

网络出版时间:2022-1-20 19:56 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20220119.1131.002.html

iucA 基因缺失对尿路致病性大肠埃希菌增殖、黏附、侵袭和定植能力的影响

邓 聪,康嘉乐,林梅双,林艳芬

摘要 目的 为探究铁摄取相关基因 *iucA* 在尿路致病性大肠埃希菌(UPEC)致病中的作用,利用 UPEC 模式菌株 CFT073,通过 λ Red 同源重组方法构建 *iucA* 基因缺失株 $\Delta iucA$,同时构建回补株 C-*iucA*。方法 测定 A600 绘制 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 C-*iucA* 菌株在 LB 液体培养基和无菌尿液中的增殖曲线。比较 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 C-*iucA* 菌株对人膀胱癌上皮细胞株 5637 体外黏附和侵袭能力。构建小鼠尿路感染模型,检测 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 C-*iucA* 菌株在膀胱的定植能力。结果 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 C-*iucA* 菌株在 LB 液体培养基中增殖速率相似($P=0.153$)。 $\Delta iucA$ 在无菌尿液中的增殖速率低于 CFT073($P=0.001$),C-*iucA* 的增殖速率较 $\Delta iucA$ 有所上升($P=0.005$)。 $\Delta iucA$ 对 5637 细胞的黏附和侵袭能力均低于 CFT073($P=0.007,0.002$)。C-*iucA* 的黏附和侵袭能力较 $\Delta iucA$ 有所上升($P=0.046,0.037$)。 $\Delta iucA$ 在小鼠膀胱的定植能力低于 CFT073 和 C-*iucA*($P=0.002,0.017$)。结论 *iucA* 基因可能通过促进 UPEC 增殖、黏附和侵袭以及在靶器官的定植能力在 UPEC 致病中发挥作用。

关键词 *iucA* 基因;大肠埃希菌;尿路感染;铁载体;基因缺失

中图分类号 R 378.2+1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)02-0177-05

2021-12-10 接收

基金项目:广东省医学科研基金(编号:A2019472)

作者单位:广州医科大学附属第二医院检验科,广州 510260

作者简介:邓 聪,女,主管技师;

林艳芬,女,硕士,主管技师,责任作者,E-mail:tongle1212@163.com

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.02.003

尿路感染(urinary tract infections,UTI)是临床上最常见的细菌感染之一^[1],其高居不下的复发率、再感染率以及日益增高的多重耐药菌的检出率,强调了发展 UTI 新的治疗策略的必要性^[2]。约 75%~95% 的 UTI 由尿路致病性大肠埃希菌(Uropathogenic *E. coli*,UPEC)所致^[3]。铁摄取系统是 UPEC 目前已知的毒力因子之一^[4-5]。

铁是微生物生命活动的必要元素。病原菌通过分泌铁载体与宿主体内的铁离子结合,形成复合物并通过外膜表面的相应受体摄取。UPEC 可以分泌多种铁载体,包括耶尔森杆菌素、气杆菌素、肠杆菌素和沙门菌素^[6]。其中气杆菌素已被证实通过促进菌株生长、定植等,在肺炎克雷伯菌、禽致病性大肠埃希菌等的致病过程中发挥重要作用^[7-8],但其与 UPEC 致病之间的关系至今仍不明确。该研究通过对气杆菌素编码基因 *iucA* 缺失株和回补株的构建,分析 *iucA* 基因在 UPEC 致病中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌株、质粒和细胞 大肠埃希菌 CFT073 菌株(临床 UTI 分离的大肠埃希菌,由美国南加州大学洛杉矶儿童医院黄胜和教授惠赠)。pKD46 质

by Western blot. After co-culture of RO alone or combination with CH in KCs for different time, the apoptotic changes of KCs cells were detected by flow cytometry and the expression of apoptotic proteins Bax and Bcl-2 were verified by Western blot. **Results** RO down-regulated the expression of Ca^{2+} induced differentiation marker protein INV, but weakly inhibited the expression of Loricrin, while CH showed no antagonistic effect on RO. RO induced apoptosis of KCs cells in a time dependent manner. CH could antagonize the apoptotic effect of RO on KCs; the expression of Bcl-2 and Bax was inhibited when RO was applied alone,CH could partially antagonize the inhibition effect of RO on Bcl-2 expression, but had no significant effect on Bax; however, RO reduced the ratio of Bcl-2/Bax in a time-dependent manner, and CH partially weakened the effect of RO on the ratio of Bcl-2/Bax. **Conclusion** RO may inhibit KCs differentiation and induce KCs cell apoptosis by down-regulating the expression of Loricrin and Bcl-2.

Key words RO;CH;KCs;cell differentiation;cell apoptosis

粒、pKD3 质粒、pCP20 质粒、pRK415 质粒和人膀胱癌上皮细胞株 5637 由本实验室保存。

1.1.2 实验动物 24 只 C57BL/6 雌性小鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。等级:SPF 级。体质量:18 ~ 24 g。随机分为 3 组 (CFT073 组、 $\Delta iucA$ 组、C-*iucA* 组), 每组 8 只。

1.1.3 试剂与仪器 TaqPlus DNA 聚合酶、质粒抽提试剂盒和胶回收试剂盒 (大连宝生物工程有限公司); L-阿拉伯糖、氯霉素、氨苄青霉素、四环素和庆大霉素 (美国 Sigma 公司)。PCR 扩增仪、电击仪 (美国 Bio-Rad 公司)、分光光度计 (美国 Beckman 公司)。测序由上海生工生物技术公司完成。

1.2 方法

1.2.1 引物设计与合成 本研究所用引物名称、序列及用途见表 1。引物合成由上海生工生物技术公司完成。

表 1 引物列表

引物名称	引物序列	作用
<i>iucA</i> -F	TGAGCCTGCAGCGGGT- TAGCGAAATCGAAATAGATCAC- CGAAGGGTCAACCATATGAATATCCTCCT- TAGTTCCTATTC	扩增 <i>iucA</i> 基因 外侧同源臂
<i>iucA</i> -R	TCTGTGGGAGCTGTTTACTATGACCCT- GCCCTCTGAAAACAGCCACAGAGCT- GCTTCGAAGTTCCTA	
<i>iucA</i> -outF	GTCCATATCTGCTGTGAATAATGTTTGC	鉴定 <i>iucA</i> 基因 是否成功敲除
<i>iucA</i> -outR	CCTATCTTCGATCCCAGGTGACA	
<i>iucA</i> -comF	ATAAAGCTTCTAACTGTGGGAGCT- GTTTGACTATGACCC (HindIII 酶切位点)	<i>iucA</i> 基因回补 质粒构建
<i>iucA</i> -comR	ATAGAATTCTCAGACCTCTGAGCCTG- CAGC (EcoRI 酶切位点)	

1.2.2 CFT073 *iucA* 基因缺失株的构建 外源性打靶片段的扩增与纯化:以 pKD3 质粒为模板, *iucA*-F 和 *iucA*-R 作为引物, 扩增含氯霉素的打靶基因。

Red 重组系统的诱导表达和外源性打靶片段的电转化:制备大肠埃希菌 CFT073 菌株的电转化感受态细胞。将 pKD46 质粒电转化入 CFT073 细胞, 涂布于氨苄青霉素 (100 $\mu\text{g/ml}$) 平板, 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。挑选 CFT073/pKD46 单克隆, 制备成电转化感受态细胞。 *iucA* 打靶片段转化进入 CFT073/pKD46 感受态细胞。转化细胞涂布于氯霉素 (chloramphenicol, Cm) 平板 (含 34 $\mu\text{g/ml}$ Cm), 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。随机挑选 22 个克隆, 接种 LB 液体培养基

(含 34 $\mu\text{g/ml}$ Cm), 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。用基因组同源手臂外侧的 *iucA*-outF 和 *iucA*-outR 引物进行 PCR 检测, 当 *iucA* 基因被 Cm 抗性基因替换后, 引物的扩增产物长度由 1 921 bp 缩短为 1 292 bp。选择替换成功的阳性克隆, 命名为 CFT073/ $\Delta iucA$ -Cm。

CFT073/ $\Delta iucA$ -Cm 克隆中 Cm 抗性基因的删除:制备 CFT073/ $\Delta iucA$ -Cm 的电转化感受态细胞, 将 pCP20 质粒电转化入上述细胞。涂布于 LB 平板 (含 100 $\mu\text{g/ml}$ 氨苄青霉素), 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。挑选单克隆划线接种 LB 平板 (无抗性), 42 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。随机挑取 7 个克隆, 分别接种 LB 培养基, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。各取 0.5 μl 菌液用 *iucA*-outF 和 *iucA*-outR 引物再次进行 PCR 扩增鉴定, Cm 抗性基因消除的克隆产物长度缩短为 359 bp。选择阳性克隆的 PCR 产物进行测序验证, *iucA* 被成功敲除, 命名为 $\Delta iucA$ 。

1.2.3 CFT073 *iucA* 基因回补株的构建 采用携带四环素抗性基因的 pRK415 质粒作为大肠埃希菌的回补质粒。利用 *iucA*-comF 和 *iucA*-comR 引物从大肠埃希菌 CFT073 原始菌株中扩增 *iucA* 基因, 经 HindIII 和 EcoRI 酶切后克隆入 pRK415 相应位点, 得到回补质粒 pRK415-*iucA*。制备 $\Delta iucA$ 电转化感受态细胞。通过电转化将 pRK415-*iucA* 回补质粒转化入 $\Delta iucA$ 菌株, 在四环素平板上筛选阳性克隆。经 PCR 和测序验证, 确定回补质粒转入目标菌株, 选定其中一个克隆为 *iucA* 基因回补菌株, 命名为 C-*iucA*。

1.2.4 CFT073、 $\Delta iucA$ 、C-*iucA* 增殖曲线的测定 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 C-*iucA* 菌株在 LB 培养液和无菌尿液中增殖曲线的测定方法见本课题组既往发表的研究^[9]。

1.2.5 体外黏附、侵袭实验 冻存的细胞复苏后至至少传代两次, 将 5637 细胞接种至 24 孔板, 待长满至细胞形成单层。按照细菌:细胞为 100:1 的比例将细菌接种到单层细胞。37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO₂ 孵育 2 h。黏附实验中, 孵育 2 h 后, 用 PBS 清洗 5 遍, 加入 0.5% Triton X-100 裂解细胞, 吸出每孔样品梯度稀释涂板计数, 作为黏附到细胞的细菌数。侵袭实验中, 每孔加入终浓度为 200 mg/L 的庆大霉素孵育杀死细胞外细菌, PBS 清洗 3 遍, 加入 0.5% Triton X-100 裂解细胞, 吸出每孔样品梯度稀释涂板计数, 作为侵袭到细胞内的细菌数。黏附率和侵袭率计算公式如下:

$$\text{黏附率} = \frac{\text{黏附到细胞的细菌数}}{\text{接种总菌数}} \times 100\%$$

侵袭率 = 侵袭到细胞内的细菌数/接种总菌数 $\times 100\%$

1.2.6 体内定植能力检测 C57B/L6 小鼠尿路感染模型的建立方法及 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 *C-iucA* 菌株在膀胱定植能力检测见本课题组既往发表的研究^[10]。

1.3 统计学处理 计量资料符合正态分布用 $\bar{x} \pm s$ 表示,不符合正态分布用中位数及四分位数 (P_{25} , P_{75}) 表示。三组之间比较,采用单因素方差分析(服从正态分布)和多个独立样本比较的秩和检验(Kruskal-Wallis 秩和检验)(不服从正态分布),并作两两比较。采用 SPSS23.0 统计软件进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 *C-iucA* 菌株增殖曲线测定

将 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 *C-iucA* 菌株分别接种于 LB 液体培养基和无菌尿液后,每隔 2 h 取样测定 A600,绘制增殖曲线显示,在 LB 液体培养基中 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 *C-iucA* 菌株具有相似的增殖速率 ($F = 2.613$, $P = 0.153$) (图 1)。而在无菌尿液中,三者增殖速率差异有统计学意义 ($F = 18.927$, $P = 0.003$),其中 $\Delta iucA$ 的增殖速率低于 CFT073 菌株 ($P = 0.001$),*C-iucA* 的增殖速率则高于 $\Delta iucA$ ($P = 0.005$),*C-iucA* 与 CFT073 菌株增殖速率比较,差异无统计学意义。见图 2。

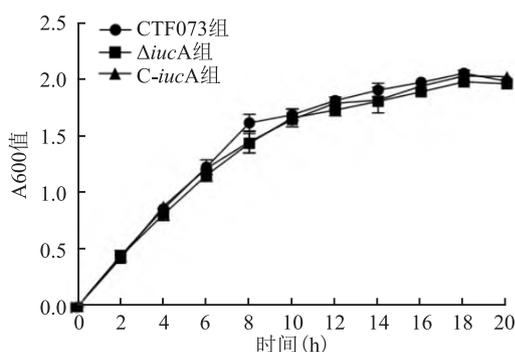


图1 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 *C-iucA* 菌株在 LB 液体培养基中的增殖曲线

2.2 体外黏附和侵袭能力比较 比较 CFT073、 $\Delta iucA$ 、*C-iucA* 菌株对人膀胱癌上皮细胞株 5637 的黏附率和侵袭率显示, $\Delta iucA$ 组黏附率和侵袭率均低于 CFT073 组 ($P = 0.007$ 、 0.002) (图 3、4)。而 *C-iucA* 组黏附率和侵袭率与 $\Delta iucA$ 组相比均有所上升 ($P = 0.046$ 、 0.037) (图 3、4)。*C-iucA* 组黏附率接近 CFT073 组,两组之间差异无统计学意义 ($P =$

0.177) (图 3),侵袭率则仍低于 CFT073 组,差异有统计学意义 ($P = 0.040$) (图 4)。

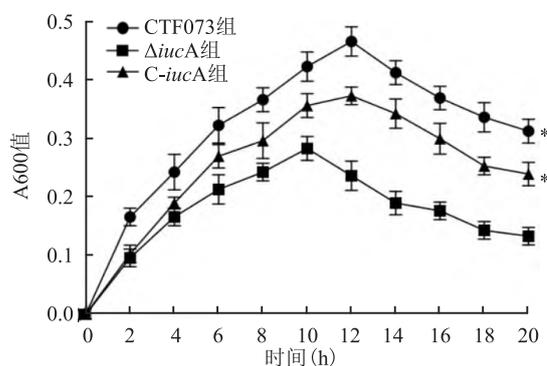


图2 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 *C-iucA* 菌株在无菌尿液中的增殖曲线与 $\Delta iucA$ 组比较: * $P < 0.05$

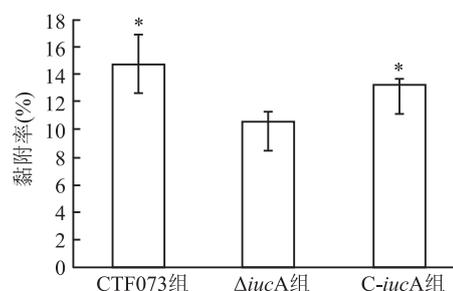


图3 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 *C-iucA* 菌株对人膀胱癌上皮细胞 5637 的黏附率与 $\Delta iucA$ 组比较: * $P < 0.05$

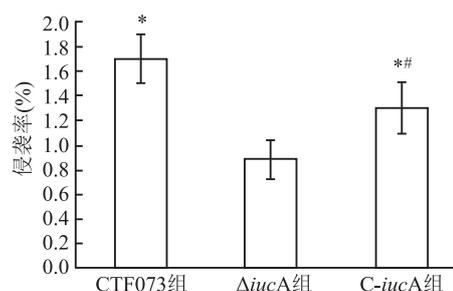


图4 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 *C-iucA* 菌株对人膀胱癌上皮细胞 5637 的侵袭率与 $\Delta iucA$ 组比较: * $P < 0.05$;与 CFT073 组比较: # $P < 0.05$

2.3 膀胱定植能力检测 成功构建 C57B/L6 小鼠 UTI 模型后,CFT073、 $\Delta iucA$ 和 *C-iucA* 菌株通过尿道灌注的方法感染小鼠,取膀胱组织匀浆涂平板培养计算定植细菌数。采用多个独立样本比较的秩和检验分析显示,CFT073 组侵袭到膀胱定植的细菌数平均秩次为 17.75, $\Delta iucA$ 组为 6.00, *C-iucA* 组为 13.75,各组之间定植细菌数差异有统计学意义

(Kruskal-Wallis 秩和检验卡方值为 11.545, $P = 0.003$)。各组之间两两比较显示, $\Delta iucA$ 组与 CFT073 组, $\Delta iucA$ 组与 C- $iucA$ 组之间膀胱定植细菌数比较差异均有统计学意义 ($P = 0.002, 0.017$), CFT073 组与 C- $iucA$ 组相比, 定植细菌数差异无统计学意义。见图 5。

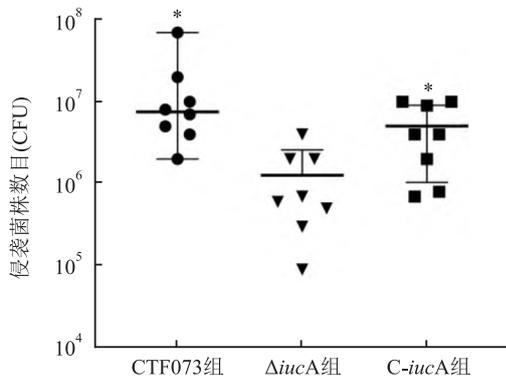


图 5 CFT073、 $\Delta iucA$ 和 C- $iucA$ 菌株在小鼠膀胱的定植细菌数与 $\Delta iucA$ 组比较; * $P < 0.05$

3 讨论

铁载体作为致病过程中重要的毒力因子和可能的治疗靶标已经在多种致病菌中被证实^[11]。本课题组既往研究已经证实铁摄取相关基因 *fyuA* 在 UPEC 致病中的作用^[9-10]。本研究继续探究铁载体气杆菌素编码基因 *iucA* 与 UPEC 致病之间的关系。

既往研究中, Rosso et al^[12] 通过分别构建高毒力肺炎克雷伯菌 (hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKP) 的气杆菌素、沙门菌素、肠杆菌素和耶尔森杆菌素等铁载体的合成缺失株, 发现与野生株相比, hvKP1 $\Delta iucA$ 菌株 (气杆菌素合成缺失株) 在腹水和血清中的存活受到影响, 生长速率减低, 并且在小鼠动物模型中 hvKP1 $\Delta iucA$ 菌株表现为毒力减低。而沙门菌素、肠杆菌素和耶尔森杆菌素的单独或联合合成缺失株均不影响菌株在体外生长/存活以及在小鼠体内毒力。提示 *iucA* 影响菌株生长繁殖, 是 hvKP 的关键毒力因子。Khasheii et al^[13] 的研究也表明, 与合成其他铁载体的菌株相比, 合成耶尔森杆菌素和气杆菌素的 UPEC 表现出最高的生长速率。提示气杆菌素可能有助于菌株的生长繁殖。本研究也显示, 尽管在 LB 液体培养基中野生株、缺失株和回补株表现为相似的增殖曲线, 但是在无菌尿液中, *iucA* 缺失株的生长速率低于野生株, 而 *iucA* 基因的回补显著回复菌株的生长繁殖能力, 提示当 UPEC

处于铁含量较低的环境 (无菌尿液) 时, *iucA* 基因对促进 UPEC 生长繁殖具有重要作用。推测 *iucA* 基因这种对菌株生长繁殖的促进作用与其促进铁离子的摄取作用有关, 当处于营养丰富的环境 (LB 培养液) 中时, 尽管缺失了 *iucA* 基因, 不能合成气杆菌素, UPEC 仍可以通过其它铁载体介导铁离子的摄取满足菌株生长繁殖所需, 而当 UPEC 处于铁含量较低的无菌尿液中时, *iucA* 基因的缺失进一步削弱了菌株对铁离子的利用能力, 导致生长繁殖受限。其具体机制尚需要进一步实验证实。

黏附和侵袭是病原菌致病的第一步, 强大的黏附能力可以帮助尿路致病菌抵抗尿液的冲刷, 黏附在上皮细胞后再侵袭进入胞内发挥致病作用。在本研究中, 通过野生株、缺失株和回补株分别与人膀胱癌上皮细胞株 5637 相互作用显示, *iucA* 缺失株的黏附率和侵袭率均低于野生株, 而在回补了 *iucA* 基因后, 黏附率和侵袭率与缺失株相比均有所上升。提示 *iucA* 基因在促进菌株黏附和侵袭方面同样具有重要作用。为进一步明确 *iucA* 基因这种介导菌株黏附和侵袭的作用是否有助于菌株在靶器官的定植, 课题组建立了小鼠尿路感染的动物模型。3 种菌株分别感染 C57B/L6 小鼠后, 缺失株在小鼠膀胱的定植数目低于野生株, 而回补株可以回复其在膀胱组织的定植能力, 提示 *iucA* 基因有助于增强 UPEC 在靶器官的定植能力。这与 Ling et al^[8] 发现缺失 *iucA* 基因的禽致病性大肠埃希菌在肝脏、肾脏、脾脏、心脏和肺脏等的定植能力大幅减低的研究结论相似。*iucA* 基因增强 UPEC 在靶器官的定植能力的机制, 可能部分与其促进菌株的生长繁殖以及增加菌株的黏附和侵袭能力有关。

本研究通过 *iucA* 基因的缺失和回补, 明确了铁载体气杆菌素在促进 UPEC 生长繁殖、体外黏附和侵袭以及体内靶器官定植中的作用。这有助于筛选与 UPEC 致病密切相关的铁载体, 可以为 UTI 抗菌药物作用靶点、疫苗候选抗原选择奠定基础, 并且对其他肠杆菌科细菌的致病机制研究具有借鉴意义。*iucA* 基因介导 UPEC 生长、黏附和侵袭的具体作用机制未来还需要通过进一步的实验研究明确。

参考文献

- [1] 杨悦, 张永祥, 刘娟, 等. 无症状菌尿与有症状泌尿道感染患者的临床特点研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(14): 2109-11, 2119.
- [2] 张雨, 黄文祥, 贾蓓. 预防女性复发性尿路感染策略研究进展[J]. 中国全科医学, 2020, 23(3): 369-72.

- [3] 顾丽娜, 司元国, 马广雁, 等. 疑似尿路感染患者中段尿样本培养的病原菌分布和耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(18): 2787-91.
- [4] 赖开生, 杨继勇. 泌尿系致病大肠埃希菌毒力特征研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(1): 67-71.
- [5] 杨东靖, 苏旭, 吕莉琨, 等. 尿路致病性大肠埃希菌的耐药和毒力全基因组分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2020, 40(4): 269-75.
- [6] Watts R E, Totsika M, Challinor V L, et al. Contribution of siderophore systems to growth and urinary tract colonization of asymptomatic bacteriuria *Escherichia coli*[J]. Infect Immun, 2012, 80(1): 333-44.
- [7] Russo T A, Olson R, Macdonald U, et al. Aerobactin Mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*[J]. Infect Immun, 2014, 82(6): 2356-67.
- [8] Ling J, Pan H, Gao Q, et al. Aerobactin synthesis genes *iucA* and *iucC* contribute to the pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli* O2 strain E058[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e57794.
- [9] 邓聪, 彭亮, 邓小燕, 等. 尿路致病性大肠埃希菌 FYUA 基因敲除株的构建及其生物学特性[J]. 基础医学与临床, 2015, 35(4): 502-7.
- [10] 邓聪, 彭亮, 潘嘉韵, 等. *fyuA* 缺失对尿路致病性大肠埃希菌致病能力的影响[J]. 广东医学, 2016, 37(7): 962-4.
- [11] Wilson B R, Bogdan A R, Miyazawa M, et al. Siderophores in iron metabolism: from mechanism to therapy potential[J]. Trends Mol Med, 2016, 22(12): 1077-90.
- [12] Russo T A, Olson R, Macdonald U, et al. Aerobactin, but not yersiniabactin, salmochelin, or enterobactin, enables the growth/survival of hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* *ex vivo* and *in vivo*[J]. Infect Immun, 2015, 83(8): 3325-33.
- [13] Khasheii B, Anvari S, Jamali A. Frequency evaluation of genes encoding siderophores and the effects of different concentrations of Fe ions on growth rate of uropathogenic *Escherichia coli*[J]. Iran J Microbiol, 2016, 8(6): 359-65.

The effect of *iucA* gene deletion on the proliferation, adhesion, invasion and colonization ability of Uropathogenic *E. coli*

Deng Cong, Kang Jiale, Lin Meishuang, Lin Yanfen

(Dept Of Clinical laboratory, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260)

Abstract Objective To investigate the role of iron uptake-related gene *iucA* in the pathogenesis of Uropathogenic *E. coli* (UPEC), UPEC CFT073 strain was used to construct the *iucA* gene deletion strain $\Delta iucA$ by λ Red homologous recombination technology, and the complemented strain C-*iucA* was also constructed. **Methods** The proliferation rates of CFT073, $\Delta iucA$ and C-*iucA* in Luria-Bertani liquid medium and sterile urine were determined by measuring the absorbance at 600 nm. Cultured 5637 human bladder cancer epithelial cells confluent monolayers were incubated with CFT073, $\Delta iucA$ and C-*iucA* for adhesion and invasion ability assay. C57BL/6 mouse urinary tract infection model was constructed to assess colonization ability of CFT073, $\Delta iucA$ and C-*iucA* in murine bladder tissues. **Results** Data showed that CFT073, $\Delta iucA$ and C-*iucA* displayed the similar proliferation curves in Luria-Bertani liquid medium ($P = 0.153$). The proliferation rate of $\Delta iucA$ in sterile urine was lower than that of CFT073 ($P = 0.001$), while the proliferation rate of C-*iucA* in sterile urine was significantly higher than that of $\Delta iucA$ ($P = 0.005$). $\Delta iucA$ demonstrated much lower adhesion and invasion ability compared with CFT073 ($P = 0.007, 0.002$), and C-*iucA* showed significantly higher adhesion and invasion ability than $\Delta iucA$ ($P = 0.046, 0.037$). The colonization ability of $\Delta iucA$ in murine bladder tissues was much lower than that of CFT073 and C-*iucA* ($P = 0.002, 0.017$). **Conclusion** The results indicate *iucA* gene may contribute to the proliferation, adhesion, invasion and colonization ability of UPEC.

Key words *iucA* gene; *Escherichia coli*; urinary tract infection; siderophore; gene knockout