

Biologia molekularna krętków *Borrelia burgdorferi*

Jacek Jenek

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej
Instytut Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych
Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego
Poznań

1. Wprowadzenie

Odkryty i opisany w 1982 r. krętek *Borrelia burgdorferi* (Bb) jest czynnikiem etiologicznym krętkowicy kleszczowej (zwanej często boreliozą z Lyme lub chorobą z Lyme) (12,17,42,82), wielonarządowej, przewlekłej choroby o przebiegu fazowym, która w przypadku nieleczenia, w późniejszym stadium, może prowadzić do ciężkich, nieodwracalnych zmian narządowych i trwałego kalectwa (87).

Choroba z Lyme ma złożoną patogenezę, przebiegającą w trzech następujących po sobie okresach. Okres I rozpoczyna się od 2 do 30 dni od momentu wprowadzenia krętków przez kleszcza. Najbardziej typowym wczesnym objawem choroby jest rumień przewlekły wędrujący (ECM — *erythema chronicum migrans*), występujący u większości (60-80%) chorych. W okresie II dochodzi do krwiopochodnego wysiewu krętków z zajęciem narządów wewnętrznych, czemu towarzyszą objawy ze strony układu nerwowego, serca, narządu wzroku i układu ruchu. Okres III choroby rozwija się w kilka miesięcy do kilku lat od zakażenia u osób nie leczonych etiotropowo i manifestuje się objawami ze strony ośrodkowego układu nerwowego (*encephalomyelitis*), układu kostno-stawowego (zapalenie stawów) i charakterystycznymi zmianami skórными (zanikowe zapalenie skóry).

Historia choroby z Lyme rozpoczęła się od zapalenia stawów występującego u kilkorga dzieci w miasteczku Old Lyme w hrabstwie Lyme (Connecticut, USA), a traktowanego przez lekarzy jako młodzieńcze reumatoidalne zapalenie stawów. Dwie z matek, zaniepokojone nietypowymi objawami występującymi u dzieci, zakwestionowały w stanowym Departamencie Zdrowia rozpoznanie jako reumatoidalne zapalenie stawów, co doprowadziło do podjęcia retrospektywnych badań przez zespół A. Steere'a z Oddziału Reumatologii Uniwersytetu Yale. Analizując przypadki zapalenia stawów w hrabstwie Lyme, Steere i wsp. doszli do przekonania, że mają do czynienia z nową, dotychczas nie rozpoznaną chorobą, którą nazwali początkowo „zapalenie

stawów z Lyme" (*Lyme arthritis*) (84). Ponieważ w wyniku dalszych badań stwierdzono, że choroba jest wielobjawowa i dotyczy różnych układów, zmieniono nazwę na „chorobę z Lyme” (*Lyme disease*) (83). Okazało się również, że poszczególne objawy i zespoły chorobowe (m. in. rumień wędrujący, zanikowe zapalenie skóry, różne zespoły neurologiczne) obserwowane w przebiegu boreliozy z Lyme były opisywane począwszy od końca XIX w. przez wielu klinicystów, głównie europejskich, jako oddzielne jednostki chorobowe. Zwracano przy tym uwagę na ich związek z ukąszeniami przez kleszcze, co sugerowało zakaźny charakter choroby, potwierdzony odkryciem nie znanego do tej pory krętka, który nazwany został od nazwiska jego odkrywcy Willy'ego Burgdorfera — *Borrelia burgdorferi*.

Badania morfologii (38), profili antygenowych i DNA (8,40,77) dowodzą, że *Bb* jest nowym gatunkiem przynależącym do rodzaju *Borrelia* (42). *Bb* wykazuje mniej niż 2% homologii DNA z *Treponema pallidum* i *Leptospirae* oraz 30-60% homologii z krętkiem gorączki powrotnej należącym do rodzaju *Borrelia* (40). Różna jest też u tej bakterii liczba włókien (od 7 do 11 u *Bb* w porównaniu z 15 – 30 u innych przedstawicieli rodzaju *Borrelia*) tworzących włókno osiowe.

Obserwowane przez wielu autorów genotypowe i fenotypowe zróżnicowanie (różnice w hybrydyzycji DNA-DNA, w sekwencjach genów 16S rRNA i flageliny, profilach plazmidowych i reaktywności z przeciwciałami monoklonalnymi) wyizolowanych szczepów *Bb* (52,71,81,85,86,88,90,91,92) spowodowały wyróżnienie trzech odrębnych grup określanych początkowo jako genotypy, serotypy, bądź genogatunki, a obecnie zdefiniowanych jako odrębne gatunki odpowiedzialne za chorobę z Lyme: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* i *B. garinii* (5,18). Istnienie kilku czynników etiologicznych choroby z Lyme, określanych wspólnym mianem *B. burgdorferi sensu lato*, znajduje odbicie według niektórych autorów (2,4) w obserwowanym obrazie klinicznym choroby. Ponadto opisano nowy, niepatogenny gatunek, którego występowanie ogranicza się do Japonii — *B. japonica* (44) oraz zidentyfikowano cztery nowe grupy genomowe (*genomic groups*): dwie wśród szczepów amerykańskich i dwie wśród szczepów europejskich (3,66).

2. Genom *Borrelia burgdorferi*

Bogaty w AT (od 68 do 73 mol%) (11) genom *Bb* obejmuje, podobnie jak to ma miejsce u innych bakterii, chromosom oraz pewną liczbę plazmidów (7). Wyjątkowość *Bb* polega na tym, że chromosom oraz część plazmidów ma strukturę liniową (9,11,27), w związku z czym przypomina segmentowany genom niektórych pierwotniaków, np. z rodzaju *Trypanosoma*. Jest to cecha wspólna nie tylko wszystkich gatunków wywołujących chorobę z Lyme, ale całego rodzaju *Borrelia*. Liniowy chromosom odkryto również u *Streptomyces lividans* (36,50) oraz *Agrobacterium tumefaciens* (1). Liniowe plazmidy obserwowano w komórkach bakterii z rodzaju *Streptomyces* (45).

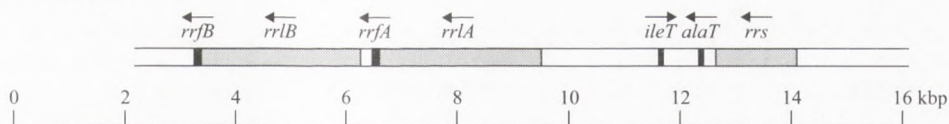
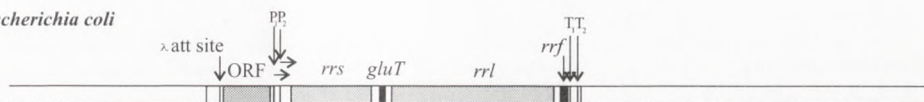
3. Chromosom bakteryjny

Analizy przeprowadzone przy zastosowaniu elektroforezy w polu pulsującym wskazują, że chromosom *Bb* jest liniową cząsteczką długości od 900 do 1000 kbp (11,27), czyli jest pod względem wielkości porównywalny z chromosomem *Mycoplasma*, będącym najmniejszym genomem wolno żyjącego organizmu do tej pory opisanego (69). Z niewielkimi rozmiarami chromosomu *Bb* mogą być związane ograniczone zdolności metaboliczne tej bakterii i niezbędność licznych czynników wzrostowych w podłożu w przypadkach hodowli *in vitro*. Brak zmian ruchliwości elektroforetycznej po nacięciu jednej z nici DNA powodującym relaksację struktur superzwiniętych, wyklucza możliwość, że obserwowany DNA jest superzwiniętą kolistą cząsteczką. Molekularna struktura telomerów chromosomu jest wciąż nieznana i stanowi obszar intensywnych badań.

Liczba kopii chromosomu nie została dla krętków choroby z Lyme określona, ale szczegółowe badania *Borrelia hermsii*, która ma również liniowy chromosom, przyniosły relatywnie wysoką wartość 16 kopii chromosomu na komórkę *B. hermsii* hodowaną w myszy (47). Dla porównania, intensywnie rosnące komórki *Escherichia coli* mają średnio 6,5 miejsca inicjacji replikacji chromosomu i 1,9 miejsca terminacji replikacji chromosomu na komórkę, podczas gdy *Azotobacter vinelandii* zawiera do 40 kopii chromosomu na komórkę (16,68).

Porównanie fizycznych (lokalizacja miejsc restrykcyjnych) i genetycznych (lokalizacja poszczególnych genów) map chromosomów 22 szczepów *Bb sensu lato* wyizolowanych z różnych źródeł (zakażeni ludzie, kleszcze, myszy) o różnej lokalizacji geograficznej wskazuje, że liniowe chromosomy o podobnych rozmiarach, jakkolwiek różnią się w sposób znaczący pomiędzy sobą sekwencjami nukleotydów, zachowują identyczną kolejność genów (19). Różnice w sekwencjach nukleotydów widoczne są nie tylko pomiędzy szczepami należącymi do różnych gatunków *Bb sensu lato*. W obrębie poszczególnych gatunków stwierdzono różnice dochodzące do 5,1% sekwencji (19). Tęgo rzędu wewnątrzgatunkowa zmienność chromosomu bakteryjnego nie jest wyjątkowa (48,55,56).

Bb wyróżnia się wśród *Eubacteria* zestawem i układem genów kodujących rRNA oraz organizacją chromosomu w regionie genu *dnaA* — kodującego białko inicjujące replikację chromosomu (62,63). Zazwyczaj bakterie posiadają jeden lub kilka operonów rRNA, z których każdy ma po jednej kopii trzech genów rRNA: *rrs* kodujący 16S rRNA, *rrl* kodujący 23S rRNA i *rrf* kodujący 5S rRNA (48). Natomiast u *Bb sensu stricto* gen *rrs*, występujący w jednej kopii, jest oddzielony sekwencją długości 2,7 kbp od tandemowo powtórzonej pary *rrl rrf* (*rrlA rrfA rrlB rrfB*) (23,30,79). W DNA rozdzielającym geny *rrs* i *rrlA* znajdują się geny kodujące tRNA^{Ala} (*alaT*) i tRNA^{Ile} (*ileT*) (79). Odmienna orientacja genu *ileT* sugeruje, że transkrypcja genu *rrs* jest niezależna od transkrypcji pozostałych genów rRNA. Natomiast, pomiędzy *rrfA* i *rrlB* obecna jest sekwencja długości 182 bp wykazująca znaczne podobieństwo do sekwencji promotora operonu rRNA *E. coli* (79). Istnieje zatem mo-

A. *Borrelia burgdorferi*B. *Borrelia garinii* & *B. afzelii*C. *Escherichia coli*

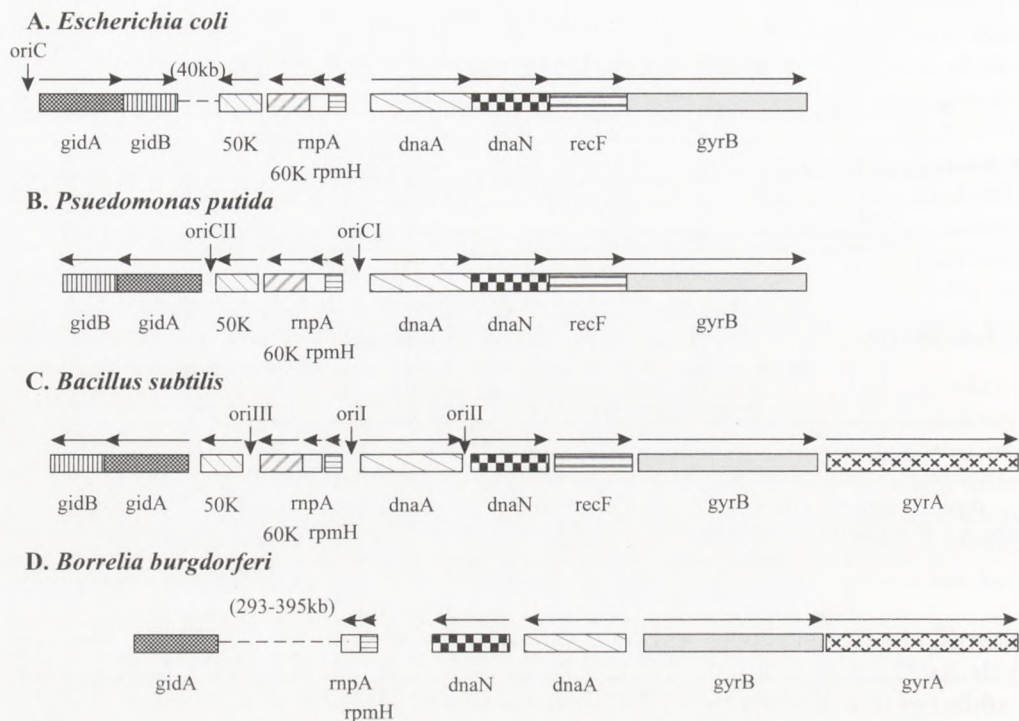
Rys. 1. Operon rRNA A. — *B. burgdorferi*, B. — *B. garinii* i *B. afzelii*, C. — *Escherichia coli*; A i B wg (61), C. wg (57).

żliwość, że transkrypcja każdej z par *rrl rrf* jest niezależna. U dwu pozostałych krętków wywołujących chorobę z Lyme, *B. garinii* i *B. afzelii*, zestaw i układ genów kodujących rRNA jest taki sam jak u *Bb sensu stricto*, jedynie sekwencja rozdzielająca *rrs* i *rrlA* jest dłuższa o dodatkowe 2,2 kbp (61). Inne krętki z rodzaju *Borrelia*: *B. anserina*, *B. turicata* i *B. hermsii* posiadają tylko po jednej kopii genów *rrl* i *rrf* (79).

W regionie genu *dnaA* lub w jego bezpośrednim sąsiedztwie zlokalizowane jest miejsce w którym następuje inicjacja replikacji chromosomu (*oriC*) — charakterystyczny układ czterech dziewięcionukleotydowych powtórzeń zwanych *DnaA boxes*. Liczba miejsc *oriC* jest zmienna od jednego u *E. coli* do czterech u *Bacillus subtilis*. W regionie tym typowy jest układ genów: *gidB-gidA-50K-60K-rnpA-rnpH-dnaA-dnaN-recF-gyrB* (60), natomiast u *Bb* kolejność jest następująca: *rnpA-rpmH-dnaN-dnaA-gyrBA* (63). Zespół ten zlokalizowany centralnie w chromosomie, w bezpośrednim sąsiedztwie genów kodujących rRNA (20,62), oddzielony jest od genu *gidA* sekwencją długości 293-395 kb (23,62). Dotychczas nie udało się zlokalizować w chromosomie *Bb* miejsca *oriC*. Nie można wykluczyć możliwości, że sekwencja nukleotydowa i/lub układ *DnaA boxes* u *Bb* jest nietypowa (63).

4. Plazmidy

W komórkach krętków wywołujących chorobę z Lyme występują plazmidy liniowe i koliste. Mogą być one nośnikiem do 1/3 całej informacji genetycznej



Rys. 2. Genetyczna organizacja regionu genu *dnaA* czterech gatunków *Eubacteria*; wg (63); *gidAB* — hamowane przez glukozę białka uczestniczące w podziale; 50K, 60K — białka o nieznannej funkcji; *rpmA* — białkowy składnik rybonukleazy P; *rpmH* — białko rybosomalne L34; *dnaA* — białko inicjujące replikację chromosomu; *dnaN* — podjednostka β polimerazy III DNA; *recF* — induktor naprawy DNA w odpowiedzi SOS; *gyrB* — podjednostka β żyrazy DNA; *gyrA* — podjednostka α żyrazy DNA.

obecnej w komórce (19). Liczba plazmidów zmienia się nie tylko w zależności od gatunku, ale i szczepu (19).

4.1. Plazmidy liniowe

Plazmidy liniowe wielkości od 16 do 200 kbp zostały po raz pierwszy stwierdzone u *Borrelia hermsii* (65), a później u pozostałych przedstawicieli rodzaju *Borrelia* (46,75). Ich liczba w komórkach *Bb sensu lato* waha się od 2 do 7 (19). Na podstawie przeprowadzonych badań plazmidów liniowych *B. burgdorferi*, jak również *B. hermsii* sugeruje się, że wszystkie plazmidy liniowe w tym rodzaju mają podobną strukturę (46). Jedyneznymi znanymi genami

zlokalizowanymi na plazmidach liniowych są geny *ospAB* i *ospD* kodujące białka powierzchniowe.

Szczep-typ *Bb* B31 zawiera 4 plazmidy liniowe o rozmiarach 49, 38, 29 i 16 kb. Badania przy użyciu mikroskopu elektronowego plazmidu o rozmiarach 49 kb, będącego nośnikiem genów *ospA* i *ospB*, pokazały, że obydwie nici DNA są kowalentnie połączone na obu końcach plazmidu (9). Końce te są wrażliwe na działanie nukleazy S1 i innych endonukleaz swoiście atakujących DNA jednoniciowy, a niewrażliwe na działanie proteaz, fenolu i zasad. Przymuszczenie zakończenia plazmidów liniowych u *Borrelia* mają strukturę szpilki do włosów, analogiczną do struktury telomerów wirusa krowianki i występują we wszystkich plazmidach liniowych spotykanych u bakterii należących do tego rodzaju (46).

Sekwencje obu końców plazmidu 16 kb i jednego końca (lewego) plazmidu 49 kb zostały sklonowane i zsekwencjonowane (35). Występujące na końcach plazmidu 16 kb telomerowe powtórzone sekwencje odwrócone długości 18 zasad bogate w AT różnią się nieznacznie między sobą. Natomiast sekwencje długości ok. 600 bp na lewych końcach plazmidów 16 kb i 49 kb są niemal identyczne i obejmują serię powtórzonych sekwencji (*direct repeats*) i palindrom.

Zakończenia plazmidów liniowych u *Borrelia* wykazują pewne podobieństwa, ale też i różnice z zakończeniami innych replikonów liniowych. Większość replikonów liniowych posiada końcowe sekwencje powtórzone i odwrócone o zmiennej długości. Niektóre z nich posiadają ponadto na końcu 5' kowalentnie związane białko terminalne, uczestniczące w replikacji DNA (np. adenowirusy (49), plazmidy liniowe u *Streptomyces* (37), bakteriofag ϕ 29 *Bacillus subtilis* (25,49)). Genom ortopoxwirusów (np. wirus krowianki) posiada na swych końcach długie odwrócone sekwencje powtórzone i struktury „szpilki do włosów” (*hairpin*) łączące sekwencje komplementarne z obu stron (31). Brak jest natomiast białka terminalnego. Plazmidy liniowe *Borrelia* przypominają genom poxwirusów, gdyż są z obu końców kowalentnie zamknięte, jednakże końcowe sekwencje powtórzone są znacznie krótsze, tak w wymiarach absolutnych, jak i proporcjonalnie do długości całego plazmidu. Uderzające podobieństwo telomeru plazmidu 16 kbp *Bb* B31 do telomeru wirusa afrykańskiej gorączki świń (ASFV) naprowadziło Hinnebuscha i Barboura (34) na myśl, że liniowe plazmidy *Borrelia* mogły pojawić się w wyniku horyzontalnego transferu genetycznego pomiędzy królestwami. Fakt, że ASFV i *Borrelia duttoni*, czynnik etiologiczny kleszczowego afrykańskiego duru powrotnego, są przenoszone przez tego samego kleszcza, dodatkowo wspiera tę hipotezę.

Ponieważ cały genom *Borrelia* jest segmentowy, liniowe plazmidy mogą być rozpatrywane jako minichromosomy (11).

4.2. Plazmidy koliste

Superzwinięte plazmidy koliste (39,40) obecne są w komórkach krętków wywołujących chorobę z Lyme w zmiennej liczbie (19). Obserwowano utratę części plazmidów kolistych przez szczep *Bb* Sh-2-82 w trakcie hodowli *in*

in vitro (80). U wszystkich krętków wywołujących chorobę z Lyme stwierdzono, że jeden z plazmidów kolistych wielkości 26 kbp jest nośnikiem genu *ospC* kodującego białko powierzchniowe OspC o masie 21 kDa oraz genów homologicznych do genów *guaA* i *guaB* *E. coli*, kodujących enzymy uczestniczące w biosyntezie *de novo* puryny. Geny kodujące enzymy biosyntezy puryny u wszystkich przebadanych do tej pory mikroorganizmów mają lokalizację chromosomalną.

5. Białka *Borrelia burgdorferi*

W komórce *Bb sensu lato* stwierdzono obecność ponad 100 różnych białek, z których 10 ma charakter antygenów. Masy cząsteczkowe tych białek (w kDa) są następujące: 18, 21, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 66 i 93. Antygeny 21 kDa, 39 kDa i 41 kDa odgrywają istotną rolę we wczesnej odpowiedzi immunologicznej (IgM) u człowieka.

Białka powierzchniowe OspA i OspB kodowane są przez geny tworzące jeden operon zlokalizowany w komórce *Bb* w plazmidzie liniowym o masie 49 kbp (9), natomiast w komórkach *B. afzelii* i *B. garini* odpowiednio w plazmidach o masie 56 i 55 kbp (76). Pomimo stosunkowo intensywnych prac, nie udało się określić funkcji jakie białka te pełnią w komórkach krętków wywołujących chorobę z Lyme. Stwierdzono jedynie zależność pomiędzy obecnością w komórce krętka białka OspB a zdolnością do penetrowania krętków do komórek gospodarza i zakaźnością (73). Wydedukowane produkty translacji genów *ospA* i *ospB* mają odpowiednio 273 i 296 aminokwasów (13). Obydwa białka są lipoproteinami (15). Białko OspA z trzech różnych szczepów *Bb* było identyczne w 99% (13,28,89). Natomiast białko OspA z trzech różnych gatunków *Bb sensu lato* było identyczne w 73-86% (24,43,94). Podobny jest stopień zróżnicowania białka OspB pomiędzy trzema gatunkami *Bb sensu lato* (43). Sekwencja aminokwasów białka OspA jest w 53% zgodna z sekwencją OspB, co wskazuje na niedawną ewolucyjnie duplikację pierwotnego genu *osp* (13). Białko OspA i prawdopodobnie OspB jest wytwarzane przez komórki *Bb* w jelicie kleszczy nieopitych krwią (10).

Białko powierzchniowe OspC, określane początkowo jako pC (29), o masie cząsteczkowej 21 kDa, wykazuje 70-74% identyczności u wszystkich trzech gatunków wywołujących chorobę z Lyme (41,93). Białko OspC zostało zaproponowane jako szczepionka przeciwko chorobie z Lyme (67). Regulacja ekspresji genu *ospC*, jak się wydaje, jest związana z ekspresją *ospAB*, gdyż szczepy pasażowane w hodowli *in vitro* sporadycznie wykazują ekspresję *ospC*, a nie wykazują ekspresji *ospAB* (93). Po 40 pasażach sytuacja ulega odwróceniu (54). Mechanizm tego zjawiska pozostaje do wyjaśnienia. Schwan i wsp. (78) wykazali, że w komórkach krętków w jelicie kleszcza następuje szybka synteza białka OspC pod wpływem spożycia przez kleszcza krwi ssaka.

Białko OspD, lipoproteina o masie 28 kDa jest najliczniej występującym białkiem, którego produkcja jest stwierdzana w szczepach tylko kilkakrotnie pasażowanych *in vitro*, a nieobecnych w szczepach wielokrotnie pasażowa-

nych (59). Wydedukowana sekwencja aminokwasów OspD nie wykazuje znaczącego podobieństwa z poznanymi do tej pory sekwencjami białek.

W immunochemicznej analizie *Borelii* wykazano, że białko o masie 41 kDa — flagelina (Fla) — jest jednym z immunodominujących antygenów podczas infekcji, zarówno u ludzi jak i zwierząt. Przeciwciała przeciwko flagelinie pojawiają się w surowicach większości pacjentów i są stwierdzane podczas wszystkich etapów choroby (6,21,22). Dlatego flageliny *Borrelii* badano intensywnie w celu opracowania metody diagnostycznej przydatnej w boreliozie z Lyme (51,53,64,71,72). Wcześniej wykazano, że bezflagelinowy mutant *Bb* wykazuje ograniczone zdolności do penetrowania warstw ludzkich komórek nabłonkowych *in vitro* (74), co wskazuje na rolę flageliny w inwazji ludzkich tkanek.

Sekwencje genów kodujących polipeptydy flageliny (*fla*) *Bb sensu lato* są w 85-86% zgodne z analogicznymi sekwencjami u innych przedstawicieli rodzaju *Borrelia*. Natomiast porównanie sekwencji *fla* poszczególnych gatunków *Bb sensu lato* wykazuje 94-95% zgodności, a porównanie sekwencji *fla* dwóch różnych szczepów *Bb sensu stricto* wskazuje ponad 99% zgodności (58). Wydedukowane produkty translacji genu *fla* poszczególnych gatunków *Bb sensu lato* miały 336 aminokwasów i wyliczoną masę cząsteczkową 36960 Da (58). Sekwencja aminokwasów była zgodna w 94-95% z sekwencją aminokwasów wydedukowanych produktów translacji genu *fla* innych przedstawicieli rodzaju *Borrelia*, przy 85-86% zgodności sekwencji nukleotydowych. Różnice sekwencji były obserwowane w centralnej części białka. Sekwencja aminokwasów N-końca białka flagelinowego *Bb* wykazuje bardzo duże podobieństwo do fragmentu N-końca flagelinowego polipeptydu klasy B (rdzeniowego) innych krętków (32). Sekwencja aminokwasów Fla wykazuje znaczną homologię z sekwencjami aminokwasów flageliny z innych krętków (*B. hermsii* i *Treponema pallidum*) oraz filogenetycznie odległych bakterii (*Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *E. coli* i *Salmonella typhimurium*).

Fedorov i Efimov (26) zaproponowali model dla flageliny *E. coli*, w którym fragmenty konserwatywne, tj. fragmenty obu końców, są odpowiedzialne za eksport flageliny i powstanie wici, podczas gdy zmienny, środkowy fragment jest mniej ważny dla struktury i reprezentuje zmienne determinanty antygenowe. Wyniki badań prowadzonych w kilku ośrodkach (14,33,70) wskazują, że model ten jest również słuszny dla *Bb sensu lato*.

6. Podsumowanie

Wiele zagadnień biologii molekularnej krętków wywołujących boreliozę z Lyme pozostaje wciąż nie wyjaśnionych. Ich zrozumienie może pomóc w opracowaniu skutecznych metod zapobiegania chorobie z Lyme, a jednocześnie, zwłaszcza ze względu na nietypowe właściwości genomu *Bb*, pozwoli na uzyskanie pełniejszego obrazu genomu bakteryjnego.

Literatura

1. Allardet-Servent A., Michaux-Charachon S., Jumas-Bilak E., Karayan L., Ramuz M., (1993), *J. Bacteriol.*, 175, 7869-7874.
2. Assous M. V., Postic D., Paul G., Nevot O., Baranton G., (1993), *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 12, 261-268.
3. Assous M. V., Postic D., Paul G., Nevot P., Baranton G., (1994), *FEMS Microbiol. Lett.*, 121, 93-98.
4. Balmelli T., Piffaretti J. C., (1995), *Res. Microbiol.*, 46, 329-340.
5. Baranton G., Postic D., Saint Girons I., Boerlin P., Piffaretti J. C., Assous M., Grimont P. A. D., (1992), *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 42, 378-383.
6. Barbour A. G., (1984), *Yale J. Biol. Med.*, 57, 581-586.
7. Barbour A. G., (1988), *J. Clin. Microbiol.*, 26, 475-478.
8. Barbour A. G., Burgdorfer W., Grunwaldt E., Steere A. C., (1983), *J. Clin. Invest.*, 72, 504-515.
9. Barbour A. G., Garon C. F., (1987), *Science*, 237, 409-411.
10. Barbour A. G., Tessier S. L., Todd W. J., (1983), *Infect. Immun.*, 795-804.
11. Baril C., Richaud C., Baranton G., Saint-Girons I., (1989), *Res. Microbiol.*, 140, 507-516.
12. Benach J. L., Bosler E. M., Hanrahan J. P., Coleman J. L., Habicht G. S., Bast T. F., Cameron D. J., Ziegler J. L., Barbour A. G., Burgdorfer W., Edelman R., Kaslow R. A., (1983), *N. Engl. J. Med.*, 308, 740-742.
13. Bergstrom S., Bundoc V., Barbour A., (1989), *Mol. Microbiol.*, 3, 479-486.
14. Berland R., Fikrig E., Rahn D., Hardin J., Flavell R. A., (1991), *Infect. Immun.*, 59, 3531-3535.
15. Brandt M. E., Riley B. S., Radolf J. D., Norgard M. W., (1990), *Infect. Immun.*, 58, 983-991.
16. Bremer H., Dennis P., (1987), *Escherichia coli and Salmonella typhimurium*, F. C. Neidhardt., American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1527-1542.
17. Burgdorfer W., Barbour A. G., Hayes S. F., Benach J. L., Grunwaldt E., Davis J. P., (1982), *Science*, 216, 1317-1319.
18. Canica M., Naio M. F., du-Merie L., Mazie J. C., Baranton G., Postic D., (1993), *Scand. J. Infect. Dis.*, 25, 441-448.
19. Casjens S., Delange M., Ley H. L., Rosa P., Huang W. M., (1995), *J. Bacteriol.*, 177, 2769-2780.
20. Casjens S., Huang W. M., (1993), *Mol. Microbiol.*, 8, 967-980.
21. Craft J. E., Fischer D. K., Hardin J. A., Garcia-Blanco M., Steere A. C., (1984), *Arthritis Rheum.*, 27(suppl.), 64.
22. Craft J. E., Fischer D. K., Shimamoto G. T., (1986), *J. Clin. Invest.*, 78, 934-939.
23. Davidson B. E., Mac Dougall J., Saint-Girons I., (1992), *J. Bacteriol.*, 174, 3766-3774.
24. Eiffert H., Ohlenbush A., Fehling W., Lotter H., Thomssen R., (1992), *Infect. Immun.*, 60, 1864-1868.
25. Escarmis C., Salas M., (1981), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78, 1446-1450.
26. Fedorov O. V., Efimov A. V., (1990), *Prot. Eng.*, 3, 411-413.
27. Ferdows M. S., Barbour A. G., (1989), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 5969-5973.
28. Fikrig E., Barthold S. W., Kantor F. S., Flavell R. A., (1990), *Science*, 250, 553-556.
29. Fuchs S., Jauris S., Lottspeich F., Preac-Mursic V., Wilske B., Soutschek E., (1992), *Mol. Microbiol.*, 6, 503-509.
30. Fukunaga M., Sohnaka M., (1992), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 183, 952-957.
31. Garon C. F., Barbosa E., Moss B., (1978), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 4863-4867.
32. Gassmann G. S., Deutzmann R., Vogt A., Gobel U. B., (1989), *FEMS Microbiol. Lett.*, 60, 101-106.
33. Gassmann G. S., Jacobs E., Deutzmann R., Gobel U. B., (1991), *J. Bacteriol.*, 173, 1452-1459.
34. Hinnebusch J., Barbour A. G., (1991), *J. Bacteriol.*, 173, 7233-7239.
35. Hinnebusch J., Bergstrom S., Barbour A. G., (1990), *Mol. Microbiol.*, 4, 811-820.

36. Hinnebusch J., Tilly K., (1993), *Mol. Microbiol.*, 10, 917-922.
37. Hirochika H., Nakamura K., Sakaguchi K., (1984), *EMBO J.*, 3, 761-766.
38. Hovind-Hougen K., (1984), *Yale J. Biol. Med.*, 57, 543- 548.
39. Hyde F. W., Johnson R. C., (1984), *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. Ser. A*, 263, 119-122.
40. Hyde F. W., Johnson R. C., (1984), *J. Clin. Microbiol.*, 20, 151-154.
41. Jauris-Heipke S., Fuchs R., Motz M., Preac-Mursic V., Schwab E., Soutschek E., Will G., Wilske B., (1993), *Med. Microbiol. Immunol.*, 182, 37-50.
42. Johnson R. C., Schmid G. P., Hyde F. W., Steigerwalt A. G., Brenner D. J., (1984), *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 34, 496-497.
43. Jonsson M., Noppa L., Barbour A. G., Bergstrom S., (1992), *Infect. Immun.*, 60, 1845-1853.
44. Kawabata H., Masuzawa T., Yanagihara Y., (1993), *Microbiol. Immunol.*, 37, 834-848.
45. Kinashi H., Shimaji M., Sakai A., (1987), *Nature*, 328, 454-456.
46. Kitten T., Barbour A. G., (1990), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 60077-6081.
47. Kitten T., Barbour A. G., (1992), *Genetics*, 132, 311-324.
48. Krawiec S., Riley M., (1990), *Microbiol. Rev.*, 54, 502-539.
49. Lewin B., (1994), *Genes V*, Oxford University Press, Oxford, 542.
50. Lin Y. S., Kieser H. M., Hopwood D. A., Chen C. W., (1993), *Mol. Microbiol.*, 10, 923-933.
51. Malloy D. C., Naumann R. K., Paxton H., (1990), *J. Clin. Microbiol.*, 28, 1089-1093.
52. Marconi R. T., Garon C. F., (1992), *J. Gen. Microbiol.*, 138, 533-536.
53. Marconi R. T., Garon C. F., (1992b), *J. Clin. Microbiol.*, 30, 2830-2834.
54. Margolis N., Rosa P., (1993), *Infect. Immun.*, 61, 2207-2210.
55. Milkman R., Bridges M., (1993), *Genetics*, 133, 455-468.
56. Nelson K., Whittam T., Selander R., (1991), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 6667-6671.
57. Noller H. F., Nomura M., (1987), *Escherichia coli and Salmonella typhimurium*, F. C. Neidhardt, American Society for Microbiology, Washington, D. C., 104-125.
58. Noppa L., Burman N., Sadziene A., Barbour A. G., Bergstrom S., (1995), *Microbiology*, 141, 85-93.
59. Norris S. J., Carter J. C., Howell J. K., Barbour A. G., (1992), *Infect. Immun.*, 60, 46562-4672.
60. Ogasawara N., Yoshikawa H., (1992), *Mol. Microbiol.*, 6, 629-634.
61. Ojaimi C., Davidson B. E., Saint-Girons I., Old I. G., (1994), *Microbiology*, 140, 2931-2940.
62. Old I. G., Mac Dougall J. M., Saint-Girons I., Davidson B. E., (1992), *FEMS Microbiol. Lett.*, 99, 245-250.
63. Old I. G., Margarita D., Saint-Girons I., (1993), *FEMS Microbiol. Lett.*, 111, 109-114.
64. Picken R. N., (1992), *J. Clin. Microbiol.*, 30, 99-114.
65. Plasterk R. H. A., Simon A. M., Barbour A. G., (1985), *Nature*, 318, 257-263.
66. Postic D., Assous M. V., Grimont P. A. D., Baranton G., (1994), *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 44, 743-752.
67. Preac-Mursic V., Wilske B., Patsouris E., Jauris S., Will G., Soutschek E., Reinhardt S., Lehnert G., Klockman U., Mehraein P., (1992), *Infection*, 20, 342-349.
68. Punita J. S., Reddy M. A., Das H. K., (1989), *J. Bacteriol.*, 171, 3133-3138.
69. Pyle L. E., Corcoran L. N., Cocks B. G., Bergemann A. D., Whitley J. C., Finch L. R., (1988), *Nucl. Acids Res.*, 16, 6015-6025.
70. Rasiah C., Schiltz E., Reichert J., Vogt A., (1992), *J. Gen. Microbiol.*, 138, 147-154.
71. Rosa P. A., Hogan D., Schwan T. G., (1991), *J. Clin. Microbiol.*, 29, 524-532.
72. Rosa P. A., Schwan T. G., (1989), *J. Infect. Dis.*, 160, 1018-1029.
73. Sadziene A., Barbour A. G., Rosa P. A., Thomas D. D., (1993), *Infect. Immun.*, 61, 3590-3596.
74. Sadziene A., Thomas D. D., Bundoc V. G., Holt S. C., Barbour A. G., (1991), *J. Clin. Invest.*, 88, 82-92.
75. Saint-Girons I., (1990), *Bull. Soc. Franc. Microbiol.*, 5, 9-11.
76. Samuels D. S., Marconi R. T., Garon C. F., (1993), *J. Gen. Microbiol.*, 139, 2445-2449.
77. Schmid G. P., Steigerwalt A. G., Johnson S. E., Barbour A. G., Steere A. C., Robinson I. M., Brenner D. J., (1984), *J. Clin. Microbiol.*, 20, 155-158.

78. Schwan T. G., Piesman J., Golde W. T., Dolan M. C., Rosa P. A., (1995), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 2909-2913.
79. Schwartz J., Gazumyan A., Schwartz I., (1992), J. Bacteriol., 174, 3757-3765.
80. Simpson W. J., Garon C. F., Schwan T. G., (1990a), Microbiol. Pathog., 8, 109-118.
81. Stalhammer-Carlemalm M., Jenny E., Gern L., Aeschljmann A., Meyer J., (1990), Zentralbl. Bakteriol., 274, 28-39.
82. Steere A. C., Grodzicki R. L., Kornblatt A. N., Craft J. E., Barbour A. G., Burgdorfer W., Schmid G. P., Johnson E., Malawista S.E., (1983), N. Engl. J. Med., 308, 733-740.
83. Steere A. C., Malawista S. E., Hardin J. A., Ruddy S., Askenase P. W., Andiman W. A., (1977), Ann. Intern. Med., 86, 685-698.
84. Steere A. C., Malawista S. E., Snydermann D. R., Shope R. E., Andiman W. A., Ross M. R., Steele R. M., (1977), Arthritis Rheum., 20, 7-17.
85. Theisen M., Fredriksen B., Lebech A. M., Vnust J., Hansen K., (1993), J. Clin. Microbiol., 31, 2570-2576.
86. Thomas A., Gassmann G. S., Rasiah C., Gobel U. B., (1991), Infect. Immun., 59, 2579-2585.
87. Tylewska-Wierzbiana S., (1995), Mikrobiol. Medycyna, 1, 20-22.
88. Wallich R., Helmes C., Schaible U. E., Lobet Y., Moter S. E., Kramer M. D., Simon M. M., (1992), Infect. Immun., 60, 4856-4866.
89. Wallich R., Schaible U. E., Simon M. M., Heiberger A., Kramer M. D., (1989), Nucleic Acid Res., 17, 8864.
90. Welsh J., Pretzman C., Postic D., Girons I., Baranton G., McClelland M., (1992), Int. J. Syst. Bacteriol., 42, 370-377.
91. Wienecke R., Neubert U., Volkenandt M., (1993), Lancet, 342, 435.
92. Wilske B., Preac-Mursic V., Gobel U. B., Graf R., Jauris S., Soutschek E., Schwab E., Zumstein G., (1993), J. Clin. Microbiol., 31, 340-350.
93. Wilske B., Preac-Mursic V., Jauris S., Hofman A., Pradel I., Soutschek E., Schwab E., Will G., Wanner G., (1993), Infect. Immun., 61, 2182-2191.
94. Zumstein G., Fuchs R., Hofmann A., Preac-Mursic V., Soutschek E., Wilske B., (1992), Med. Microbiol. Immunol., 181, 57-70.

Molecular biology of the spirochaete *Borrelia burgdorferi*

Summary

Unusual properties of the genome of the causative agent of Lyme disease, the spirochaete *Borrelia burgdorferi* and related species *B. garini* and *B. afzelii*, the presence of linear chromosome and plasmids and unusual organization of rRNA genes and *dnaA* gene cluster were discussed. Major outer-membrane proteins of *Borrelia* OspA, OspB and OspC, and endoflagellar filaments protein Fla were also presented.

Key words:

Lyme disease, *Borrelia burgdorferi*, linear chromosome, linear plasmid, rRNA operon, *dnaA*, OspA, OspB, OspC, flagellin.

Adres do korespondencji:

Jacek Jenek, Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, ul. H. Wieniawskiego 3, 61-712 Poznań.