

凡纳滨对虾源不动杆菌群体感应信号分子分离鉴定及其调控

孙秀娇 朱素芹 张彩丽 曾名湧*

(中国海洋大学 食品科学与工程学院 山东 青岛 266003)

摘要:【目的】鉴定凡纳滨对虾源不动杆菌(*Acinetobacter* spp. M1)分泌的 N-酰基高丝氨酸内酯(AHLs)类型,探究细菌生长阶段及环境因素对其分泌信号分子的影响。【方法】报告菌株平板法检测 M1 的 AHLs 的活性;采用报告平板与薄层层析(TLC)相结合法对 M1 分泌的 AHLs 类型进行鉴定。【结果】菌株 M1 分泌 N-3-氧代-己酰基-高丝氨酸内酯和 N-3-氧代-辛酰基-高丝氨酸内酯两种信号分子。在适宜条件下 AHLs 活性随着培养时间的延长先升高后降低,在对数末期(30 h)达到最大。弱酸和弱碱环境能够降低 M1 分泌 AHLs 的能力,pH 7.0 是 M1 分泌 AHLs 的最适 pH。较高浓度的 NaCl 促进了个体 M1 分泌 AHLs 的能力,但是 NaCl 浓度对 M1 总体分泌 AHLs 没有显著的影响。菌株 M1 分泌 AHLs 的最佳温度为 30 °C,温度过高或过低都会影响其分泌。【结论】菌株 M1 主要产生 N-3-氧代-己酰基-高丝氨酸内酯和 N-3-氧代-辛酰基-高丝氨酸内酯两种类型信号分子。M1 的 QS 系统受菌体密度和环境因素的双重调控。

关键词: 不动杆菌, 群体感应, N-酰基高丝氨酸内酯

Isolation, identification and regulation of quorum sensing signal molecules of *Acinetobacter* in *Litopenaeus vannamei*

SUN Xiu-Jiao ZHU Su-Qin ZHANG Cai-Li ZENG Ming-Yong*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266003, China)

Abstract: [Objective] We detected and analyzed N-acyl-homoserine lactones (AHLs) of *Acinetobacter* spp. (M1) that was isolated from spoilage *Litopenaeus vannamei*. We also investigated the effects of bacteria growth stages and environmental factors on activities of signaling molecules. [Methods] The reporter strains (*Chromobacterium violaceum* CV026 and *Agrobacterium tumefaciens* A136) and TLC (Thin-Layer Chromatography) method were used to detect and analyze AHLs activities of M1. [Results] AHLs secreted by M1 were N-3-oxo-C₆-HSL and N-3-x-oxo-C₈-HSL. The activities of AHLs increased first and then decreased with the prolongation of the culture time under appropriate culture conditions, and reached the maximum in late logarithmic stage. The ability of M1 producing AHLs was reduced by weak acid and alkalescent environment, the optimum pH of M1 secreting AHLs was pH 7.0. The concentration of NaCl had no significant effect on the whole ability of M1 secreting AHLs, while high concentration promoted the ability of individual to product AHLs. The optimal temperature

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31071613); 十二五国家科技支撑计划项目(No. 2012BAD28B05)

*通讯作者: Tel: 86-532-66782783; 邮箱: mingyz@ouc.edu.cn

收稿日期: 2014-06-18; 接受日期: 2014-07-29; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-07-30

for strain M1 to produce AHLs was 30 °C, and the relative higher or lower temperature inhibited the AHLs secretion. **[Conclusion]** The AHLs of strain M1 were N-3-oxo-C₆-HSL and N-3-oxo-C₈-HSL. Quorum sensing systems of M1 was regulated by both cell density and environmental factors.

Keywords: *Acinetobacter* spp., Quorum sensing, N-Acyl-homoserine lactones

群体感应(Quorum sensing, QS)^[1]是细菌利用信号分子进行信息交流的一种方式。当细菌感受到自身或周围菌体密度变化或当环境条件发生改变时,细菌分泌一种被称为自体诱导物(Autoinducers, AIs)的信号分子到胞外。当信号分子达到一定阈值后,被特定受体识别,启动细菌目的基因的表达,进而调控细菌的群体行为^[2]。目前的研究表明,革兰氏阴性菌主要以不同长度酰基侧链的高丝氨酸内酯(N-Acyl homoserine lactone, AHLs)作为信号分子^[3]。革兰氏阳性菌则采用被修饰过的寡肽类(Autoinducing peptides, AIPs)为信号分子,由组氨酸激酶和应答调节蛋白构成的双组分传导系统^[4]调控目的基因的表达^[5]。除此之外,呋喃酰硼酸二酯类化合物(AI-2)是一种广泛存在于革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌中的信号分子,也有研究证明该物质为细菌代谢中三甲基循环中的副产物,目前对该种QS系统存有争议。QS作为细菌信息交流的一种方式,在调节细菌群体行为和生理功能方面发挥重要作用^[6]。QS调控着细菌的生物发光^[7]、生物膜的形成、Ti质粒的转化^[8]、抗生素及色素的产生、毒力因子合成等性状^[9]。

不动杆菌(*Acinetobacter* spp.)是一种不发酵、不

能运动、氧化酶阴性的革兰氏阴性条件致病杆菌。不动杆菌广泛分布于在潮湿环境如水体和土壤中,能在人体皮肤表面存在。它可引起肺炎、皮肤和伤口感染、尿路感染,菌血症、脑膜炎和腹膜炎等疾病。不动杆菌在人群中感染率很高,仅次于金黄色葡萄球菌^[10],有个别报道称不动杆菌的感染或已超过了铜绿假单胞菌^[11]。目前已经有研究表明^[12],不动杆菌生物膜的形成等致病性因素受群体感应调控,但是通过调控QS进而调控其致病性的研究并不多。所以研究不动杆菌QS系统及环境因素对其QS的调控对预防和控制由不动杆菌感染引起的相关疾病具有重要意义。

本实验以腐败凡纳滨对虾中分离出的一株有群体感应现象的不动杆菌作为研究对象,鉴定QS信号分子类型,并对其分泌AHLs的动力学以及环境因素(pH、NaCl浓度、温度)对该菌QS的调控进行了探究,为通过调控QS而整治不动杆菌致病性提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料、菌株质粒和培养条件

本实验使用的菌株质粒及相关特征如表1所示。菌株以25%的甘油保存于-80 °C。在LB培养

表 1 供试菌株和特征 Table 1 The strains and characteristics		
菌株和质粒 Strains and plasmids	特征 Description	来源 Source or references
根癌农杆菌 A136 (pCF218)(pCF372) <i>Agrobacterium tumefaciens</i> A136 (pCF218) (pCF372)	含 P _{tral} -lacZ 融合基因,不含 Ti 质粒;不产生 AHLs; C ₆ -C ₁₄ -HSL 的生物感应器; 抗 Sp 与 Tc	美国德克萨斯州立大学 McLean 教授惠赠
紫色杆菌 CV026 <i>Chromobacterium violaceum</i> CV026	最小化 Tn5 突变株, 不产生 AHL; C ₄ -C ₆ -HSL 的生物感应器; 抗 Km	美国德克萨斯州立大学 McLean 教授惠赠
醋酸钙不动杆菌 <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	分离于腐败凡纳滨对虾	实验室保存

基中活化培养^[13], 培养条件为 30 °C、160 r/min。根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens* A136)体系需加入 50 mg/L 壮观霉素(Sp)和 4.5 mg/L 四环素(Tc); 紫色杆菌(*Chromobacterium violaceum* CV026)体系需加入 20 mg/L 卡那霉素(Km)。

壮观霉素、四环素、卡那霉素、AHLs 标准品(C₆-HSL、C₈-HSL、N-3-oxo-C₆-HSL、N-3-oxo-C₈-HSL)等均购自 Sigma 公司(美国); X-gal (5-溴-4-氯-3-吡啶-β-D-半乳糖苷)购自 Solarbio 公司; RP-C₁₈ F_{254s} 反相薄层板购自 Merck 公司(德国)。

1.2 菌株 M1 的分离纯化及鉴定

用平板划线法从腐败的虾中分离、纯化出具有群体感应现象的菌株 M1。将 M1 过夜活化后, 提取基因组 DNA, -20 °C 保存备用。以菌株 M1 基因组 DNA 为模板, 以 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGG CTCAG-3') 和 1492R (5'-ACGGCTACCTTGTTAC GACTT-3') 为引物。PCR 扩增 16S rRNA 基因条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 1 min, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物在 1.0% 琼脂糖凝胶上进行电泳, 结束后凝胶成像并观察结果。PCR 扩增产物交由生工生物工程(上海)股份有限公司进行序列测定。

1.3 群体感应信号分子 AHLs 的检测

1.3.1 粗提液的制备: 将待测菌株 M1 在 LB 液体培养基中 30 °C、160 r/min 振荡培养至一定的密度($OD_{600} \approx 1.0$), 8 000 r/min 离心 5 min, 取上清, 用含 0.5% 甲酸的乙酸乙酯萃取 3 次, 混合有机相旋蒸至干, 溶于二甲亚砜, -20 °C 保存备用。

1.3.2 平板划线法检测 AHLs: 按照文献[14]的方法, M1 分别与报告菌株 CV026 和 A136 在 LB 琼脂平板上平行划线, 当用 A136 时, 需涂布 20 μL X-gal (20 g/L)。均以报告菌株本身作阴性对照, C₆-HSL 作阳性对照。30 °C 培养过夜, 观察颜色变化。

1.3.3 TLC-biosensor 检测 AHLs: 根据文献[15]将 AHLs 提取物与信号分子标准品分别点样(2.5 μL)于 C₁₈ 反相薄层板上, 以甲醇/水(3:2, 体积比)为展

开剂展开, 无菌风吹干。将 A136 与含 0.7% 琼脂的 LB 混合均匀, 低于 42 °C 铺于 TLC 板上, 凝固。30 °C 密闭容器中培养 24–48 h, 观察颜色变化。AHLs 经薄层层析展开后, A136 会在 AHLs 存在的区域水解 X-gal 呈现蓝色斑点。根据斑点 R_f 值以及形状, 判断 AHLs 的类型。

1.4 M1 生长动力学曲线测定及不同生长阶段 AHLs 分泌规律

将菌株 M1 过夜活化 12 h, 按 1:1 000 比例接于 LB 液体培养基中, 160 r/min、30 °C 条件下振荡培养。每 6 h 取菌液 100 mL, 测 OD_{600} 值并按照 1.3.1 方法提取信号分子, -20 °C 保存备用。按照 1.3.3 方法制备报告平板, 取灭菌滤纸片贴在平板中央, 点样培养不同时间 AHLs 提取液 2.5 μL, 30 °C 培养 12 h, 测量变色圈直径(mm)。

1.5 环境因素对 M1 的 AHLs 分泌的调控

1.5.1 不同培养条件下 AHLs 粗提液的制备: 菌株 M1 过夜活化, 按 1:100 的比例分别接种于不同 pH 值(4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0)和含盐量(0.5%、0.7%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%)的 LB 液体培养基中, 30 °C、160 r/min 摇床培养 24 h, 测定菌液 OD_{600} 值。8 000 r/min 离心, 取上清, -20 °C 保存备用。同时活化好的菌液按 1:100 比例接种于 LB 液体培养基中, 在 20、30、37、42 °C 条件下培养至相同 OD_{600} 值($OD_{600} \approx 1.0$)。将培养好的菌液 8 000 r/min 离心, 取上清, -20 °C 保存备用。

1.5.2 报告平板打孔法检测不同培养条件下 M1 分泌 AHLs 规律: 以 A136 作为报告菌, 参照文献[15]方法制备报告平板, 过夜, 蒸发水分。在报告平板中央打适合大小的孔, 加入菌液上清 40 μL, 30 °C 培养 24–48 h, 测量变色圈大小。

2 结果与分析

2.1 16S rRNA 基因序列及系统发育分析

菌株 M1 经 16S rRNA 扩增的基因序列在 GenBank 的登录号为 KM086708, 通过 NCBI 进行 BLAST 检索系统进行序列相同性检索, 结果

表明该菌为不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)。系统发育学分析结果显示,该菌与醋酸钙不动杆菌亲缘关系最近,相似性达到 99% (图 1)。判定 M1 为不动杆菌属的醋酸钙不动杆菌(*A. calcoaceticus*)。

2.2 群体感应信号分子 AHLs 的检测及鉴定

2.2.1 平板划线法检测 AHLs: M1 诱导根癌农杆菌 A136 水解 X-gal 产生特征性蓝色,但是不能诱导紫色杆菌 CV026 产生紫色色素(图 2),说明 M1 产生的信号分子很可能是长链或是酰基侧链 C-3 有羰基取代的 AHLs。

2.2.2 薄层层析(TLC-biosensor)法检测 AHLs: TLC 结果如图 3 所示, C-3 位含有羰基取代基的

AHLs 斑点有拖尾现象, 烷酰基链的 AHLs 斑点呈现圆形。通过与标准信号分子 R_f 值比较, M1 产生的主要 AHLs 为 N-3-oxo-C₆-HSL 和 N-3-oxo-C₈-HSL。由于 TLC 检测灵敏度有限,可能还含有其他类型信号分子,可将粗提液纯化后采用高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)进一步检测。

2.3 M1 分泌 AHLs 动力学

M1 具有较强的分泌 AHLs 能力, 12–42 h 内分泌 AHLs 处于较高水平(图 4)。在延滞末期(6 h)开始分泌 AHLs, 并呈现密度依赖性。随着培养时间的延长, 信号分子分泌量先增大后减小, 在对数末期(30 h)达到最大值。M1 诱导变色直径与细菌密度 OD_{600} 呈现一致性(图 5)。

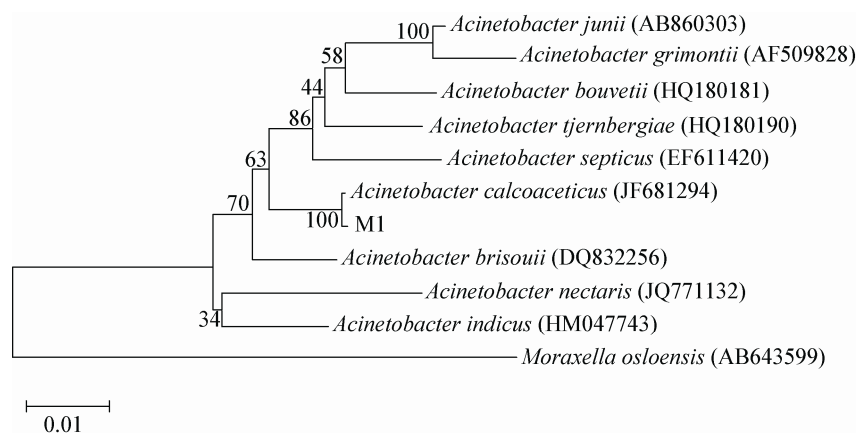


图 1 M1 基因序列进化树

Figure 1 16S rRNA-based phylogenetic tree of M1

注: 0.01 代表进化距离单位; 分支上的数值代表为自举 1 000 次的结果; 括号中序号为 GenBank 登录号。

Note: Scale bar: 0.01 is sequence divergence; Nueralns on branches are the supporting percentage by 1 000 replicates; Serial numbers in parentheses are GenBank accession numbers.

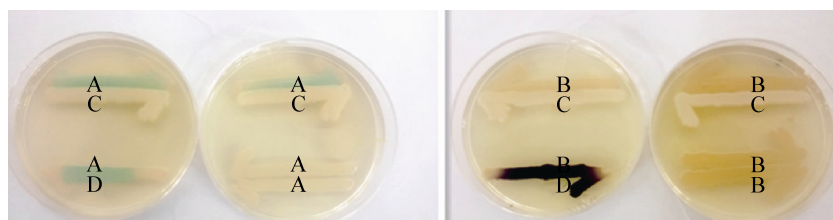


图 2 利用根癌农杆菌 A136 和紫色杆菌 CV026 平行划线检测 M1 信号分子

Figure 2 The signaling molecules of M1 was assayed by biosensor strains (CV026 and A136)

Note: A: A136; B: CV026; C: M1; D: C₆-HSL.

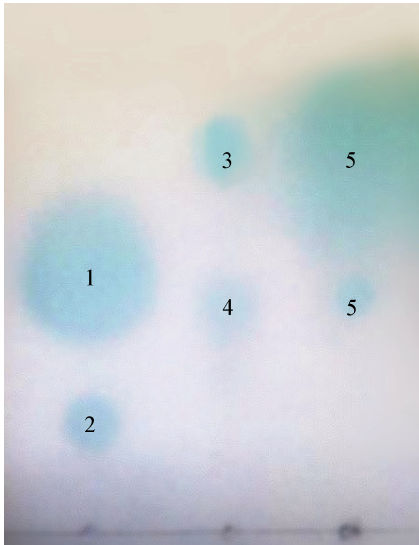


图3 TLC法检测 M1 的 AHLs 种类

Figure 3 TLC analysis of AHLs secreted by M1

Note: 1: C₆-HSL; 2: C₈-HSL; 3: N-3-oxo-C₆-HSL; 4: N-3-oxo-C₈-HSL; 5: Strain M1 AHLs.

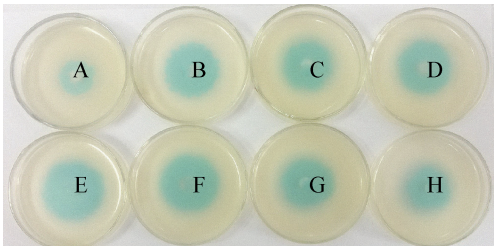


图4 不同生长阶段 M1 分泌 AHLs 活性

Figure 4 AHLs activities of M1 at different growth stages

Note: A: 6 h; B: 12 h; C: 18 h; D: 24 h; E: 32 h; F: 36 h; G: 42 h; H: 48 h.

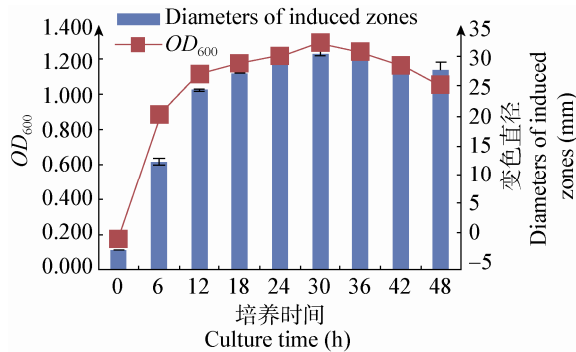


图5 OD₆₀₀ 与 AHLs 所诱导直径关系

Figure 5 Relationship between OD₆₀₀ and diameters of induced zones

2.4 不同培养条件对 M1 分泌 AHLs 调控

2.4.1 pH 对 M1 分泌 AHLs 的影响: 环境 pH 对 M1 分泌 AHLs 影响比较显著(图 6)。在酸性条件下检测不到 AHLs 或者分泌量较少, 在 pH 7.0 时分泌量达到最高值。M1 分泌 AHLs 的 pH 影响系数(变色圈直径/OD₆₀₀)表明 pH 7.0 是菌 M1 分泌 AHLs 的最适 pH, 相对于酸性条件, 碱性条件下 M1 分泌 AHLs 能力较强(图 7)。

2.4.2 NaCl 浓度对 M1 分泌 AHLs 的影响: NaCl 含量对 M1 分泌 AHLs 浓度影响不明显(图 8), 从图 9 分析可知, 在含盐量处于一定范围(0.5%–2.0%)时, 虽然 M1 生长受到一定影响, 但分泌 AHLs 的能力并无明显差异。当含盐量达到一定值(3.0%–5.0%)时, M1 感知环境不利因素启动群体感应系统, 个体分泌 AHLs 能力明显增强。

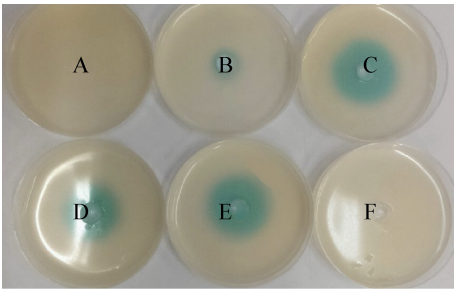


图6 pH 值与 M1 分泌 AHLs 浓度关系

Figure 6 Relationship between pH values and concentrations of AHLs of strain M1

Note: A: pH 5.0; B: pH 6.0; C: pH 7.0; D: pH 8.0; E: pH 9.0; F: Negative control.

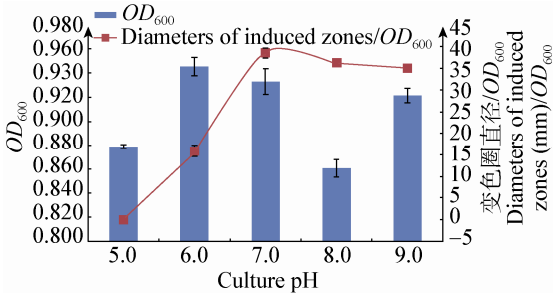


图7 M1 分泌 AHLs 的 pH 影响系数

Figure 7 Influence coefficient between pH values and AHLs of strain M1

2.4.3 温度对 M1 分泌 AHLs 的影响: M1 在不同温度培养达到相同 OD_{600} 时, 分泌 AHLs 能力不同(图 10), 在 30 °C 时最强, 过高或过低温度都会抑制 M1 分泌 AHLs。37 °C 比 20 °C 和 42 °C 分泌 AHLs 能力稍好, 参照生长曲线(图 11)推测, 可能是由于 37 °C 比 20 °C 和 42 °C 更适宜 M1 生长。

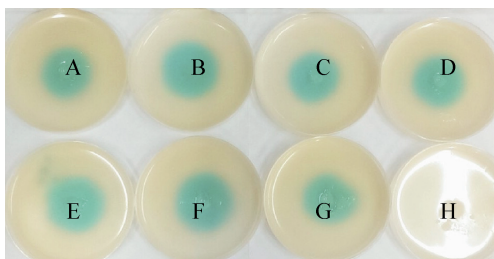


图 8 NaCl%与 M1 分泌 AHLs 浓度关系

Figure 8 Relationship between NaCl% and concentrations of AHLs secreted by strain M1

Note: A: 0.5%; B: 0.7%; C: 1.0%; D: 2.0%; E: 3.0%; F: 4.0%; G: 5.0%; H: Negative control.

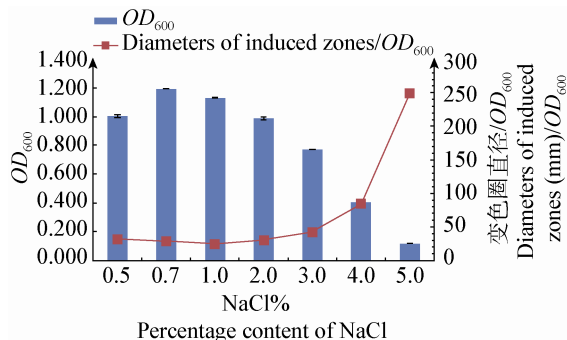


图 9 NaCl%对 M1 分泌 AHLs 影响系数

Figure 9 Influence coefficient between NaCl% and AHLs of strain M1

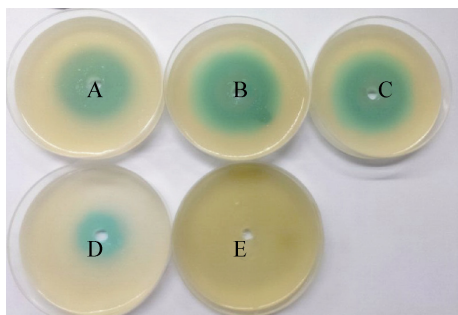


图 10 培养温度与 M1 分泌 AHLs 浓度关系

Figure 10 Relationship between culture temperature and concentrations of AHLs of strain M1

Note: A: 20 °C; B: 30 °C; C: 37 °C; D: 42 °C; E: Negative control.

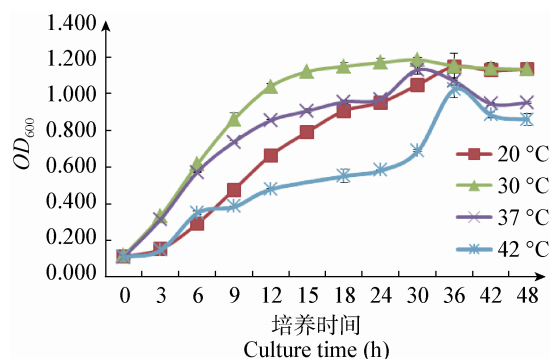


图 11 M1 在不同温度下的生长曲线

Figure 11 Growth curves of strain M1 at different temperatures

3 讨论

不动杆菌是比较常见的条件致病菌之一, 以鲍曼不动杆菌、醋酸钙不动杆菌为代表的病原菌可引起人、陆生动物、水产养殖动物等产生相关疾病^[16]。大多数不动杆菌具有群体感应机制。以 AHLs 介导的革兰氏阴性菌的群体感应机制(LuxI/LuxR)直至目前已被广泛研究。不动杆菌中具有与 LuxI/R 同源的 AbaI/R 调控基因^[17]。不动杆菌在不利条件下能够生存, 且耐干燥、易形成生物膜、具有广泛的抗药性等特征增加了该菌的治疗难度。目前通过抑制群体感应进而抑制不动杆菌致病性的研究已经变为一种新兴的治疗方法。Saroj 等利用亚抑制浓度的链霉素(*Streptomycin*)使不动杆菌的调控基因 *AbaI* (自体诱导物合成酶)和 *AIS-0112* 的表达量下降, 抑制了群体感应同时抑制了该菌的运动性, 降低了致病性^[18]。Stacy 等^[19]发现外源添加的非本源信号分子(OH-dDHL)可影响 LuxR 型基因的表达。本文从腐败的凡纳滨对虾中分离出的 M1 能诱导报告菌株 A136 启动 QS 系统。对 M1 分泌 AHLs 动力学分析表明菌体浓度与 AHLs 分泌量呈正相关, 表明群体感应具有密度依赖性。本文初步鉴定 M1 产生的 AHLs 类型为 N-3-oxo-C₆-HSL 和 N-3-oxo-C₈-HSL。不动杆菌种类繁多, 多数不动杆菌能产生一种以上的 AHLs^[20]。

本实验还研究了常见环境因素对醋酸钙不动

杆菌 M1 群体感应的调控规律。研究发现, M1 在相同生长条件下, AHLs 的分泌呈现密度依赖性。不同环境下, AHLs 分泌受菌体密度和环境因素的双重调控, 且不动杆菌在极端条件下分泌 AHLs 能力较强。可能是不利环境促使 M1 机体提前感知了危机信号, 启动 *AbaI* 基因, 大量分泌信号分子 AHLs, 当 AHLs 增加至一定浓度后被细胞内 *AbaR* 感受到, 启动相关基因表达, 达到保护自身的目的。本文探究环境因素对 M1 分泌 AHLs 的影响, 试图通过调节外部条件(盐度、pH、环境温度)对 M1 群体感应产生抑制或调控的作用, 进而调控其致病性。与其他途径相比, 该方法具有经济、简便、易操作等优点。由于不动杆菌是腐败虾中的优势菌, 它作为致病菌与虾的腐败菌关系如何, 以及环境条件调控 M1 分泌 AHLs 的机制等还需要进一步研究。本实验通过改变食品的贮藏条件抑制 QS, 为抑制食品中致病菌的致病性提供了新思路。

参 考 文 献

- [1] Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria[J]. Annual Reviews in Microbiology, 2001, 55(1): 165-199
- [2] Sifri CD. Quorum sensing: bacteria talk sense[J]. Clinical Infectious Diseases, 2008, 47(8): 1070-1076
- [3] Fuqua C, Parsek MR, Greenberg EP. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing[J]. Annual Review of Genetics, 2001, 35: 439-468
- [4] Sturme MHJ, Kleerebezem M, Nakayama J, et al. Cell to cell communication by autoinducing peptides in Gram-positive bacteria[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2002, 81(1/4): 233-243
- [5] McGuirk P, Higgins SC, Mills KHG. Regulatory cells and the control of respiratory infection[J]. Current Allergy and Asthma Reports, 2005, 5(1): 51-55
- [6] Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2005, 21: 319-346
- [7] Nealson KH, Platt T, Hastings JW. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system[J]. Journal of Bacteriology, 1970, 104(1): 313-322
- [8] Zhang HB, Zhang LH. Genetic control of quorum-sensing signal turnover in *Agrobacterium tumefaciens*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2002, 99(7): 4638-4643
- [9] Latifi A, Foglino M, Tanaka K, et al. A hierarchical quorum-sensing cascade in *Pseudomonas aeruginosa* links the transcriptional activators LasR and RhIR (VsmR) to expression of the stationary-phase sigma factor RpoS[J]. Molecular Microbiology, 1996, 21(6): 1137-1146
- [10] Lopes JM, Goulart EM, Starling CE. Pediatric mortality due to nosocomial infection: a critical approach[J]. Brazilian Journal of Infectious Diseases, 2007, 11(5): 515-519
- [11] Roussel-Delvallez M, Wallet F, Delpierre F, et al. *In vitro* bactericidal effect of a β -lactam+aminoglycoside combination against multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*[J]. Journal of Chemotherapy, 1996, 8(5): 365-368
- [12] Bhargava N, Sharma P, Capalash N. Quorum sensing in *Acinetobacter*: an emerging pathogen[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2010, 36(4): 349-360
- [13] Rice SA, Koh KS, Queck SY, et al. Biofilm formation and sloughing in *Serratia marcescens* are controlled by quorum sensing and nutrient cues[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(10): 3477-3485
- [14] Ravn L, Christensen AB, Molin S, et al. Methods for detecting acylated homoserine lactones produced by Gram-negative bacteria and their application in studies of AHL-production kinetics[J]. Journal of Microbiological Methods, 2001, 44(3): 239-251
- [15] Shaw PD, Ping G, Daly SL, et al. Detecting and characterizing N-acyl-homoserine lactone signal molecules by thin-layer chromatography[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1997, 94(12): 6036-6041
- [16] Xia F, Liang LG, Hong W, et al. Phenotypic and molecular characterization of *Acinetobacter calcoaceticus* in allogynogenetic *Carassius auratus*[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2013, 44(3): 801-806 (in Chinese)
夏飞, 梁利国, 顾伟, 等. 异育银鲫(*Carassius auratus*)源醋酸钙不动杆菌表型及分子鉴定[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(3): 801-806
- [17] Clemmer KM, Bonomo RA, Rather PN. Genetic analysis of surface motility in *Acinetobacter baumannii*[J]. Microbiology, 2011, 157: 2534-2544
- [18] Saroj SD, Rather PN. Streptomycin inhibits quorum sensing in *Acinetobacter baumannii*[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2013, 57(4): 1926-1929
- [19] Stacy DM, Welsh MA, Rather PN, et al. Attenuation of quorum sensing in the pathogen *Acinetobacter baumannii* using non-native N-Acyl homoserine lactones[J]. ACS Chemical Biology, 2012, 7(10): 1719-28
- [20] González RH, Dijkshoorn L, Van den Barselaar M, et al. Quorum sensing signal profile of *Acinetobacter* strains from nosocomial and environmental sources[J]. Revista Argentina De Microbiologia, 2009, 41(2): 73-78