DOI:10.16016/j.2097-0927.202406080

H-NS 蛋白对泰国伯克霍尔德菌毒力作用的初探

卫蕾蕾,莫 非,王春燕,鲁卫平 400042 重庆,陆军特色医学中心检验科

［**摘要**］ **目的** 构建泰国伯克霍尔德菌 BPM 的 *hns* 基因过表达菌株,探究 *hns* 基因过表达对细菌生长、运动、生物被膜形成能力和抗菌药物敏感性的影响。**方法** 将 *hns* 基因 *03253* 和 *05307* 分别克隆至表达载体 pTAC-Cm 上,获得重组载体 pTAC-*03253* 和 pTAC-*05307*;将两种质粒分别电转至 BPM 感受态菌株中获得重组菌株,对其生长、运动、生物被膜和药物敏感性的表型变化进行检测。**结果** 成功获得 *hns* 基因过表达菌株;和野生株 BPM 相比,*hns* 基因过表达菌株的生长和运动能力受到明显抑制,生物被膜形成能力显著增强,对左氧氟沙星和米诺环素的敏感性下降。**结论** H-NS 蛋白在泰国伯克霍尔德菌 BPM 毒力和耐药性的调控中发挥重要作用,可成为泰国伯克霍尔德菌感染诊治的新靶点。

［**关键词**］ 泰国伯克霍尔德菌;H-NS 蛋白;基因过表达;生物被膜;药敏试验
［**中图法分类号**］ R378.99; R446.5; R915 ［**文献标志码**］ A

Effect of H-NS protein on the virulence of *Burkholderia thailandensis*

WEI Leilei, MO Fei, WANG Chunyan, LU Weiping Department of Laboratory Medicine, Army Medical Center of PLA, Chongqing, 400042, China

［**Abstract**］ **Objective** To construct *hns* gene overexpression strains of *Burkholderia thailandensis* BPM, and explore the effects of *hns* overexpression on bacterial growth, motility, biofilm formation ability and susceptibility to antimicrobial drugs. **Methods** The *hns* genes *03253* and *05307* were respectively cloned into the expression vector pTAC-Cm to yield recombinant vectors pTAC-*03253* and pTAC-*05307*. Then the 2 types of plasmids were electroporated into the BPM competent strain to obtain recombinant strains, and their phenotypic changes in growth, motility, biofilm, and drug sensitivity were detected. **Results** The strains of *hns* overexpression were successful constructed, and they presented significantly inhibited growth and motility, markedly enhanced ability to form biofilms, decreased sensitivity to levofloxacin and minocycline when compared with the wild-type BPM strain. **Conclusion** H-NS protein plays an important role in the regulation of virulence and drug resistance in *Burkholderia thailandensis* BPM, and can become a new target for the treatment of infections caused by *Burkholderia thailandensis*.

［**Key words**］ *Burkholderia thailandensis*; H-NS protein; gene overexpression; biofilm; drug susceptibility test

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82072348). Corresponding author: LU Weiping, E-mail: luwp@tmmu.edu.cn

泰国伯克霍尔德菌(*Burkholderia thailandensis*, *B. thailandensis*)是一种条件致病的非发酵革兰阴性杆菌[1-3],主要分布在东南亚和澳大利亚北部等类鼻疽流行地区的土壤、水体和稻田中,虽然传统上认为 *B. thailandensis* 对人类和动物无害,但近年来,有关其通过呼吸道、消化道和破损的皮肤等途径感染人类致

［**基金项目**］ 国家自然科学基金面上项目(82072348)
［**通信作者**］ 鲁卫平, E-mail:luwp@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

病的案例逐渐增多[4]。本课题组前期从一肺脓肿合并脓毒血症死亡患者的痰液和血液标本中分离到了一株 *B. thailandensis*,将其命名为 BPM,与泰国伯克霍尔德菌标准株 ATCC700388(*B. thailandensis* E264)相比,BPM 具有更高的毒性和致病性;比较基因组学分析揭示了 BPM 中包含 18 个特有的致病基因,这些基因主要与脂多糖(LPS)、III 型分泌系统和蛋白酶等相关[5],而这些致病因子的差异表达决定了 BPM 的毒力和致病性(BPM 基因组及转录组信息已提交至 GenBank ,GenBank ID:CP050020.1,CP050021.1;GenBank Accession:PRJNA614017)。然而,由于 *B. thailandensis* 与类鼻疽伯克霍尔德菌在生物学特性、生化特征等方面非常接近,且目前临床实验室检测技术存在局限性和菌库信息不完整,导致 *B. thailandensis* 引起的感染常被误诊为类鼻疽[6]。因此,*B. thailandensis* 是一种被忽视的人类条件致病菌,其致病性及相关调控机制的研究尚待深入探索。

组蛋白类核结构蛋白(histone-like nucleoid structuring,H-NS)是多种革兰阴性菌中高度保守的一类全局性负调控因子,其主要功能是调节细菌的基因转录、沉默水平转移和获得的外源性基因等[7]。H-NS 蛋白可以通过调控细菌生长、生物被膜形成、运动能力、多糖的生物合成以及抗菌药物耐药性和分泌系统的活性等,影响病原菌的毒力和致病性[8-11]。例如,在希瓦氏菌中,H-NS 蛋白的乙酰化会降低氮代谢关键调控因子 *glnA* 的表达,进而降低细胞内谷氨酰胺含量,抑制细菌生物被膜形成[12];多食伯克霍尔德菌的 H-NS 蛋白表达上调会影响细菌的动力、菌毛合成、VI 型分泌和染色体相关功能基因表达差异[13];在鲍曼不动杆菌中,H-NS 参与调节抗生素耐药性、生物被膜形成和群体感应相关基因表达[14]。我们前期研究发现,与标准株 ATCC700388 相比,BPM 中多个 H-NS 基因的表达水平有显著性差异,尤其是 BPMhun*03253* 基因(*hns*-3)和 BPMhun*05307* 基因(*hns*-7)的表达显著下调,其编码的 H-NS3 蛋白和 H-NS7 蛋白的氨基酸序列结构分析显示其为 DNA 结合蛋白。

本研究构建了泰国伯克霍尔德菌 BPM 的 H-NS 相关基因 *03253* 和 *05307* 的过表达菌株,通过评估其对细菌生长、生物被膜、运动能力和药物敏感性的影响,初步揭示了 H-NS 蛋白在泰国伯克霍尔德菌 BPM 致病性和毒性中的作用。这一研究为深入理解 H-NS 蛋白在细菌致病性调控中的功能提供了新的见解,并为临床诊治提供了潜在的新策略。

1 材料方法

1.1 菌株及重组载体

泰国伯克霍尔德菌 BPM(GenBank ID:CP050020.1,CP050021.1)由本课题组前期分离和鉴定;大肠杆菌 DH5α 感受态购买自上海生工有限公司;质粒 pTAC 购买自丰海生物科技有限公司,该质粒携带氯霉素(Cm)抗性基因,Tac 启动子,是广宿主革兰阴性菌表达质粒。

1.2 主要仪器和试剂

基因组提取试剂盒、通用型 DNA 回收试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司;Eastep Super 总 RNA 提取试剂盒,普洛麦格(北京)生物技术有限公司;Ex Premier DNA Polymerase,质粒小提试剂盒、PrimeScript FAST RT reagent Kit with gDNA Eraser,TaKaRa;2× Universal SYBR Green Fast qPCR Mix,ABclonal;Gene Master Pro Kit,重庆葆光生物技术有限公司;PCR 引物合成及测序由北京擎科生物科技股份有限公司完成;多功能酶标仪,超微量分光光度计 Nanodrop,Thermo Fisher Scientific;凝胶成像仪,电转仪,Bio-Rad;PCR 扩增仪,Gene Company Limited。

1.3 引物

根据 *03253*(Gene ID:45122871)和 *05307*(Gene ID:66548977)基因序列和 pTAC-Cm 质粒图谱,利用 SnapGene 4.2.4 软件设计用于无缝克隆的引物,其中引物 pTAC-*03253*-F/pTAC-*03253*-R 用于扩增和验证 *03253* 基因片段,pTAC-*05307*-F/pTAC-*05307*-R 用于扩增和验证 *05307* 基因片段,16s-F/16s-R 为 *B. thailandensis* 内参引物。引物序列见表 1 。

1.4 过表达菌株构建

通过 pTAC-*03253*-F/pTAC-*03253*-R 和 pTAC-*05307*-F/pTAC-*05307*-R 引物分别扩增 BPM 菌株的 *03253* 和 *05307* 基因片段,利用 pTAC-V-F/pTAC-V-R 将 pTAC-Cm 载体反向 PCR 得到线性化的质粒,将两个 *hns* 基因片段分别连接至线性化的 pTAC-Cm 载体上,并将连接产物转化至大肠杆菌 DH5α 感受态细胞中,涂布在含有 34 μg/mL 的氯霉素平板上进行筛选,用 pTAC-*03253*-F/pTAC-*03253*-R 和 pTAC-*05307*-F/pTAC-*05307*-R 引物分别对挑选出的单克隆进行 PCR 验证,将验证正确的单克隆转移至含有氯霉素的液体培养基中进行扩培,提取质粒并测序鉴定。

用 0.3 mol/L 的蔗糖制备 BPM 感受态细胞,将测序正确的质粒电转入 BPM 感受态细胞中,并将菌液涂至含有 34 μg/mL 的氯霉素平板上,37 ℃培养。

表 1 本研究所用引物

引物名称	引物序列(5′→3′)	退火温度/℃	扩增产物长度/bp
pTAC-V-F	GGTATATCTCCTTCTTAAAGTTAAAC	55	4 979
pTAC-V-R	TCGAGATCGATACCGCATA		
pTAC-*05307*-F	AGAAGGAGATATACCATGAACAGTTATCAAGAATACAAACAG	65	324
pTAC-*05307*-R	TGCGGTATCGATCTCTCACCCGCAATGGTCG		
pTAC-*03253*-F	GTATGCGGTATCGATCTCTCAGCCGATCAAAAAGCGAT	65	340
pTAC-*03253*-R	TTTAACTTTAAGAAGGAGATATACCATGTCTCAATACGCGAAAATCA		
16s-F	GTTGCGAACGGGTGAGTAA	60	
16s-R	TCTCAGGTCGGCTATGTATCG		
qpcr-*03253*-F	CGAAAATCAAGGCGCAGA		203
qpcr-*03253*-R	TTTCGGATCGCGGTACTT		
qpcr-*05307*-F	TGCTCCAGGAGATTCGCG		194
qpcr-*05307*-R	GTTGCCCCGATTGCTCGA		
qpcr-*fliF*-F	TCGACGCGAGCCAGCT		192
qpcr- *fliF* -R	GAATCGCGCTTTGCTGC		
qpcr- *flgK*-F	TGTCGAGGTTCGCGGG		169
qpcr-*flgK*-R	ATCGTCTGACTGCCGAAC		
qpcr-*flgE*-F	ACGGGCCAGTTCAACCTC		204
qpcr-*flgE*-R	GGTCGGCGTCTGGTTCTT		
qpcr-*flgL*-F	ACGTCGACGAAGCTGATG		191
qpcr-*flgL*-R	TTCTGCAGTTGCAGGAACTG		
qpcr-*motA*-F	CCTGATCCAGCATCCCTTC		197
qpcr-*motA*-R	GTTGCTCGAGACGGTGC		
qpcr-*motB*-F	CATGACCGCGATGATGGC		188
qpcr-*motB*-R	CGTCGACGCTCGAGATGT		

1.5 生长曲线测定

分别挑取 BPM、BPM/*p-03253* 和 BPM/*p-05307* 单克隆细菌于 LB 液体培养基中过夜培养,利用酶标仪分别测定 3 种细菌在 600 nm 处的吸光度,将 3 种细菌的吸光度稀释为一致后,以 1∶100 转接于装有 200 μL 新鲜培养基的 96 孔板中,放于多功能酶标仪中,设置温度为 37 ℃,每隔 30 min 测定 600 nm 处的吸光度,持续检测 48 h,以培养时间为横坐标,OD_{600} 值为纵坐标绘制生长曲线。

1.6 生物被膜检测

分别挑取 BPM、BPM/*p-03253* 和 BPM/*p-05307* 单克隆细菌于 LB 液体培养基中过夜培养,利用酶标仪测定 3 种细菌的在 600 nm 处的吸光度,用 LB 培养液将菌液稀释至 $OD_{600}=0.1$,并分别吸取 200 μL 菌液至 96 孔板中,于 37 ℃静置培养 36 h。

生物被膜检测:弃掉上清液,各孔中加入 200 μL 1×PBS 洗涤 3 次,晾干后对孔板进行拍照,随后加入 220 μL 1% 结晶紫染色 30 min,吸去染液,加入 220 μL 1×PBS 洗涤 3 次,晾干后用 220 μL 95% 乙醇洗脱 30 min,测定 570 nm 处的吸光度。

1.7 细菌运动能力检测

采用半固体琼脂穿刺法观察细菌动力:在试管中加入 4 mL 含 0.4% 琼脂的 LB 培养液,制成半固体培养基,用接种针挑取细菌单克隆,垂直穿刺接种于半固体培养基中,37 ℃培养 24 h,观察细菌扩散生长状态并测量其扩散区直径。

1.8 细菌药敏试验

按“CLSI M100-Ed33 抗微生物药物敏感性试验执行标准”,采用纸片法检测菌株抗菌药物敏感性,测试药物包括临床常用的 β-内酰胺酶类、头孢类、碳青霉烯类、氨基糖苷类、喹诺酮类、四环素类和磺胺类等共 17 种。用生理盐水将待测菌配制 0.5 麦氏单位的菌悬液,用无菌棉签蘸取菌液均匀涂布在 Mueller-hintot(MH)琼脂平板上,放置 15 min 后贴上药敏纸片,37 ℃培养 24 h 后,测量抑菌圈直径。

1.9 逆转录实时定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, real-time-qPCR)

分别挑取 BPM、BPM/*p-03253* 和 BPM/*p-05307* 单克隆细菌于 LB 液体培养基中过夜培养。以 1∶100 转

接于 5 mL 新鲜 LB 中,继续培养至 OD_{600} = 0.6,取 1 mL 各细菌分别装于无菌无酶的 1.5 mL EP 管中,10 000×*g*,离心 1 min,弃上清,通过 RNA 提取试剂盒提取细菌总 RNA,再利用反转录试剂盒进行反转录,随后进行 real-time-qPCR 检测目的基因表达情况。

1.10　统计分析

采用 GraphPad Prism 8.0.2 统计软件的 *t* 检验和 One-way ANOVA 检验对 real-time-qPCR、生物被膜、运动能力和药敏试验结果进行分析,采用 SPSS 28.0 统计软件的重复测量方差法对生长曲线结果进行分析,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　*hns* 基因在 BPM 中的表达情况

结果如图 1 所示,和标准株 ATCC700388(E264)相比,在 BPM 中 *03253* 和 *05307* 基因的相对表达量分别为(0.21±0.01)($P<0.000\ 1$)和(0.24±0.02)($P<0.000\ 1$),均显著下调,与转录组结果一致。

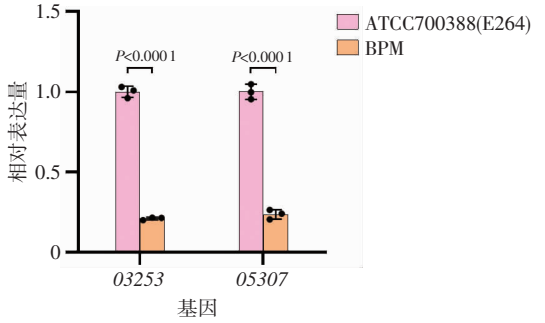


图 1　RT-qPCR 检测 *hns* 基因在 E264 和 BPM 菌株中的表达情况($n=3$)

2.2　*hns* 过表达菌株构建

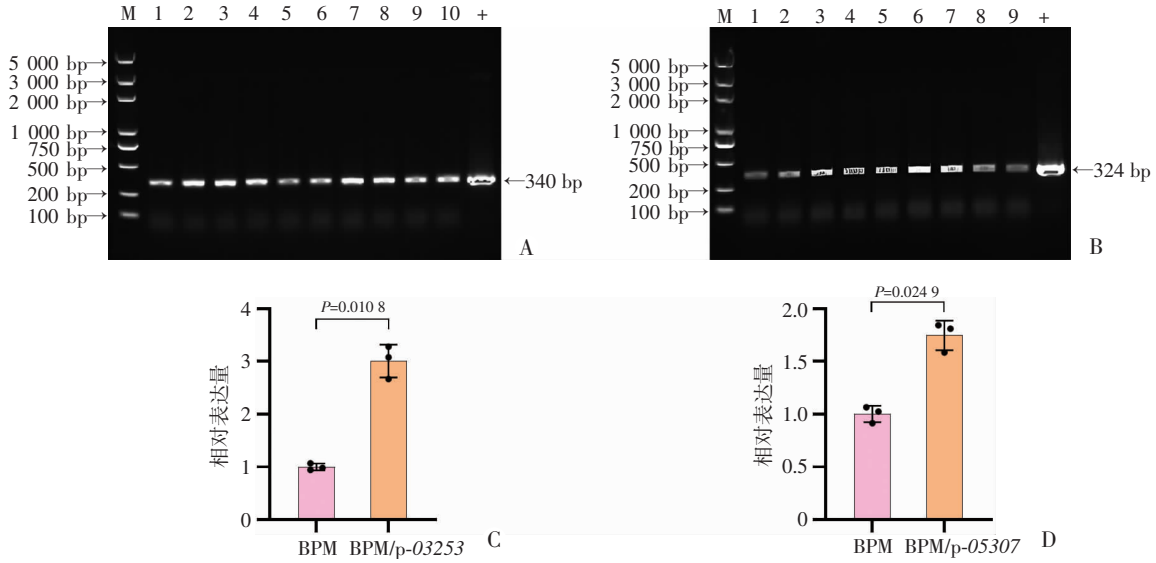
结果如图 2A、B 所示,成功构建了 BPM/pTAC-*03253* 和 BPM/pTAC-*05307* 重组细菌,重组克隆 DNA 片段的 PCR 扩增结果均为阳性,条带清晰透亮,片段大小与阳性对照一致,无非特异性扩增条带。RT-qPCR 验证结果如图 2C 所示,和野生株 BPM 相比,在 BPM/pTAC-*03253* 和 BPM/pTAC-*05307* 中,*03253* 和 *05307* 的表达量分别为(3.16±0.27)($P=0.0108$)和(1.75±0.11)($P=0.0249$),H-NS 的表达量显著提高,这表明成功构建了 H-NS 高表达菌株。

2.3　*hns* 基因过表达株的生长情况

野生株 BPM 和 *hns* 过表达株的生长曲线如图 3 所示,和 BPM 相比,*hns* 过表达株 BPM/*p-03253*($P<0.000\ 1$)和 BPM/*p-05307*($P<0.000\ 1$)的 OD_{600} 值在 16 h 后逐渐低于野生株 BPM,在 36 h 后到达平台期,表明 *hns* 基因的过表达抑制了泰国伯克霍尔德菌 BPM 的生长。

2.4　H-NS 过表达株的生物膜形成能力的变化

如图 4A 所示,与野生株 BPM 相比,*hns* 过表达菌株生物被膜在形态上明显增宽、增厚。进一步定量分析结果如图 4B 所示,BPM、BPM/*p*-03253 和 BPM/*p-05307* 的 OD_{570} 值分别是(0.92±0.10)、(2.06±0.17)($P=0.0004$)和 1.88±0.14($P=0.001$),*hns* 过表达菌株的生物被膜形成能力均显著增强。这表明 *hns* 基因的过表达可能通过调节相关基因的表达或代谢途径,促进了生物被膜的形成和发育。



A、B: *03253*、*05307* 基因过表达菌株 PCR 验证　M:Marker;1~10:以菌液为模板扩增片段;+:以 BPM 基因组为模板扩增片段;C、D: RT-qPCR 分别验证 BPM/*p-03253* 和 BPM/*p-05307* 菌株中 *03253* 基因和 *05307* 基因的表达情况($n=3$)

图 2　*hns* 基因过表达菌株的鉴定

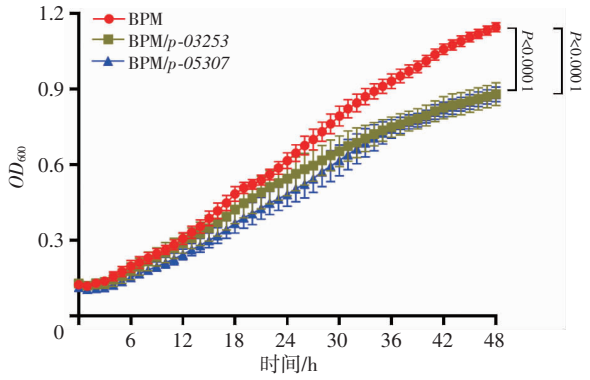
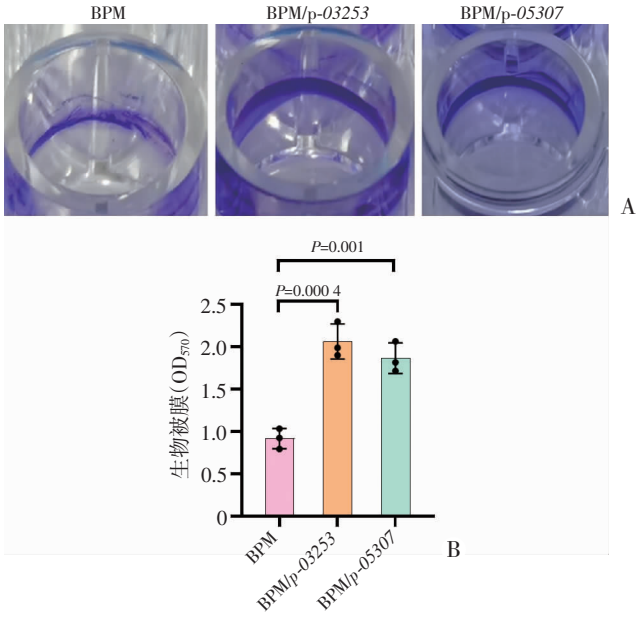


图 3 *hns* 基因过表达泰国伯克霍尔德菌的生长曲线($n=3$)



A:*hns* 基因过表达泰国伯克霍尔德菌的生物被膜形成情况;B:*hns* 基因过表达泰国伯克霍尔德菌的生物被膜定量结果;$n=3$

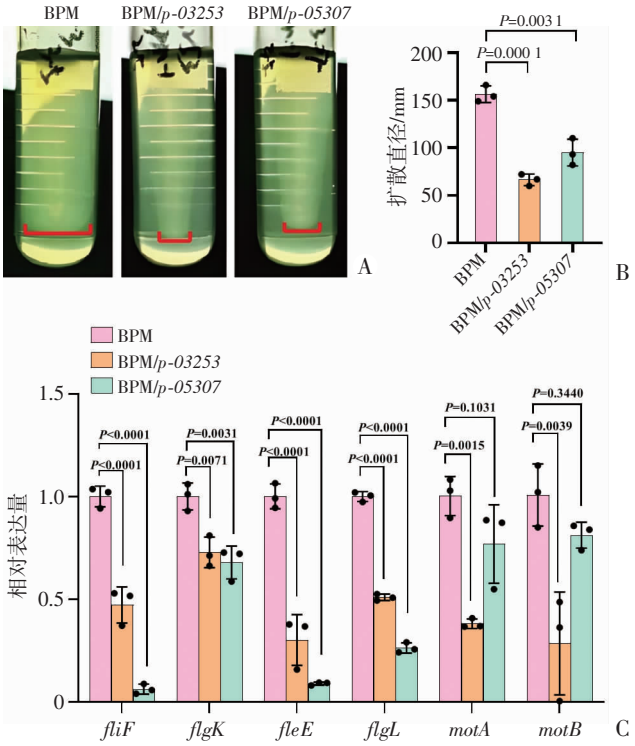
图 4 H-NS 过表达对泰国伯克霍尔德菌生物被膜的影响

2.5 H-NS 过表达株运动能力的变化

如图 5A、B 所示,*03253* 和 *05307* 基因过表达时,细菌生长扩散区直径明显小于野生株 BPM($P<0.05$)。real-time-qPCR 进一步验证显示和 BPM 相比,当 *03253* 或 *05307* 基因过表达时,细菌动力相关基因 *fliF*、*flgK*、*flgE* 和 *flgL* 的表达均显著下调,而在 BPM/*p-03253* 中 *motA*、*motB* 的表达也下调。这一观察结果表明,当 *hns* 基因过表达时,细菌的运动能力被抑制。

2.6 体外抗菌药物敏感性试验结果

相对于野生型 BPM,17 种抗菌药物中,*hns* 基因高表达菌株的米诺环素(MH)和左氧氟沙星(LEV)抑菌圈明显缩小,如图 6 和表 2 所示。这一结果表明泰国伯克霍尔德菌的 H-NS 蛋白与抗菌药物敏感性之间存在相关性。



A:H-NS 过表达菌株在半固体培养基中的扩散情况(红色线段长度代表扩散直径);B:H-NS 过表达菌株在半固体培养基中的扩散直径;C:RT-qPCR 检测 BPM、BPM/*p-03253* 和 BPM/*p-05307* 中细菌动力相关基因的表达情况;$n=3$

图 5 H-NS 过表达对泰国伯克霍尔德菌运动能力的影响

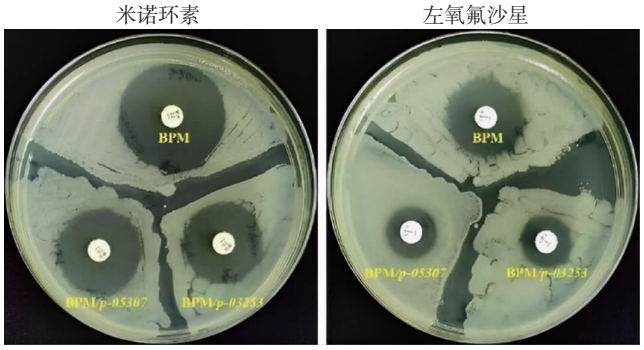


图 6 H-NS 过表达泰国伯克霍尔德菌的药敏试验结果($n=3$)

表 2 米诺环素和左氧氟沙星抑菌圈直径大小($\bar{x}\pm s$,mm)

菌株	米诺环素	左氧氟沙星
BPM	30.33±0.47	23.00±2.16
BPM/*p-03253*	20.67±0.94	16.67±2.49
BPM/*p-05307*	24.00±2.83	16.00±1.63

3 讨论

组蛋白类核结构蛋白(H-NS 蛋白)是一类在革兰

阴性细菌中广泛存在的保守蛋白,其主要功能是作为转录抑制子全局性调控基因转录,如 H-NS 蛋白通过与 DNA 结合形成抑制环以捕获 RNA 聚合酶,从而抑制基因转录过程[15],这种调控作用对细菌的生理过程具有深远影响。细菌在进化历程中,能够通过水平基因转移获得毒力基因和耐药基因,但新基因的异常表达可能会与细菌的适应性发生冲突,导致新基因与细菌的组合被淘汰,而 H-NS 蛋白及其相关蛋白通过提供转录沉默机制,帮助细菌避免这种局面[16-18]。此外,H-NS 蛋白还能通过调节生物被膜和鞭毛形成的关键基因表达来调控细菌生物学性状,例如,在副溶血性弧菌中,*hns* 基因的缺失导致细菌无法合成胞外多糖和极性鞭毛,抑制了生物被膜形成[19];在大肠杆菌中,*hns* 突变会降低鞭毛素含量,影响了细菌的运动能力[20],使细菌更容易附着在生物或非生物表面。H-NS 蛋白还参与调控与细菌生长相关的基因,例如通过抑制胞外多糖合成基因 *icaA* 的表达,参与调节细菌的生长速度和细胞周期[21]。作为全局转录因子,H-NS 蛋白不仅参与基因组的组装,还在调控细菌适应渗透性、pH 等环境变化的应激反应基因中发挥关键作用,以帮助细菌在多变复杂的环境中适应并生存[21]。此外,H-NS 蛋白还参与了细菌的耐酸机制改造,研究表明,通过过表达 *hns* 基因,大肠杆菌能够在面临中等酸胁迫的条件下,增强其细胞的耐受能力,提高细胞密度[22]。因此,H-NS 蛋白不仅对细菌自身的生存和适应性至关重要,也在细菌的生理机制、进化过程以及与宿主的相互作用发挥关键作用。

为研究 H-NS 蛋白对泰国伯克霍尔德菌 BPM 致病性的影响,我们构建了 H-NS 相关的 *03253* 和 *05307* 基因过表达菌株 BPM/*p-03253* 和 BPM/*p-05307*,并检测了 H-NS 蛋白过表达对细菌生长、生物被膜形成、运动能力和药敏的影响。结果发现在泰国伯克霍尔德菌 BPM 中过表达 *hns* 基因,能够抑制细菌的生长,同时增强细菌生物被膜形成能力,抑制细菌的运动,而生物被膜、细菌运动能力和细胞内第二信使 c-di-GMP 高度相关,c-di-GMP 的积累可以促进细菌生物被膜形成,c-di-GMP 的分解和以及降低有利于细胞的运动行为,这提示我们 H-NS 蛋白可能也参与调控了细胞内 c-di-GMP 表达。药敏结果显示,*hns* 基因高表达,会更耐受左氧氟沙星和米诺环素,这表明 *hns* 基因的高表达可能通过调节抗生素外排泵的表达、改变细胞壁的通透性或影响其他相关代谢途径,从而降低了菌株对米诺环素和左氧氟沙星的敏感性,这为开发新的抗生素抗性策略提供了潜在的分子靶点。

综上所述,H-NS 蛋白在泰国伯克霍尔德菌 BPM 的毒力和致病性中发挥着重要的调控作用,这些发现不仅有助于进一步探究泰国伯克霍尔德菌 BPM 的致病机制,也对深入理解 H-NS 蛋白的作用机制、开发新的抗菌策略以及临床诊断和治疗提供了参考。

参考文献:

[1] KASETTHAT T, SERMSWAN R W, REN Y, *et al*. Decrease of spleen invariant natural killer T and natural killer cell numbers in *Burkholderia thailandensis*-infected C57BL/6 mice[J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2022, 40(2): 155-161. DOI: 10.12932/AP-070519-0556.

[2] 南栋琪, 文远, 陈建高, 等. 类鼻疽菌Ⅲ型分泌系统 BipD 蛋白的重组表达及其免疫学特性研究[J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(15): 1713-1720. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202311041.
NAN D Q, WEN Y, CHEN J G, *et al*. Recombinant expression and immunological characterization of Burkholderia pseudomallei type Ⅲ secretion system protein BipD[J]. Journal of Army Medical University, 2024, 46(15): 1713-1720. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202311041.

[3] 李进,黎敏,鲁卫平. 泰国伯克霍尔德菌感染 RAW264.7 细胞模型的建立及感染机制的初步探讨[J]. 陆军军医大学学报,2023,45(14):1520-1525. DOI:10.16016/j.2097-0927.202212159.
LI J, LI M, LU W P. Establishment of a Burkholderia thailandensis invaded RAW264.7 cell model and underlying mechanism of infection[J]. J Army Med Univ, 2023, 45(14): 1520-1525. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202212159.

[4] GEE J E, ELROD M G, GULVIK C A, *et al*. *Burkholderia thailandensis* isolated from infected wound, Arkansas, USA[J]. Emerg Infect Dis, 2018, 24(11): 2091-2094. DOI: 10.3201/eid2411.180821.

[5] LI J, ZHONG Q, LI J, *et al*. Genomic features and virulence characteristics of a rare *Burkholderia thailandensis* strain causing human infection[J]. J Med Microbiol, 2023, 72(5):1688-1688. DOI: 10.1099/jmm.0.001688.

[6] 郑霄, 陈海, 朱雄, 等. 海南省类鼻疽流行区分离出泰国伯克霍尔德菌[J]. 中华流行病学杂志, 2015, 36(1): 97-98. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.01.023.
ZHENG X, CHEN H, ZHU X, *et al*. Discovery of *Burkholderia thailandensis* isolates from melioidosis endemic areas of Hainan, China[J]. Chin J Epidemiol, 2015, 36(1): 97-98. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.01.023.

[7] GROISMAN E A, CHOI J. Advancing evolution: Bacteria break down gene silencer to express horizontally acquired genes[J]. Bioessays, 2023, 45(10): e2300062. DOI: 10.1002/bies.202300062.

[8] ALI S S, XIA B, LIU J, *et al*. Silencing of foreign DNA in bacteria[J]. Curr Opin Microbiol, 2012, 15(2): 175-181. DOI: 10.1016/j.mib.2011.12.014.

[9] NAVARRE W W. The impact of gene silencing on horizontal gene transfer and bacterial evolution[J]. Adv Microb Physiol, 2016, 69: 157-186. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2016.07.004.

[10] SALOMON D, KLIMKO J A, ORTH K. H-NS regulates the *Vibrio parahaemolyticus* type VI secretion system 1[J]. Microbiology, 2014, 160(Pt 9): 1867-1873. DOI: 10.1099/mic.0.080028-0.

[11] AYALA J C, SILVA A J, BENITEZ J A. H-NS: an overarching regulator of the *Vibrio cholerae* life cycle[J]. Res Microbiol, 2017, 168(1): 16-25. DOI: 10.1016/j.resmic.2016.07.007.

[12] LIU X X, LI J, ZHANG Z X, *et al*. Acetylation of xenogeneic silencer H-NS regulates biofilm development through the nitrogen homeostasis regulator in *Shewanella*[J]. Nucleic Acids Res, 2024, 52(6): 2886-2903. DOI: 10.1093/nar/gkad1219.

[13] GOMES S C, FERREIRA M R, TAVARES A F, *et al*. A histone-like nucleoid structuring protein regulates several virulence traits in *Burkholderia multivorans*[J]. Appl Environ Microbiol, 2021, 87(14): e0036921. DOI: 10.1128/AEM.00369-21.

[14] RODGERS D, LE C, PIMENTEL C, *et al*. Histone-like nucleoid-structuring protein (H-NS) regulatory role in antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 18414. DOI: 10.1038/s41598-021-98101-w.

[15] CASTANG S, MCMANUS H R, TURNER K H, *et al*. H-NS family members function coordinately in an opportunistic pathogen[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(48): 18947-18952. DOI: 10.1073/pnas.0808215105.

[16] CHOI J, GROISMAN E A. *Salmonella* expresses foreign genes during infection by degrading their silencer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(14): 8074-8082. DOI: 10.1073/pnas.1912808117.

[17] LIU X X, LIN S T, LIU T L, *et al*. Xenogeneic silencing relies on temperature-dependent phosphorylation of the host H-NS protein in *Shewanella*[J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(6): 3427-3440. DOI: 10.1093/nar/gkab137.

[18] FANG F C, RIMSKY S. New insights into transcriptional regulation by H-NS[J]. Curr Opin Microbiol, 2008, 11(2): 113-120. DOI: 10.1016/j.mib.2008.02.011.

[19] XUE X F, ZHNAG M M, SUN J F, *et al*. H-NS Represses Biofilm Formation and c-di-GMP Synthesis in *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Biomed Environ Sci, 2022, 35(9): 821-829. DOI: 10.3967/bes2022.106.

[20] LANDINI P, ZEHNDER A J. The global regulatory *hns* gene negatively affects adhesion to solid surfaces by anaerobically grown *Escherichia coli* by modulating expression of flagellar genes and lipopolysaccharide production[J]. J Bacteriol, 2002, 184(6): 1522-1529. DOI: 10.1128/JB.184.6.1522-1529.2002.

[21] 冯伟, 夏培元, 孙艺璇, 等. *hns* 基因对大肠埃希菌生物膜形成能力的影响[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(2): 107-111. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201506016.
FENG W, XIA P Y, SUN Y X, *et al*. Effect of *hns* gene on biofilm formation of *Escherichia coli*[J]. J Third Mil Med Univ, 2016, 38(2): 107-111. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201506016.

[22] 郝雪雁, 刘梦晓, 韩紫依, 等. 大肠杆菌的耐酸机制及其改造研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(10): 4667-4680. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.230136.
HAO X Y, LIU M X, HAN Z Y, *et al*. Advances in acid-resistant mechanisms and modifications of *Escherichia coli*[J]. Microbiol China, 2023, 50(10): 4667-4680. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.230136.

(**收稿**:2024-06-25;**修回**:2024-10-25)

(编辑 邓强庭)