

DOI: 10.13350/j.cjpb.240411

• 论著 •

## 调控因子 Fis 对肺炎克雷伯菌致病力影响与机制研究\*

马仁惠<sup>1</sup>, 谢继臣<sup>1</sup>, 全秋航<sup>1</sup>, 张志强<sup>1</sup>, 李蓓<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 湖北医药学院基础医学院, 湖北十堰 442000; 2. 湖北医药学院生物医药研究院)

**【摘要】** 目的 探究调控因子 Fis 对肺炎克雷伯菌毒力及致病相关因子的影响。方法 构建肺炎克雷伯菌 *fis* 基因缺失突变株及回补株, 通过体外实验分析肺炎克雷伯菌野生株 (WT), *fis* 基因敲除株 ( $\Delta fis$ ) 及回补株 (C-*fis*) 的生长能力及生物被膜、荚膜、铁载体合成能力; 通过体内小鼠感染实验分析 Fis 对肺炎克雷伯菌致病力的影响。结果 肺炎克雷伯菌 *fis* 基因缺失后细菌生长速度明显降低, 荚膜合成能力增强, 铁载体产生降低, 而生物被膜合成能力无差异。通过小鼠腹腔感染实验发现肺炎克雷伯菌 *fis* 基因缺失后细菌的致病力下降。结论 本研究证实肺炎克雷伯菌 Fis 调控因子可通过影响细菌生长速度、荚膜形成及离子利用而影响细菌的致病力。

**【关键词】** 肺炎克雷伯菌; 调控因子; Fis; 致病性; 毒力

**【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-5234(2024)04-0436-05

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Apr.; 19(4): 436-440.]

**The role of *fis* in the virulence of *Klebsiella pneumoniae* and the pathogenesis**

MA Renhui<sup>1</sup>, XIE Jichen<sup>1</sup>, QUAN Qiuhan<sup>1</sup>, ZHANG Zhiqiang<sup>1</sup>, LI Bei<sup>1,2</sup> (1. School of Basic Medicine, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 42000, China; 2. Biomedical Research Institute, Hubei University of Medicine)

**【Abstract】** **Objective** To explore the effects of regulatory factor Fis on the virulence and pathogenic factors of *Klebsiella pneumoniae*. **Methods** The *fis* gene deletion and replacement strains of *K. pneumoniae* were constructed. The growth ability of wild WT, *fis* knockout strain ( $\Delta fis$ ) and replacement strain C-*fis* and their biofilm, capsule and ferric carrier synthesis ability were analyzed by in vitro experiments. Meanwhile, the effect of Fis on the pathogenicity of *K. pneumoniae* was analyzed by in vivo mouse infection experiment. **Results** After the deletion of *fis* gene, the growth rate of *K. pneumoniae* was significantly decreased, the capsule synthesis ability was enhanced, and the production of iron carrier was decreased, but the biofilm synthesis ability was not different. The pathogenicity of *K. pneumoniae* decreased after the deletion of *fis* gene in mice. **Conclusion** This study confirmed that the Fis regulator of *K. pneumoniae* can affect the virulence of bacteria by affecting the growth rate, capsule formation and ion utilization of bacteria.

**【Key words】** *Klebsiella pneumoniae*; regulator; Fis; pathogenicity; virulence

\*\*\*肺炎克雷伯菌为肠杆菌科细菌, 是一种主要的人类病原体<sup>[1]</sup>。其可存在于环境(土壤和表层水)和非生物表面(例如医疗器械), 亦可定植于人类粘膜表面(特别是口咽和胃肠道), 在机体免疫力下降等情况下侵入其他组织引起肺炎、脑膜炎、血流和泌尿系统感染<sup>[2-4]</sup>。高致病性肺炎克雷伯菌也可在健康个体中引起肝脓肿、眼内炎等<sup>[5]</sup>。随着高致病性肺炎克雷伯菌感染率上升及多重耐药肺炎克雷伯菌菌株的增加<sup>[3-6]</sup>, 对肺炎克雷伯菌致病机制的深入了解将帮助我们更好地预防和控制相关感染性疾病。

Fis 是一种核相关蛋白 (nucleoid-associated protein), Fis 蛋白最初被鉴定为大肠埃希菌同源 Hin 和 Gin 位点特异性 DNA 重组酶反转刺激的因子。其作用包括调节细菌毒力因子和优化细菌对各种环境的适应等<sup>[7]</sup>。有研究表明 Fis 在致病性大肠埃希菌菌株、福氏志贺菌、沙门氏菌<sup>[8]</sup>、弧菌霍乱弧菌和菊欧文

氏菌等<sup>[9-10]</sup>的调控网络中发挥着重要作用, 是多种致病菌毒力的关键调节因子。但其在肺炎克雷伯菌中的作用特别是在对致病相关因素方面的调控作用尚不清楚。为了进一步了解肺炎克雷伯菌致病机制, 本研究聚焦肺炎克雷伯菌调控因子 Fis, 构建其基因缺失株与回补株并分析 Fis 调控因子在细菌生长、生物膜形成、荚膜合成及离子获得过程中的作用。

**材料与方法****1 材料****1.1 菌株、质粒肺炎克雷伯菌 NTUH-K2044 菌株**

\* **【基金项目】** 湖北省卫生健康委面上项目 (No. WJ2021M056); 湖北医药学院基础医学院研究生创新基金项目。

\*\* **【通讯作者】** 李蓓, E-mail: libei2381@sina.com

**【作者简介】** 马仁惠 (1998-), 女, 山西运城人, 在读研究生, 主要研究方向: 感染与免疫。E-mail: 2323185732@qq.com

(K1 血清型, 分离自肝脓肿患者浓汁)、*Escherichia coli* DH5 $\alpha$  菌株、温度敏感型自杀载体 pKO3-km(卡那霉素抗性)、回补质粒 pGEM-T-easy 由本实验室保存。

**1.2 主要试剂** 引物琼脂粉、酵母粉、蛋白胨、NaCl 为 OXOID 公司产品; 氨苄青霉素 (ampicillin, AMP)、硫酸卡那霉素 (kanamycin, KAN) 为 Biotopped 公司产品; 各种酶与分子 Marker 为 Takara 公司或 Promega 公司产品; PCR 产物纯化、切胶回收、质粒提取试剂盒购自 QIAGEN 公司; Zwittergent3-14、间羟基联苯、柠檬酸、NaOH、硼酸购自 sigma 或国药集团化学试剂有限公司。引物由上海生工生物公司合成, 序列见表 1。

表 1 引物序列  
Table 1 Primers sequence

引物 Primer	序列(5'→3') Sequence
基因敲除引物	
<i>fis</i> -A	GTATGCGGCCGCgagcttctgtgactctcaag
<i>fis</i> -B	AGAGCGCCTTTATATCAAGCGAATTTACTGCG TTGTGCAAC
<i>fis</i> -C	gttcgacaacgcagtaaatcgttgatataaaaggcgtct
<i>fis</i> -D	GTATGCGGCCGCCTTTGATTGATCAGCCAGTCAG
基因敲除鉴定引物	
<i>fis</i> -F	TTTGCTCAACTGAACGGTC
<i>fis</i> -R	GTTACCACGGGTGTATTGC
基因回补引物	
<i>C-fis</i> -F	GATAGGGCCCGACGTTCTGTGACTCTCAAG
<i>C-fis</i> -R	GATTGCGGCCGCCTTAGAGATTTGATTGATCAG

注: 下划线表示限制性内切酶位点。

Note: Underlined parts indicate restriction enzyme sites.

## 2 方法

**2.1 构建 *fis* 基因缺失突变株和回补株 *fis* 基因敲除方法** 参考文献[11]。利用基因敲除技术(基于同源重组原理), 通过融合 PCR 获得 *fis* 基因上下游侧翼序列的 PCR 产物, 克隆至温度敏感型自杀载体 pKO3-Km 上, 获得 pKO3-Km-*fis* 质粒, 将此质粒电转至肺炎克雷伯菌 NTUH-K2044 株, 通过同源重组的方法以及蔗糖反向筛选获得 *fis* 基因缺失株  $\Delta$ *fis*, 然后将包含 *fis* 基因编码区及上游启动子结合区和下游转录终止区的 PCR 片段克隆入质粒 pGEM-T-Easy 中, 电转至敲除株获得回补株 *C-fis*。

**2.2 生长曲线** 取保存的 WT,  $\Delta$ *fis* 与 *C-fis* 甘油菌分别接种于 3 mL 新鲜 LB 液体培养基中, 37 °C, 200 r/min 培养过夜。次日, 取过夜活化的菌液 1 : 100 转接至新的 3 mL LB 液体培养基中, 培养至  $A_{600}$  约为 1.6, 调整  $A_{600}$  值约 1.2, 之后 1 : 100 转接于新的 LB 液体培养基中, 37 °C 振荡培养, 利用全自动细菌生长仪检测、绘制生长曲线。

**2.3 生物被膜形成实验** 细菌培养 如上所述, 取  $A_{600}$  值约 1.2 的 WT、 $\Delta$ *fis* 及 *C-fis* 菌液转接至干净透明的无菌玻璃试管中, 37 °C 静置培养 24 h 及 48 h 后分别观察三株菌的生物被膜形成情况。

**2.4 荚膜检测实验** 荚膜离心试验: 将不同菌株过夜培养菌液 1% 比例转接至新鲜 LB 培养基中, 培养至  $A_{600}$  约 1.5, 各取等量菌液 12 000 r/min 离心 5 min 观察细菌沉淀量并测量上清液  $A_{600}$  值, 分析细菌荚膜产生情况。

荚膜定量实验: 取 -80 °C 保存的不同菌株 (WT、 $\Delta$ *fis* 及 *C-fis*) 培养过夜后 1 : 100 转接至新鲜 LB 培养基中培养至对数期 ( $A_{600}$  大约 1.6-1.8), 调至  $A_{600}$  约 2.0 (细菌计数), 取 500  $\mu$ L LB 培养基中培养的样品与 100  $\mu$ L 含有 1% Zwittergent3-14 洗涤剂的 100 mmol/L 柠檬酸混合, 然后在 50 °C 下孵育 30 min。12 000 r/min 离心 10 min 后, 将 250  $\mu$ L 上清液转移至新管中, 并添加 1 mL 无水乙醇。之后在 4 °C 沉淀 30 min, 然后将样品离心 5 min, 将沉淀溶解在 100  $\mu$ L 蒸馏水中, 然后将 600  $\mu$ L 12.5 mmol/L 硼酸 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液添加到每个样品中。将样品煮沸 5 min, 然后添加 1.5 mg/mL 间羟基联苯溶于 5 mg/mL NaOH, 涡旋 5 min, 最后测量 520 nm 处的吸光度, 并从葡萄糖醛酸的标准曲线确定荚膜的量, 以  $\mu$ g/10<sup>9</sup> CFU 表示<sup>[12]</sup>。

**2.5 铁载体含量检测实验** 过夜培养的细菌活化后调整  $A_{600}$  约 1.2 后分别取 5  $\mu$ L 菌液滴至 CAS 固体培养基, 37 °C 培养 24 h 以上, 观察菌落周围整合圈大小, 测量直径判断细菌生成铁载体含量。同时, 将菌液按 1 : 100 转接 CAS 液体培养基中 37 °C、200 r/min 震荡培养 24 h 以上, 使用 CAS 检测液测取 630 nm 处的吸光度 (As), 得到细菌铁载体的相对含量, 从而判断其铁代谢的能力。

**2.6 小鼠感染实验** 取过夜培养的细菌菌液按 1% 比例转接入 LB 液体培养基中, 培养至细菌生长对数期 ( $A_{600}$  值约为 1.6), 取 1 mL 菌液, 25 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清, 将菌体用磷酸缓冲盐溶液洗涤重悬, 重复两次, 调整细菌浓度为 1  $\times$  10<sup>5</sup> CFU/mL 备用。将 36 只 BALB/c 小鼠随机分为 3 组 (每组 12 只)。分别腹腔注射 100  $\mu$ L WT,  $\Delta$ *fis* 与 *C-fis* 菌株 (1  $\times$  10<sup>4</sup> CFU), 每日观察小鼠生存状况, 计算小鼠存活率。

**2.7 统计分析** 本研究统计方法为非配对双尾 *t* 检验 (two-tailed Student's *t* test) 和 Kaplan-Meier 法 (log-rank 和 Gehan-Breslow-Wilcoxon)。相关图表使用 GraphPad Prism 8 生成。

## 结果

### 1 成功构建 *fis* 基因缺失肺炎克雷伯菌突变株及回补株

通过 PCR 对不同菌株进行鉴定,结果显示:当以敲除外部引物 *fis*-A/*fis*-D 扩增时,WT 扩增片段为 1 417 bp,而  $\Delta fis$  扩增片段为 1 127 bp,两者相差 290 bp;当用内部引物 *fis*-F/*fis*-R 扩增时,WT、*C-fis* 扩增片段为 105 bp,而  $\Delta fis$  未扩增出片段。说明成功构建肺炎克雷伯菌 *fis* 基因的缺失株及回补株(图 1)。

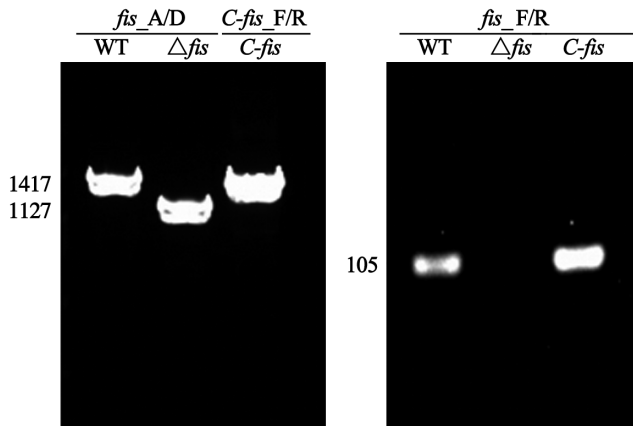
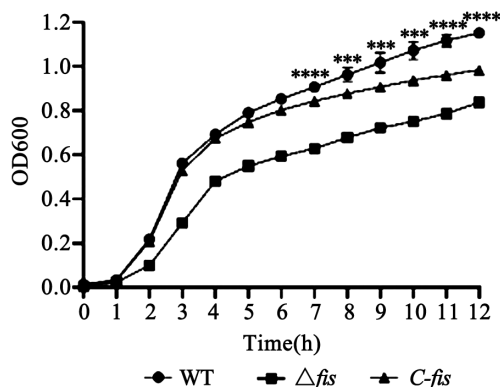


图 1 肺炎克雷伯菌 *fis* 基因缺失株与回补株的鉴定  
Fig. 1 Identification of *K. pneumoniae* *fis* gene deletion and complementation strains

### 2 *fis* 基因缺失影响细菌生长

利用全自动细菌生长仪检测、绘制 WT、 $\Delta fis$  及 *C-fis* 在 LB 培养基中生长曲线,结果显示, $\Delta fis$  菌株的生长速度显著低于 WT ( $P < 0.01$ ),生长在 *C-fis* 得到一定程度的恢复(图 2),说明 *fis* 基因缺失可影响肺炎克雷伯菌在体外生长。



注:不同时间 WT 组与  $\Delta fis$  组比较 \*\*\*  $P < 0.05$ ; \*\*\*\*  $P < 0.01$ .

图 2 菌株 WT、 $\Delta fis$  和 *C-fis* 体外生长曲线

Notes: Comparison between WT group and  $\Delta fis$  group at different time \*\*\*  $P < 0.05$ ; \*\*\*\*  $P < 0.01$ .

Fig. 2 In vitro growth curves of WT,  $\Delta fis$ , and *C-fis* strains

### 3 *fis* 基因缺失不影响细菌生物被膜形成

生物被膜是肺炎克雷伯菌重要致病相关因子,为

探究 *fis* 基因是否影响肺炎克雷伯菌生物被膜的形成,利用试管法将 WT,  $\Delta fis$  及 *C-fis* 菌株分别在 LB 培养基中 37 °C 静置培养 24 h 或 48 h 后观察液-气交界处生物膜形成情况。结果显示,在 LB 液体培养基中不同菌株生物被膜的形成无明显差异,*fis* 基因不影响肺炎克雷伯菌生物被膜的形成(图 3)。

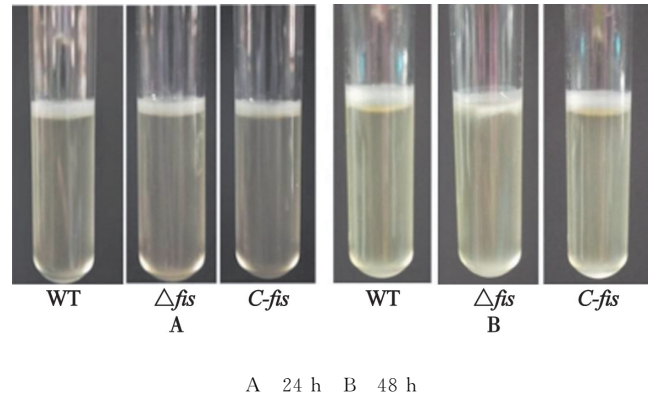


图 3 WT、 $\Delta fis$  及 *C-fis* 生物被膜形成  
Fig. 3 Biofilm formation of WT,  $\Delta fis$  and *C-fis*

### 4 *fis* 基因缺失影响细菌荚膜合成

除生物膜外,荚膜是肺炎克雷伯菌重要致病相关因子。高速离心实验发现,*fis* 基因缺失株在 12 000 r/min 离心 5 min 后形成的沉淀较 WT 更加松散,上清液  $A_{600}$  明显高于 WT 株(图 4A、B)。高速离心实验细菌的沉降速率与细菌荚膜含量相关,该实验结果说明 *Fis* 调控子可能负调控细菌荚膜形成。荚膜定量实验亦证明  $\Delta fis$  菌株荚膜量显著高于 WT 及 *C-fis* 株(图 4C),*fis* 基因负调控肺炎克雷伯菌荚膜的合成。

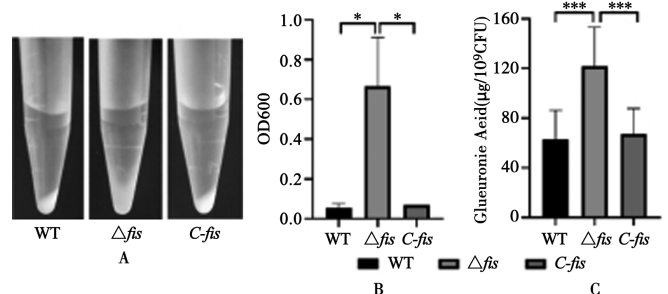


图 4 *fis* 基因缺失影响细菌荚膜合成  
A 荚膜离心实验 B 荚膜离心后测量上清液细菌密度实验 C 荚膜定量实验( $\Delta fis$  与 WT 相比: \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$ ;  $\Delta fis$  与 *C-fis* 相比:  $\# P < 0.05$ ,  $\#\#\# P < 0.001$ )

图 4 *fis* 基因缺失影响细菌荚膜合成

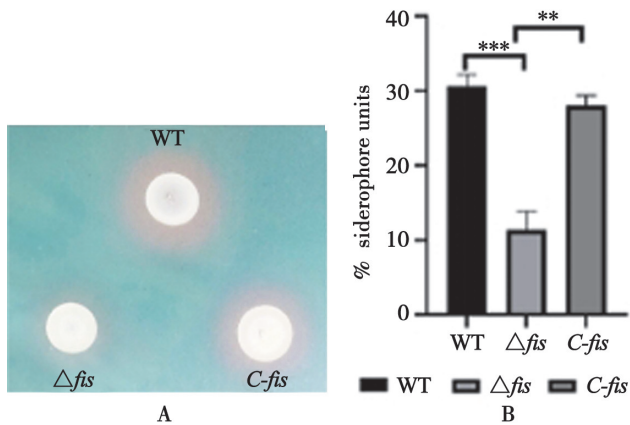
A Capsule centrifugation experiment B Measurement of bacterial density in the supernatant after capsule centrifugation experiment C Capsule quantification experiment ( $\Delta fis$  vs WT: \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$ ;  $\Delta fis$  vs *C-fis*:  $\# P < 0.05$ ,  $\#\#\# P < 0.001$ )

Fig. 4 Deletion of the *fis* gene affects bacterial capsule synthesis

### 5 *fis* 基因缺失影响细菌铁载体的产生

铁载体也是肺炎克雷伯菌重要致病相关因子。利用 CAS 固体与液体培养基分别检测野生株、突变株及回补株生成铁载体的含量。从图 5A 中可以看出,在

CAS 固体培养基中  $\Delta fis$  菌株(直径约 1.1 cm)周围的整合圈明显小于野生株(直径约 1.6 cm)与回补株(直径约 1.3 cm),野生株与回补株的整合圈直径无明显差异。定量分析 CAS 液体培养基中三种菌产生的铁载体含量,测 630 nm 处的吸光度计算三种菌产生铁载体的相对含量(图 5B)。结果显示  $\Delta fis$  产生的铁载体含量少于 WT 和  $C-fis$ ,与 CAS 固体培养基定性实验的检测结果相符。 $fis$  基因缺失减弱了肺炎克雷伯菌产生铁载体的能力,影响细菌的离子应用。



A CAS 平板 B CAS 液体培养基( $\Delta fis$  与 WT 相比:  $*** P < 0.01$ ;  $\Delta fis$  与  $C-fis$  相比:  $^{##} P < 0.01$ )

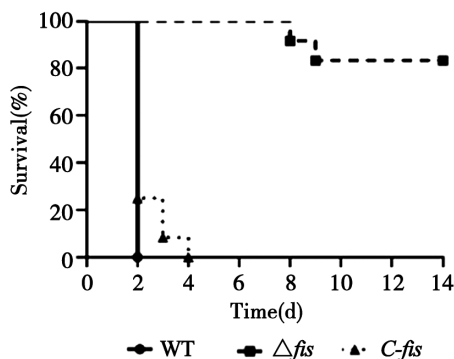
图 5  $fis$  基因缺失对细菌铁载体产生的影响

A CAS solid medium B CAS liquid medium( $\Delta fis$  vs WT:  $*** P < 0.01$ ;  $\Delta fis$  vs  $C-fis$ :  $^{##} P < 0.01$ )

Fig. 5 Effect of  $fis$  gene deletion on bacterial siderophore production

## 6 $fis$ 基因缺失影响细菌致病力

为确定  $fis$  基因对肺炎克雷伯菌致病力的影响,分别将  $10^4$  CFU WT、 $\Delta fis$  及  $C-fis$  通过腹腔注射途径感染 BALB/c 小鼠,记录感染后小鼠死亡情况绘制存活率曲线图。生存率曲线结果显示,在感染后 2 d 及 4 d 内,野生株、回补株腹腔感染小鼠分别全部死亡,而  $\Delta fis$  株感染小鼠 14 d 内存活率达 83.3% ( $P < 0.01$ )(图 6),表明  $fis$  基因缺失会减弱细菌致病性。 $Fis$  调控子调控肺炎克雷伯菌致病力。



$\Delta fis$  组与 WT 组相比:  $P < 0.01$

图 6 WT、 $\Delta fis$  及  $C-fis$  腹腔感染 BALB/c 小鼠的存活率

Fig. 6 Survival rate of WT,  $\Delta fis$  and  $C-fis$  in BALB/c mice infected with abdominal cavity

## 讨论

肺炎克雷伯菌是一种较为常见的革兰阴性机会致病菌,在免疫功能低下的个体中可引起菌血症、肺炎和肝脓肿等多种感染性疾病<sup>[13-14]</sup>。20 世纪 80 年代以来,高致病型肺炎克雷伯菌被发现可在年轻和相对健康的个体中引起感染<sup>[15]</sup>。目前已经发现多种致病相关因子如荚膜多糖、脂多糖、菌毛、外膜蛋白和铁载体参与肺炎克雷伯菌致病过程,有利于细菌在宿主体内生存和逃避宿主免疫<sup>[4]</sup>。而且毒力基因的表达与整体细胞功能相协调<sup>[16]</sup>。据估计,65%~80%的细菌感染与生物膜有关,肺炎克雷伯菌在宿主可导致泌尿道、胃肠道和呼吸道等部位的定植,及后续对宿主的侵袭性感染,与其生物膜密切相关<sup>[14]</sup>。生物膜是复杂的细菌群落,由一种或多种包裹在细胞外基质中的物种组成,生物膜中的细菌可免受免疫反应和抗生素的影响<sup>[3]</sup>。研究中通常采用光滑的管壁内表面以观察肺炎克雷伯菌生物膜的形成。荚膜多糖(CPS)和菌毛是肺炎克雷伯菌重要的表面结构。其中,荚膜多糖参与肺炎克雷伯菌生物膜的形成并介导细胞间通讯;菌毛参与肺炎克雷伯菌在宿主中的粘附<sup>[14]</sup>。

调控因子在细菌感应环境变化调控致病相关因子表达的过程中起着非常重要的作用。对于肺炎克雷伯菌,已经有研究证明多个调控因子与细菌致病相关。例如 RcsAB 和 Fur 调控肺炎克雷伯菌铁获取系统<sup>[17]</sup>;双组分系统 OmpR 通过肺炎克雷伯菌的能量代谢调节细菌粘度和毒力<sup>[18]</sup>;  $oxyR$  缺失株荚膜多糖(CPS)合成降低,减弱了对线虫感染模型的致病性<sup>[19]</sup>; RmpA 可参与 FNR 介导的  $cps$  转录抑制,从而调节 CPS 量、血清抗性和抗吞噬作用<sup>[20]</sup>,也可以直接作用于  $cps$  簇启动子,促进荚膜的产生,可增强肺炎克雷伯菌对大蜡螟幼虫的毒力<sup>[21]</sup>; CRP(cAMP 受体蛋白)负调节荚膜合成,促进生物膜形成,增强菌毛活性而正向调节细菌毒力<sup>[22]</sup>。虽然在调控因子对肺炎克雷伯菌致病性方面已经有一定研究,但仍有许多未知的机制。

全局性调控因子 Fis 是一种生长阶段依赖性、类核相关蛋白,在不同细菌物种中的许多基因的转录调节中发挥作用。在大肠埃希菌中, Fis 是最丰富的蛋白质之一,在有氧生长条件下,在早期指数期细胞中高度表达,但在稳定期细胞中消失。 Fis 是大肠埃希菌和沙门氏菌中 DNA 负超螺旋所必需的<sup>[23]</sup>。在菊欧文氏菌潜伏感染阶段, Fis 抑制纤维素的产生(纤维素是菊欧文氏菌生物膜的主要成分),并激活鞭毛产生促进浮游生活方式和宿主细胞间隙的定植<sup>[9]</sup>。在副溶血弧菌中, Fis 连接群体感应和表面感应来控制细菌的运

动<sup>[23]</sup>。在铜绿假单胞菌中, Fis 通过调节脓毒素合成及 *exsA* 的转录影响细菌对环丙沙星的耐药性及 III 型分泌系统<sup>[24-25]</sup>。在多杀性假单胞菌中, Fis 可调节细菌铁的吸收及毒力<sup>[26]</sup>。本研究发现 *fis* 基因敲除后细菌通过腹腔途径感染时致病力降低, 但不影响细菌生物膜的形成并且促进了荚膜的合成, 说明细菌致病力的降低与调控荚膜及生物膜的合成关系不大。肺炎克雷伯菌在 *fis* 基因缺失后的生长能力及铁离子获取能力有所下降, 这也许是影响细菌致病力的因素。关于 *fis* 基因具体如何调控细菌的致病性及调控机制课题组将会进一步进行研究。

#### 【参考文献】

- [1] Huang X, Li X, An H, et al. Capsule type defines the capability of *Klebsiella pneumoniae* in evading Kupffer cell capture in the liver [J]. PLoS Pathog, 2022, 18(8): e1010693.
- [2] Vuotto C, Longo F, Pascolini C, et al. Biofilm formation and antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* urinary strains [J]. J Appl Microbiol, 2017, 123(4): 1003-18.
- [3] Guerra MES, Destro G, Vieira B, et al. *Klebsiella pneumoniae* biofilms and their role in disease pathogenesis [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 877995.
- [4] Li B, Zhao Y, Liu C, et al. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae* [J]. Fut Microbiol, 2014, 9(9): 1071-1081.
- [5] Zhu J, Wang T, Chen L, et al. Virulence factors in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 642484.
- [6] Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae* [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018, 8: 4.
- [7] Leng M, Lu ZJ, Qin ZS, et al. Flp, a Fis-like protein, contributes to the regulation of type III secretion and virulence processes in the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* [J]. Mol Plant Pathol, 2019, 20(8): 1119-1133.
- [8] Wang H, Liu B, Wang Q, et al. Genome-wide analysis of the salmonella Fis regulon and its regulatory mechanism on pathogenicity islands [J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64688.
- [9] Duprey A, Reverchon S, Nasser W. Bacterial virulence and Fis: adapting regulatory networks to the host environment [J]. Trends Microbiol, 2014, 22(2): 92-99.
- [10] Lautier T, Nasser W. The DNA nucleoid-associated protein Fis co-ordinates the expression of the main virulence genes in the phytopathogenic bacterium *Erwinia chrysanthemi* [J]. Mol Microbiol, 2007, 66(6): 1474-1490.
- [11] 徐丽, 林迪斯, 杨靖, 等. 肺炎克雷伯菌 KbvR 调控因子对细菌生物膜与荚膜形成能力的影响 [J]. 南方医科大学学报, 2016, 36(10): 1435-1439.
- [12] Choi MJ, Ko KS. Loss of hypermucoviscosity and increased fitness cost in colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* sequence type 23 strains [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(11): 6763-6773.
- [13] Wang H, Yan Y, Rong D, et al. Increased biofilm formation ability in *Klebsiella pneumoniae* after short-term exposure to a simulated microgravity environment [J]. Microbiologyopen, 2016, 5(5): 793-801.
- [14] Wang G, Zhao G, Chao X, et al. The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* [J]. Internat J Environment Res Public Health, 2020, 17(17): 6278.
- [15] Yang X, Dong N, Chan EW, et al. Carbapenem resistance-encoding and virulence-encoding conjugative plasmids in *Klebsiella pneumoniae* [J]. Trends Microbiol, 2021, 29(1): 65-83.
- [16] Prigent-Combaret C, Zghidi-Abouzid O, Effantin G, et al. The nucleoid-associated protein Fis directly modulates the synthesis of cellulose, an essential component of pellicle-biofilms in the phytopathogenic bacterium *Dickeya dadantii* [J]. Mol Microbiol, 2012, 86(1): 172-186.
- [17] Yuan L, Li X, Du L, et al. RcsAB and fur coregulate the iron-acquisition system via entC in *Klebsiella pneumoniae* NTUH-K2044 in response to iron availability [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 282.
- [18] Wang L, Huang X, Jin Q, et al. Two-component response regulator ompr regulates mucoviscosity through energy metabolism in *Klebsiella pneumoniae* [J]. Microbiol Spect, 2023, 11(3): e0054423.
- [19] Srinivasan VB, Mondal A, Venkataramaiah M, et al. Role of oxyRKP, a novel LysR-family transcriptional regulator, in antimicrobial resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae* [J]. Microbiology (Reading), 2013, 159(Pt 7): 1301-1314.
- [20] Lin TH, Wu CC, Kuo JT, et al. FNR-dependent *rmpA* and *rmpA2* regulation of capsule polysaccharide biosynthesis in *Klebsiella pneumoniae* [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 2436.
- [21] Wang W, Tian D, Hu D, et al. Different regulatory mechanisms of the capsule in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: "direct" *wcaJ* variation vs. "indirect" *rmpA* regulation [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13: 1108818.
- [22] Ou Q, Fan J, Duan D, et al. Involvement of cAMP receptor protein in biofilm formation, fimbria production, capsular polysaccharide biosynthesis and lethality in mouse of *Klebsiella pneumoniae* serotype K1 causing pyogenic liver abscess [J]. J Med Microbiol, 2017, 66(1): 1-7.
- [23] Tague JG, Regmi A, Gregory GJ, et al. Fis connects two sensory pathways, quorum sensing and surface sensing, to control motility in vibrio parahaemolyticus [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 669447.
- [24] Long Y, Fu W, Wang S, et al. Fis Contributes to resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin by regulating pyocin synthesis [J]. J Bacteriol, 2020, 202(11): 302-309.
- [25] Deng X, Li M, Pan X, et al. Fis regulates type III secretion system by influencing the transcription of *exsA* in *Pseudomonas aeruginosa* strain PA14 [J]. Front Microbiol, 2017, 8: 669.
- [26] Steen JA, Steen JA, Harrison P, et al. Fis is essential for capsule production in *Pasteurella multocida* and regulates expression of other important virulence factors [J]. PLoS Pathog, 2010, 6(2): e1000750.

【收稿日期】 2023-11-27 【修回日期】 2024-02-08