



## Doctoral Thesis

# **The regulatory network between the alternative sigma factor RpoS and genes encoded on the virulence plasmid pSDL2 of *Salmonella dublin* lane**

**Author(s):**

Paesold, Günther

**Publication Date:**

1999

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-003809213> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No.

13157

**The regulatory network between the alternative sigma factor  
RpoS and genes encoded on the virulence plasmid pSDL2 of  
*Salmonella dublin* Lane.**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZÜRICH  
for the degree of  
DOCTOR OF NATURAL SCIENCE

presented by  
Günther Paesold  
Dipl. Natw. ETH  
born on April 22, 1968  
from Austria

accepted on the recommendation of:  
Prof. Dr. Th. Leisinger, examiner  
PD Dr. M. Krause, co-examiner

Zürich 1999

## 1 Summary/Kurzfassung

### 1.1 Summary

Most virulent non-typhoid *Salmonella*, including *Salmonella dublin* Lane, contain large virulence plasmids that enable the bacterial cell to survive in extraintestinal tissues and to cause systemic diseases. The virulent phenotype is mediated by the *Salmonella* plasmid virulence (*spv*) genes. The *spv* locus consists of *spvR*, encoding a transcriptional regulator, and the *spvABCD* operon. Together with the alternative sigma factor RpoS, SpvR positively regulates its own and the *spvABCD* transcription. Since *rpoS* is the key regulatory gene for *spv* expression, we examined its transcriptional and posttranscriptional regulation. Two different promoters contribute to the cellular level of *rpoS* mRNA. Growth phase-dependent transcription from a weak promoter upstream of the *nlpD* gene leads to a polycistronic *nlpD-rpoS* mRNA. The second *rpoS* promoter is located within the *nlpD* coding region. This promoter is substantially stronger than the other promoter and shows a constant transcriptional activity during the whole growth cycle. It was shown that the growth phase-dependent increase of *rpoS* mRNA is due to an increase in stability of the main transcript during late exponential growth.

However, the cellular RpoS levels are not the only determinants of *spv* gene expression. We identified some short-chain fatty acids (SCFA), especially valeric acid, that activate *spv* transcription by two distinctive pathways. During exponential growth SCFA act together with *rpoS* to immediately induce *spv* expression. Once the cells entered stationary phase *rpoS* was no longer

needed for SCFA-mediated *spv* expression. Although their physiological role is not clear, SCFA represent a new class of inducer molecules that circumvent the requirement of *rpoS* to express the virulence phenotype.

Further examination of the regulatory network between the virulence plasmid and *rpoS* reveals that not only *rpoS* regulates genes encoded by the virulence plasmid, but the virulence plasmid also influences the expression of *rpoS*. In the absence of RpoS, a to date unknown factor encoded on the virulence plasmid induces *rpoS* transcription during late exponential growth. Complementation experiments excluded that one of the *spv* genes is involved in this 'backward' regulation leading from the plasmid to the global regulator *rpoS*.

In this work we present novel regulatory pathways of *Salmonella* to express the plasmid mediated virulence phenotype. In the classic regulatory cascade a stationary phase signal induces the synthesis of RpoS, resulting in the expression of *spvRABCD*. We established that SCFA and a putative factor encoded by the virulence plasmid itself act as inducers of the *spv* genes, even under circumstances when *rpoS* is not expressed by a stationary phase signal.

## 1.2 Kurzfassung

Virulente, nicht-typhöse *Salmonella* Stämme, wie zum Beispiel *Salmonella dublin* Lane, besitzen Virulenzplasmide, die es dem Bakterium während Infektionen ermöglichen, in extraintestinalen Geweben zu überleben und systemische Krankheiten hervorzurufen. Die plasmidkodierten *Salmonella* Virulenzgene *spvRABCD* sind verantwortlich für die Expression des Virulenz-Phänotyps. Die *spv* Gene umfassen einerseits *spvR*, das für einen transkriptionellen Aktivator kodiert und andererseits die Strukturgene *spvABCD*, die als Operon transkribiert werden. SpvR reguliert in Wechselwirkung mit dem alternativen Sigmafaktor RpoS seine eigene und die Transkription der *spvABCD* Gene. Da *rpoS* das Schlüsselgen der *spv* Expression darstellt, untersuchten wir dessen Regulation auf transkriptioneller und posttranskriptioneller Ebene. Zwei Promotoren tragen zur Synthese der *rpoS* Boten-RNS bei. Ein schwacher Promotor oberhalb des *nlpD* Gens erzeugt ein polycistronisches *nlpD* und *rpoS* enthaltendes Transkript. Ein zweiter Promotor von *rpoS* liegt in der kodierenden Sequence von *nlpD* und zeigt eine wesentlich stärkere, aber gleichbleibend hohe Aktivität entlang der Wachstumskurve. Daraus folgt, dass der beobachtete, Wachstumsphasen abhängige Anstieg der zellulären *rpoS* Boten-RNS posttranskriptionell, durch Stabilisierung des Transkripts, reguliert ist.

Die Menge an RpoS in der Zelle ist jedoch nicht der einzige Faktor, der für die Expression der *spv* Gene verantwortlich ist. Eine Gruppe von kurzkettigen Fettsäuren (SCFA), im speziellen Valeriansäure, konnten als Aktivatoren der *spv* Genexpression identifiziert werden. Diese Aktivierung scheint über zwei

unterscheidbare Wege zu erfolgen. Während in der exponentiellen Wachstumsphase SCFA und RpoS zusammen die Expression der *spv* Gene aktivieren, wird RpoS nach dem Eintritt in die stationäre Wachstumsphase nicht mehr für die SCFA abhängige *spv* Expression benötigt. Obwohl die physiologische Bedeutung noch unklar ist, stellen kurzkettige Fettsäuren eine neue Klasse von Effektormolekülen dar, die es ermöglichen, die Notwendigkeit von RpoS für die Expression der *spv* Gene zu umgehen.

Weitere Untersuchungen der regulatorischen Wechselwirkungen zwischen dem Virulenzplasmid und *rpoS* zeigten, dass nicht nur RpoS die *spv* Gene auf dem Virulenzplasmid reguliert, sondern auch das Virulenzplasmid die Expression von *rpoS* beeinflusst. In Abwesenheit von RpoS ist ein noch unbekannter, plasmidkodierter Faktor für die wachstumsphasenabhängige Transkription von *rpoS* verantwortlich. Komplementierungsexperimente zeigten, dass keines der bekannten plasmidkodierten Gene an dieser 'rückwärts'-gerichteten Regulation vom Virulenzplasmid zum globalen Regulatorgen *rpoS* beteiligt ist.

In der vorliegenden Arbeit wurden bislang unbekannte Regulationswege charakterisiert, die zur Expression des plasmidabhängigen Virulenz-Phänotyps in *Salmonella* beitragen. Während normalerweise der Eintritt in die stationäre Wachstumsphase zur Expression von *rpoS* und somit zur Synthese der SpvRABCD Proteine führt, konnte gezeigt werden, dass SCFA und ein plasmidkodierter Faktor in der Lage sind die Expression von *spvRABCD* zu induzieren, auch wenn sich die Bakterien nicht in der stationären Wachstumsphase befinden.