Journal of Environmental Biotechnology
（環境バイオテクノロジー学会誌）
Vol. 13, No. 2, 145–149, 2013

総　　説（一般）

細菌溶菌性 *Bdellovibrio* 属細菌の pH 環境に依存した大腸菌捕食機構の解明

Investigation of pH-dependent Predation of *Escherichia coli* by *Bdellovibrio bacteriovorus*

吉村　純一，前田　憲成 *
Junichi Yoshimura and Toshinari Maeda

九州工業大学　大学院生命体工学研究科　生体機能専攻　〒 808–0196　福岡県北九州市若松区ひびきの 2–4
* TEL: 093–695–6064　FAX: 093–695–6005
* E-mail: toshi.maeda@life.kyutech.ac.jp
Department of Biological Functions and Engineering, Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology, 2–4, Hibikino,Wakamatsu, Kitakyushu, Fukuoka 808–0196, Japan

キーワード：*Bdellovibrio* 属細菌，大腸菌，大腸菌捕食，pH
Key words: *Bdellovibrio bacteriovorus*, *Escherichia coli*, predation of *Escherichia coli*, pH

（原稿受付　2013 年 11 月 18 日／原稿受理　2013 年 11 月 25 日）

1. はじめに

細菌は様々な耐性機構によって抗生物質や抗菌薬などに対し，耐性を獲得する[13]。臨床試験や非臨床試験の現場では，多くの細菌が従来の抗生物質に対し耐性を持ち始めていると報告されている[15]。現在，メチシリン耐性[21]を持つ黄色ブドウ球菌，バンコマイシン耐性[19]を持つ腸球菌といったグラム陽性菌のみならず，大腸菌[20]や緑膿菌[5]，サルモネラ菌[1]などのグラム陰性菌の多剤耐性化が進行している。大腸菌は呼吸器や血流などの経路から感染し，肺炎，敗血症を引き起こす。また，緑膿菌は体内の免疫低下により，異常増殖し発症する日和見感染症の原因となる菌である。サルモネラ菌は発熱，下痢，嘔吐などの急性胃腸炎を引き起こす。他にも，感染症には様々なグラム陰性菌が関与している。さらには，グラム陰性菌の感染症による死亡例も報告されており，多剤耐性グラム陰性菌感染症のための早急な対策が必要である。このような薬剤耐性菌に対する新規抗菌剤としての応用が期待されているのが *Bdellovibrio bacteriovorus*（以後，*Bdellovibrio* 属細菌）である[3,7,9,23]。

Bdellovibrio 属細菌は鞭毛を持った幅 0.2〜0.5 μm，長さ 0.5〜1.6 μm の非常に小さなグラム陰性の偏性好気性細菌[17]である（図 1-a）。Stolp と Petzold[7,9,11]が 1962 年に土壌中の植物病原菌となるバクテリオファージの単離を試みた際に発見された菌株である。彼らの最初の発見から，今現在，水域環境や陸環境など幅広い多くの生息場所が確認されている[10,12]。*Bdellovibrio* 属細菌は宿主に依存し増殖する HD 型（Host dependent）や，自己増殖が可能な *Bdellovibrio* 属細菌 HI 型（Host independent）が存在する。*Bdellovibrio* 属細菌 HD 型の大きな特徴は，他のグラム陰性菌を宿主として，細胞内に侵入し，その菌株を最終的には溶菌させることである（図 1-b）。自身の DNA を宿主に注入するのではなく，*Bdellovibrio* 属細菌自らが宿主に侵入し増殖する点においてバクテリオファージとは異なる。この捕食機構の一連の流れは先ず，*Bdellovibrio* 属細菌が他のグラム陰性菌に 1 秒間に体長の約 100 倍以上（160 μm/s）もの速さで鞭毛運動により接触し，宿主細胞のペリプラズム空間に侵入する[18]。この時，*Bdellovibrio* 属細菌は休眠状態を維持しており，宿主の生存を脅かさない。その後，

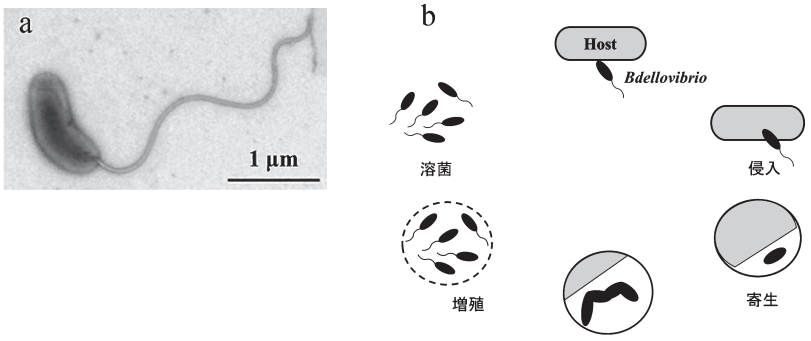

図 1.　*Bdellovibrio* 属細菌[14]（a）および *Bdellovibrio* 属細菌によるグラム陰性菌捕食機構（b）。

Bdellovibrio 属細菌は宿主細胞の栄養物を分解し取り込み，伸長しフィラメント状になる。この分解作用では *Bdellovibrio* 属細菌のゲノム解析[17]から，タンパク質，炭水化物，DNA や RNA などといった複雑な生体高分子を分解するような多種多様の酵素を用いていることが分かっている。栄養物質の分解が終了するとフィラメント状の形状が分裂し，個々の細胞が新たな *Bdellovibrio* 属細菌となり，宿主細胞を溶菌させ，再び捕食相手を求めて泳動する[6]。この一連の細菌捕食作用が，新規薬剤として期待されている所以である。しかしながら，この菌株のグラム陰性菌への捕食作用の分子的なメカニズムはまだ完全には明らかにされていない。当研究室では，*Bdellovibrio* 属細菌が pH 7.6～pH 10.6 程度の範囲では効率的に大腸菌を溶菌する能力を発揮しているのに対し，弱酸性条件下においては *Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食が阻害されることを発見した。本研究では，*Bdellovibrio* 属細菌の大腸菌捕食における pH の影響と各 pH 条件での細胞内侵入と増殖について追究を行った。

2. *Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食作用

Bdellovibrio 属細菌は大腸菌，緑膿菌やサルモネラ菌などのグラム陰性菌を捕食することが知られている[2,22]。本研究では，はじめに捕食相手に大腸菌 BW25113 株を用いて，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株による大腸菌捕食作用を下記の手法を用いて確認した。

Bdellovibrio 属細菌の捕食活性の有無は，*Bdellovibrio* 属細菌と捕食相手となる大腸菌 BW25113 株の共培養において，大腸菌株の菌数の減少に伴う濁度低下を分光光度計で測定することで確認することができる。この共培養は，大腸菌株を HEPES buffer という非栄養下の緩衝液で洗浄・懸濁させ，その後に *Bdellovibrio* 属細菌を接種するという手法である。そのため，大腸菌 BW25113 株は増殖できず，*Bdellovibrio* 属細菌が溶菌活性を示した時のみ，反応系の菌の濁度が低下する。また，*Bdellovibrio* 属細菌のサイズは捕食相手となる菌株に比べ非常に小さいため，*Bdellovibrio* 属細菌の増殖は大腸菌 BW25113 株の濁度測定には反映されにくいこともこの実験系のカギとなっている。

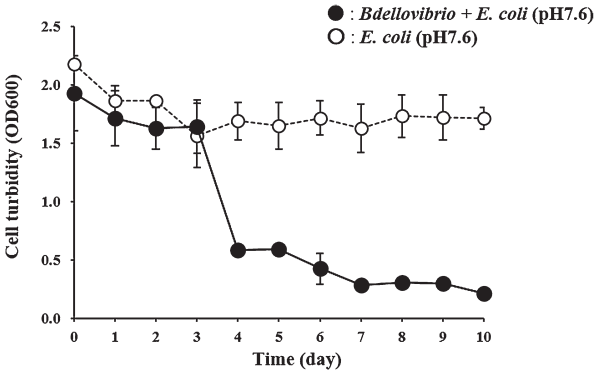

図 2. *Bdellovibrio* 属細による大腸菌 BW25113 株の捕食作用。HEPES buffer（pH 7.6）中の大腸菌 BW25113 株に *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株を添加したものと，大腸菌 BW25113 株のみ（Control）を 37°C，好気状態にて 10 日間培養を行い，逐次 600 nm の波長で分光光度計を用いて 10 日間菌濁度を測定した結果をプロットした。

LB 培地にて大腸菌 BW25113 株を一晩培養した後，HEPES buffer にて洗浄・懸濁し，そこに *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株を添加したものと，未添加のもの（Control）を 37°C，好気状態にて 10 日間培養を行った。その際，逐次 600 nm の波長における濁度を分光光度計により 10 日間測定した。尚，HEPES buffer の pH は 7.6 に調節されており，*Bdellovibrio* 属細菌の最適な培養方法として報告されている[8,24]。結果より，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株と大腸菌 BW25113 株を共培養させた条件の濁度は 3 日目から濁度低下が確認された（図 2）。これは，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株が大腸菌 BW25113 株を捕食していることを示している。

3. *Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食における pH の影響

次に，*Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌の捕食における pH の影響を検討するため，pH を弱酸性条件またはアルカリ性条件に調製した HEPES buffer を用いて，大腸菌を洗浄および懸濁させ，*Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食作用を調べた。具体的には，HEPES buffer を弱酸性条件（pH 6.6），アルカリ性条件（pH 10.6）にそれぞれ調製し，LB 培地にて一晩培養させた大腸菌 BW25113 株を，それぞれの pH 条件下の HEPES buffer にて洗浄・懸濁させた。そこに *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株を添加し，37°C，好気状態にて 10 日間培養を行った。その際，各 pH において *Bdellovibrio* 属細菌を添加していないものと通常の条件（pH 7.6）にて *Bdellovibrio* 属細菌の捕食を確認する系を対照にして，それぞれの共培養液の濁度（600 nm）を 10 日間測定し，比較を行った（図 3）。その結果，*Bdellovibrio* 属細菌を加えた弱酸性条件 pH 6.6 では，対照の大腸菌 BW25113 株単独培養の結果と同様に，菌濁度が低下せずに，*Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食が起こらなかった。逆に，アルカリ性条件である pH 10.6 では，大腸菌 BW25113 株の濁度低下が生じる日数が，pH 7.6 の条件のものに比べ 1 日早まり，最終的な菌濁度も著しく低い値を示した。すなわち，アルカリ性条件では *Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食作用が促進されたことが考えられる。加えて，pH 6.7～7.5 の範囲で同様の実験を行ったところ，pH 7 を境に捕食の有無に差が生じることを確認した。これより，*Bdellovibrio* 属細菌が大腸菌を捕食できる pH の閾値は pH 7 であると判明した。このように，*Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食作用において，pH が重要な因子であることが明らかとなった。

4. pH 別大腸菌内における *Bdellovibrio* 属細菌の菌数測定

Bdellovibrio 属細菌 109J 株が大腸菌 BW25113 株を捕食する際には，pH の値が大きく関与していることを発見した。弱酸性条件下である pH 6.6 では濁度低下が起こらなかったので，*Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食作用が阻害されていると考えられる。その要因として

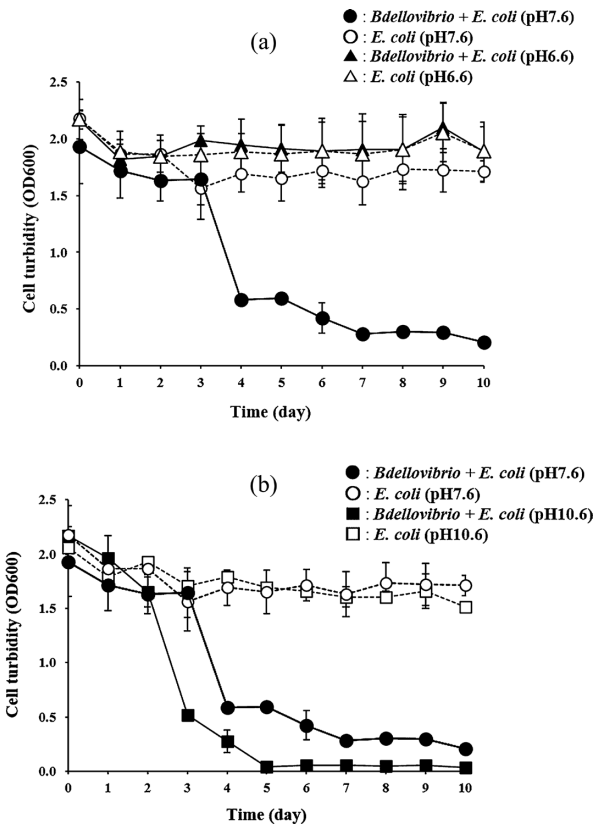

図 3. 弱酸性条件下（a）アルカリ性条件下（b）の *Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌 BW25113 株の捕食作用。
HEPES buffer を弱酸性条件（pH 6.6），アルカリ性条件（pH 10.6）に調整し，大腸菌 BW25113 株を洗浄した。その後，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株を添加したものと，大腸菌 BW25113 株のみを 37°C，好気状態にて 10 日間培養を行った。その際，逐次 600 nm の波長で分光光度計を用いて 10 日間菌濁度を測定した結果をプロットし，通常条件下（pH 7.6）と比較した。

は，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株が大腸菌 BW25113 株内に侵入できず，栄養源を取り込めなくなったので死滅したこと，もしくは大腸菌 BW25113 株内に侵入は可能ではあったが，増殖できず溶菌するまでの過程に至らなかったことなどが考えられる。また，アルカリ性条件下である pH 10.6 では，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株自体が活性化し，多量に大腸菌 BW25113 株内に侵入したため，短期間で溶菌が加速されたこと，またはアルカリの作用により大腸菌の細胞自体が損傷を受け，それにより *Bdellovibrio* 属細菌が侵入しやすくなったことが推測される。いずれの条件下においても，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株が大腸菌 BW25113 株内に，どの程度侵入していたのかを確認する必要がある。そこで，本実験では以下の手法により，pH 条件別に大腸菌 BW25113 株内における *Bdellovibrio* 属細菌の菌数測定を行った。

通常条件（pH 7.6），弱酸性条件（pH 6.6），アルカリ性条件（pH 10.6）で *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株と大腸菌 BW25113 株を好気条件で共培養した。日数ごとに培養液からサンプルを抽出し，遠心分離により共培養中の大腸菌 BW25113 株のみを沈殿させ，上清を取り除いた。沈殿物を各 pH に調整した HEPES buffer にて洗浄後，細胞破砕により大腸菌 BW25113 株内から DNA 抽出を行った。次にリアルタイム PCR にて *Bdellovibrio* 属細菌の塩基配列由来のプライマーを用いて *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株の DNA 量を定量した[4]。DNA 量を定量した後，検量線から *Bdellovibrio* 属細菌の菌数を培養日数ごとに算出し，各 pH 条件で比較した。結果より，捕食阻害が生じた弱酸性条件である pH 6.6 では，抽出した大腸菌 BW25113 株内に *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株由来の DNA が確認されたことから，*Bdellovibrio* 属細菌は大腸菌内に侵入していることがわかった。しかし，通常条件である pH 7.6 と異なり，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株の菌数増殖が確認されなかった。また，アルカリ性条件である pH 10.6 では pH 7.6 と比べ，1 日早いタイミングで大腸菌 BW25113 株内における *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株の増殖が観察された。これより，アルカリ性条件が *Bdellovibrio* 属細菌の増殖機構を活性化させた可能性が考えられる。もしくは，大腸菌 BW25113 株の細胞膜がアルカリ性条件にて傷つき，短期間で *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株が容易に侵入できたため，増殖するタイミングが早まったと考えられる。このように，*Bdellovibrio* 属細菌は pH に関係なく，大腸菌 BW25113 株内には侵入できることが判明した。しかし，その増殖機構においては pH に大きく依存していることが分かった。

5. *Bdellovibrio* 属細菌の pH 別代謝活性測定

Bdellovibrio 属細菌 109J 株による大腸菌 BW25113 株の捕食機構において，pH の影響を受けるのは，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株が大腸菌 BW25113 株内で増殖する段階であることが分かった。このような pH による影響は，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株に直接作用し，増殖不可能な状態にあるのか，それとも捕食相手である大腸菌 BW25113 株に作用し，間接的に *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株が増殖できなかったのか，いずれの場合が考えられる。そこで，本実験では *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株，大腸菌 BW25113 株それぞれについて，各 pH 別に代謝活性を測定した。測定には微生物内のエネルギー代謝活動に関与する補酵素 NADH の還元能に着目し，還元発色試薬を比色検出することで，代謝活性を測定した。さらに，*Bdellovibrio* 属細菌が大腸菌内に侵入する上で重要な要素となりうる大腸菌細胞膜の強度を確認するために，大腸菌の細胞外 DNA（extracellular DNA，以後 eDNA）の溶出量を定量した。

Bdellovibrio 属細菌 109J 株と大腸菌 BW25113 株を通常条件（pH 7.6）にて，濁度が低下するまで共培養を行った後に，0.45 μm のフィルターにてろ過することで大腸菌をトラップし，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株のみを単離した。96 ウェルマイクロプレートの各ウェルに，単離した *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株（または大腸菌 BW25113 株），各 pH 条件の HEPES buffer，発色試薬と共に添加し 37°C，2 日間インキュベートし，波長 450 nm にてマイクロプレートリーダーを用いて代謝活性の比色検出を行った。

その一方，大腸菌 BW25113 株を各 pH 条件の HEPES buffer にて洗浄・懸濁を行い，37°C にて 1 晩インキュベートした。その後に，大腸菌 BW25113 株を遠心

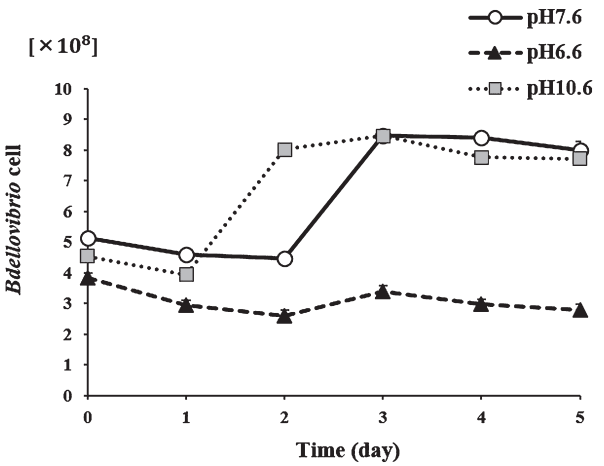

図 4. 弱酸性条件（pH 6.6），アルカリ性条件（pH 10.6）における大腸菌 BW25113 株内の *Bdellovibrio* 属細菌の菌数。
各 pH 条件共培養中の大腸菌 BW25113 株の細胞破砕を行い，DNA を抽出した。その後 *Bdellovibrio* 属細菌の塩基配列由来のプライマーを用いて，リアルタイム PCR により *Bdellovibrio* 属細菌の DNA を定量し，検量線からその菌数を算出した。

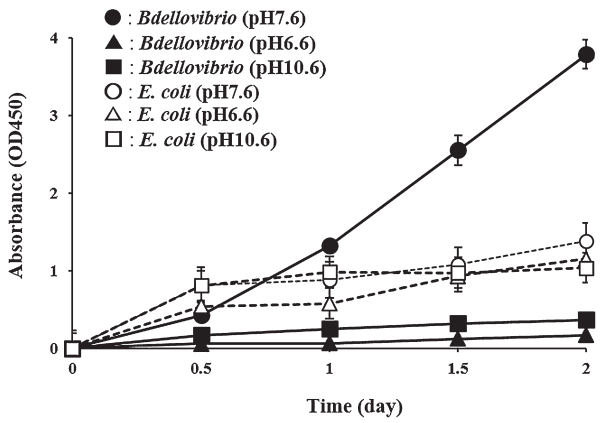

図 5. 弱酸性条件（pH 6.6），アルカリ性条件（pH 10.6）における大腸菌 BW25113 株と *Bdellovibrio* 属細菌の代謝活性測定。
Bdellovibrio 属細菌 109J 株と大腸菌 BW25113 株を通常条件（pH 7.6）にて，濁度が低下するまで共培養を行った後に，フィルターにて *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株のみを単離した。96 well マイクロプレートの各 well に，単離した *Bdellovibrio* 属細菌 109J 株（または大腸菌 BW25113 株），各 pH 条件の HEPES buffer，発色試薬と共に添加し 37°C，2 日間インキュベートし，波長 450 nm にてマイクロプレートリーダーを用いて代謝活性の比色検出を行い，その結果をプロットした。

（13000 rpm，10 min）にかけたものと，超音波処理を施した後に遠心をかけたものに分け，各処理の上清を抽出した。そして，上清をエタノール沈殿により，大腸菌 BW25113 株の DNA を沈殿させ，リアルタイム PCR にて eDNA の定量を行った。尚，定量には超音波処理を施した際の eDNA 量を 100%とし，各 pH 条件の eDNA 量を比較した。図 5 に示したように，大腸菌 BW25113 株の代謝活性は pH による大きな差異は見られなかった。しかし，*Bdellovibrio* 属細菌 109J 株の代謝活性は弱酸性条件である pH 6.6 において通常条件である pH 7.6 と比べ，低活性な状態であった。弱酸性条件下での *Bdellovibrio* 属細菌の増殖阻害はこの低活性化が要因の一つであると考えられる。また，アルカリ性条件下である pH 10.6 においても *Bdellovibrio* 属細菌の低代謝活性が確認できた。加えて pH 10.6 では，検出された細胞外 DNA の量が pH 6.6 および pH 7.6 の時よりも 6〜13 倍高く大腸菌膜から多量の DNA が溶出していたことが分かった。すなわち，アルカリ性条件において大腸菌捕食が促進されたのは単に大腸菌の細胞膜がアルカリ性条件で傷ついており，*Bdellovibrio* 属細菌が容易に侵入可能であったためと考えられた。本実験により，*Bdellovibrio* 属細菌の大腸菌捕食における pH の影響は大腸菌ではなく，*Bdellovibrio* 属細菌の代謝活性に依存していることが明らかとなった。Katja らは，pH 応答性の緑色蛍光タンパク質を用いて，細胞外 pH と細胞内 pH の相関性を調べているが，細胞外 pH が 6.6 から 7.6 の範囲では，細胞内 pH は 7.5–7.8 の範囲であり，そこまで大きな差がないことが明らかになっている[16]。したがって，*Bdellovibrio* 属細菌の大腸菌捕食における pH の影響は，細胞内 pH の影響というよりも，*Bdellovibrio* 属細菌が大腸菌に作用している状況における pH，細胞外 pH に依存していることが現時点では考えられる。

6. ま と め

Bdellovibrio 属細菌のグラム陰性菌捕食機構のメカニズムを解明することは，*Bdellovibrio* 属細菌を医療の分野へと応用する上で必要不可欠なことである。*Bdellovibrio* 属細菌に関する最近の研究成果では，この細菌が動物細胞に対しては，有害性・毒性がないことが報告されていることから，新規抗菌剤として大きな可能性を秘めている[22]。

今回筆者らは弱酸性条件において，*Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食が阻害されることや，アルカリ性条件では大腸菌捕食が促進されることを発見した。特に弱酸性条件では，*Bdellovibrio* 属細菌が大腸菌内に侵入可能ではあるが，増殖不可能といった大変興味深い状態にあることが分かった。また，pH による影響は大腸菌ではなく，*Bdellovibrio* 属細菌の代謝活性に直接作用していることも判明した。このように，*Bdellovibrio* 属細菌による大腸菌捕食機構は pH に大きく依存していることが分かった。現在は，pH を大腸菌捕食阻害が生じた弱酸性条件から大腸菌捕食可能な pH 7.6 以上のアルカリ条件に戻すと，その捕食機構は復活するのかを追及しているところである。仮に捕食機構が復活したとすれば，弱酸性条件下において *Bdellovibrio* 属細菌は大腸菌内で生存していたという可能性が示唆される。同様に，弱酸性条件下で *Bdellovibrio* 属細菌が検出された大腸菌から，RNA を抽出し，*Bdellovibrio* 属細菌由来の RNA を検出することで，弱酸性条件下における *Bdellovibrio* 属細菌の活性の有無を確認する予定にしている。

以上のように，*Bdellovibrio* 属細菌が大腸菌を捕食する上で pH が重要な因子のうちのひとつであり，この pH がもたらす現象を解明することは，*Bdellovibrio* 属細菌によるグラム陰性菌捕食機構のメカニズム解明につ

ながり，*Bdellovibrio* 属細菌の新規薬剤への応用・実用化へと貢献できると考えている。

謝　辞

本論文を作成するにあたり，ご指導を頂いた前田憲成先生に感謝致します。また，日常の議論を通じて多くの知識や示唆を頂いた前田研究室の皆様に感謝します。

文　献

1) Abeer Ahmed Rushdy, Mona Ibrahim Mabrouk, Ferialla Abdel-Hamid Abu-Sef, Zeinab Hassan Kheiralla, Said Mohamed Abdel-All, Neveen Mohamed Saleh. 2013. Contribution of different mechanisms to the resistance to fluoroquinolones in clinical isolates of *Salmonella enterica*. The Brazilian Journal of Infectious diseases. 17: 431–437.
2) Dashiff, A., R.A. Junka, M. Libera, and D.E. Kadouri. 2010. Predation of human pathogens by the predatory bacteria *Micavibrio aeruginosavorus* and *Bdellovibrio bacteriovorus*. Applied Microbiology. 110: 431–444.
3) Aliza Dashiff, Thomas G. Keeling, and Daniel E. Kadouri. 2011. Inhibition of Predation by *Bdellovibrio bacteriovorus* and *Micavibrio aeruginosavorus* via Host Cell Metabolic Activity in the Presence of Carbohydrates. Applied and Environmental Microbiology. 77: 2224–2231.
4) Andrew R. Snyder, Henry N. Williams, Marcie L. Baer, Kimberly E. Walker, and O. Colin Stine. 2002. 16S rDNA sequence analysis of environmental *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALO) reveals extensive diversity. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 52: 2089–2094.
5) Barry Curran, Daniel Jonas, Hajo Grundmann, Tyrone Pitt, and Christopher G. Dowson. 2004. Development of a Multilocus Sequence Typing Scheme for the Opportunistic Pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. Clinical Microbiology. 42: 5644–5649.
6) Carey Lambert, Andrew K. Fenton, Laura Hobley, and R. Elizabeth Sockett. 2011. Predatory *Bdellovibrio* Bacteria Use Gliding Motility to Scout for Prey on Surfaces. Bacteriology. 193: 3139–3141.
7) Carey Lambert, Chien-Yi Chang, Michael J. Capeness, and R. Elizabeth Sockett. 2010. The First Bite—Profiling the Predatosome in the Bacterial Pathogen *Bdellovibrio*. Plos One. 5: 1–13.
8) Diedrich, D.L., C.F. Denny, T. Hashimoto, and S.F. Conti. 1970. Facultatively Parasitic Strain of *Bdellovibrio bacteriovorus*. Bacteriology. 101: 989–996.
9) Haipeng Cao, Shan He, Huicong Wang, Sanling Hou, Liqun Lu, Xianle Yang. 2012. *Bdellovibrios*, potential biocontrol bacteria against pathogenic Aeromonas hydrophila. Veterinary Microbiology. 154: 413–418.
10) Williams, H.N., A.J. Schoeffield, D. Guether, J. Kelley, D. Shah, and W.A. Falkler Jr. 1995. Recovery of *Bdellovibrio*s from Submerged Surfaces and Other Aquatic Habitats. Microb Ecol. 29: 39–48.
11) Stolp, H. and M.P. Starr. 1963. *Bdellovibrio bacteriovorus* gen. etsp. n., a predatory, ectoparasitic, and bacteriolytic microorganism. Antonie van Leeuwenhoek. 29: 217–248.
12) Fry, J.C. and D.G. Staples. 1976. Distribution of *Bdellovibrio bacteriovorus* in Sewage Works, River Water, and Sediments. Applied and Environmental Microbiology. 31: 469–474.
13) Joanna Ziemska, Aleksandra Rajnisz, and Jolanta Solecka. 2013. New perspective on antibacterial drug research. Central European Journal of Biology. 8: 943–957.
14) Karen A. Morehouse, Laura Hobley, Michael Capeness, and R. Elizabeth Sockett. 2011. Three *motAB* Stator Gene Products in *Bdellovibrio bacteriovorus* Contribute to Motility of a Single Flagellum during Predatory and Prey-Independent Growth. Journal of Bacteriology. 193: 932–943.
15) Karthikeyan K. Kumarasamy, Mark A. Toleman, Timothy R. Walsh, Jay Bagaria, Fafh Ana Butt, Ravikumar Balakrishnan, Uma Chaudhary, Michel Doumith, Christian G. Giske, Seema Irfan, Padma Krishnan, Anil V. Kumar, Sunil Maharjan, Shazad Mushtaq, Tabassum Noorie, David L. Paterson, Andrew Pearson, Claire Perry, Rachel Pike, Bhargavi Rao, Ujjwayini Ray, Jayanta B. Sarma, Madhu Sharma, Elizabeth Sheridan, Mandayam A. Thirunarayan, Jane Turton, Supriya Upadhyay, Marina Warner, William Welfare, David M. Livermore, and Neil Woodford. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. Lancet Infect Dis. 10: 597–602.
16) Katja N. Olsen, Birgitte B. Budde, Henrik Siegumfeldt, K. Björn Rechinger, Mogens Jakobsen, and Hanne Ingmer. 2002. Noninvasive Measurement of Bacterial Intracellular pH on a Single-Cell Level with Green Fluorescent Protein and Fluorescence Ratio Imaging Microscopy. Applied and Environmental Microbiology. 68: 4145–4147.
17) Laura Hobley, Thomas R. Lerner, Laura E. Williams, Carey Lambert, Rob Till, David S. Milner, Sarah M. Basford, Michael J. Capeness, Andrew K. Fenton, Robert J. Atterbury, Maximilian ATS Harris, and R. Elizabeth Sockett. 2012. Genome analysis of a simultaneously predatory and prey-independent, novel *Bdellovibrio bacteriovorus* from the River Tiber, supports in silico predictions of both ancient and recent lateral gene transfer from diverse bacteria. BMC Genomics. 13: 670–682.
18) Mario J. Borgnia, Sriram Subramaniam, and Jacqueline L. S. Milne. 2008. Three-Dimensional Imaging of the Highly Bent Architecture of *Bdellovibrio bacteriovorus* by Using Cryo-Electron Tomography. Journal of Bacteriology. 190: 2588–2596.
19) Martin E. Stryjewski, Steven L. Barriere, Ethan Rubinstein, Fredric C. Genter, Arnold L. Lentnek, Martin Magana-Aquino, Carlos M. Luna, Michael S. Niederman, Antoni Torres, G. Ralph Corey. 2013. Telavancin versus vancomycin for bacteraemic hospital-acquired pneumonia. International Journal of Antimicrobial Agents. 42: 367–378.
20) Mohamed A. Karmali. 2004. Prospects for Preventing Serious Systemic Toxemic Complications of Shiga Toxin Producing *Escherichia coli* Infections Using Shiga Toxin Receptor Analogues. 189: 355–359.
21) Nancy Tawil, Flaviana Mouawad, Simon Lévesque, Edward Sacher, Rosemonde Mandeville, and Michel Meunier. 2013. The differential detection of methicillin-resistant, methicillin-susceptible and borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* by surface plasmon resonance. Biosensors and Bioelectronics. 49: 334–340.
22) Robert J. Atterbury, Laura Hobley, Robert Till, Carey Lambert, Michael J. Capeness, Thomas R. Lerner, Andrew K. Fenton, Paul Barrow, and R. Elizabeth Sockett. 2011. Effects of Orally Administered *Bdellovibrio bacteriovorus* on the Well-Being and *Salmonella* Colonization of Young Chicks. Applied and Environmental Microbiology. 77: 5794–5803.
23) Valerio Iebba1, Floriana Santangelo, Valentina Totino, Mauro Nicoletti, Antonella Gagliardi, Riccardo Valerio De Biase, Salvatore Cucchiara, Lucia Nencioni, Maria Pia Conte, and Serena Schippa. 2013. Higher Prevalence and Abundance of *Bdellovibrio bacteriovorus* in the Human Gut of Healthy Subjects. Plos One. 8: 1–9.
24) Yaacov Davidov, Avital Friedjung, and Edouard Jurkevitch. 2006. Structure analysis of a soil community of predatory bacteria using culture-dependent and culture independent methods reveals a hitherto undetected diversity of *Bdellovibrio* -and-like organisms. Environmental Microbiology. 8: 1667–1673.