

BAKTERİLERDE TİP III SEKRESYON SİSTEMLERİ VE PATOJENİTE ADALARI

TYPE III SECRETION SYSTEMS AND PATHOGENICITY ISLANDS IN BACTERIA

*Alpaslan ALP**

Özet: Bakteriyel virulans faktörlerinin genetik analizi sonucunda, patojen ajanların, patojenite adaları denen özel patojenite genlerinin varlığı ile, nonpatojen ajanlardan ayrıldığı gösterilmiştir. Patojenite adaları, yatay genetik transfer ile kazanılabilen gen kümeleridir. Bakteri genomu içine sokulmuş DNA segmentleri olan patojenite adaları, tip III sekresyon sistemi denen patojenite mekanizmasını kodlarlar. Tip III sekresyon sistemi gram-negatif bakterilerin patojenite proteinlerini salgılamalarını ve bunların konak hücreler içine sokulmasını sağlar. Bu virulans faktörleri normal konak hücre fonksiyonlarını, bakterilerin yararına olacak şekilde bozarlar. Tip III sekresyon sistemleri ve patojenite adalarının, bilinen patojenlerin evrimleşmesinde ve gelecekte de yeni enfeksiyon hastalıklarının oluşmasında önemli rolleri olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Tip III sekresyon sistemi, patojenite adası.

Summary: Genetic analysis of bacterial virulence factors has shown that pathogens are distinguished from their nonpathogenic relatives by the presence of specific pathogenicity genes, organized in pathogenicity islands, clusters of genes which have been acquired during evolution via horizontal genetic transfer. They are inserted DNA segments and together encode a pathogenicity mechanism termed type III secretion system. Type III secretion system enables gram-negative bacteria to secrete and inject pathogenicity proteins into the cytosol of eukaryotic host cells. These virulence factors subvert normal host cell functions in ways that seem beneficial to invading bacteria. Type III secretion systems and pathogenicity islands must have played critical roles in the evolution of known pathogens and are likely to lead to the emergence of novel infectious diseases in the future.

Key words: Type III secretion system, pathogenicity island.

GİRİŞ

Son yıllarda mikrobiyal patojenite üzerinde yapılan çalışmalar, moleküler ve genetik temeller üzerinde yoğunlaşmaktadır. Eskiden mikroorganizmaların sebep olduğu her hastalığın değişik moleküler mekanizmalarla oluştuğu düşünülmekteydi. Fakat daha

* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

sonraları moleküler mekanizma spektrumunun düşünül­düğü kadar geniş olmadığı, aksine bakterilerin bazı ortak mekanizmaları kullandığı anlaşılmıştır. Tip III sekresyon sistemleri ve patojenite adaları, bu moleküler mekanizmaların temelini oluşturan iki önemli kavramdır¹. Tip III sekresyon sistemleri, bakterinin virulans faktörlerini direkt olarak konak hücrede etkin kılabilmesini sağlamaktadır. Patojenite adaları ise bakterilerin kompleks virulans özelliklerini tek basamakta kazanmalarını sağlamaktadır.

Virulans genleri üzerinde çalışan araştırmacılar bu genlerin birçoğunun plazmid veya fajlarda bulunduğunu göstermişlerdir. Ancak bu genlerin, patojen mikroorganizmalar tarafından konak hücrede meydana getirilen fizyolojik değişikliklerin hepsinden sorumlu olmadığı görülmüştür. Kromozomal lokalizasyonu saptamak amacıyla yapılan çalışmalarda virulans genlerinin fonksiyonel olarak ilişkili gruplar halinde kümelendikleri görülmüştür. Ayrıca bu grupların DNA dizi özellikleri organizmanın genomundan farklı olduğu için, bunların başka organizmalardan kazanıldığı düşün­lmüştür¹. Bu gözlemler sonucunda patojenite adaları kavramı ortaya atılmıştır. Patojenite adaları, virulans özelliklerini kodlayan ve genellikle yabancı kökenli olan farklı DNA segmentleri şeklinde tanımlanmaktadır.

Bazı virulans genlerinin hem plazmid hem de patojenite adaları üzerinde birkaç kez görülebildiği gösterilmiştir. Bitki ve hayvan patojenlerinde gösterilmiş olan bu genlerin, patojenik bir *Yersinia* türünün virulans plazmidinde bulunan genlerle homoloji gösterdiği anlaşılmıştır. *Yersinia* proteinleri tip III sekresyon sisteminin parçalarıdır. Bu mekanizma etkin molekülleri konak hücreye doğru iter ve böylece konak hücre fizyolojisi değiştirilir². Genlerde görülen homoloji, birçok değişik bakteriyel patojenin aynı kaynaktan benzer sistemleri kazandığını düşündürmektedir. Patojen bakteriler tip III sekresyon sistemleri sayesinde değişik etkin moleküller salgılayarak konak hücreleri çeşitli yollarla etkilerler.

Bakterilerde Sekresyon Sistemleri

Bakteri yüzeyinde bulunan veya salgılanan bakteriyel proteinlerin bakteri-konak hücre etkileşimlerinde önemli rol oynadıkları eskiden beri bilinmektedir. Gram negatif bakterilerde bu proteinler iki membrandan geçmek zorundadır. Bunlar, sitoplazmayı çevreleyen iç zar ve periplazmayı çevreleyerek dış ortama karşı bir bariyer oluşturan dış zardır. Genel sekresyon yolağı (pathway) proteinleri periplazmaya salgılar. *Yersinia* sekresyon sistemi tanımlanmadan önce tip I ve tip II sekresyon sistemlerinin hücre yüzeyine moleküllerin taşınmasını sağladıkları bilinmekteydi¹. Tip I sekresyon sisteminde proteinler genel sekresyon yolağından bağımsız bir şekilde direkt olarak sitoplazmadan hücre yüzeyine geçerler. Tip II sekresyon sisteminde ise proteinler periplazmaya ulaşmak için genel sekresyon yolağını kullanır ve daha sonra dış zardan kanal proteinleri vasıtasıyla geçerler. Her iki sistemde de patogene­zde rol alan proteinler de dahil olmak üzere, değişik fonksiyonlara sahip proteinler salgılanır.

Tip III sekresyon sistemi etkin molekülleri direkt olarak sitoplazmadan hücre yüzeyine taşır ve böylece bu moleküller konak hücre proteinlerini etkileyerek değişikliklere yol açarlar¹. Bu tek basamaklı sekresyon sistemindeki mekanizma tip I sistemi ile benzerlik göstermektedir. Tip III sekresyon sisteminin birçok kısmını kodlayan genler, gram negatif ve gram pozitif bakterilerin flajella oluşma mekanizmasını kodlayan genlerle homoloji göstermektedir. Aslında bu iki mekanizmanın birçok yapısal ve fonksiyonel özellikleri benzerdir. Farklılık dış membranda görülmektedir. Flajeller komponentler flajellumun bir parçası olan dış halka yapısı içinden geçerken, patojenik etkin moleküller dış zarı tip II sekresyon sistemindekine benzer bir protein kanalı içinden geçerler³.

Tip I ve tip II sekresyon sistemlerinin tersine, tip III sekresyon sistemi patojen ile konak hücre yakın temasta bulduklarında aktive olur. Bu nedenle tip III sekresyon sistemine "temasa bağımlı sekresyon sistemi" de denir². Isı, büyüme fazı ve tuz konsantrasyonu, sekresyon ve etkin moleküllerin sentezini etkileyen çevresel faktörlerdir. Patojen, doku kültür hücreleri ile yakın temasta olduğunda etkin moleküller bakteri dış yüzeyine doğru yönelerek flajella benzeri yapılar oluştururlar. Bazen bakteri konak hücreye bağlanır ve bu moleküller konak hücreye geçerler. Etkin moleküller konak hücre fonksiyonlarında değişikliklere neden olur ve böylece patojenin yaşama ve çoğalma şansı artar⁴.

Yersinia Türlerinde Tip III Sekresyon Sistemlerinin Kullanımı

Tip III sekresyon sistemini kullanan bakteriyel patojenler içinde üzerinde en çok çalışılanlar *Yersinia pestis* ve bazı enteropatojenlerdir (*Yersinia* türleri, *Salmonella* türleri, *Shigella* türleri ve EPEC).

Yersinia türleri etkin molekülleri ile immün hücrelerin anahtar fonksiyonlarını bozar ve onları etkisiz hale getirirler. Bu bakteriler doku kültürü hücrelerine bağlandığında 10 civarında etkin molekül salgılanır ve bunların en az üçü hücrelerin içine salınır. Bunlardan iki tanesi, YopE ve YopH, makrofaj proteinlerini modifiye eder ve bakterileri öldürme yeteneklerini zedeler². Hastalık süresince immün hücreler bu etkin moleküller tarafından nötralize edilir. Böylece *Yersinia* türleri retiküloendotelial sistemde gelişme imkanı bulur.

Yersinia etkin molekülleri normal hücresel fonksiyonları bozarken, *Shigella* türleri ve bir *Salmonella* türünün tip III sekresyon sistemi (SPI I lokalizasyonlu genler tarafından kodlanan), hücreleri uyararak kendi fonksiyonlarına ek olarak başka fonksiyonlarda bulunmalarını sağlar⁵. Epitel doku kültürü sistemlerinde yapılan çalışmalarda bu bakterilerin tip III sekresyon sistemince salgılanan etkin molekülleri kullanarak non-fagositik hücrelere girdikleri görülmüştür⁶.

S. typhimurium'da gen dizisi homolojisine dayanarak ikinci bir tip III sekresyon sistemi tanımlanmıştır. Bu sistem SPI II bölgesindeki genler tarafından

kodlanmaktadır. SPI II'deki genler, SPI I'dekilerin aksine, giriş yolu ne olursa olsun enfeksiyon oluşması için gereklidirler. SPI II genleri ile kodlanan faktörler, konak dalağında bakterinin çoğalmasında fonksiyon görürler⁷.

Sekresyon sistemlerinin ortak bir özelliği, moleküllerin membranlardan geçirilebilmesi için enerjiye ihtiyaç duyulmasıdır. *Yersinia* sekresyon sisteminde sadece bir protein, YscN, ATP hidrolizi yaparak enerji sağlayabilir⁸. YscN iç membranla yakın ilişkide olan bir sitoplazmik proteindir.

Sekresyon için gerekli proteinlerden LcrD, YscD, R, S, T ve U iç membranda yer alırlar. Dış zarda sadece bir protein, YscC ve iki lipoprotein, YscJ ve VirG bulunur⁹. YscE, F, G, I, K ve L'nin rol ve yerleri bilinmemektedir. Etkin moleküllerin sentez ve sekresyonu için sekresyon sisteminin doğru olarak oluşturulması gereklidir. Eğer sistemin bir parçası eksik kalırsa etkin molekül üretimi değişikliğe uğrayacaktır.

YopB ve YopD proteinleri dış membrana zayıf şekilde bağlıdır ve etkin moleküllerin hedef hücrelere salınmasında önemli rol oynarlar. Bu iki protein bakteri hücre yüzeyine ulaşmak için tip III sekresyon sistemini kullanır. Kanal oluşturan toksinlerle homoloji gösteren YopB ile YopD olmazsa etkin moleküller salınabilir, fakat konak hücreler içine verimli olarak giremezler. Bu nedenle konak hücreler üzerindeki etkileri çok sınırlı kalır. YopB ve YopD'nin memeli hücrelerde bir kanal oluşturarak etkin moleküllerin geçmesini sağladıkları düşünülmektedir¹⁰.

"Chaperon" adı verilen bazı proteinler bakteri sitoplazmasında etkin moleküllere bağlanarak sekresyonda önemli rol oynarlar¹¹. Bunların bağlanmasıyla proteinlerin stabilize olması sağlanır; böylece proteinlerin katlanarak sekresyonu önleyecek konformasyonlara dönmeleri önlenir. Ayrıca *Shigella*'da olduğu gibi, etkin moleküllerin sekresyon öncesinde birbirleri ile etkileşmeleri de önlenmiş olur. Chaperon proteinleri moleküllerin sekresyon sistemine taşınmasına da yardımcı olabilirler.

Yersinia tip III sekresyon sisteminin sentezi ve buradan yapılan sekresyonlar, feedback kontrolü dışında, çevresel değişimlere duyarlı iki sistem tarafından düzenlenir. VirF ve YmoA'yı kapsayan ısıya duyarlı bir sistem, sekresyon aparatının sentezini 37°C'de aktive eder. Konak hücre temasına duyarlı bir sistem de *Yersinia* hedef hücreye bağlandığında tip III sisteminin sentezini ve buradan sekresyonu artırır. Bu düzenleyici sisteme "düşük kalsiyum yanıtı sistemi" denir. Düşük kalsiyum miktarı, hücre teması ile oluşan bazı sinyalleri taklit eder (YopN, LcrG, LcrQ). YopN dış membrana lokalizedir ve hücre temasını algılayarak bu sinyali sitoplazmaya geçirir¹². LcrG'nin rolü henüz anlaşılammıştır. LcrQ, Yop proteinlerinin baskılayıcısı olarak fonksiyon görür. *Yersinia* konak hücre ile yakın temasta olduğunda LcrQ tip III sekresyon ile sitoplazmadan salınır. Böylece intraselüler LcrQ konsantrasyonu düşer ve bunun sonucunda Yop proteinleri sentezi ve sekresyonu artar. Flajella sentezi kontrolü de aynı yolla olmaktadır¹³.

Yersinia sisteminin birçok yapısal komponenti Shigella, Salmonella ve enteropatojenik E.coli (EPEC)'de bulunanlarla benzer gen yapısı gösterir. Her sistemdeki proteinler karşılaştırıldığında, bazı çekirdek yapı komponentlerinin tüm tip III aparatlarında bulunduğu, bazılarının ise sadece birinde yer aldığı görülmüştür. Bu farklılıkların nedeni her sistemin özel fonksiyonuna dayandırılmaktadır⁸.

Tip III Sekresyon Sistemlerinin Orijini

Tip III sekresyon sistemindeki birçok protein (etkin proteinler, düzenleyici proteinler, yapısal proteinler ve chaperonlar) birlikte kümelenmiş birkaç büyük operona ait genler tarafından kodlanmaktadır. Bu operonlar bazı türlerde plazmidlerde, bazı türlerde de kromozomda bulunurlar. Bazı durumlarda, örneğin Shigella ve Salmonella-SPI I'de, operon içindeki genlerin sırası ile operonların birbirlerine göre düzeni aynı kalmıştır. Bu gözlemler tip III sistemlerinin bütünüyle kalıtımla geçebildiğini ve başka bakterilere de bütünüyle geçirilebileceğini düşündürmektedir. Tip III sekresyon sistemini kazanan bir bakteri değişik çevre ve konak şartlarına adapte olabilmektedir. Buna dayanarak, örneğin bir enteropatojenden tip III sekresyon sistemini kazanan bir deri kommensal bakterisinin, deri lenfoid dokusuna penetre olup orada yaşayabileceği düşünülmektedir¹¹.

Virulans faktörleri için orijinal tip III sekresyon sisteminin flajel oluşma sisteminden evrimleştiği düşünülmektedir. Bakteriyel flajellumun birçok eubacteria ve bazı archaeobacteria'larda bulunması, gram negatif bakterilerden daha önce ortaya çıktığını düşündürmektedir. Gram negatif bakterilerin de bugüne kadar tanımlanmış tip III virulans faktör sekresyon sistemlerine sahip tek konak olduğu düşünülürse, flajel oluşma sisteminden evrimleşme teorisi desteklenmektedir¹³.

Bilinen tip III sekresyon sistemlerinden hangisinin öncü sistem olduğunu bulmaya yönelik çalışmalar sonuçsuz kalmıştır. Örneğin Salmonella ve E. coli ortak bir atadan köken almışlar, daha sonra Shigella E. coli'den türemiştir. Bu nedenle Salmonella ve Shigella'daki tip III sistemleri farklıdır. Shigella tip III aparat dizisinde G+C sayısı, Salmonella ve toplam Shigella kromozomundakinden çok daha az olduğu için, Salmonella Shigella genlerinin kaynağı olamaz. Bu nedenle bu mekanizma ile etkin moleküller salgılayabilme özelliğinin her bakteri tarafından bağımsız bir şekilde kazanıldığı düşünülmektedir¹⁴.

Li ve arkadaşları¹⁴, evrimsel değişim hızı ile subseleler yerleşim arasında bir ilişki bulmuşlardır. Salınan birkaç proteini kodlayan genler, bakteriyel iç membranda lokalize birkaç proteine göre çok daha değişkendir (hipervariabilite). Genel olarak hipervariabilite, antijenik varyasyon veya farklı konak çevrelerine adaptasyonu yansıtırsa da, bu açıklamalar, üzerinde çalışılan proteinler için geçerli bulunmamıştır.

Tip III sekresyon sistemleri non-patojenik türlerle patojenik türler arasında belirgin bir fark olabilmektedir. Tip III sekresyon sistemini kodlayan birçok operon

kümeler halinde bulunur. DNA dizi analizi bu lokusların genellikle genomik DNA kütlelerinden ayırd edilebilir olduğunu göstermiştir. Kromozomal yerleşimli lokuslara patojenite adaları adı verilmektedir^{15,16}.

Patojenite Adalarının Tarihçe ve Tanımı

Patojenite adası terimi ilk kez üropatojenik *E. coli*'ye özgü, virulanstan sorumlu genleri kodlayan iki büyük ve dengesiz kromozomal DNA parçasını tanımlamak için kullanılmıştır¹⁷. Daha sonra bu terim kabul görek, kromozomal DNA'nın orijinal olmayan ve patojeniteden sorumlu bölgeleri için de kullanılmaya başlanmıştır. Her patojenite adası genetik olarak dengesiz değildir. Fakat hepsi mutlaka yabancı orijindir. Bu DNA parçaları genellikle virulan olmayan bakterilerde bulunmaz. Birçok patojenite adası G+C sayısı ve kodon kullanımı yönünden genom kütlelerinden farklılık gösterir. Sınırları, tekrarlayan diziler veya araya sokulmuş elementlerle belirlenmiştir. Bu da patojenite adalarının bir çeşit rekombinasyon olayı sonucu kromozoma sokuldukları izlenimini vermektedir. Bazısı birden fazla proteini kodlayarak bakteriye kompleks virulans özellikleri kazandırır¹⁵.

Patojenite adalarının tanımı kromozomal lokalizasyonu kapsar. *Yersinia* ve *Shigella*'nın plazmid kökenli tip III gen kümeleri bu tanımın dışında kalır. Fajlar ve bazı plazmidler kolayca kromozom içine girebilir veya çıkabilir. Benzer şekilde, birçok yer değiştirebilen element hem kromozomda hem de kromozom dışı elementlerde çoğalabilir ve fonksiyon görebilir. Patojenite adalarının, bakteri türlerinin sadece patojenik üyelerinde bulunan ve virulans için gerekli olan, tamamen yabancı gen toplulukları şeklinde tanımlanması, lokalizasyona dayanarak yapılacak bir tanımlamadan daha doğru bir tanımlamadır. Bu nedenle tip III sekresyon sistemlerini kodlayan tüm lokuslar, ister plazmid ister kromozom yerleşimli olsun, patojenite adaları tanımı içine sokulabilirler¹⁶.

Patojenite adaları tip III sekresyon sistemlerini kodlayan genlerin yanı sıra virulans genleri de içerir. Bunlar hemolizinler, fimbria ve hemin bağlayan faktörler gibi, salgılanan veya hücre yüzeyinde bulunan proteinlerdir¹⁷. Patojenite adaları arasında birçok benzerlikler vardır. Büyük patojenite adaları incelendiğinde birçoğunun sekresyon sistemi ve çevresel alıcıları kodlayan genlerinin olduğu görülmüştür. Ayrıca patojenite adaları dışında bulunan genlerin ekspresyonunu kontrol eden proteinleri de içerirler.

Patojenite adaları kendi içlerinde farklı segmentlerden oluşabilirler. Örneğin *Y. pestis*'in virulansı için gerekli birkaç önemli özelliği kodlayan 102 kb'lık dengesiz DNA bölgesi, birkaç kısımdan oluşur. Bunlardan biri hemin depo genlerini içerir ve G+C sayısı kromozom kütle sininkine eşittir¹⁸. Diğeri ise *Yersinia* bactin reseptör ve demirle kontrol edilen proteinleri kodlayan genler içerir ve G+C sayısı belirgin şekilde yüksektir. Her ne kadar 102 kb bölgesi sık sık delesyona uğrarsa da, iki bölge birbirinden bağımsız olarak da fonksiyon görebilir.

İlk tanımlandığından bu yana patojenite adası terimi geliştirilmiş, büyük ve kompleks olmayan genetik bölgeler dışında, kromozomal DNA içine girebilen yabancı kökenli tek genler de bu tanım içine dahil edilmiştir. Son zamanlarda *S. typhimurium*'un sifA denen böyle bir gene sahip olduğu gösterilmiştir. Bu gen epitel hücrelerindeki *Salmonella* içeren vakuoller ile ilişkili yapıların oluşumu için gereklidir ve sıçan tifo model sisteminde patojeniteye katkıda bulunur¹⁹.

Patojenite adalarını vericiden alıcıya taşıyan vektörlerin neler olduğu bilinmemektedir. Ancak herhangi bir hareketli element bu işlevi yerine getirebilir. Patojenite adalarının kromozom dışı evresine dair elde pek bilgi yoktur. Fajlar, plazmidler, transpozonlar, integronlar ve hatta serbest DNA bir organizmadan diğerine gen taşıyabilir²⁰. Birçok faj ve plazmid virulans genleri içerir ve genellikle bu lokuslar o bakteri türü için yabancıdır. Ayrıca DNA transferinde çevresel faktörler de önemlidir.

Patojenite adaları kromozom içine bilinmeyen bir mekanizma ile girer. Fakat birkaç patojenite adasının sınırlarında araya girmiş elementlerin varlığı ve tekrarlayan DNA dizilerinin olması bir rekombinasyon olayının olduğunu düşündürmektedir. Son zamanlarda rekombinasyonun *E. coli* suşlarının farklılaşmasında en önemli faktör olduğu ve evrimleşme için en belirgin itici kuvvet olduğu gösterilmiştir²¹.

Birkaç tRNA geninin patojenite adasının insersiyon yeri olabileceği düşünülmektedir. tRNA genleri bazı faj ve plazmidler gibi prokaryotik genetik elementlerin entegrasyon yeri olarak görev yapabilirler²². tRNA genlerinin konserve edilmiş kısımlarının, çeşitli prokaryotik konaklardaki hareketli genetik elementler için faydalı bir bilgi olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca tüm tRNA genlerinin diad simetri bölgeleri rekombinasyonda işlev gören enzimler için bir bağlanma yeri görevi görebilir.

Patojenite adalarının delesyonu, kromozomal insersiyon bölgesini değiştirerek ve adada ihtiva edilen genleri uzaklaştırarak gen ekspresyonunu etkiler. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) tip III sekresyon sistemini de içine alan "enterosit effacement lokusu (LEE)" ve üropatojenik *E. coli*'nin patojenite adası I'i, selenosistein tRNA (selC) genine insert olurlar^{23,24}. Pai I varlığı selC ekspresyonunu engellemez. Fakat kromozomdan eksizyon, tekrarlayan selC sekansları ile Pai I distal ucu arasında bir rekombinasyon ile olur. Bu rekombinasyon olayı tRNA geninin bir kısmının delesyonu ile sonuçlanır ve selenosistein içeren format dehidrogenaz hücre tarafından üretilemez; böylece anaerobik büyüme engellenir. Benzer şekilde Pai II içermeyen suşlarda insersiyon yerindeki leuX tRNA geni bozumuştur ve bu da patojenite adası dışındaki birkaç virulans faktörünün düzenleyicisi olarak görev yapmaya engel teşkil eder²⁵.

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve *Shigella flexneri* virulans plazmidlerinin fenotipik kaybı bazen kromozom üzerindeki belli bir bölgeye plazmid insersiyonu nedeniyle olur. Entegrasyondan sonra eksizyon da görülebilir. Plazmidini tamamen kaybeden suşlar virulanslarını tekrar kazanırlar, ancak plazmidleri tam olarak kesilmeyen suşlar non-invaziv olarak kalırlar.

Hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendroma neden olan E.coli (EHEC)'nin horizontal gen transferi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. EHEC de EPEC gibi ince barsak konak hücrelerinde "attaching" ve "effacing" denen morfolojik değişikliklere neden olmaktadır. EHEC'nin farkı Shiga-benzeri toksine sahip olmasıdır. Birçok E. coli suşu arasındaki genetik ilişkileri araştıran Whittam ve arkadaşları, EHEC'nin bir EPEC-benzeri progenitor suştan köken aldığını ve bunun da profajla kodlanmış Shiga-benzeri toksini kazanarak her iki özelliğe de sahip olan yeni bir patojen haline geldiğini açıklamışlardır²⁶.

Yeni epidemik Vibrio cholera O139 suşu bir patojenite adası kazanılmasından sonra ortaya çıkmıştır²⁷. Her ne kadar V. cholera O139 aynı serotipte (O1), halen devam etmekte olan kolera pandemisine neden olan başka bir suştan (O1 El Tor) köken almışsa da; V. cholera O139, O1 suşlarının O antijen kümesinin bir kısmını değiştiren ek bir DNA parçasına sahiptir²⁸. İnsert olan DNA, kapsül ve O antijeni sentezi için gerekli proteinlere homolog bir dizi taşımakta ve bu da O139 ile O1 El Tor arasındaki farklılığı oluşturmaktadır. Bu iki faktör patogenez ve immüniteden kaçmada önemli rol oynamaktadır.

SONUÇ

Patojenik bakteriler çok geniş bir genetik değişme ve esneklik yeteneğine sahiptirler ve bunu değişik konak organizmalardaki şartlara adapte olmak için kullanırlar. Patojenite adaları ve tip III sekresyon sistemleri ile ilgili çalışmalardan elde edilen bilgilerle, bakteriyel enfeksiyonların karakterizasyonu mümkün olabilir. Bir patojen izole edildiğinde, genomik yapısı kendi türündeki diğer organizmalarla karşılaştırılarak özgül bir kromozomal bölgesi olup olmadığı araştırılabilir; böylece virulans genlerinin tanımlanması sağlanabilir. Bakterilerin tip III sekresyon sistemine sahip olup olmadıkları basit moleküler yöntemlerle anlaşılabilir; çünkü özel komponentleri kodlayan genler yüksek derecede konserve edilmişlerdir.

Patojenik bakterilerin genetik ve moleküler düzeydeki virulans özellikleri, bakteriyel patojenitenin yavaş bir uyumsal evrimle değil, "quantum leaps" denen, çok kısa süreler içinde gerçekleşen genetik alışveriş yolu ile kazanıldığını düşündürmektedir. Bu nedenle mikroorganizmalar değişik konak çevrelerinde beslenmelerini ve gelişmelerini sağlayabilecek sistemleri kolayca kazanabilmektedirler.

Tip III sekresyon sistemleri ile ilgili bilgiler, terapötik faydalar sağlayabilir. Temas-bağımlı sistemler patojenik bakterilerde mevcutken, kommensal bakterilerde bulunmazlar. Yeni geliştirilecek antibiyotiklerin sadece patojen bakterileri hedefleyip, böylelikle normal floraya bir zarar vermemesi sağlanabilir. Böylece antibiyotiklerin yan etkileri minimuma indirilebilir. Ayrıca tip III sekresyon sistemleri ilaçlara, bakteriyi öldürmeden hastalık sürecini önleyebilecek yeni hedefler sağlayacaktır. Bir başka kullanım alanının da, uygun şekilde attenüe edilmiş bakterilerle immünizasyon alanında olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Hueck CJ: Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998, 62: 379-433.
2. Lee CA: Type III secretion systems: machines to deliver bacterial proteins into eukaryotic cells? *Trends Microbiol* 1997, 5: 148-156.
3. Harshey RM, Toguchi A: Spinning tails: homologies among bacterial flagellar systems. *Trends Microbiol* 1996, 4: 226-231.
4. Pettersson J, Nordfelth R, Dubrinina E, et al: Modulation of the virulence factor expression by pathogen target cell contact. *Science* 1996, 273: 1231-1233.
5. Kubori T, Matsushima Y, Nakamura D, et al: Supramolecular structure of the *Salmonella typhimurium* type III protein secretion system. *Science* 1998, 280, 602-605.
6. Menard R, Dehio C, Sansonetti PJ: Bacterial entry into epithelial cells: the paradigm of *Shigella*. *Trends Microbiol* 1996, 4: 220-226.
7. Deiwick J, Nikolaus T, Shea JE, et al: Mutations in *Salmonella* pathogenicity island 2 (SPI2) genes affecting transcription of SPI1 genes and resistance to antimicrobial agents. *J Bacteriol* 1998, 180: 4775-4780.
8. Woestyn S, Allaoui A, Wattiau P: YscN, the putative energizer of the *Yersinia* Yop secretion machinery. *J Bacteriol* 1994, 176: 1561-1569.
9. Plano GV, Straley SC: Mutations in *yscC*, *yscD*, and *yscG* prevent high level expression and secretion of V antigen and Yops in *Yersinia pestis*. *J Bacteriol* 1995, 177: 3843-3854.
10. Anderson DM, Schneewind O: A mRNA signal for the type III secretion of Yop proteins by *Yersinia enterocolitica*. *Science* 1997, 278: 1140-1143.
11. Wattiau P, Woestyn S, Cornelis GR: Customized secretion chaperons in pathogenic bacteria. *Mol Microbiol* 1996, 20: 255-262.
12. Jackson MW, Day JB, Plano GV: YscB of *Yersinia pestis* functions as a specific chaperone for YopN. *J Bacteriol* 1998, 180: 4912-4921.
13. Hughes KT, Gillen KL, Semon MJ, Karlinsey JE: Sensing structural intermediates in bacterial flagellar assembly by export of a negative regulator. *Science* 1993, 262: 1277-1280.
14. Li J, Ochman H, Groisman EA, et al: Relationship between evolutionary rate and cellular location among the *Inv/Spa* invasion proteins of *Salmonella enterica*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, 92: 7252-7256.
15. Mecsas J, Strauss EJ: Molecular mechanisms of bacterial virulence: type III secretion and pathogenicity islands. *Emerg Infect Dis* 1996, 2: 271-288.
16. Lee CA: Pathogenicity islands and the evolution of bacterial pathogens. *Infect Agents Dis* 1996, 5:1-7.
17. Hacker J, Bender L, Ott M, et al: Deletions of chromosomal regions coding for fimbriae and hemolysins occur *in vitro* and *in vivo* in various extraintestinal *Escherichia coli* isolates. *Microb Pathog* 1990, 8: 2213-2225.
18. Rakin A, Urbitsch P, Heeseman J: Evidence for two evolutionary lineages of highly pathogenic *Yersinia* species. *J Bacteriol* 1995, 177: 2292-2298.
19. Stein MA, Leung KY, Zwick M, et al: Identification of a *Salmonella* virulence gene required for formation of filamentous structures containing lysosomal membrane glycoproteins within epithelial cells. *Mol Microbiol* 1996, 20: 151-164.
20. Matic I, Taddei F, Radman M: Genetic barriers among bacteria. *Trend Microbiol* 1996, 4: 69-73.

21. Guttman DS, Dykhuizen DE: Clonal divergence in *Escherichia coli* as a result of recombination, not mutation. *Science* 1994, 266: 1380-1383.
22. Inouye S, Sunshine MG, Six EW, Inouye M: Retronphage R73: an *E. coli* phage that contains a retroelement and integrates into a tRNA gene. *Science* 1991, 252: 969-971.
23. McDaniel TK, Kaper JB: A cloned pathogenicity island from enteropathogenic *Escherichia coli* confers the attaching and effacing phenotype on *E. coli* K-12. *Mol Microbiol* 1997, 23: 399-407.
24. Blanc Potard AB, Groisman EA: The *Salmonella* *selC* locus contains a pathogenicity island mediating intramacrophage survival. *EMBO J* 1997, 16: 5376-85.
25. Ritter A, Blum G, Emody L, et al: tRNA genes and pathogenicity islands: influence on virulence and metabolic properties of uropathogenic *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 1995, 17: 109-121.
26. Whittam TS, Wolfe ML, Wachsmuth IK, et al: Clonal relationships among *Escherichia coli* strains that cause hemorrhagic colitis and infantile diarrhea. *Infect Immun* 1993, 61: 1619-1629.
27. Waldor MK, Mekalanos JJ: *Vibrio cholerae* O139 specific gene sequences. *Lancet* 1994, 343:1366.
28. Pajni S, Charu S, Bhasin N, et al: Studies on the genesis of *Vibrio cholerae* O139: identification of probable progenitor strains. *J Mol Microbiol* 1995, 42: 20-25.