

Bożena Dera-Tomaszewska*

Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Katedra Mikrobiologii,
Zakład Mikrobiologii Molekularnej i Serologii, Krajowy Ośrodek *Salmonella*, 80-227 Gdańsk, ul. Do Studzienki 38

Wpłynęło w listopadzie 2010 r.

1. Wprowadzenie. 2. Wyspy patogenności (PAIs). 2.1. Wyspy patogenności bakterii *Salmonella* (SPIs). 2.2. Inne wyspy genomowe bakterii *Salmonella* o cechach charakterystycznych dla wysp patogenności. 3. Podsumowanie

On *Salmonella* islands. Fourteen pathogenicity islands of *Salmonella*

Abstract: The outcomes of the disease caused by *Salmonella* vary depending on the serovar and the nature of the infected host. Many of the major factors that are needed to cause infections by these microorganisms are carried on distinct regions of the chromosome called *Salmonella* pathogenicity islands (SPIs). To date only 14 pathogenicity islands (SPIs 1–14) have been named in *Salmonella* spp., although many more genomic islands with characteristics of PAIs have been identified. The differences in the structure, function and distribution of these SPIs between different *Salmonella enterica* subspecies and serovars influence the characteristics of different serovars. They may also contribute to the host-specificity of *Salmonella*. Some SPI-carried genes which are essential for pathogenesis in some serovar/host combinations are absent or mutated in other serovars. Although the first SPI was acquired millions of years ago, it would appear that *Salmonella* is still evolving and epidemic strains of *Salmonella* Typhimurium carrying the antibiotic resistance island SGI-1 have emerged relatively recently. In this paper, the characteristics (such as size, guanine and cytosine content, insertion point, distribution, stability and virulence functions) of the different SPIs are described. Moreover, the evolution, structure, regulation of gene expression, effector proteins and island-encoded functions of some SPIs are discussed.

1. Introduction. 2. Pathogenicity islands (PAIs). 2.1. Pathogenicity islands of *Salmonella* (SPIs). 2.2. Other *Salmonella* genomic islands with characteristics of PAIs. 3. Summary

Słowa kluczowe: elementy genetyczne, geny wirulencji, *Salmonella*, wyspy genomowe, wyspy patogenności

Key words: genetic elements, virulence genes, *Salmonella*, genomic islands, pathogenicity islands

1. Wprowadzenie

Wyniki badań prowadzonych nad genomami bakteryjnymi wskazują, iż są to struktury dynamiczne, podlegające stałej ewolucji. Do głównych mechanizmów, od których zależy ich plastyczność należą: rearanżacje DNA, nagromadzenie mutacji punktowych oraz horyzontalny transfer genów, uznany za główną siłę napędową ewolucji bakterii. Analizy porównawcze sekwencji nukleotydowych genomów różnych szczepów należących do tego samego gatunku wykazały, iż wiele z nich niesie pulę unikalnych informacji genetycznych, zakodowanych w zwartych blokach DNA. Analogiczne segmenty DNA odnajduje się również w genomach innych, czasami nawet bardzo odległych filogenetycznie organizmów, co świadczy o ich mobilności, a tym samym możliwości przekazywania drogą horyzontalnego transferu genów. Elementy te zostały określone mianem wysp genomowych (GEl, genomic island) [16]. Wielkość ich jest bardzo zróżnicowana i zazwyczaj

zawiera się w granicach 10–200 kbp, chociaż rozpoznaje się również znacznie mniejsze fragmenty (<10 kbp) nazywane wysepkami genomowymi. W zależności od determinowanej funkcji, te elementy chromosomalnego DNA zostały podzielone na wyspy symbiotyczne, metaboliczne, opornościowe i wyspy patogenności (PAI, pathogenicity island). Posiadanie przez wyspy patogenności kilku szczególnych cech wyróżnia je spośród pozostałych wysp genomowych [22, 25, 36].

2. Wyspy patogenności (PAIs)

Geny kodujące liczne białka biorące udział w patogenezie są w genomach bakteryjnych zgrupowane w postaci wysp patogenności [44]. Wiele cech wysp patogenności wskazuje, iż te duże bloki informacji genetycznej zostały nabyte w procesie jednostopniowym. Przenoszone na drodze transferu horyzontalnego (często z komórek niespokrewnionych drobnoustrojów),

* Autor korespondencyjny: Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Katedra Mikrobiologii, Zakład Mikrobiologii Molekularnej i Serologii, Krajowy Ośrodek *Salmonella*; 80-227 Gdańsk, ul. Do Studzienki 38; tel. (58) 349 19 12, e-mail: bodeto@gumed.edu.pl

Cechy charakterystyczne wysp patogenności [20, 22, 25, 36]

1. są dużymi, wyraźnymi jednostkami genetycznymi na chromosomie bakteryjnym; fragmenty DNA często większe niż 40 kbp
2. noszą jeden lub więcej genów wirulencji
3. często są genetycznie niestabilne; cecha ta koreluje z obecnością elementów genetycznych zaangażowanych w mobilność DNA, takich jak sekwencje powtórzone, integrazy, transpozazy czy geny bakteriofagowe
4. skład sekwencji nukleotydowej ich DNA zwykle różni się od średniej dla całego chromosomu; skład zasad wyrażony procentową zawartością reszt guaniny i cytozyny (% G+C) jest cechą specyficzną poszczególnych gatunków bakterii; fragment DNA z zawartością G+C większą lub mniejszą od średniej dla całego chromosomowego DNA gospodarza, zwykle wskazuje na nabycie tego regionu od innego gatunku na drodze horyzontalnego transferu genów
5. miejsce ich insercji często znajduje się w sąsiedztwie genów kodujących t-RNA; geny t-RNA funkcjonują również jako miejsce integracji niektórych lizogennych bakteriofagów; uznano, że geny t-RNA mogą służyć jako punkty zakotwiczenia horyzontalnie nabywanego DNA, ze względu na ich zachowawczą strukturę u różnych gatunków bakterii

ulegały integracji z chromosomem, podlegając jednocześnie procesowi upodobniania się do genomu gospodarza, stopniowo tracąc swoją mobilność. W genomach bakterii patogennych występuje często kilka wysp patogenności uzyskiwanych sukcesywnie w różnych okresach ewolucji [20]. Kodują one wiele różnorodnych czynników wirulencji, pozwalających bakteriom patogennym na kolonizację nowych nisz ekologicznych swoich eukariotycznych gospodarzy. Określenie „wyspa patogenności” zostało po raz pierwszy wprowadzone w 1983 roku przez Hacker'a i wsp. [23], którzy zaobserwowali genetyczną niestabilność genów odpowiedzialnych za hemolityczną aktywność uropatogennych szczepów *Escherichia coli*. Sformułowane zostały również kryteria, które powinien spełniać dany fragment DNA, by zostać uznanym za wyspę patogenności (Tab. I).

Jednak nie wszystkie opisane wyspy patogenności, spełniają wymienione kryteria równocześnie [25]. Na przykład wyspy patogenności nabyte stosunkowo dawno są elementami stabilnymi. Zdążyły już bowiem utracić cechy, które warunkowały ich ruchliwość, to jest cechy korelujące z obecnością elementów genetycznych zaangażowanych w mobilność DNA, takich jak geny transpozazy i integrazy, sekwencje powtórzone proste (DR, direct repeat), sekwencje insercyjne (IS, insertion sequence), czy geny bakteriofagowe. Obecność wysp patogenności wykazano u wielu gatunków Gram-dodatnich i Gram-ujemnych bakterii patogennych dla roślin i zwierząt, takich jak *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae* czy *Listeria monocytogenes* [44]. Nabywanie przez organizmy niechorobotwórcze, na drodze horyzontalnego transferu, wysp patogenności wraz z genami wirulencji, opisane zostało jako jeden z ważniejszych czynników odgrywających istotną rolę w ewolucji patogenów [20].

Wyspy patogenności, podobnie jak inne wyspy genomowe, zawierają zarówno geny strukturalne kodujące białka efektorowe, jak i geny regulatorowe [16, 20]. Te ostatnie znajdują się przeważnie pod kontrolą

ogólnych systemów regulacji, odpowiadających na czynniki środowiska. W komórkach bakteryjnych, które muszą stale reagować na zmiany warunków otoczenia, najczęściej stosowane mechanizmy przekazywania informacji, pozwalające odebrać właściwy sygnał i przełożyć go na proces uaktywnienia transkrypcji odpowiednich genów, to tzw. dwuskładnikowe systemy regulatorowe. Najprostszy system składa się zwykle z dwóch białek – sensorowego i regulatorowego. Pierwsze odbiera sygnał, drugie (posiadające zdolność wiązania się z DNA) pełni rolę modulatora transkrypcji. W komórkach drobnoustrojów funkcjonuje często wiele białek układów dwuskładnikowych, które mogą komunikować się między sobą, co zwykle zwiększa precyzję odpowiedzi.

Poza genami wysp patogenności, za indukcję objawów chorobowych odpowiedzialne są również geny plazmidowe, geny w obrębie wysepek patogenności (pathogenicity islet), pojedyncze geny chromosomowe tzw. wysepki jednogonowe (singlet od „single gene islet”), które stanowią niezależne jednostki transkrypcyjne lub geny profagowe.

2.1. Wyspy patogenności bakterii *Salmonella* (SPIs)

W wyniku badań porównawczych sekwencji kompletnych genomów pałeczek *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Choleraesuis, *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A, wykazano mozaikową strukturę genomów bakterii *Salmonella* z proporcjonalnie dużą zawartością wysp genomowych w porównaniu do *Escherichia coli* K-12 [3, 10, 12, 33, 34, 38]. Informacja genetyczna dotycząca wielu istotnych czynników niezbędnych do wywołania infekcji przez *Salmonella enterica* zawiera się w wydzielonych, odosobnionych regionach chromosomu, zwanych wyspami patogenności bakterii *Salmonella* (SPI, *Salmonella* pathogenicity island) [22]. Genomy *Salmonella* Typhimurium i *Salmonella* Choleraesuis zawierają 9 wysp patogenności, podczas gdy *Salmonella* Typhi nosi jeszcze

3 dodatkowe wyspy [10, 33, 38]. Około 7,8% chromosomu pałeczek *Salmonella* Typhi, liczącego 4,8 Mbp, stanowią wyspy patogenności [44]. Skład wysp patogenności różni się w zależności od serowaru i podgatunku *Salmonella*. Niektóre zawarte w nich geny, mające istotne znaczenie dla patogenności w określonym układzie serowar/gospodarz, są nieobecne lub zmutowane w innych serowarach. Ta heterogenność, może częściowo tłumaczyć szczególne preferencje niektórych serowarów *Salmonella* do zakażenia wybranych gospodarzy (host-specificity). Cechy charakteryzujące wyspy patogenności bakterii z rodzaju *Salmonella* przedstawiono w Tabeli II.

Jak dotychczas, u bakterii *Salmonella* zidentyfikowano 14 wysp patogenności, które oznaczono odpo-

wiednio symbolami od SPI-1 do SPI-14 [36]. Symbole stanowiące nazwy wysp od szóstej do dziesiątej, to jest SPI-6, SPI-7, SPI-8, SPI-9 i SPI-10, wprowadzono do nazewnictwa wysp patogenności za Parkhill i wsp., którzy użyli takich właśnie oznaczeń w badaniach nad *Salmonella* Typhi [38]. Nie wszystkie wyspy patogenności występują w genomach poszczególnych serowarów *Salmonella*. Wyspa patogenności SPI-1 została wprowadzona do genomu *Salmonella* po dywergencji od *Escherichia coli*, mającej miejsce ponad 100 milionów lat temu [21]. Była pierwszą, którą zidentyfikowano jako specyficzny dla bakterii *Salmonella* element insercyjny, wbudowany pomiędzy dwa geny, które u *Escherichia coli* K-12 bezpośrednio sąsiadują ze sobą [35]. Geny wyspy SPI-1, obecnej w genomach

Tabela II

Charakterystyka wysp patogenności bakterii *Salmonella* [24, 26, 27, 35, 36, 38, 39, 43]

Wyspa	Wielkość (kbp) ¹	% G+C ¹	Miejsce insercji	Występowanie	Stabilność	Działanie wirulentne (kodowane funkcje lub czynniki wirulencji)
SPI-1	38,8	45,9	<i>flhA-mutS</i>	<i>Salmonella</i> spp.	stabilna	TTSS-1 (inwazja, odpowiedź prozapalna); pobieranie jonów Fe ²⁺ i Mn ²⁺
SPI-2	39,8	47,4	<i>valV</i> tRNA	<i>Salmonella</i> spp.	stabilna	TTSS-2 (przeżywalność wewnątrzkomórkowa); redukcja czterotianu/oddychanie beztlenowe
SPI-3 (I)	17,3	47,6	<i>selC</i> tRNA	<i>Salmonella</i> spp.	różna	kolonizacja przewodu pokarmowego; pobieranie jonów Mg ²⁺
SPI-3 (II)	10,7	54,6		<i>S. enterica</i> subsp. I, <i>S. bongori</i>		
SPI-3 (III)	5,9	44,7		<i>S. enterica</i> subsp. I, II		
SPI-4	23,4	44,8	sekwencja tRNA-podobna	<i>Salmonella</i> spp.	stabilna	system sekrecji typu I (kolonizacja przewodu pokarmowego u bydła)
SPI-5	7,6	43,6	<i>serT</i> tRNA	<i>Salmonella</i> spp.	różna	białka efektorowe TTSS-1 i TTSS-2 (odpowiedź enteropatogenna)
SPI-6	47,0 ² 58,9	51,5	<i>aspV</i> tRNA	<i>S. enterica</i> subsp. I, małe fragmenty SPI-6 u subsp. IIIb, IV, VI	?	fimbrie typu Saf i Tcf
SPI-7	133,6	49,7	<i>pheU</i> tRNA	<i>S. enterica</i> subsp. I (niektóre serowary)	niestabilna	antygen Vi (wirulencja serowaru <i>Salmonella</i> Typhi); profag SopE (inwazja, enteropatogeneza); pile typu IV (inwazja)
SPI-8	6,8	38,1	<i>pheV</i> tRNA	<i>S. enterica</i> subsp. I (niektóre serowary)	?	nieznane (prawdopodobnie produkcja 2 bakteriocyn)
SPI-9	16,3	56,7	profag	<i>Salmonella</i> spp. (niektóre serowary)	?	tworzenie biofilmu; kolonizacja jelita
SPI-10	32,9	46,6	<i>leuX</i> tRNA	<i>S. enterica</i> subsp. I (niektóre serowary)	?	fimbrie typu Sef (wirulencja przy zakażeniu 1-dniowych kurcząt)
SPI-11	14,0 ³	41,3 ³	profag Gifsy-1	nieznane	?	przeżywalność w makrofagach; oporność na bakteriobójcze działanie surowicy; zakażenie ogólnoustrojowe u myszy
SPI-12	6,3 ³	49,92 ³	<i>proL</i> tRNA	nieznane	?	efektor TTSS-2: białko SspH2 (wpływ na częstotliwość polimeryzacji aktywny wewnątrz zakażonych komórek, wirulencja przy zakażeniu cieląt)
SPI-13	19,5 ²	48,1 ²	<i>pheV</i> tRNA	nieznane	?	wirulencja przy zakażeniu 1-dniowych kurcząt
SPI-14	8,7 ²	41,4 ²	–	nieznane	?	wirulencja przy zakażeniu 1-dniowych kurcząt

¹ Wielkość wysp patogenności oraz procentowy udział guaniny (G) i cytozyny (C) obliczono bazując na sekwencji nukleotydowej genomu *Salmonella* Typhi (o ile nie wskazano innego serowaru); ² *Salmonella* Typhimurium; ³ *Salmonella* Choleraesuis; TTSS-1, TTSS-2 – systemy sekrecji typu III wysp patogenności *Salmonella*, odpowiednio SPI-1 i SPI-2

wszystkich przedstawicielei rodzaju *Salmonella*, są uznawane za niezbędne w procesie inwazji komórek nabłonkowych. To właśnie zdolność do inwazji komórek eukariotycznych była dla bakterii *Salmonella* tym pierwszym etapem ich ewolucji w kierunku organizmów patogennych. Jak wykazały przeprowadzone ostatnio badania [19], skuteczna penetracja bakterii *Salmonella* do spolaryzowanych komórek nabłonkowych (od strony apikalnej), bardziej przypominających strukturę śluzówki jelita niż komórki niespolaryzowane, które do tej pory stosowano w modelach doświadczalnych, wymaga również obecności wyspy SPI-4. Sforsowanie przez bakterie *Salmonella* bariery rąbka szczoteczki zależy od wzajemnego współdziałania wysp SPI-1 oraz SPI-4. Do efektywnej inwazji niezbędna jest bowiem obecność białka efektorowego SiiE, będącego produktem systemu sekrecyjnego wyspy SPI-4. Wyspa SPI-1 koduje również system (SitABCD) pobierania jonów żelaza (F^{2+}) i manganu (Mn^{2+}), który nie jest wprawdzie potrzebny w czasie samej inwazji komórek epitelialnych, ale jest wymagany w późniejszych etapach infekcji, gdy zawartość tych jonów ulegnie ograniczeniu [26, 27, 47]. Różnice w zawartości G+C operonu *sit* w porównaniu do pozostałej części wyspy sugerują, że regiony te pochodzą od różnych przodków i mogą być nabywane przez bakterie *Salmonella* niezależnie [50].

Historia ewolucji pozostałych wysp (SPI-2 do SPI-14) nie jest już tak jasna. Często mają one organizację mozaikową, świadczącą o wielostopniowym procesie ich nabywania. Na przykład, mozaikowa struktura wyspy SPI-2 jest prawdopodobnie wynikiem przynajmniej dwóch incydentów horyzontalnego transferu genów [24]. Wiedza na temat dystrybucji wysp patogenności jest ciągle aktualizowana [41, 42]. Cztery spośród tych wysp (SPI-2 do SPI-5) występują u większości serowarów *Salmonella*. Produkty genów wysp SPI-2, SPI-3 i SPI-4 odgrywają znaczącą rolę w wywoływaniu infekcji ogólnoustrojowych, a białka kodowane przez geny wyspy SPI-5, zgodnie z obecną wiedzą, wpływają na indukowany infekcją stan zapalny, chociaż niektóre białka są efektorami aparatów sekrecyjnych wysp SPI-1 i SPI-2. Interesująca wydaje się być także wyspa patogenności SPI-7, którą w przypadku pałeczek *Salmonella* Typhi, często nazywa się również „major pathogenicity island” (major PAI) [49]. Zidentyfikowana po raz pierwszy u *Salmonella* Typhi [49], izolowana wyłącznie ze szczepów *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi C i ze stosunkowo rzadko występujących Vi-dodatnich szczepów *Salmonella* Dublin, zawiera między innymi operon *viaB* odpowiedzialny za syntezę antygeny Vi, główny czynnik wirulencji pałeczek duru brzuszego [28, 36]. Jak ostatnio wykazano, ekspresja antygeny Vi u bakterii *Salmonella* Typhi jest indukowana w czasie inwazji patogenu do komórek

nabłonkowych jelita [45]. Okazjonalnie izoluje się również szczepy *Salmonella* Typhi, które nie posiadają SPI-7 i nie produkują antygeny Vi [6, 39], co sugeruje, że ta szczególna wyspa jest stosunkowo niestabilna.

Ekspresja genów wysp patogenności podlega ścisłej regulacji przez czynniki środowiska i jest uzależniona od etapu infekcji. W obrębie SPI-1 i SPI-2, dwu najlepiej poznanych wysp, zidentyfikowano geny kodujące systemy sekrecji typu III (TTSS, type three secretion system), które przekazują białka efektorowe do cytozolu komórek eukariotycznych i odgrywają kluczową rolę w wirulencji pałeczek *Salmonella enterica* u ssaków. Głównymi sprawcami zmian w szlakach przekazywania sygnałów są właśnie białka efektorowe systemu TTSS. Co najmniej 13 białek jest wydzielanych przez aparat sekrecyjny (rodzaj „molekularnej strzykawki”) zbudowany przez różne białka, głównie produkty genów wyspy patogenności SPI-1, chociaż nie wszystkie kodowane są przez geny tej wyspy [51]. Na przykład, dotychczas udokumentowano, że aktywność sześciu białek efektorowych, takich jak SipA, SopA, SopB, SopD, SopE, SopE2 [40, 48], jest niezbędna do skutecznego wnikania pałeczek *Salmonella* do komórek nabłonka, przy czym tylko jedno z nich (białko SipA) jest kodowane przez geny wyspy SPI-1. Informacja genetyczna dotycząca pozostałych pięciu białek zawiera się w niezależnych loci znajdujących się poza SPI-1. Lista nowo wykrywanych białek efektorowych staje się z roku na rok coraz dłuższa, tak że wyjaśnienie ich współdziałania nie będzie łatwym zadaniem.

Jak już wspomniano, geny wyspy SPI-2, stanowiącej liczący ~40 kbp region DNA (wielkością zbliżonej do wyspy SPI-1), również kodują system sekrecji typu III (TTSS-2). Jego aktywność zapewnia drobnoustrojom możliwość namnażania się we wnętrzu wakuoli zwanych SCVs (*Salmonella*-containing vacuoles), znajdujących się w komórkach zakażonego gospodarza i chroni przed naturalnymi mechanizmami obronnymi [46]. Bakterie *Salmonella* wypracowały sobie różne mechanizmy, regulujące intensywność ich namnażania się we wnętrzu SCVs w zależności od rodzaju komórki gospodarza [18]. Z kolei, w zależności od etapu infekcji, wykorzystują różne mechanizmy pozwalające uniknąć lizosomalnej degradacji. Jak wykazały najnowsze badania, mogą to robić również poprzez zmniejszenie liczby lizosomów we wnętrzu zakażonej komórki, w stosunku do rosnącej liczby SCVs [17]. Osiągnięcie takiego stanu jest możliwe w wyniku podziałów SCVs w sposób zapewniający każdej pojedynczej komórce bakteryjnej odrębną wakuolę. W rezultacie liczba SCVs wzrasta w obrębie komórki gospodarza wraz z podziałem bakterii *Salmonella*, powodując brak równowagi w stosunku do liczby lizosomów, co sprzyja przeżywalności i namnażaniu się tych bakterii we wnętrzu zakażonej komórki. W skład systemu TTSS-2 wchodzi

geny kodujące białka o rozmaitych funkcjach. Są to białka regulatorowe (SsrA i SsrB) – tworzące dwuskładnikowy układ kontrolny, białka strukturalne budujące aparat sekrecyjny, białka budujące tzw. translokon (SseB, SseC, SseD) – prawdopodobnie wbudowane w błonę wakuoli, co najmniej trzy białka opiekuńcze oraz kilka białek efektorowych (SipC, SseF i SseG). System sekrecyjny TTSS-2 bierze także udział w transporcie białek efektorowych kodowanych poza obszarem wyspy patogenności SPI-2. Wiele kodujących je genów, to także geny nabyte na drodze horyzontalnego transferu, podlegające skoordynowanej kontroli przez dwuskładnikowy system regulacyjny SsrA/SsrB. Nie wielu białkom efektorowym udało się przypisać konkretne funkcje, chociaż wykazano ich przemieszczanie się do tzw. wyrostków Sifs (*Salmonella*-induced filaments), charakterystycznych, rurkowatych agregatów błon (wynik fuzji endosomów komórki gospodarza z SCV), których powstawanie jest indukowane przez patogen (białko efektorowe SifA systemu sekrecji TTSS-2) [8] lub do cytozolu komórki gospodarza. Rola jaką odgrywają wyrostki Sifs nie jest do końca jasna. Wykazano jedynie, że ich wytwarzanie ma związek z szybką, wewnątrzkomórkową proliferacją bakterii [2]. Skoordynowana działalność białek efektorowych kodowanych przez geny wyspy SPI-2 moduluje wiele procesów, między innymi ruch wewnątrz endosomów, dynamikę przebudowy błony SCV, apoptozę, aktywność zależnej od NADPH (zredukowana forma fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego) oksydazy oraz przemieszczanie syntazy NO, indukowanego enzymu przeprowadzającego reakcję syntezy tlenu azotu (II) z reszty azotowej aminokwasu L-argininy w obecności NADPH i tlenu cząsteczkowego.

Funkcje genów pozostałych wysp patogenności nie zostały jeszcze do końca poznane, choć znamy sekwencję nukleotydową tych wysp. Wszystkie odgrywają rolę w modulowaniu przebiegu patogenezy (przeżywalność w makrofagach, aktywacja neutrofilii), kodując między innymi białka związane z procesem zdobywania jonów magnezu (Mg^{2+}), białka efektorowe transportowane przez systemy sekrecyjne TTSS-1 i TTSS-2, toksyny z grupy hemolizyn i wiele innych. Na przykład, jak do tej pory udało się wykazać, iż spośród 18 genów wyspy SPI-13, produkty jedynie trzech genów *gacD*, *gtrA* i *gtrB*, a w przypadku wyspy SPI-14, produkty tylko dwóch genów (*gpiAB*) determinują zjadliwość. Decydują one o wirulencji pałeczek *Salmonella* Gallinarum przy zakażeniu 1-dniowych kurcząt [43].

Wyspy patogenności bakterii *Salmonella* zawierają geny strukturalne, odpowiedzialne za białka efektorowe oraz geny regulatorowe, będące pod kontrolą ogólnych systemów regulacji stymulowanych czynnikami środowiska [1, 13, 31]. Jednym z najważniejszych, dwuskładnikowych układów regulatorowych, warun-

kującym wirulencję bakterii *Salmonella* jest system PhoP/PhoQ. Układ ten reguluje (bezpośrednio lub za pośrednictwem innych dwuskładnikowych systemów regulatorowych) aktywność około 40 genów (w większości geny wirulencji), co stanowi 1% wszystkich otwartych ramek odczytu (ORF, open reading frame) zidentyfikowanych w genomie *Salmonella*. Ogólne systemy regulacji, takie jak dwuskładnikowe układy PhoP/PhoQ, OmpR/EnvZ i BarA/SirA oraz system tworzenia rzęsek mają wpływ na ekspresję genów wyspy SPI-1. Wspólnie integrują bodźce środowiskowe, które mają wpływ na bakterie *Salmonella* obecne w jelicie, takie jak mała zawartość tlenu, umiarkowane pH, wysoka osmolarność i obecność krótkich łańcuchów kwasów tłuszczowych, prowadząc do ekspresji genów odpowiedzialnych za inwazję.

2.2. Inne wyspy genomowe bakterii *Salmonella* o cechach charakterystycznych dla wysp patogenności

Wśród pozostałych wysp genomowych zidentyfikowanych u pałeczek *Salmonella*, znajduje się wyspa genomowa I (SGI-1, *Salmonella* genomic island), którą wielu autorów, ze względu na obecność pewnych charakterystycznych cech zalicza również do wysp patogenności tych bakterii [5, 25, 36]. W obrębie wyspy SGI-1 wykazano obecność genów związanych z mobilnością DNA, takich jak geny kodujące transpozazę, integrazę, czy białko Xis (excisionase), odpowiedzialne za proces wycinania. Zarejestrowano również podobieństwo sekwencji nukleotydowej DNA do transpozonów i sekwencji insercyjnych. Wyspa SGI-1, wielkości 43 kbp (48,4% G+C), oflankowana sekwencjami DR (podobnymi do występujących u wysp patogenności), zawiera zespół genów kodujących oporność na co najmniej pięć antybiotyków: ampicylinę, chloramfenikol, streptomycynę, tetracyklinę i sulfonamidy. W przeciwieństwie do lokalizacji większości wysp patogenności, miejsce integracji wyspy SGI-1 z chromosomem bakteryjnym nie sąsiaduje z genami t-RNA [5]. Miejsce insercji SGI-1 wyznaczają geny *thdF-yidY*. Obecność tej charakteryzującej się niestabilnością wyspy, wykazano po raz pierwszy wśród epidemicznych, wielolekoopornych (MDR, multidrug resistant) szczepów *Salmonella* Typhimurium prezentujących typ bakteriofagowy DT104 (DT, definitive type) [4]. Wiele różnych wariantów wyspy SGI-1 (SGI1-A do SGI1-N) zarejestrowano również wśród szczepów MDR *Salmonella* Typhimurium DT120, DT193, U302, jak również u nie typujących się szczepów *Salmonella* Typhimurium oraz u przedstawicieli trzynastu innych serowarów *Salmonella enterica*, takich jak na przykład *Salmonella* Paratyphi B, *Salmonella* Derby, *Salmonella* Infantis, *Salmonella* Newport,

Salmonella Agona i innych [5, 11, 30, 32]. Ostatnio rozpoznano nowy wariant wyspy SGI-1 w szczepie *Salmonella enterica* serowar Albany, w którym gen kodujący oporność na streptomycynę został zastąpiony przez gen oporności na trimetoprim [14]. Wśród ORFs rozpoznanych w obrębie wyspy SGI-1, jak do tej pory, nie udało się wykazać sekwencji, których produkty miałyby bezpośredni związek z patogenezą i które mogłyby wytłumaczyć zwiększoną zjadliwość zaobserwowaną u noszących ją szczepów MDR *Salmonella* Typhimurium DT104, przy czym cecha ta nie wydaje się korelować z inwazyjnością [5]. Oporne szczepy *Salmonella* Typhimurium DT104 nie były bardziej inwazyjne niż szczepy wrażliwe. Sugeruje się, iż hiperwirulencja tych szczepów może być związana z obecnością 15 nie zidentyfikowanych jeszcze, potencjalnych ORFs, które nie wykazują homologii do sekwencji żadnego ze znanych genów, mogą jednak kodować produkty funkcjonujące jako potencjalne czynniki wirulencji. Wyspa SGI-1 jest zdolnym do integracji, mobilnym elementem, który *in vitro* może być przenoszony pomiędzy serowarami poprzez koniugację i dlatego wyspa SGI-1 prawdopodobnie przyczynia się do rozprzestrzeniania genów oporności na antybiotyki [15, 29]. Tą charakterystyczną dla bakterii *Salmonella* wyspę, jak i najnowszy jej wariant (SGI1-O), znaleziono również wśród szczepów *Proteus mirabilis* [7]. Jest to pierwszy drobnoustrój spoza rodzaju *Salmonella*, u którego wykazano jej obecność.

Kolejną, bardzo ważną wyspą występującą u bakterii *Salmonella* jest typowa wyspa patogenności zwana „high pathogenicity island” (HPI). Po raz pierwszy zidentyfikowano ją u *Yersinia pestis*. Obecność HPI wykazano również wśród wysoce wirulentnych szczepów *Yersinia enterocolitica* i *Yersinia pseudotuberculosis* [9]. Występuje również u wielu innych przedstawicieli rodziny *Enterobacteriaceae*, a jej obecność wydaje się mieć związek ze zdolnością wywoływania posocznicy. Wyspa HPI umożliwia również biosyntezę związku chelatującego żelazo w warunkach niedoboru tego pierwiastka [37]. W przypadku bakterii *Salmonella*, jej obecność, jak do tej pory, zarejestrowano wyłącznie wśród przedstawicieli *Salmonella enterica* subspecies IIIa, IIIb i VI. Wykazano istnienie szczepów *Salmonella* z wyspą HPI zlokalizowaną w sąsiedztwie *asp* t-RNA oraz takich, w których miejsce insercji wyspy do chromosomu nie graniczyło z genami t-RNA [37].

3. Podsumowanie

Zachorowania będące wynikiem zakażeń bakteriami *Salmonella* różnią się swoim obrazem klinicznym, w zależności od serowaru *Salmonella* i rodzaju zakażonego gospodarza. Chociaż różnorodne serowary

Salmonella są tak bardzo zbliżone do siebie pod względem zawartości informacji genetycznej (od 97,6% do 99,5% zgodności), to jednak genomika porównawcza *in silico* szczepów o zsekwencjonowanych genomach oraz analiza genomów różnych serowarów wykazała istniejące między nimi subtelne różnice. Występujące pojedynczo lub w zwartych blokach geny, specyficzne dla konkretnych szczepów, stanowią około 10% ich genomu. Prawdopodobnie zostały one wprowadzone do genomu na drodze horyzontalnego transferu genów. Wiele spośród ważnych czynników niezbędnych do wywołania infekcji przez pałeczki *Salmonella*, kodowanych jest właśnie przez takie geny, zawierające się w wydzielonych, wyraźnie widocznych regionach chromosomu zwanych wyspami patogenności bakterii *Salmonella* (SPIs). Dotychczas zidentyfikowano 14 takich wysp, które oznaczono odpowiednio symbolami od SPI-1 do SPI-14, chociaż wykazano również obecność wielu innych wysp genomowych *Salmonella*, o cechach charakterystycznych dla wysp patogenności. Różnice w składzie, funkcji i dystrybucji tych wysp, występujące pomiędzy różnymi serowarami i podgatunkami *Salmonella enterica*, mają wpływ na cechy charakterystyczne różnych serowarów. Mogą również kształtować specyficzność poszczególnych serowarów *Salmonella* względem zakażanych gospodarzy. Niektóre zawarte w wyspach geny, mające istotne znaczenie dla patogenezы w określonym układzie serowar/gospodarz, są nieobecne lub zmutowane w innych serowarach. Bakterie *Salmonella*, które swoją pierwszą wyspę patogenności nabyły miliony lat temu, ciągle ewoluują, czego najlepszym dowodem jest pojawienie się stosunkowo niedawno, epidemicznych szczepów *Salmonella* Typhimurium posiadających wyspę oporności na antybiotyki SGI-1. W niniejszej pracy opisano charakterystyczne cechy różnych wysp patogenności bakterii *Salmonella* (wielkość, procentową zawartość guaniny i cytozyny, miejsce insercji, występowanie, stabilność, działanie wirulentne) oraz częściowo omówiono ewolucję, strukturę, regulację ekspresji genów, białka efektorowe i funkcję niektórych z tych wysp.

Piśmiennictwo

1. Andrews-Polymenis H., Dorsey C.W., Raffatellu M., Bäuml A.J.: In vivo identification, expression and function of *Salmonella* virulence genes. (w) *Salmonella* infections. Clinical, immunological and molecular aspects. Red. P. Mastroeni, D. Maskell, Cambridge Univ. Press, Cambridge UK, 2006, s. 173–206
2. Birmingham C.L., Jiang X., Ohlson M.B., Miller S.I., Brumel J.H.: *Salmonella*-induced filament formation is a dynamic phenotype induced by rapidly replicating *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in epithelial cells. *Infect. Immun.* **73**, 1204–1208 (2005)

3. Blattner F.R., Shao Y. i wsp.: The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*, **227**, 1453–1447 (1997) (praca jest dziełem 17 autorów)
4. Boyd D.A., Peters G.A., Ng L-K., Mulvey M.R.: Partial characterization of a genomic island associated with the multidrug resistance region of *Salmonella enterica* Typhimurium DT104. *FEMS Microbiol. Lett.* **189**, 285–291 (2000)
5. Boyd D., Peters G.A., Cloeckaret A., Boumedine K.S., Chaslus-Dancla E., Imberechts H., Mulvey M.R.: Complete nucleotide sequence of a 43-kilobase genomic island associated with multidrug resistance region of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 and its identification in phage type DT120 and serovar Agona. *J. Bacteriol.* **183**, 5725–5732 (2001)
6. Boyd E.F., Porwollik S., Blackmer F., McClelland M.: Differences in gene content among *Salmonella enterica* serovar Typhi isolates. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 3823–3828 (2003)
7. Boyd D.A., Shi X., Hu Q., King Ng L., Doublet B., Cloeckaert A., Mulvey M.R.: *Salmonella* genomic island 1 (SGI1), variant SG1-I, and new variant SGI1-O in *Proteus mirabilis* clinical and food isolates from China. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**, 340–344 (2008)
8. Brumell J.H., Tang P., Mills S.D., Finlay B.B.: Characterization of *Salmonella*-induced filaments (Sifs) reveals a delayed interaction between *Salmonella*-containing vacuoles and late endocytic compartments. *Traffic*, **2**, 643–653 (2001)
9. Carniel E.: The *Yersinia* high-pathogenicity island: an iron-uptake island. *Microb. Infect.* **3**, 561–569 (2001)
10. Chiu C.-H., Tang P., Chu C., Hu S., Bao Q., Yu J., Chou Y.-Y., Wang H.-S., Lee Y.-S.: The genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis, a highly invasive and resistant zoonotic pathogen. *Nucl. Acids Res.* **33**, 1690–1698 (2005)
11. Chiu C-H., Chen H-L., Kao L-S., Yang C-Y., Chu C., Doublet B., Praud K., Cloeckaert A.: Variant *Salmonella* genomic island 1 antibiotic resistance gene clusters in *Salmonella enterica* serovar Derby isolates from humans in Taiwan. *J. Antimicrob. Chemother.* **59**, 325–326 (2007)
12. Deng W., Liou S.R., Plunkett G., 3rd, Mayhew G.F., Rose D.J., Burland V., Kodoyianni V., Schwartz D.C., Blattner F.R.: Comparative genomics of *Salmonella enterica* serovar Typhi strains Ty2 and CT18. *J. Bacteriol.* **185**, 2330–2337 (2003)
13. Dorman C.J., Crüinin T.Ó., Mangan M.W.: Virulence gene regulation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. (w) *Salmonella*. Molecular biology and pathogenesis, red. M. Rhen, D. Maskell, P. Mastroeni, J. Threlfall, Horizon Bioscience, Norfolk UK, 2007, s. 105–126
14. Doublet B., Lailier R., Meunier D.: Variant *Salmonella* genomic island 1 antibiotic resistance gene cluster in *Salmonella enterica* serovar Albany. *Emerg. Infect. Dis.* **9**, 585–591 (2003)
15. Doublet B., Boyd D., Mulvey M.R., Cloeckaert A.: The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable element. *Mol. Microbiol.* **55**, 1911–1924 (2005)
16. Dobrindt U., Hochhut B., Hentschel U., Hacker J.: Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. *Nat. Rev. Microbiol.* **2**, 414–424 (2004)
17. Eswarappa S.M., Negi V.D., Chakraborty S., Sagar B.K.C., Chakravorty D.: Division of the *Salmonella*-containing vacuole and depletion of acidic lysosomes in *Salmonella*-infected host cells are novel strategies of *Salmonella enterica* to avoid lysosomes. *Infect. Immun.* **78**, 68–79 (2010)
18. Garcia-del Portillo F., Núñez-Hernández C., Eisman B., Ramos-Vivas J.: Growth control in the *Salmonella*-containing vacuole. *Curr. Opin. Microbiol.* **11**, 46–52 (2008)
19. Gerlach R.G., Cláudio N., Rohde M., Jäckel D., Wagner C., Hensel M.: Cooperation of *Salmonella* pathogenicity island 1 and 4 is required to breach epithelial barriers. *Cell. Microbiol.* **10**, 2364–2376 (2008)
20. Groisman E., Ochman H.: Pathogenicity islands: bacterial evolution in quantum leaps. *Cell*, **87**, 791–94 (1996)
21. Groisman E., Ochman H.: How *Salmonella* became a pathogen. *Trends Microbiol.* **5**, 343–349 (1997)
22. Hacker J., Blum-Oehler G., Muhldorfer I., Tschape H.: Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. *Mol. Microbiol.* **23**, 1089–1097 (1997)
23. Hacker J., Knapp S., Goebel W.: Spontaneous deletions and flanking regions of the chromosomally inherited hemolysin determinant of an *Escherichia coli* O6 strain. *J. Bacteriol.* **154**, 1145–1152 (1983)
24. Hensel M., Nikolaus T., Egelseer C.: Molecular and functional analysis indicates a mosaic structure of *Salmonella* pathogenicity island 2. *Mol. Microbiol.* **31**, 489–498 (1999)
25. Hensel M.: Pathogenicity islands and virulence of *Salmonella enterica* (w) *Salmonella* infections. Clinical, immunological and molecular aspects. Red. P. Mastroeni, D. Maskell, Cambridge Univ. Press, Cambridge UK, 2006, s. 146–172
26. Janakiraman A., Slauch J.M.: The putative iron transport system SitABCD encoded on SPI1 is required for full virulence of *Salmonella typhimurium*. *Mol. Microbiol.* **35**, 1146–1155 (2000)
27. Kehres D.G., Janakiraman A., Slauch J.M., Maguire M.E.: SitABCD is the alkaline Mn²⁺ transporter of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J. Bacteriol.* **184**, 3159–3166 (2002)
28. Kolyva S., Waxin H., Popoff M.Y.: The Vi antigen of *Salmonella typhi*: molecular analysis of the *viaB* locus. *J. Gen. Microbiol.* **138**, 297–304 (1992)
29. Levings R.S., Lightfoot D., Partridge S.R., Hall R.M., Djordjevic S.P.: The genomic island SGII, containing the multiple antibiotic resistance region of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 or variants of it, is widely distributed in other *S. enterica* serovars. *J. Bacteriol.* **187**, 4401–4409 (2005)
30. Levings R.S., Partridge S.R., Djordjevic S.P., Hall R.M.: SGII-K, a variant of the SGII island carrying a mercury resistance region, in *Salmonella enterica* serovar Kentucky. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**, 317–323 (2007)
31. Lukas R.L., Lee C.A.: Unravelling the mysteries of virulence gene regulation in *Salmonella typhimurium*. *Mol. Microbiol.* **36**, 1024–1033 (2000)
32. Majtánová L., Majtán T., Majtán V.: Detection of class 1 integron and SGII among *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104, U302, DT120, DT193, and nontypable human isolates. *Jpn. J. Infect. Dis.* **63**, 292–295 (2010)
33. McClelland M., Wilson R.K. i wsp.: Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2. *Nature*, **413**, 852–856 (2001) (praca jest dziełem 25 autorów)
34. McClelland M., Wilson R.K. i wsp.: Comparison of genome degradation in Paratyphi A and Typhi human-restricted serovars of *Salmonella enterica* that cause typhoid. *Nat. Genet.* **36**, 1268–1274 (2004) (praca jest dziełem 35 autorów)
35. Mills D.M., Bajaj V., Lee C.A.: A 40 kb chromosomal fragment encoding *Salmonella typhimurium* invasion genes is absent from the corresponding region of the *Escherichia coli* K-12 chromosome. *Mol. Microbiol.* **15**, 749–759 (1995)
36. Morgan E.: *Salmonella* pathogenicity islands (w) *Salmonella*. Molecular biology and pathogenesis. Red. M. Rhen, D. Maskell, P. Mastroeni, J. Threlfall, Horizon Bioscience, Norfolk UK, 2007, s. 67–88

37. Oelschlaeger T.A., Zhang D., Schubert S., Carniel E., Rabsch W., Karch H., Hacker J.: The high-pathogenicity island is absent in human pathogens of *Salmonella enterica* subspecies I but present in isolates of subspecies III and VI. *J. Bacteriol.* **185**, 1107–1111 (2003)
38. Parkhill J., Barrell B.G. i wsp.: Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18. *Nature*, **413**, 848–852 (2001) (praca jest dziełem 42 autorów)
39. Pickard D., Wain J., Baker S.: Composition, acquisition, and distribution of the Vi exopolysaccharide-encoding *Salmonella enterica* pathogenicity island SPI-7. *J. Bacteriol.* **185**, 5055–5065 (2003)
40. Raffatellu M., Tükel Ç., Chessa D., Wilson R.P., Bäumlner J.: The intestinal phase of *Salmonella* infections (w) *Salmonella*. Molecular biology and pathogenesis. Red. M. Rhen, D. Maskell, P. Mastroeni, J. Threlfall, Horizon Bioscience, Norfolk UK, 2007, s. 31–51
41. Saroj S.D., Shashidhar R., Karani M., Bandekar J.R.: Distribution of *Salmonella* pathogenicity island (SPI)-8 and SPI-10 among different serotypes of *Salmonella*. *J. Med. Microbiol.* **57**, 424–427 (2008)
42. Sánchez-Jiménez M.M., Cardona-Castro N., Canu N., Uzzau S., Rubino S.: Distribution of pathogenicity islands among Colombian isolates of *Salmonella*. *J. Infect. Dev. Ctries.* **4**, 555–559 (2010)
43. Shah D.H., Lee M.J., Park J.H., Lee J.H., Eo S.K., Kwon J.T., Chae J.S.: Identification of *Salmonella gallinarum* virulence genes in a chicken infection model using PCR-based signature-tagged mutagenesis. *Microbiology*, **151**, 3957–3968 (2005)
44. Schmidt H., Hensel M.: Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin. Microbiol. Rev.* **17**, 14–56 (2004)
45. Tran Q.T., Gomez G., Khare S., Lawhon S.D., Raffatellu M., Bäumlner A.J., Ajithdoss D., Dhavala S., Adams L.G.: The *Salmonella enterica* serotype Typhi Vi capsular antigen is expressed after the bacterium enters the ileal mucosa. *Infect. Immun.* **78**, 527–535 (2010)
46. Waterman S.R., Holden D.W.: Functions and effectors of the *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system. *Cell. Microbiol.* **5**, 501–511 (2003)
47. Zaharik M.L., Cullen V.L., Fung A.M., Libby S.J., Kujat Choy S.L., Cobrun B., Kehres D.G., Magure M.E., Fang F.C., Finlay B.B.: The *Salmonella enterica* serovar Typhimurium divalent cation transport systems MntH and SitABCD are essential for virulence in an *Nramp1*^{G169} murine typhoid model. *Infect. Immun.* **72**, 5522–5525 (2004)
48. Zhang S., Kingsley R.A., Santos R.L., Andrews-Polymenis H., Raffatellu M., Figueiredo J., Nemes J., Tsois R.M., Adams L.G., Bäumlner A.J.: Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium-induced diarrhea. *Infect. Immun.* **71**, 1–12 (2003)
49. Zhang X.L., Morris C., Hackett J.: Molecular cloning, nucleotide sequence, and function of a site-specific recombinase encoded in the major “pathogenicity island” of *Salmonella typhi*. *Gene*, **202**, 139–146 (1997)
50. Zhou D., Hardt W.D., Galan J.E.: *Salmonella typhimurium* encodes a putative iron transport system within the centisome 63 pathogenicity island. *Infect. Immun.* **67**, 1974–1981 (1999)
51. Zhou D., Galan J.: *Salmonella* entry into host cells: the work in concert of type III secreted effector proteins. *Microb. Infect.* **3**, 1293–1298 (2001)