, Humphrey SB, Zuerner RL, Stanton TB. Identification of genes of VSH-1, a prophage-like gene transfer agent of *Brachyspira hydysenteriae*. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187: 5885-5892.
- [36] Matson EG, Zuerner RL, Stanton TB. Induction and transcription of VSH-1, a prophage-like gene transfer agent of *Brachyspira hydysenteriae*. *Anaerobe*, 2007, 13:89-97.
- [37] Eiserling F, Pushkin A, Gingery M, Bertani G. Bacteriophage-like particles associated with the gene transfer agent of *Methanococcus voltae*. *Journal of General Virology*, 1999, 80: 3305-3308

- [38] Giovannoni SJ, Rappe MS. The uncultured microbial majority. In: Kirchman DL (ed) *Microbial ecology of the oceans*. John Wiley & Sons, New York, NY, 2000, 47-84.
- [39] DeLong EF. Microbial community genomics in the ocean. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3:459-469.
- [40] Buchan A, Gonzalez JM, Moran MA. Overview of the marine Roseobacter lineage. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71: 5665-5677.
- [41] Wagner-Döbler I, Biebl H. Environmental biology of the marine Roseobacter lineage. *Annual Review of Microbiology*, 2006, 60: 255-280.
- [42] McDaniel LD, Young E, Delaney J, Ruhnau F, Ritchie KB, Paul JH. High frequency of horizontal gene transfer in the oceans. *Science*, 2010, 330 (6000) :50.
- [43] Zhao Y, Wang K, Budinoff C, Buchan A, Lang A, Jiao N, Chen F. Gene transfer agent (GTA) genes reveal diverse and dynamic Roseobacter and Rhodobacter populations in the Chesapeake Bay. *The ISME Journal*, 2009, 3: 364-373.
- [44] Crump BC, Armbrust EV, Baross JA. Phylogenetic analysis of particle-attached and free-living bacterial communities in the Columbia River, its estuary, and the adjacent coastal ocean. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65: 3192-3204.
- [45] Kan J, Suzuki MT, Wang K, Evans SE, Chen F. High temporal but low spatial heterogeneity of bacterioplankton in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73: 6776-6789.
- [46] Hiraishi A, Ueda Y. Isolation and characterization of *Rhodovulum strictum* sp. nov. and some other purple nonsulfur bacteria from colored blooms in tidal and seawater pools. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1995, 45: 319-326.
- [47] Nereng KS, Kaplan S. Genomic complexity among strains of the facultative photoheterotrophic bacterium *Rhodobacter sphaeroides*. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181: 1684-1688.
- [48] Choudhary M, Zanhua X, Fu YX, Kaplan S. Genome analyses of three strains of *Rhodobacter sphaeroides*: evidence of rapid evolution of chromosome II. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189: 1914-1921.
- [49] Moran MA, Buchan A, González JM, Heidelberg JF, Whitman WB, Kiene RP, Henriksen JR, King GM, Belas R, Fuqua C, Brinkac L, Lewis M, Johri S, Weaver B, Pai G, Eisen JA, Rahe E, Sheldon WM, Ye W, Miller TR, Carlton J, Rasko DA, Paulsen IT, Ren Q, Daugherty SC, Deboy RT, Dodson RJ, Durkin AS, Madupu R, Nelson WC, Sullivan SA, Rosovitz MJ, Haft DH, Selengut J, Ward N. Genome sequence of *Silicibacter pomeroyi* reveals adaptations to the marine environment. *Nature*, 2004, 432: 910-913.
- [50] Howard EC, Henriksen JR, Buchan A, Reisch CR, Bürgmann H, Welsh R, Ye W, González JM, Mace K, Joye SB, Kiene RP, Whitman WB, Moran MA. Bacterial taxa that limit sulfur flux from the ocean. *Science*, 2006, 314: 649-652.
- [51] Rusch DB, Halpern AL, Sutton G, Heidelberg KB, Williamson S, Yooseph S, Wu D, Eisen JA, Hoffman JM, Remington K, Beeson K, Tran B, Smith H, Baden-Tillson H, Stewart C, Thorpe J, Freeman J, Andrews-Pfannkoch C, Venter JE, Li K, Kravitz S, Heidelberg JF, Utterback T, Rogers YH, Falcón LI, Souza V, Bonilla-Rosso G, Eguiarte LE, Karl DM, Sathyendranath S, Platt T, Bermingham E, Gallardo V, Tamayo-Castillo G, Ferrari MR, Strausberg RL, Neelson K, Friedman R, Frazier M, Venter JC. The Sorcerer II Global Ocean Sampling expedition: Northwest Atlantic through eastern tropical Pacific. *PLoS Biology*, 2007, 5: 398-431.
- [52] Miller TR, Belas R. Dimethylsulfoniopropionate metabolism by *Pfiesteria*-associated *Roseobacter* spp. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004, 70: 3383-3391.

Gene Transfer Agent—a novel and widespread occurrence mechanism of gene exchange in ocean—A review

Haiyuan Cai*

Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

Abstract: Gene Transfer Agent (GTA) particles are released by bacteria and resemble small, tailed bacteriophages. GTA particles contain small, random pieces of host DNA rather than GTA structural genes or a phage genome. Gene transfer mediated by GTA is efficient and species specific based on knowledge of currently best studied GTAs produced by 4 anaerobes. Genome sequencing projects have revealed a remarkable distribution of GTA gene clusters in the genomes of marine bacterioplankton, implying GTA may be an important mechanism for horizontal gene transfer in ocean. On basis of characterization of the 4 best studied GTAs, this review described GTAs released by numerically dominant marine bacteria, discussed their properties that were important for horizontal gene transfer in ocean, and gave future perspectives to advance GTA research.

Keywords: Horizontal gene transfer, Gene Transfer Agent, marine bacterioplankton

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the Open Research Foundation of Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences (NIGLAS2010QD12)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-25-86882210; E-mail: hycail@niglas.ac.cn

Received: 20 July 2011 / Revised: 28 September 2011

《微生物学报》综述文章投稿最新要求

2011年12月, 第3次修订

为了避免篇幅庞大、罗列文献、内容空泛、缺乏观点, 力求内容更加新颖、并更具可读性, 自2003年本刊对综述类投稿提出了具体的要求, 先后又作了两次修订。

1. 篇幅: 主要刊登微型综述 (mini review), 来稿字数最好控制在 5000 字以内 (不包括参考文献)。
2. 新意: 选题要有新意, 对读者及同行确有一定的启发作用和参考价值。
3. 述和评: 结合文献扼要评述国内外学者在本领域的研究进展, 不要泛泛罗列文献, 只述不评。
4. 结合作: 结合自己的研究工作, 就该研究领域存在的问题和解决的途径提出自己的观点。
5. 参考文献: 控制在 40 篇以内, 近 3 年发表的文献不少于 10 篇。
6. 作者: (1) 数量不多于 3 人; (2) 提供一份背景材料, 内容包括: 第一作者科研简介、责任作者 (即通讯作者) 科研简介、本课题组对相关工作情况介绍 (附已发文章)。

欢迎投送“能够反映国际研究热点、对学科发展有指导意义”的述评类文章。