

## РОЛЬ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В МЕТАБОЛИЗМЕ БАКТЕРИЙ

©2015 г. Т. Л. АЖИКИНА<sup>1</sup>, Д. В. ИГНАТОВ<sup>1</sup>,  
Е. Г. САЛИНА<sup>2</sup>, М. В. ФУРСОВ<sup>2</sup>, А. С. КАПРЕЛЬЯНЦ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биоорганической химии им. академиков  
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва

<sup>2</sup> Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный  
исследовательский центр «Фундаментальные основы  
биотехнологии» Российской академии наук, Москва

I. Введение. II. Малые антисмысловые РНК. III. Мишени малых некодирующих РНК и их роль в регуляции клеточных процессов. IV. Роль малых РНК в развитии инфекционного процесса, вызванного бактериальными патогенами. V. Малые РНК микобактерий и их роль в регуляции стрессового ответа и персистенции. VI. Заключение.

### I. ВВЕДЕНИЕ

Одним из функциональных элементов любой прокариотической клетки являются регуляторные некодирующие РНК. Целый ряд путей клеточного метаболизма регулируется с помощью этих молекул. Первые регуляторные РНК прокариот были выявлены задолго до открытия микроРНК (miRNA) и малых интерферирующих РНК (siRNA) эукариот. К 2001 году было известно 11 малых РНК *Escherichia coli*, транскрибируемых с межгенных участков генома, причем большая часть из них была обнаружена случайно [1]. Новая эра в изучении регуляторных РНК началась в 2001–2002 годах с разработкой революционных биоинформатических методов поиска кандидатов в малые РНК, в основе которых лежал сравнительный анализ геномов близкородственных видов бактерий. К настоящему времени известно несколько сотен малых регуляторных РНК бактерий.

Регуляторные РНК бактерий можно разделить на рибопереключатели, малые некодирующие РНК, а также CRISPR-РНК. Термин

---

Адрес для корреспонденции: [tatazhik@ibch.ru](mailto:tatazhik@ibch.ru)

Работа поддержана грантами РФФИ 13-04-40071-Н, 13-04-40072-Н, 15-04-05286-а, 15-04-04563-а, программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

«рибопереключатели» (riboswitches) употребляется в отношении последовательностей, находящихся на 5'-, реже 3'-концевых участках мРНК, способных изменять свою конформацию в ответ на сигналы окружающей среды или присутствие специфичного лиганда, и тем самым регулировать транскрипционную активность. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)-РНК представляют собой последовательности, частично комплементарные фрагментам генома бактериофагов, а также участкам плазмидных ДНК. Они обеспечивают бактериям устойчивость к вирусам и блокируют конъюгацию плазмид. Для подробного ознакомления с этими типами некодирующих РНК можно рекомендовать обзоры [2–4].

Малые некодирующие РНК образуют наиболее многочисленную группу регуляторных РНК. В их функции входит модуляция активности РНК-полимеразы, регуляция стабильности мРНК и ее трансляции и т.д. После транскрипции многие малые РНК подвергаются процессингу с удалением лишних остатков на 5' и/или 3' конце [5]. Малые некодирующие РНК можно разделить на три крупных класса: (1) антисмысловые – взаимодействуют с целевыми мРНК, изменяя возможность их трансляции и/или стабильность, (2) модифицирующие активность белков, (3) – структурные, участвующие в процессах т.н. «домашнего хозяйства». К этой группе относятся, например, 4.5S РНК и тмРНК. В нашем обзоре мы подробно остановимся на антисмысловых малых РНК.

## II. МАЛЫЕ АНТИСМЫСЛОВЫЕ РНК

Принцип действия антисмысловых РНК основан на их комплементарном связывании с мРНК-мишенью. В зависимости от взаимного расположения генов малых РНК и их мишеней различают малые цис- и транс-кодируемые антисмысловые РНК.

### ЦИС-КОДИРУЕМЫЕ АНТИСМЫСЛОВЫЕ РНК

Цис-кодируемые антисмысловые РНК кодируются в том же локусе, что и их мРНК-мишени, но на противоположной цепи генома, вследствие чего достигается полностью комплементарное связывание. Цис-кодируемые транскрипты участвуют в регуляции таких процессов, как трансляция и транскрипция, инициация репликации, плазмидная конъюгация, транспозиция, деградация мРНК, а также контролируют некоторые пути клеточного метаболизма. Наиболее простым механизмом действия цис-кодируемых малых РНК является

блокировка трансляции посредством комплементарного связывания с сайтом посадки рибосомы на мРНК-мишени.

Роль цис-кодируемых малых РНК изучена недостаточно широко. Известно, что часть из них принимает участие в блокировке экспрессии токсичных белков. В качестве примера можно привести малую РНК RatA, обнаруженную в транскриптом *Bacillus subtilis*. Эта цис-кодируемая РНК контролирует экспрессию токсина TxpA. Показано, что в клетках мутантного штамма *B. subtilis*, лишённого промоторного и 5'-лидерного участков гена *ratA*, содержание TxpA в цитоплазме существенно увеличивается. Несмотря на то, что РНК RatA комплементарна транскрипту гена *txpA* лишь частично (перекрывающаяся область достигает 75 нуклеотидов), установлено, что формирование дуплекса между этими двумя молекулами РНК происходит без участия белков-посредников [6]. В дальнейшем происходит деградация обеих РНК при помощи рибонуклеаз РНКазы Y и РНКазы III [7]. Другим примером является система SymR–SymE в геноме *E. coli*, которая состоит из двух генов: *symR* (малая РНК) и *symE* (SOS-индуцируемый токсин). При повышении концентрации SymE в клетке происходит падение уровня синтетической активности рибосом. Частью негативной регуляции гена данного токсина и служит РНК SymR: она комплементарно связывается с мРНК, транскрибируемой с гена *symE*, тем самым препятствуя трансляции последней [8].

Другие цис-антисмысловые РНК способны к модуляции экспрессии в оперонах. Так, малая РНК GadY *E. coli*, связываясь с мРНК *gadXW*, инициирует расщепление данного транскрипта на *gadX* и *gadW*. GadX – транскрипционный фактор, активирующий экспрессию глутамат декарбоксилаз GadA и GadB, а данная схема является частью защитной системы *E. coli* при кислотном стрессе и первым описанным примером положительного влияния малой РНК на накопление регулируемой ею мРНК [9]. В некоторых случаях цис-антисмысловые РНК способны связыванием с мРНК терминировать транскрипцию после сайта связывания, тем самым препятствуя экспрессии ассоциированных с ними генов [10].

#### ТРАНС-КОДИРУЕМЫЕ АНТИСМЫСЛОВЫЕ РНК

Гены транс-кодируемых антисмысловых РНК расположены в участках генома, удаленных от местоположения регулируемого гена. Размеры этих РНК варьируют в пределах от 50 до 300 нуклеотидов. Транс-кодируемые РНК синтезируются у бактерий в ответ на различные факторы стресса (подробнее см. раздел III данного обзора).

Большинство из них транскрибируется с независимых промоторов, существенно не отличающихся от промоторов других бактериальных генов.

Такие малые РНК обнаруживают лишь частичную комплементарность с мишенями, в связи с чем каждый подобный регуляторный транскрипт потенциально способен взаимодействовать с мРНК многих генов. Поскольку комплементарный участок обычно не превышает 25 нуклеотидов, такой тип регуляции крайне восприимчив к однонуклеотидным заменам. Например, всего четыре однонуклеотидные замены могут повлиять на активность малой РНК SgrS, контролирующей экспрессию гена *ptsG*, который кодирует белок-транспортёр глюкозо-6-фосфата [11].

Большинству транс-кодируемых РНК необходимы специальные шапероны для стабилизации связи с мРНК. Одним из самых хорошо изученных шаперонов такого типа является белок Hfq [12]. У *E. coli* с Hfq связываются по меньшей мере 40% малых РНК [13]. Hfq первоначально был идентифицирован как необходимый для репликации фага Q $\beta$  белок *E. coli* (Hfq, host factor Q $\beta$ ) [14]. Аминокислотная последовательность и структура Hfq (гексамерное кольцо) указывает на его сходство с эукариотическими Sm-белками, являющимися компонентами сплайсосом [15]. Делеция гена данного белка приводит к негативным последствиям для роста и выживания бактерии в различных стрессовых условиях, таких как осмотический шок или окислительное повреждение. Также было обнаружено, что Hfq является необходимым фактором вирулентности патогенов, относящихся к родам *Brucella*, *Vibrio*, *Listeria*, *Salmonella* и др. [16–18].

Hfq способен регулировать распад некоторых мРНК, конкурируя с рибосомой и делая доступным сайт расщепления РНКазой E на этой мРНК [19]. Однако основной функцией белка Hfq является его участие в связывании транс-кодируемых РНК с мРНК-мишенями, что также влияет на стабильность или трансляцию мРНК. В структуре транс-кодируемых РНК, связывающихся с Hfq, выделяют три домена (рис. 1): шпилька на 3'-конце обеспечивает Rho-независимую терминацию транскрипции и защищает малую РНК от действия 3'-экзонуклеаз; другой домен, сайт связывания Hfq, обеспечивает функционирование и стабильность малой РНК; третий участок (т.н. «seed region») необходим для связывания с мРНК-мишенью. Находясь в комплексе с малой РНК, Hfq связывается с A/U-богатыми одноцепочечными участками мРНК, улучшая комплементарное взаимодействие между мРНК и малыми РНК.

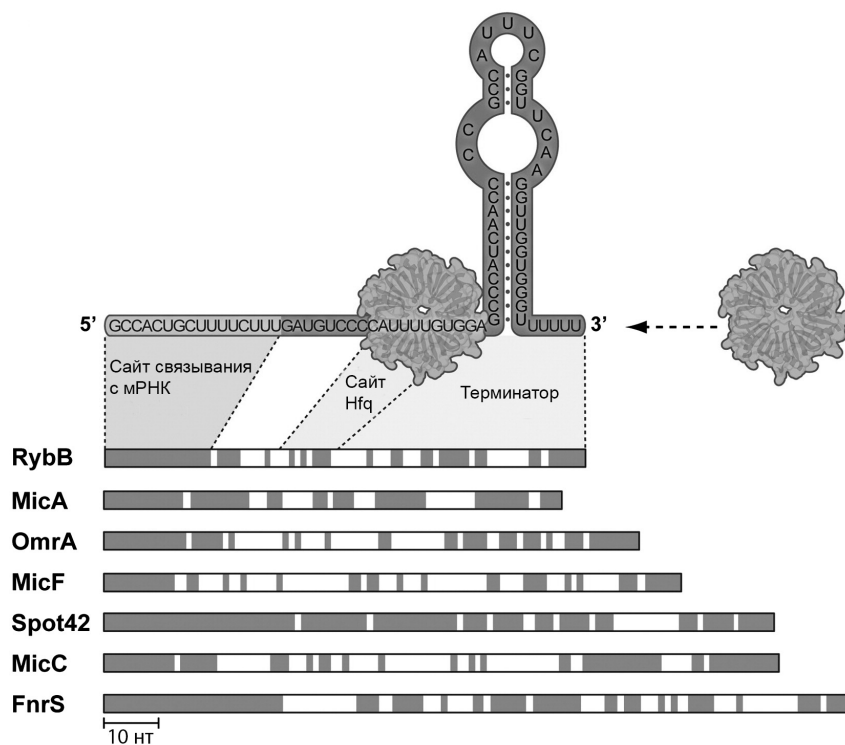


Рис. 1. Структурные элементы Hfq-связывающих транс-кодируемых РНК на примере некоторых малых РНК энтеробактерий (модифицировано из [133]).

Наиболее консервативные области (зоны, выделенные серым) соответствуют участку малой РНК, комплементарно взаимодействующим с мРНК («seed region»). Показаны участки связывания Hfq и Rho-независимого терминатора транскрипции.

Истинные причины необходимости белка Hfq для осуществления связывания малых транс-кодируемых РНК с РНК-мишенями остаются неизвестными. На этот счёт существуют две гипотезы. Во-первых, Hfq может выступать в качестве «площадки» для взаимодействия транс-кодируемых РНК с РНК-мишенями. Иначе говоря, посредством связывания с Hfq повышается локальная концентрация этих транскриптов, что увеличивает вероятность образования дуплекса между ними. Вторая гипотеза основывается на предположении о том, что взаимодействие молекул РНК с Hfq приводит к изменению их вторичной структуры: в комплексе с белком транс-

крипты принимают более благоприятные для комплементарных взаимодействий конформации, нежели в свободном состоянии [20].

Установлено, что время деградации большей части транскодируемых РНК *E. coli* в отсутствие шаперона Hfq существенно уменьшается. Образование РНК-белкового комплекса предохраняет короткие регуляторные транскрипты от разрушающего воздействия рибонуклеаз, в частности, РНКазы E. Этот фермент проявляет эндонуклеазную активность и расщепляет одноцепочечные участки РНК, осуществляя не только деградацию, но и процессинг некоторых транскриптов [21]. Впервые участие РНКазы E в расщеплении транскодируемых РНК было показано в исследованиях физиологической активности малой РНК RyhB [22]. С-концевой домен РНКазы E способен связываться с хеликазой RhlB, полинуклеотидфосфорилазой RNase и енолазой, образуя белковый комплекс, так называемую деградосому. Компоненты деградосомы помогают полностью расщепить и уничтожить дуплексы, сформированные малой РНК и мРНК [23].

Известны различные механизмы действия Hfq-зависимых транскодируемых малых РНК на мРНК-мишени:

1. Ингибирование трансляции мРНК путем блокирования малыми РНК сайта связывания рибосомы (рис. 2а). Примером такого типа регуляции может служить негативная регуляция экспрессии гена *ptsG* *E. coli*. Малая РНК SgrS при помощи Hfq блокирует сайт связывания рибосомы на мРНК *ptsG*, кодирующей один из переносчиков глюкозы в фосфоенолпируват-фосфотрансферазной системе. Такое взаимодействие препятствует трансляции этой мРНК. Затем комплекс SgrS-*ptsG* деградируется РНКазой E по механизму, который будет рассмотрен ниже [5].

2. Активация трансляции мРНК в результате разрушения вторичной структуры, закрывающей сайт связывания рибосомы (рис. 2б). Этот механизм, необычный для малых РНК, показан на примере функционирования  $\sigma$ -фактора RpoS. Трансляция этого фактора регулируется с помощью малых РНК DsrA и RprA, которые взаимодействуют с 5'-лидерной последовательностью мРНК *rpoS*, в результате чего формирование вторичной структуры, закрывающей сайт связывания рибосомы, становится невозможным, и уровень трансляции *rpoS* возрастает [24].

3. Стабилизация мРНК в результате комплементарного взаимодействия мРНК с малой РНК (рис. 2в). Неоднократно было показано, что малые РНК чрезвычайно лабильны, если не стабилизированы связыванием с Hfq. Так, время полужизни малой РНК LhrA (*Listeria monocytogenes*) в штаммах дикого типа составляет более 30 мин, в то время как в штамме, мутантном по *hfq*, сокращается до 3 минут

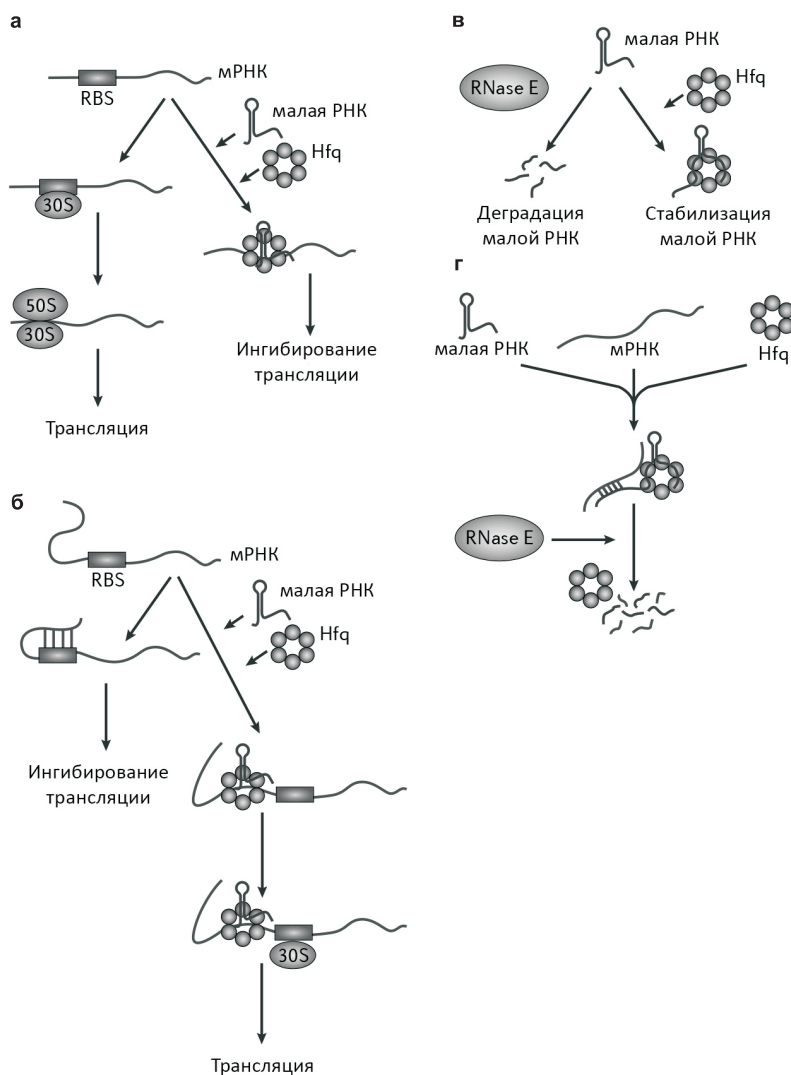


Рис. 2. Механизмы действия Hfq (модифицировано из [12]).

а) Комплекс Hfq с транс-кодируемой малой РНК блокирует сайт связывания рибосомы (RBS).

б) Комплекс Hfq с транс-кодируемой малой РНК ингибирует образование вторичной структуры 5'НТО (нетранслируемая область мРНК), блокирующей сайт посадки рибосомы.

в) Комплекс Hfq с транс-кодируемой малой РНК защищает малую РНК от гидролиза рибонуклеазами.

д) Комплекс Hfq с транс-кодируемой малой РНК может индуцировать расщепление РНК-РНК дуплексов, образованных малой РНК и мРНК.



[25]. Малые РНК MicA, GlnY, RyhB, и SgrS в отсутствие Hfq укорачиваются с 3'-конца [26].

4. Индуцированный действием малой РНК распад мРНК (рис.2г). Такой механизм был впервые продемонстрирован на примере транс-кодируемой малой РНК RyhB, запускающей деградацию нескольких мРНК. Связывание RyhB с мРНК-мишенями приводит к деградации последних при помощи РНКазы E, которая формирует различные рибонуклеопротеидные комплексы с Hfq и малыми РНК, используя свой С-концевой домен. Такие комплексы функционируют в качестве инициаторов деградации данных мРНК [27]. Несмотря на то, что полная деградация мРНК – наиболее частый исход, связывание с RyhB может приводить и к дифференциальной деградации полицистронной мРНК. Предполагается, что в этом случае мРНК несут дополнительную информацию, определяющую их судьбу после связывания с RyhB. В данной системе белок Hfq повышает эффективность связывания малой РНК с мРНК-мишенью (изменяет вторичную структуру мРНК, препятствующую связыванию), стабилизирует малые РНК, защищает мРНК от деградации в отсутствие RyhB, привлекает РНКазу E при образовании комплекса RyhB с мРНК.

Стоит отметить, что не во всех бактериях найден белок Hfq. Например, не показано его присутствие в таких  $\epsilon$ -протеобактериях, как *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* [28], хотя данные виды кодируют достаточно большое количество малых РНК. Также не обнаружен Hfq или его аналоги у микобактерий [29]. Предполагается, что наличие протяжённых участков комплементарности в молекуле мРНК-мишени, а также повышенная концентрация коротких регуляторных РНК в определённых условиях могут повышать вероятность осуществления связывания этих РНК со своими РНК-мишенями в отсутствие шаперона Hfq. Известны примеры такой регуляции. Например, малые РНК *Staphylococcus aureus* имеют несколько транс-кодируемых мишеней и взаимодействуют с ними без помощи Hfq либо его аналогов [30]. В мутантных по гену *hfq* штаммах *Vibrio cholerae* осуществляется блокировка экспрессии гена *ompA* с помощью транс-кодируемой малой РНК VtgA [31]. Помимо Hfq, некоторые другие белки также могут выполнять роль РНК-шаперона: например, белок ProQ *E. coli* [32] и YbeY *Sinorhizobium meliloti* [33].



### III. МИШЕНИ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ

Несмотря на то, что на сегодняшний момент количество обнаруженных малых РНК в бактериальных клетках достигает нескольких сотен, лишь для части из них известно, на какие молекулярные мишени направлено их действие, и к каким последствиям приводит взаимодействие малой РНК с соответствующей мишенью. В недавно опубликованных обзорах читатель может найти достаточно исчерпывающую информацию по этому поводу [34, 35]. Суммируя имеющиеся данные, становится ясным, что малые РНК в клетках бактерий вовлечены в регуляцию как разнообразных метаболических звеньев бактериальных клеток, так и специфических процессов, протекающих в ответ на изменения условий окружающей среды. Наиболее представительная группа охарактеризованных бактериальных малых некодирующих РНК включает в себя малые РНК, регулирующие ответ клетки на различные виды стрессорных факторов. Ниже приведены примеры таких малых РНК.

#### ДЕФИЦИТ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

При голодании клеток *E. coli* по углеродным субстратам важную роль играет РНК-связывающий регуляторный белок CsrA. CsrA связывается с мРНК нескольких генов, включая белок-репрессор синтеза гликогена *cstA*, и подавляет их трансляцию [36]. Сам белок CsrA ингибируется связывающимися с ним малыми РНК CsrB и CsrC, во вторичных структурах которых присутствуют шпильки, имитирующие сайты связывания белка CsrA с его мРНК-мишенями [37]. Конкуренция за CsrA между данными малыми РНК и мРНК-мишенями приводит к репрессии гликолиза и активации глюконеогенеза [38]. Транскрипция генов *csrB* и *csrC* запускается двукомпонентными регуляторами BagA-UvrB при попадании клеток в бедную питательными веществами среду [39]. Гомологи CsrB и CsrC (RsmY, RsmZ) встречаются у многих родов бактерий (*Salmonella*, *Erwinia*, *Yersinia*, *Vibrio* и др.), у которых они влияют на вторичный метаболизм, взаимодействуя с гомологами CsrA [40–42].

В условиях дефицита питательных веществ у бактерий рода *Staphylococcus*, *Micrococcus* и *Bacillus* в конце экспоненциальной стадии роста индуцируется транскрипция малой некодирующей РНК RsaE. Вторичная структура этой малой РНК содержит две шпильки, разделенные последовательностью из 17 нуклеотидов. Благодаря этому РНК RsaE способна предотвратить образование рибосомного комплекса на двух мРНК-мишенях *opp3B* и *opp3A* в пределах одного

локуса *opp3*, кодирующего белки системы транспорта пептидов и аминокислот. RsaE обеспечивает также понижение уровня активности ключевых белков, входящих в цикл трикарбоновых кислот (например, сукцинил КоА синтетазы SucB), а также цикл биосинтеза пуринов, что способствует адаптации клеток *Staphylococcus aureus* к условиям низкой концентрации питательных веществ [30, 43].

Во время аминокислотного голодания или в результате бактерицидного воздействия полимиксинов, приводящих к нарушению структуры клеточной стенки, в клетках *Salmonella enterica* происходит активация стрессового сигма-фактора  $\sigma^S$ , контролирующего синтез малой некодирующей РНК SdsR. Находясь в комплексе с белком Hfq, SdsR снижает уровень экспрессии белка наружной мембраны OmpD [44], являющегося наиболее распространённым порином у *Salmonella enterica* [45]. Предположительно, снижение проницаемости внешней мембраны предотвращает «утечку» низкомолекулярных веществ (в том числе аминокислот) из клетки.

Hfq-ассоциированная малая некодирующая РНК GcvB играет значительную роль в в физиологическом ответе *E. coli* и *S. typhimurium* на аминокислотное голодание. Транскрипция гена *gcvB* активируется белком GcvA при высоком внутриклеточном уровне глицина и репрессуруется при недостатке глицина. Малая РНК GcvB подавляет синтез белков OppA и DppA (компонентов систем транспорта малых пептидов, полярных и разветвленных аминокислот, а также токсинов и антибиотиков) и, таким образом, может предотвращать перенос токсичных соединений в клетку [46–52]. Интересно, что малая некодирующая РНК GcvB содержит в себе две последовательности, каждая из которых может связываться с соответствующими мРНК-мишенями [51, 53].

При недостатке глюкозы уровень цАМФ в клетках *E. coli*, или *S. typhimurium* увеличивается, что приводит к активации экспрессии малой некодирующей РНК SuaR (ранее известной как RyeE) белком-активатором CRP (cAMP receptor protein). В свою очередь, Hfq-ассоциированная SuaR подавляет экспрессию гена *ompX*, кодирующего белок, стимулирующий бактериальную адгезию [54–56]. Подавление экспрессии белка OmpX, по-видимому, увеличивает «метаболическую экономию», сокращая избыточные пути биосинтеза [55].

В условиях дефицита железа, а также при инактивации белка-регулятора поглощения железа Fur, который является глобальным железозависимым репрессором транскрипции, в клетках *Shigella dysenteriae* отмечается увеличение синтеза малой некодирующей РНК RyhB. Эта РНК в комплексе с Hfq подавляет экспрес-

сию транскрипционного активатора VirB, что, в свою очередь, снижает уровень наработки мРНК гена *sodB*, кодирующего супероксиддисмутазу. В клетках *E. coli* Hfq-ассоциированная RyhB также подавляет экспрессию оперона *sdhCDAB*, кодирующего сукцинат-дегидрогеназу, а также генов *acnA* и *fumA*, кодирующих ферменты цикла трикарбоновых кислот аконитазу и фумаразу, что «балансирует» центральные пути метаболизма, включающие железосодержащие и не содержащие железо ферменты, а также генов *fnA* и *bfr*, кодирующих ферритин [57–59].

В богатых железом средах белок Fug в клетках *Pseudomonas aeruginosa* подавляет экспрессию двух малых регуляторных РНК, кодируемых генами *prfF1* и *prfF2*. Данные малые РНК подавляют экспрессию генов оперона *antABC*, кодирующих ферменты расщепления антранилата, предшественника сигнального хинолона у псевдомонад (PQS). Малые РНК PrfF являются функциональными гомологами малой некодирующей РНК RyhB, поскольку они снижают уровень мРНК генов *sodB*, *sdhCDAB*, *fnA* и *bfr* [60].

В клетках *Neisseria meningitidis* была обнаружена Hfq-ассоциированная малая РНК NrrF, которая, подобно RyhB у *S. dysenteriae* и PrfF у *P. aeruginosa*, при культивировании бактерий в питательных средах с дефицитом железа снижает уровень экспрессии генов *sdhCDAB* [61, 62]. В условиях дефицита железа в клетках *B. subtilis* увеличивается уровень экспрессии малой некодирующей РНК FsrA, которая также блокирует синтез сукцинатдегидрогеназы SdhCDAB [63].

#### «КИСЛОТНЫЙ» СТРЕСС

В стационарной фазе роста клеток *E. coli* происходит закисление среды. При этом резко увеличивается уровень экспрессии малой некодирующей РНК GadY, что приводит к увеличению уровня синтеза мРНК транскрипционного активатора GadX. Он, в свою очередь, активирует транскрипцию генов *gadA* и *gadB*, кодирующих глутаматдекарбоксилазы – белки, понижающие концентрацию ионов водорода внутри клетки [9]. Выживанию клеток *E. coli* при низких значениях pH среды также способствует малая некодирующая РНК GcvB, так как она позитивно регулирует транскрипцию гена *rpoS*, кодирующего стрессовый сигма-фактор  $\sigma^S$  [64].

## ИЗБЫТОК НАКОПЛЕНИЯ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТА

В определенных условиях в бактериальной клетке происходит избыточное накопление глюкозо-6-фосфата (G6P) или неметаболизированного аналога глюкозы – метилглюкозид-6-фосфата (MG6P), что приводит к остановке роста [65] и гибели клеток [66]. Hfq-ассоциированная малая некодирующая РНК SgrS (ранее известная как RyaA) в условиях глюкозо-фосфатного стресса *E. coli*, ингибирует синтез белка PtsG, одного из основных переносчиков глюкозы в бактериальной фосфоенолпируват-фосфотрансферазной системе (PTS), что предотвращает дальнейшее накопление G6P или MG6P в клетке [11, 67]. Регуляция достигается за счет комплементарного взаимодействия между SgrS и мРНК *ptsG*, что приводит к ингибированию трансляции и последующей деградации комплекса РНКазой E [27, 68]. Кроме того, малая РНК SgrS кодирует пептид SgrT, который также ингибирует активность PtsG [5]. Еще одной мишенью, регулируемой РНК SgrS на пост-транскрипционном уровне, является оперон *manXYZ* системы PTS, кодирующий белки-переносчики глюкозы и маннозы [69].

СТРЕСС, ВОЗНИКАЮЩИЙ ПРИ ПЕРЕХОДЕ АЭРОБИОЗА  
К АНАЭРОБИОЗУ

Hfq-ассоциированная малая некодирующая РНК FnrS, уровень экспрессии которой увеличивается во время перехода клеток *E. coli* от аэробных условий к анаэробным, подавляет экспрессию генов, кодирующих ферменты, связанные с дыханием: малатдегидрогеназу MaeA, этанолдегидрогеназу/редуктазу AdhP, D-лактатдегидрогеназу Dld, необходимую для аэробного роста клеток на средах, содержащих молочную кислоту. Также подавляется экспрессия генов, кодирующих изофермент фосфоглицератмутазы Gpm, который преобразует 3-фосфоглицерат в 2-фосфоглицерат, мРНК *sodB*, кодирующую супероксиддисмутазу, защищающую клетки от супероксидных радикалов, и, наконец, две мРНК, кодирующие ферменты, участвующие в метаболизме фолиевой кислоты – дигидронеоптеринтрифосфатэпимеразу FolX и ГТФ-зависимую циклогидролазу I FolE [70].

В анаэробных условиях в клетках *Neisseria meningitidis* происходит синтез малой некодирующей РНК AniS, запускаемый транскрипционным активатором FNR. Hfq-ассоциированная малая РНК AniS подавляет экспрессию гена *NMB0214*, который кодирует олигопептидазу Pric. Точная клеточная функция белка Pric до сих пор не известна. Однако показано, что этот белок вовлечен в процессы экспорта белков, а также в процессы деградации и регуляции клеточного цикла у *E. coli* [71–73].

При дефиците кислорода у клеток *P. aeruginosa* в стационарной фазе роста происходит активация синтеза малой некодирующей РНК PhrS при помощи глобального регулятора ANR. Hfq-связанная малая РНК PhrS является активатором синтеза белка PqsR, который представляет собой рецептор сигнального хинолона [74].

#### ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

В ответ на окислительный стресс в клетках *E. coli* нарабатывается малая некодирующая РНК OxyS, которая подавляет трансляцию гена *fhfA*, транскрипционного активатора метаболизма формиата. Кроме того, OxyS подавляет экспрессию гена *rpoS* [75–78].

#### СТРЕСС В СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЕ РОСТА

По достижении стационарной фазы роста клетками *E. coli* или *S. typhimurium* количество транскриптов гена *ompA*, кодирующего белок наружной мембраны, снижается. Этот процесс связан с экспрессией Hfq-ассоциированной малой некодирующей РНК MicA, которая, образуя дуплекс с мРНК *ompA*, вызывает её деградацию [79, 80]. В этих условиях также наблюдается экспрессия малой некодирующей РНК RybB, которая подавляет трансляцию белков наружной мембраны OmpC и OmpW [81–83].

В клетках *V. cholerae* в стационарной фазе роста активируется синтез  $\sigma^E$ -зависимой малой некодирующей РНК VtgA, которая подавляет трансляцию мРНК гена *ompA*. Также было показано, что VtgA снижает вирулентность *V. cholerae* путем подавления экспрессии гена *tcpA*, кодирующего субъединицу токсин-ассоциированных пилей [31].

#### ЧУВСТВО КВОРУМА (QUORUM SENSING)

Помимо описанных выше функций, малые РНК принимают участие в процессе «чувства кворума» – способности бактерий обмениваться информацией между клетками при помощи внеклеточных сигнальных молекул-аутоиндукторов в ответ на изменение условий окружающей среды. Клетки *V. cholerae* реагируют на аутоиндукторы при помощи двухкомпонентной сигнальной системы, связанной с мембранной киназой, которая выступает в качестве рецептора сигнала [84]. Каждый такой рецептор передает информацию белку LuxU, который, в свою очередь, передает сигнал регуляторному белку LuxO [85–87]. При низкой плотности клеток LuxO фосфорилируется и активирует транскрипцию пяти малых некодирующих РНК: Qrr1, Qrr2, Qrr3, Qrr4 и Qrr5 [88]. Данные малые РНК подавляют активность собственного регулятора LuxO и ингибируют трансляцию трех

мишеней, которые включены в глобальную регуляцию патогенности *V. cholerae*: гена *hapR*, кодирующего транскрипционный фактор, подавляющий активность генов вирулентности [89], гена *aphA*, кодирующего транскрипционный фактор, усиливающий экспрессию генов вирулентности [90] и гена *vca0939*, кодирующего белок, стимулирующий образование биопленки [91]. При высокой плотности клеток происходит дефосфорилирование белка LuxO, вследствие чего активация малых РНК Qrr становится невозможной.

Синтез факторов вирулентности в клетках *S. aureus* также регулируется с помощью системы «чувства кворума». В качестве аутоиндуктора выступает небольшой белок RAP (RNAIII-activating protein). В середине экспоненциальной фазы роста концентрация секретируемого бактериями RAP увеличивается, и он индуцирует фосфорилирование своей белковой мишени TRAP (target of RNAIII-activating protein). Фосфорилирование TRAP приводит к активации оперона *agr*, в состав которого входит ген малой РНК RNAIII. RNAIII повышает экспрессию многих факторов вирулентности, в том числе  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, и  $\delta$ -гемолизина [92].

#### IV. РОЛЬ МАЛЫХ РНК В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА, ВЫЗЫВАЕМОГО БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПАТОГЕНАМИ

Взаимодействие патогенного микроорганизма с хозяином можно представить как особый случай комбинации различных стрессорных по отношению к патогену факторов. Поэтому не случайно малые РНК, как становится ясно в последнее время, играют важную роль в развитии патологического процесса. Так, было обнаружено, что во время ранней стационарной фазы развития культуры *S. aureus* увеличивается уровень экспрессии некодирующей РНК SpdR, которая подавляет экспрессию белка Sbi, позволяющего избежать действия иммунной системы макроорганизма [93]. Малая некодирующая РНК RivX *Streptococcus pyogenes* ко-экспрессируется с геном, кодирующим регуляторный белок RivR. Данная малая РНК активирует экспрессию генов Mga-регулона, который, в свою очередь, активирует экспрессию 10% генов в геноме *S. pyogenes*, в том числе генов вирулентности: пептидазы ScpA, секретируемого ингибитора комплемента Sic, фибронектин-связывающего белка Fba и коллаген-подобного белка SclA [94, 95]. Малая некодирующая РНК *S. pyogenes* FasX подавляет экспрессию двух адгезинов (фибронектин-связывающих белков FBP54 и MRP) и положительно влияет на активность двух секретируемых



факторов вирулентности (стрептокиназы и стрептолизина S) [96]. FasX также контролирует взаимодействие клеток *S. pyogenes* с эпителиальными клетками гортани [97, 98]

В ходе мутационного анализа локуса *pol* (pleiotropic effect locus) *S. pyogenes*, содержащего ген стрептолизина S (*segA*), были получены данные, свидетельствующие о том, что сама мРНК *pol* (вне зависимости от трансляции) может выступать регулятором экспрессии ряда генов, кодирующих факторы вирулентности. Интересно, что регуляция ряда генов проходит на уровне транскрипции (например, генов *emm*, *sic*, *nga*), тогда как уровень экспрессии некоторых других факторов вирулентности (например, многофункционального белка SpeB) – на посттранскрипционном уровне [98].

В случае патогенных бактерий *Shigella flexneri* малая некодирующая РНК RnaG является негативным регулятором трансляции мРНК *icsA*, кодирующей белок внешней мембраны, обеспечивающий колонизацию хозяина данными бактериями [99].

## V. МАЛЫЕ РНК МИКОБАКТЕРИЙ И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА И ПЕРСИСТЕНЦИИ

### ХАРАКТЕРИСТИКА МАЛЫХ РНК

Малые РНК микобактерий, важнейшим представителем которых является *Mycobacterium tuberculosis*, привлекают особое внимание учёных. Особенностью туберкулёза является широкая распространённость латентной формы заболевания. Около 30% населения Земли являются носителями латентной инфекции *M. tuberculosis* и живут с постоянным риском внезапного и быстрого развития острой инфекции [100]. Переход бактериального патогена в состояние метаболического покоя (латентности) предположительно происходит под воздействием различных стрессовых факторов, вызванных иммунной системой организма хозяина при активном иммунном ответе. Реактивация латентной формы происходит под влиянием не до конца выясненных факторов внешней среды, либо при снижении иммунного статуса, например, у ВИЧ-инфицированных больных [101, 102]. Молекулярные механизмы реактивации латентного туберкулеза также остаются до конца не выясненными. Поскольку малые некодирующие РНК участвуют в адаптивном ответе на стрессовые условия окружающей среды, можно предположить, что они играют роль в процессах перехода в состояние покоя и развития латентной инфекции.



С помощью высокопроизводительного секвенирования и компьютерных алгоритмов у нескольких видов микобактерий были открыты несколько десятков малых РНК [103–111]. Однако выяснение роли этих малых РНК в физиологии микобактерий представляет более трудную задачу. К настоящему моменту опубликовано лишь несколько работ, проливающих свет на функции малых РНК у микобактерий. Историю открытия и подробный перечень известных на сегодняшний день малых РНК у разных видов микобактерий читатель может найти в недавнем обзоре Хенинг и соавторов [107]. Описание разных типов некодирующих РНК *M. tuberculosis*, обсуждение проблемы отсутствия белка Hfq у *M. tuberculosis*, а также роли малых РНК в ответе на стресс и в патогенезе *M. tuberculosis* читатель может найти в обзоре Арнвиг и соавторов [29]. В нашем обзоре мы хотели бы обратить особое внимание на сведения о функциях межгенных малых РНК *M. tuberculosis*, их роли в развитии инфекции и формировании покоящегося состояния.

Недавно была предложена единая номенклатура для обозначения малых некодирующих РНК *M. tuberculosis* [112], однако на данный момент она не является общеупотребительной. Эта система основывается на расположении локусов, кодирующих малые РНК, относительно соседних генов на бактериальной хромосоме. При этом в случае, если ген малой РНК располагается на «минус» цепи генома, к её названию также прибавляется суффикс «-с» (от англ. «complement»). Цис-кодируемые малые РНК именуется в соответствии с названием гена белка, с которым они перекрываются. Например, антисмысловая РНК к гену *rv0539*, кодируемая на «минус» цепи генома, именуется ncRv0539с. Транс-кодируемые малые РНК обозначаются в соответствии с названием гена белка, расположенного слева от гена малой РНК. На тот факт, что данная малая РНК является транс-кодируемой, указывает добавление цифры «1» перед порядковым номером гена. Например, малая РНК, расположенная на «плюс» цепи генома слева от гена *rv0243*, будет именоваться ncRv10243. Если несколько малых РНК располагаются в одном локусе относительно соседних генов, наименование каждой из них дополняется одной из букв латинского алфавита.

Стоит отметить, что в научной литературе по-прежнему можно встретить обозначения, не соответствующие вышеизложенной схеме, которые были предложены до появления единой номенклатуры малых РНК *M. tuberculosis*. Так, например, малая некодирующая РНК Msr11, обнаруженная в 2010 г. [106], также именуется в литературе как MTS0997 [104] и ncMT1302 [113]. Далее в этом обзоре для обоз-

начения малых РНК *M. tuberculosis* будут использоваться все встречающиеся в литературе варианты обозначения.

Ген РНК *MTS194* (F6, ncRv10243) локализован между генами *rv0243* и *rv0244*, продукты которых вовлечены в деградацию липидов [29]. Транскрипция *MTS194* контролируется SigF, вспомогательным сигма-фактором, активирующемся при голодании [114]. При окислительном стрессе, вызванном добавлением перекиси водорода в среду, а также при понижении значений pH, экспрессия *MTS194* повышается [105]. Гиперэкспрессия РНК *MTS194* в клетках приводит к замедлению роста клеток *M. tuberculosis*, но не оказывает влияния на рост клеток *Mycobacterium smegmatis* [105]. Хотя мишени *MTS194* пока не известны, имеющиеся на сегодняшний день данные указывают на роль *MTS194* в стрессовом ответе.

Ген РНК *Mcr7* располагается между генами *rv2395* и *PE\_PGRS41*. Экспрессия этой малой РНК контролируется двухкомпонентной сигнальной системой PhoPR [115]. На сегодняшний день, *Mcr7* является единственной малой РНК *M. tuberculosis*, для которой обнаружена мРНК мишень. РНК *Mcr7* связывается с мРНК гена *tatC* и препятствует её трансляции. Связывание происходит за счёт частичной комплементарности между малой РНК и участком мРНК, включающим в себя предсказанный сайт связывания рибосомы и первые шесть кодонов. Ген *tatC* кодирует трансмембранный белок, являющийся компонентом секреторного комплекса Tat (twin arginine translocation). У *M. tuberculosis* через этот комплекс осуществляется секреция ряда белков со специфической сигнальной последовательностью, содержащей два аргинина, в число которых входят иммунодоминантный комплекс Ag85 [116] и бета-лактамаза BlaC [117]. Предполагаемый механизм регуляции выглядит следующим образом: двухкомпонентная система PhoPR модулирует экспрессию малой РНК *Mcr7*, которая в свою очередь ингибирует трансляцию мРНК *tatC*. В отсутствие белка TatC секреторный комплекс Tat становится неактивным, в результате чего уменьшается секреция ряда белков, являющихся субстратами этого комплекса [115].

Ген РНК *MTS0997* (*Mcr11*, ncMT1302, ncRv11264c) локализован на участке, расположенном между генами *rv1264* и *rv1265*. Уровень экспрессии *MTS0997* повышается при переходе от экспоненциальной фазы роста к стационарной фазе [104, 106, 113]. Кроме того, экспрессия *MTS0997* значительно понижается при закислении среды, что, возможно, указывает на роль этой малой РНК в стрессовом ответе на низкие значения pH [113]. Интересно, что продукты генов, фланкирующих *MTS0997*, участвуют в метаболизме цАМФ: *rv1264*

кодирует аденилатциклазу, активирующуюся при низком рН [118], а экспрессия *rv1265* регулируется цАМФ-связывающим белком *Smr* [119]. Эти данные указывают на роль РНК MTS0997 в регуляции с участием цАМФ [106, 113]. Экспрессия MTS0997 по-видимому действительно регулируется цАМФ, хотя детали этой регуляции не выяснены. Установлено, что добавление цАМФ в среду вызывает понижение экспрессии MTS0997 у бактерий в экспоненциальной фазе роста и повышение её экспрессии в стационарной фазе [113]. Кроме того, делеция функциональной копии соседнего гена *rv1264*, кодирующего рН-зависимую аденилатциклазу, вызывает значительное снижение экспрессии MTS0997 в экспоненциальной и поздней стационарной фазах роста [113]. Возможное участие малой РНК MTS0997 в регуляции с участием цАМФ представляет большой интерес, так как цАМФ играет важную роль в патогенезе *M. tuberculosis* [120].

Ген РНК MTS1338 (ncRv11733) локализован в межгенном участке, расположенном между генами *rv1733c* и *rv1734c*, на противоположной цепи ДНК. MTS1338 является частью DosR регулона: между стартовыми точками транскрипции генов *MTS1338* и *rv1733c* расположено три сайта связывания DosR-регулятора. Кроме того, нокаут гена *dosR* приводит к значительному снижению экспрессии РНК MTS1338 [104]. DosR является регуляторным компонентом в двухкомпонентной системе, активирующейся при гипоксии и воздействию оксида азота (II) [121]. DosR и активируемые им гены играют ключевую роль при переходе *M. tuberculosis* в покоящееся состояние при гипоксии [122]. РНК MTS1338 практически не экспрессируется в экспоненциальной фазе роста, но при переходе в стационарную фазу становится одним из наиболее высокопредставленных транскриптов [104]. Значительная индукция экспрессии в стационарной фазе роста и регуляция с помощью DosR указывают на то, что MTS1338 может играть роль в формировании покоящихся клеток *M. tuberculosis* и латентной формы туберкулеза [29].

Ген РНК MTS2822 (B11, ncRv13660c) расположен между генами *rv3660c* и *rv3661*. MTS2822 содержит так называемый 6С мотив, состоящий из двух шпилек, петли которых содержат 6 и 7 последовательно расположенных остатков цитозинового нуклеотидов [123]. Малые РНК, содержащие 6С мотив, повсеместно распространены среди представителей актинобактерий, однако их функция до сих пор неизвестна. Перед точкой начала транскрипции MTS2822 находится последовательность, характерная для SigA-промоторов. Экспрессия гена MTS2822 повышается при окислительном стрессе

и кислотолюбивости рН. Гиперэкспрессия MTS2822 летальна для *M. tuberculosis*, а у *M. smegmatis* приводит к изменённой морфологии клеток и замедлению их роста [105]. Это может свидетельствовать о роли MTS2822 в регуляции синтеза клеточной стенки или процесса деления клеток [29].

Ген РНК MTS2823 (Mpr4, Ms1, ncRv13660c) расположен между генами *rv3661* и *rv3662c*. Хромосомный локус, содержащий близкорасположенные гены малых РНК MTS2822 и MTS2823, консервативен у большинства видов микобактерий. MTS2823 эффективно экспрессируется в экспоненциальной фазе роста, а в стационарной фазе роста её количество в клетке становится ещё большим. Гиперэкспрессия малой РНК MTS2823 в *M. tuberculosis* приводит к некоторому снижению скорости роста клеток, а также к положительной регуляции генов *rv2035* (потенциального активатора белка HspG) и *rv3229* (ацилдесатуразы), и сильному подавлению уровня транскрипции целого ряда генов, включая гены энергетического метаболизма, среди которых наиболее сильно репрессируется транскрипция генов *prpC* и *prpD* [107]. Данные гены кодируют соответственно метил-цитратсинтазу и метилцитратдегидратазу, продукты которых принимают участие в детоксификации метаболитов – продуктов распада холестерина и жирных кислот с нечетным числом атомов углерода, которые, в свою очередь, являются одним из важнейших источников углерода при выживании бактерии внутри макрофагов [124]. РНК MTS2823 была впервые обнаружена в ходе биоинформатического поиска гомологов малой РНК 6S [125]. 6S-РНК широко распространена у разных видов бактерий, и её структура напоминает структуру «открытого» промотора. Благодаря этому, 6S РНК связывается с РНК-полимеразой, находящейся в комплексе с сигма-фактором А ( $\sigma^A$ ). Это взаимодействие препятствует связыванию РНК-полимеразы с промоторными последовательностями и уменьшает её транскрипционную активность [126]. Хниликова и соавторы обнаружили, что у *M. smegmatis* малая РНК Ms1, являющаяся гомологом MTS2823, также связывается с РНК-полимеразой. Однако, в отличие от 6S РНК, Ms1 взаимодействует с РНК-полимеразой, не находящейся в комплексе с фактором  $\sigma^A$ . Взаимодействие РНК-полимеразы с Ms1 не препятствует её связыванию с  $\sigma^A$ , однако  $\sigma^A$  способен либо вытеснить Ms1, либо препятствовать связыванию Ms1 с РНК-полимеразой [127]. Эти данные указывают на принципиально иной механизм действия Ms1 по сравнению с 6S РНК. Была предложена гипотеза, что Ms1 может стабилизировать несвязанную с  $\sigma^A$  РНК-полимеразу в стационарной фазе и в покоящемся состоянии. Можно

также предположить, что при связывании с РНК-полимеразой Ms1 изменяет её сродство к альтернативным сигма-факторам [127].

#### МАЛЫЕ РНК В ПОКОЯЩИХСЯ КЛЕТКАХ *M. TUBERCULOSIS*

Недавно было показано, что в условиях недостатка калия в культуре клетки *M. tuberculosis* переходят в покоящееся состояние, которое характеризуется крайне низким уровнем метаболической активности и временной неспособностью образовывать колонии («некультивируемостью») [128]. Для покоящихся клеток также характерно значительное падение общего уровня транскрипции, не распространяющееся, однако на ряд малых РНК, что может свидетельствовать об их относительной стабильности и вовлеченности в поддержание покоящегося состояния *M. tuberculosis* и латентной инфекции. Наиболее представленными в покоящихся «некультивируемых» клетках оказались малые РНК MTS0997, MTS1338 и MTS2823. При этом MTS2823 демонстрировала максимум накопления на начальных этапах перехода *M. tuberculosis* в состоянии покоя, тогда как MTS0997 и MTS1338 отличались достаточно стабильным высоким уровнем представленности в разных фазах покоящегося состояния, включая его позднюю стадию [129]. Показано, что гиперэкспрессия MTS0997 и MTS1338 в клетках *M. tuberculosis* приводит к существенному замедлению скорости роста клеток, особенно заметному в случае MTS1338 [129]. Кроме того, при анализе профиля транскрипции покоящихся клеток было обнаружено накопление цис-кодируемых малых РНК ncRv0539c (антисмысловая РНК по отношению к мРНК *rv0539*), ncRv1162c (антисмысловая РНК по отношению к мРНК *narH*) и ncRv12659 (антисмысловая РНК по отношению к мРНК *rv2660c*) [129]. Было обнаружено, что ncRv12659 может синтезироваться клетками в большом количестве в ответ на нехватку питательных веществ [130, 131], однако роль этого транскрипта в регуляции физиологических процессов остаётся неизвестной.

#### МАЛЫЕ РНК *M. TUBERCULOSIS* ПРИ РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИИ

Изучение экспрессии малых РНК *M. tuberculosis* при развитии инфекции может предоставить важную информацию об их роли в патогенезе. Лёгочная инфекция у мышей является, пожалуй, наиболее распространённой моделью инфекции. На сегодняшний день известно несколько работ, в которых уровни экспрессии малых РНК *M. tuberculosis* были определены с помощью таких методов, как «ПЦР в реальном времени» и гибридизация по Нозерну. Арнвиг и соавторы продемонстрировали, что экспрессия малых РНК MTS997, MTS1338

и MTS2823 значительно повышается при заражении мышей. Было подсчитано, что количество транскриптов MTS2823 при инфекции составляет около 10% от количества рибосомальных РНК, и MTS2823 становится одним из самых высокопредставленных транскриптов в клетке [104].

Игнатов и соавторы исследовали экспрессию MTS997, MTS1338 и MTS2822 при заражении мышей двух линий: линия мышей В6 является устойчивой к инфекции *M. tuberculosis*, а инфекция инбредной линии I/St приводит к гибели животных через 3–4 месяца после заражения. Было обнаружено, что генетические особенности мышиных линий и разное течение заболевания оказывают слабое влияние на уровни экспрессии этих трёх малых РНК. Экспрессия MTS997, MTS1338 и MTS2822 повышается при инфицировании животных по сравнению с ростом в культуре и остаётся на одинаково высоком уровне на разных стадиях заболевания. Стоит отметить, что в лёгких мышей В6 на поздних стадиях инфекции экспрессия всех трёх малых РНК понижается, что может объясняться переходом к хронической инфекции [132].

Хьютон и соавторы исследовали экспрессию ncRv12659 при заражении мышей. В результате было обнаружено, что в мышинных лёгких на более высоком уровне транскрибируется укороченная форма транскрипта [130]. Это может быть связано с преждевременной терминацией транскрипции гена *ncRv12659*.

Повышенная экспрессия малых РНК MTS997, MTS1338 и MTS2822, и ncRv12659 при развитии инфекции указывает на их возможную роль в патогенезе туберкулезной инфекции.

Таким образом, можно сделать вывод, что малые РНК несомненно играют роль в адаптации возбудителей инфекционных болезней (в частности туберкулеза) при заражении хозяина, а, следовательно, и в патогенезе заболеваний. Следует отметить, что в этом направлении сделаны лишь первые шаги, и установление роли малых РНК во взаимоотношениях бактериальная клетка-хозяин нуждается в интенсивных исследованиях.



## VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Регуляторные механизмы микробных патогенов способствуют их выживанию в окружающей среде в условиях стресса и, в частности, в инфицированном макроорганизме, что позволяет им избегать воздействия его иммунной системы на патоген. Вышеприведенные факты позволяют заключить, что недавно открытый «мир» малых некодирующих РНК содержит новые глобальные клеточные регуляторы [13], участвующие в адаптивном ответе бактерий на меняющиеся условия окружающей среды [107]. Выявление адаптационной роли малых некодирующих РНК в клетке может служить ключом к пониманию регуляции бактериального ответа на стресс, в том числе, перехода в состояние покоя и реактивации покоящихся клеток, что важно для понимания патогенеза ряда латентных инфекций.

Хотя общее количество малых некодирующих РНК с доказанной функцией на сегодняшний день не так велико, разнообразие процессов, в которых экспериментально установлено их участие, позволяет полагать, что рассматриваемый уровень регуляции захватывает обширные области клеточного метаболизма. Весьма вероятно, что будущие исследования обнаружат участие малых РНК и в других клеточных процессах, что позволит отнести данный тип регуляции к глобальному. Таким образом, пул малых некодирующих РНК должен рассматриваться как входящий в иерархию уровней клеточной регуляции, наряду с такими как регуляция на уровне транскрипции, трансляции, посттрансляционной модификации [35]. Очевидным преимуществом и особенностью этого уровня регуляции является его быстротечность, которая достигается вследствие отсутствия процесса трансляции [133]. Особая пластичность регуляции за счет малых некодирующих РНК обеспечивается тем, что малые РНК быстро разрушаются в комплексе с мишенью, что предотвращает накопление эффекторной РНК после воздействия того или иного стимула. В целом, это дает возможность клетке быстро и эффективно реагировать путем «подстраивания» клеточного метаболизма к меняющимся факторам окружающей среды.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Livny, J. (2007) Efficient annotation of bacterial genomes for small, non-coding RNAs using the integrative computational tool sRNAPredict2, *Methods Mol. Biol.*, **395**, 475–488.
2. Montange, R.K., and Batey, R.T. (2008) Riboswitches: emerging themes in RNA structure and function, *Annu. Rev. Biophys.*, **37**, 117–133.
3. Garst, A.D., Edwards, A.L., and Batey, R.T. (2011) Riboswitches: structures and mechanisms, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **3**, a003533.
4. Barrangou, R., and Horvath, P. (2012) CRISPR: new horizons in phage resistance and strain identification, *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, **3**, 143–162.
5. Wadler, C.S., and Vanderpool, C.K. (2007) A dual function for a bacterial small RNA: SgrS performs base pairing-dependent regulation and encodes a functional polypeptide, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 20454–20459.
6. Silvaggi, J.M., Perkins, J.B., and Losick, R. (2005) Small untranslated RNA antitoxin in *Bacillus subtilis*, *J. Bacteriol.*, **187**, 6641–6650.
7. Saramago, M., Barria, C., Dos Santos, R.F., Silva, I.J., Pobre, V., Domingues, S., Andrade, J.M., Viegas, S.C., and Arraiano, C.M. (2014) The role of RNases in the regulation of small RNAs, *Curr. Opin. Microbiol.*, **18**, 105–115.
8. Kawano, M., Aravind, L., and Storz, G. (2007) An antisense RNA controls synthesis of an SOS-induced toxin evolved from an antitoxin, *Mol. Microbiol.*, **64**, 738–754.
9. Opdyke, J.A., Kang, J.G., and Storz, G. (2004) GadY, a small-RNA regulator of acid response genes in *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, **186**, 6698–6705.
10. Stork, M., Di Lorenzo, M., Welch, T.J., and Crosa, J.H. (2007) Transcription termination within the iron transport-biosynthesis operon of *Vibrio anguillarum* requires an antisense RNA, *J. Bacteriol.*, **189**, 3479–3488.
11. Kawamoto, H., Morita, T., Shimizu, A., Inada, T., and Aiba, H. (2005) Implication of membrane localization of target mRNA in the action of a small RNA: mechanism of post-transcriptional regulation of glucose transporter in *Escherichia coli*, *Genes Dev.*, **19**, 328–338.
12. Vogel, J., and Luisi, B.F. (2011) Hfq and its constellation of RNA, *Nat. Rev. Microbiol.*, **9**, 578–589.
13. Gottesman, S., and Storz, G. (2011) Bacterial small RNA regulators: versatile roles and rapidly evolving variations, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **3**.
14. Su, Q., Schuppli, D., Tsui Hc, T., Winkler, M.E., and Weber, H. (1997) Strongly reduced phage Qbeta replication, but normal phage MS2 replication in an *Escherichia coli* K12 mutant with inactivated Qbeta host factor (hfq) gene, *Virology*, **227**, 211–214.
15. Wagner, E.G. (2013) Cycling of RNAs on Hfq, *RNA Biol.*, **10**, 619–626.
16. Bojer, M.S., Jakobsen, H., Struve, C., Kroghelt, K.A., and Lobner-Olesen, A. (2012) Lack of the RNA chaperone Hfq attenuates pathogenicity of several *Escherichia coli* pathotypes towards *Caenorhabditis elegans*, *Microbes Infect.*, **14**, 1034–1039.
17. Chao, Y., and Vogel, J. (2010) The role of Hfq in bacterial pathogens, *Curr. Opin. Microbiol.*, **13**, 24–33.
18. Oliva, G., Sahr, T., and Buchrieser, C. (2015) Small RNAs, 5' UTR elements and RNA-binding proteins in intracellular bacteria: impact on metabolism and virulence, *FEMS Microbiol. Rev.*, **39**, 331–349.
19. Folichon, M., Arluison, V., Pellegrini, O., Huntzinger, E., Regnier, P., and Hajnsdorf, E. (2003) The poly(A) binding protein Hfq protects RNA

- from RNase E and exoribonucleolytic degradation, *Nucleic Acids Res.*, **31**, 7302–7310.
20. De Lay, N., Schu, D.J., and Gottesman, S. (2013) Bacterial small RNA-based negative regulation: Hfq and its accomplices, *J. Biol. Chem.*, **288**, 7996–8003.
  21. Waters, L.S., and Storz, G. (2009) Regulatory RNAs in bacteria, *Cell*, **136**, 615–628.
  22. Masse, E., Escorcia, F.E., and Gottesman, S. (2003) Coupled degradation of a small regulatory RNA and its mRNA targets in *Escherichia coli*, *Genes Dev.*, **17**, 2374–2383.
  23. Aiba, H. (2007) Mechanism of RNA silencing by Hfq-binding small RNAs, *Curr. Opin. Microbiol.*, **10**, 134–139.
  24. Majdalani, N., Vanderpool, C.K., and Gottesman, S. (2005) Bacterial small RNA regulators, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **40**, 93–113.
  25. Christiansen, J.K., Larsen, M.H., Ingmer, H., Sogaard-Andersen, L., and Kallipolitis, B.H. (2004) The RNA-binding protein Hfq of *Listeria monocytogenes*: role in stress tolerance and virulence, *J. Bacteriol.*, **186**, 3355–3362.
  26. Andrade, J.M., Pobre, V., Matos, A.M., and Arraiano, C.M. (2012) The crucial role of PNPase in the degradation of small RNAs that are not associated with Hfq, *RNA*, **18**, 844–855.
  27. Morita, T., Maki, K., and Aiba, H. (2005) RNase E-based ribonucleo-protein complexes: mechanical basis of mRNA destabilization mediated by bacterial noncoding RNAs, *Genes Dev.*, **19**, 2176–2186.
  28. Valentin-Hansen, P., Eriksen, M., and Udesen, C. (2004) The bacterial Sm-like protein Hfq: a key player in RNA transactions, *Mol. Microbiol.*, **51**, 1525–1533.
  29. Arnvig, K., and Young, D. (2012) Non-coding RNA and its potential role in *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis, *RNA Biol.*, **9**, 427–436.
  30. Bohn, C., Rigoulay, C., Chabelskaya, S., Sharma, C.M., Marchais, A., Skorski, P., Borezee-Durant, E., Barbet, R., Jacquet, E., Jacq, A. *et al.* (2010) Experimental discovery of small RNAs in *Staphylococcus aureus* reveals a riboregulator of central metabolism, *Nucleic Acids Res.*, **38**, 6620–6636.
  31. Song, T., Mika, F., Lindmark, B., Liu, Z., Schild, S., Bishop, A., Zhu, J., Camilli, A., Johansson, J., Vogel, J. *et al.* (2008) A new *Vibrio cholerae* sRNA modulates colonization and affects release of outer membrane vesicles, *Mol. Microbiol.*, **70**, 100–111.
  32. Chaulk, S.G., Smith Friedday, M.N., Arthur, D.C., Culham, D.E., Edwards, R.A., Soo, P., Frost, L.S., Keates, R.A., Glover, J.N., and Wood, J.M. (2011) ProQ is an RNA chaperone that controls ProP levels in *Escherichia coli*, *Biochemistry*, **50**, 3095–3106.
  33. Pandey, S.P., Minesinger, B.K., Kumar, J., and Walker, G.C. (2011) A highly conserved protein of unknown function in *Sinorhizobium meliloti* affects sRNA regulation similar to Hfq, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 4691–4708.
  34. Romby, P., and Charpentier, E. (2010) An overview of RNAs with regulatory functions in gram-positive bacteria, *Cell Mol. Life Sci.*, **67**, 217–237.
  35. Michaux, C., Verneuil, N., Hartke, A., and Giard, J.C. (2014) Physiological roles of small RNA molecules, *Microbiology*, **160**, 1007–1019.
  36. Dubey, A.K., Baker, C.S., Suzuki, K., Jones, A.D., Pandit, P., Romeo, T., and Babitzke, P. (2003) CsrA regulates translation of the *Escherichia coli* carbon starvation gene, *cstA*, by blocking ribosome access to the *cstA* transcript, *J. Bacteriol.*, **185**, 4450–4460.
  37. Babitzke, P., and Romeo, T. (2007) CsrB sRNA family: sequestration of RNA-binding regulatory proteins, *Curr. Opin. Microbiol.*, **10**, 156–163.

38. Pernestig, A.K., Georgellis, D., Romeo, T., Suzuki, K., Tomenius, H., Normark, S., and Melefors, O. (2003) The Escherichia coli BarA-UvrY two-component system is needed for efficient switching between glycolytic and gluconeogenic carbon sources, *J. Bacteriol.*, **185**, 843–853.
39. Jonas, K., and Melefors, O. (2009) The Escherichia coli CsrB and CsrC small RNAs are strongly induced during growth in nutrient-poor medium, *FEMS Microbiol. Lett.*, **297**, 80–86.
40. Altier, C., Suyemoto, M., and Lawhon, S.D. (2000) Regulation of Salmonella enterica serovar typhimurium invasion genes by csrA, *Infect. Immun.*, **68**, 6790–6797.
41. Julio, S.M., Heithoff, D.M., and Mahan, M.J. (2000) ssrA (tmRNA) plays a role in Salmonella enterica serovar Typhimurium pathogenesis, *J. Bacteriol.*, **182**, 1558–1563.
42. Heroven, A.K., Bohme, K., and Dersch, P. (2012) The Csr/Rsm system of Yersinia and related pathogens: a post-transcriptional strategy for managing virulence, *RNA Biol.*, **9**, 379–391.
43. Geissmann, T., Chevalier, C., Cros, M.J., Boisset, S., Fechter, P., Noirot, C., Schrenzel, J., Francois, P., Vandenesch, F., Gaspin, C. *et al.* (2009) A search for small noncoding RNAs in Staphylococcus aureus reveals a conserved sequence motif for regulation, *Nucleic Acids Res.*, **37**, 7239–7257.
44. Frohlich, K.S., Papenfort, K., Berger, A.A., and Vogel, J. (2012) A conserved RpoS-dependent small RNA controls the synthesis of major porin OmpD, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 3623–3640.
45. Santiviago, C.A., Toro, C.S., Hidalgo, A.A., Youderian, P., and Mora, G.C. (2003) Global regulation of the Salmonella enterica serovar typhimurium major porin, OmpD, *J. Bacteriol.*, **185**, 5901–5905.
46. Pulvermacher, S.C., Stauffer, L.T., and Stauffer, G.V. (2008) The role of the small regulatory RNA GcvB in GcvB/mRNA posttranscriptional regulation of oppA and dppA in Escherichia coli, *FEMS Microbiol. Lett.*, **281**, 42–50.
47. Pulvermacher, S.C., Stauffer, L.T., and Stauffer, G.V. (2009) Role of the Escherichia coli Hfq protein in GcvB regulation of oppA and dppA mRNAs, *Microbiology*, **155**, 115–123.
48. Pulvermacher, S.C., Stauffer, L.T., and Stauffer, G.V. (2009) Role of the sRNA GcvB in regulation of cycA in Escherichia coli, *Microbiology*, **155**, 106–114.
49. Pulvermacher, S.C., Stauffer, L.T., and Stauffer, G.V. (2009) The small RNA GcvB regulates sstT mRNA expression in Escherichia coli, *J. Bacteriol.*, **191**, 238–248.
50. Sharma, C.M., Darfeuille, F., Plantinga, T.H., and Vogel, J. (2007) A small RNA regulates multiple ABC transporter mRNAs by targeting C/A-rich elements inside and upstream of ribosome-binding sites, *Genes Dev.*, **21**, 2804–2817.
51. Sharma, C.M., Papenfort, K., Perntzsch, S.R., Mollenkopf, H.J., Hinton, J.C., and Vogel, J. (2011) Pervasive post-transcriptional control of genes involved in amino acid metabolism by the Hfq-dependent GcvB small RNA, *Mol. Microbiol.*, **81**, 1144–1165.
52. Urbanowski, M.L., Stauffer, L.T., and Stauffer, G.V. (2000) The gcvB gene encodes a small untranslated RNA involved in expression of the dipeptide and oligopeptide transport systems in Escherichia coli, *Mol. Microbiol.*, **37**, 856–868.
53. Stauffer, L.T., and Stauffer, G.V. (2012) The Escherichia coli GcvB sRNA Uses Genetic Redundancy to Control cycA Expression, *ISRN Microbiol.*, **2012**, 636273.
54. De Lay, N., and Gottesman, S. (2009) The Crp-activated small noncoding

- regulatory RNA CyaR (RyeE) links nutritional status to group behavior, *J. Bacteriol.*, **191**, 461–476.
55. Johansen, J., Eriksen, M., Kallipolitis, B., and Valentin-Hansen, P. (2008) Down-regulation of outer membrane proteins by noncoding RNAs: unraveling the cAMP-CRP- and sigmaE-dependent CyaR-ompX regulatory case, *J. Mol. Biol.*, **383**, 1–9.
  56. Papenfort, K., Pfeiffer, V., Lucchini, S., Sonawane, A., Hinton, J.C., and Vogel, J. (2008) Systematic deletion of *Salmonella* small RNA genes identifies CyaR, a conserved CRP-dependent riboregulator of OmpX synthesis, *Mol. Microbiol.*, **68**, 890–906.
  57. Masse, E., and Gottesman, S. (2002) A small RNA regulates the expression of genes involved in iron metabolism in *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 4620–4625.
  58. Masse, E., Vanderpool, C.K., and Gottesman, S. (2005) Effect of RyhB small RNA on global iron use in *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, **187**, 6962–6971.
  59. Vecerek, B., Moll, I., and Blasi, U. (2007) Control of Fur synthesis by the non-coding RNA RyhB and iron-responsive decoding, *EMBO J.*, **26**, 965–975.
  60. Wilderman, P.J., Sowa, N.A., FitzGerald, D.J., FitzGerald, P.C., Gottesman, S., Ochsner, U.A., and Vasil, M.L. (2004) Identification of tandem duplicate regulatory small RNAs in *Pseudomonas aeruginosa* involved in iron homeostasis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101**, 9792–9797.
  61. Mellin, J.R., Goswami, S., Grogan, S., Tjaden, B., and Genco, C.A. (2007) A novel fur- and iron-regulated small RNA, NrrF, is required for indirect fur-mediated regulation of the *sdhA* and *sdhC* genes in *Neisseria meningitidis*, *J. Bacteriol.*, **189**, 3686–3694.
  62. Metruccio, M.M., Fantappie, L., Seruto, D., Muzzi, A., Roncarati, D., Donati, C., Scarlato, V., and Delany, I. (2009) The Hfq-dependent small noncoding RNA NrrF directly mediates Fur-dependent positive regulation of succinate dehydrogenase in *Neisseria meningitidis*, *J. Bacteriol.*, **191**, 1330–1342.
  63. Gaballa, A., Antelmann, H., Aguilar, C., Khakh, S.K., Song, K.B., Saldone, G.T., and Helmman, J.D. (2008) The *Bacillus subtilis* iron-sparing response is mediated by a Fur-regulated small RNA and three small, basic proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **105**, 11927–11932.
  64. Jin, Y., Watt, R.M., Danchin, A., and Huang, J.D. (2009) Small noncoding RNA GcvB is a novel regulator of acid resistance in *Escherichia coli*, *BMC Genomics*, **10**, 165.
  65. Englesberg, E., Anderson, R.L., Weinberg, R., Lee, N., Hoffee, P., Huttenhauer, G., and Boyer, H. (1962) L-Arabinose-sensitive, L-ribulose 5-phosphate 4-epimerase-deficient mutants of *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, **84**, 137–146.
  66. Irani, M.H., and Maitra, P.K. (1977) Properties of *Escherichia coli* mutants deficient in enzymes of glycolysis, *J. Bacteriol.*, **132**, 398–410.
  67. Vanderpool, C.K., and Gottesman, S. (2004) Involvement of a novel transcriptional activator and small RNA in post-transcriptional regulation of the glucose phosphoenolpyruvate phosphotransferase system, *Mol. Microbiol.*, **54**, 1076–1089.
  68. Maki, K., Morita, T., Otaka, H., and Aiba, H. (2010) A minimal base-pairing region of a bacterial small RNA SgrS required for translational repression of *ptsG* mRNA, *Mol. Microbiol.*, **76**, 782–792.
  69. Rice, J.B., and Vanderpool, C.K. (2011) The small RNA SgrS controls sugar-phosphate accumulation by regulating multiple PTS genes, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 3806–3819.
  70. Durand, S., and Storz, G. (2010) Reprogramming of anaerobic meta-

- bolism by the FnrS small RNA, *Mol. Microbiol.*, **75**, 1215–1231.
71. Trun, N.J., and Silhavy, T.J. (1989) PrlC, a suppressor of signal sequence mutations in *Escherichia coli*, can direct the insertion of the signal sequence into the membrane, *J. Mol. Biol.*, **205**, 665–676.
72. Jiang, X., Zhang, M., Ding, Y., Yao, J., Chen, H., Zhu, D., and Muramatu, M. (1998) *Escherichia coli* prlC gene encodes a trypsin-like proteinase regulating the cell cycle, *J. Biochem.*, **124**, 980–985.
73. Jain, R., and Chan, M.K. (2007) Support for a potential role of *E. coli* oligopeptidase A in protein degradation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **359**, 486–490.
74. Sonnleitner, E., Gonzalez, N., Sorger-Domenigg, T., Heeb, S., Richter, A.S., Backofen, R., Williams, P., Huttenhofer, A., Haas, D., and Blasi, U. (2011) The small RNA PhrS stimulates synthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal, *Mol. Microbiol.*, **80**, 868–885.
75. Altuvia, S., Weinstein-Fischer, D., Zhang, A., Postow, L., and Storz, G. (1997) A small, stable RNA induced by oxidative stress: role as a pleiotropic regulator and antimutator, *Cell*, **90**, 43–53.
76. Altuvia, S., Zhang, A., Argaman, L., Tiwari, A., and Storz, G. (1998) The *Escherichia coli* OxyS regulatory RNA represses fhlA translation by blocking ribosome binding, *EMBO J.*, **17**, 6069–6075.
77. Argaman, L., and Altuvia, S. (2000) fhlA repression by OxyS RNA: kissing complex formation at two sites results in a stable antisense-target RNA complex, *J. Mol. Biol.*, **300**, 1101–1112.
78. Zhang, A., Altuvia, S., Tiwari, A., Argaman, L., Hengge-Aronis, R., and Storz, G. (1998) The OxyS regulatory RNA represses rpoS translation and binds the Hfq (HF-I) protein, *EMBO J.*, **17**, 6061–6068.
79. Rasmussen, A.A., Eriksen, M., Gilany, K., Udesen, C., Franch, T., Petersen, C., and Valentin-Hansen, P. (2005) Regulation of ompA mRNA stability: the role of a small regulatory RNA in growth phase-dependent control, *Mol. Microbiol.*, **58**, 1421–1429.
80. Udekwi, K.I., Darfeuille, F., Vogel, J., Reimegard, J., Holmqvist, E., and Wagner, E.G. (2005) Hfq-dependent regulation of OmpA synthesis is mediated by an antisense RNA, *Genes Dev.*, **19**, 2355–2366.
81. Papenfort, K., Bouvier, M., Mika, F., Sharma, C.M., and Vogel, J. (2010) Evidence for an autonomous 5' target recognition domain in an Hfq-associated small RNA, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **107**, 20435–20440.
82. Papenfort, K., Pfeiffer, V., Mika, F., Lucchini, S., Hinton, J.C., and Vogel, J. (2006) SigmaE-dependent small RNAs of *Salmonella* respond to membrane stress by accelerating global omp mRNA decay, *Mol. Microbiol.*, **62**, 1674–1688.
83. Johansen, J., Rasmussen, A.A., Overgaard, M., and Valentin-Hansen, P. (2006) Conserved small non-coding RNAs that belong to the sigmaE regulon: role in down-regulation of outer membrane proteins, *J. Mol. Biol.*, **364**, 1–8.
84. Miller, M.B., Skorupski, K., Lenz, D.H., Taylor, R.K., and Bassler, B.L. (2002) Parallel quorum sensing systems converge to regulate virulence in *Vibrio cholerae*, *Cell*, **110**, 303–314.
85. Bassler, B.L., Wright, M., and Silverman, M.R. (1994) Sequence and function of LuxO, a negative regulator of luminescence in *Vibrio harveyi*, *Mol. Microbiol.*, **12**, 403–412.
86. Freeman, J.A., and Bassler, B.L. (1999) Sequence and function of LuxU: a two-component phosphorelay protein that regulates quorum sensing in *Vibrio harveyi*, *J. Bacteriol.*, **181**, 899–906.



87. Lilley, B.N., and Bassler, B.L. (2000) Regulation of quorum sensing in *Vibrio harveyi* by LuxO and sigma-54, *Mol. Microbiol.*, **36**, 940–954.
88. Bardill, J.P., Zhao, X., and Hammer, B.K. (2011) The *Vibrio cholerae* quorum sensing response is mediated by Hfq-dependent sRNA/mRNA base pairing interactions, *Mol. Microbiol.*, **80**, 1381–1394.
89. Lenz, D.H., Mok, K.C., Lilley, B.N., Kulkarni, R.V., Wingreen, N.S., and Bassler, B.L. (2004) The small RNA chaperone Hfq and multiple small RNAs control quorum sensing in *Vibrio harveyi* and *Vibrio cholerae*, *Cell*, **118**, 69–82.
90. Rutherford, S.T., van Kessel, J.C., Shao, Y., and Bassler, B.L. (2011) AphA and LuxR/HapR reciprocally control quorum sensing in vibrios, *Genes Dev.*, **25**, 397–408.
91. Hammer, B.K., and Bassler, B.L. (2007) Regulatory small RNAs circumvent the conventional quorum sensing pathway in pandemic *Vibrio cholerae*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 11145–11149.
92. Korem, M., Gov, Y., Kiran, M.D., and Balaban, N. (2005) Transcriptional profiling of target of RNAIII-activating protein, a master regulator of staphylococcal virulence, *Infect. Immun.*, **73**, 6220–6228.
93. Chabelskaya, S., Gaillot, O., and Felden, B. (2010) A *Staphylococcus aureus* small RNA is required for bacterial virulence and regulates the expression of an immune-evasion molecule, *PLoS Pathog*, **6**, e1000927.
94. Leday, T.V., Gold, K.M., Kinkel, T.L., Roberts, S.A., Scott, J.R., and McIver, K.S. (2008) TrxR, a new CovR-repressed response regulator that activates the Mga virulence regulon in group A *Streptococcus*, *Infect. Immun.*, **76**, 4659–4668.
95. Roberts, S.A., and Scott, J.R. (2007) RivR and the small RNA RivX: the missing links between the CovR regulatory cascade and the Mga regulon, *Mol. Microbiol.*, **66**, 1506–1522.
96. Kreikemeyer, B., Boyle, M.D., Buttaro, B.A., Heinemann, M., and Podbielski, A. (2001) Group A streptococcal growth phase-associated virulence factor regulation by a novel operon (Fas) with homologies to two-component-type regulators requires a small RNA molecule, *Mol. Microbiol.*, **39**, 392–406.
97. Klenk, M., Koczan, D., Guthke, R., Nakata, M., Thiesen, H.J., Podbielski, A., and Kreikemeyer, B. (2005) Global epithelial cell transcriptional responses reveal *Streptococcus pyogenes* Fas regulator activity association with bacterial aggressiveness, *Cell Microbiol.*, **7**, 1237–1250.
98. Mangold, M., Siller, M., Roppenser, B., Vlamincx, B.J., Penfound, T.A., Klein, R., Novak, R., Novick, R.P., and Charpentier, E. (2004) Synthesis of group A streptococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule, *Mol. Microbiol.*, **53**, 1515–1527.
99. Giangrossi, M., Prosseda, G., Tran, C.N., Brandi, A., Colonna, B., and Falconi, M. (2010) A novel antisense RNA regulates at transcriptional level the virulence gene *icsA* of *Shigella flexneri*, *Nucleic Acids Res.*, **38**, 3362–3375.
100. Dye, C. (2006) Global epidemiology of tuberculosis. *Lancet*, **367**, 938–940.
101. Corbett, E.L. (2003) HIV and tuberculosis: surveillance revisited, *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, **7**, 709.
102. Corbett, E.L., Watt, C.J., Walker, N., Maher, D., Williams, B.G., Ravignione, M.C., and Dye, C. (2003) The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic, *Arch. Intern. Med.*, **163**, 1009–1021.
103. Ignatov, D., Malakho, S., Majorov, K., Skvortsov, T., Apt, A., and Azhikina, T. (2013) RNA-Seq analysis of

- Mycobacterium avium non-coding transcriptome, *PLoS One*, **8**, e74209.
104. Arnvig, K.B., Comas, I., Thomson, N.R., Houghton, J., Boshoff, H.I., Croucher, N.J., Rose, G., Perkins, T.T., Parkhill, J., Dougan, G. *et al.* (2011) Sequence-based analysis uncovers an abundance of non-coding RNA in the total transcriptome of *Mycobacterium tuberculosis*, *PLoS Pathog*, **7**, e1002342.
  105. Arnvig, K.B., and Young, D.B. (2009) Identification of small RNAs in *Mycobacterium tuberculosis*, *Mol. Microbiol.*, **73**, 397–408.
  106. DiChiara, J.M., Contreras-Martinez, L.M., Livny, J., Smith, D., McDonough, K.A., and Belfort, M. (2010) Multiple small RNAs identified in *Mycobacterium bovis* BCG are also expressed in *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis*, *Nucleic Acids Res.*, **38**, 4067–4078.
  107. Haning, K., Cho, S.H., and Contreras, L.M. (2014) Small RNAs in mycobacteria: an unfolding story, *Front Cell Infect. Microbiol.*, **4**, 96.
  108. Li, S.K., Ng, P.K., Qin, H., Lau, J.K., Lau, J.P., Tsui, S.K., Chan, T.F., and Lau, T.C. (2013) Identification of small RNAs in *Mycobacterium smegmatis* using heterologous Hfq, *RNA*, **19**, 74–84.
  109. Miotto, P., Forti, F., Ambrosi, A., Pellin, D., Veiga, D.F., Balazsi, G., Gennaro, M.L., Di Serio, C., Ghisotti, D., and Cirillo, D.M. (2012) Genome-wide discovery of small RNAs in *Mycobacterium tuberculosis*, *PLoS One*, **7**, e51950.
  110. Pellin, D., Miotto, P., Ambrosi, A., Cirillo, D.M., and Di Serio, C. (2012) A genome-wide identification analysis of small regulatory RNAs in *Mycobacterium tuberculosis* by RNA-Seq and conservation analysis, *PLoS One*, **7**, e32723.
  111. Tsai, C.H., Baranowski, C., Livny, J., McDonough, K.A., Wade, J.T., and Contreras, L.M. (2013) Identification of novel sRNAs in mycobacterial species, *PLoS One*, **8**, e79411.
  112. Lamichhane, G., Arnvig, K.B., and McDonough, K.A. (2013) Definition and annotation of (myco)bacterial non-coding RNA, *Tuberculosis (Edinb)*, **93**, 26–29.
  113. Pelly, S., Bishai, W.R., and Lamichhane, G. (2012) A screen for non-coding RNA in *Mycobacterium tuberculosis* reveals a cAMP-responsive RNA that is expressed during infection, *Gene*, **500**, 85–92.
  114. Hartkoorn, R.C., Sala, C., Uplekar, S., Busso, P., Rougemont, J., and Cole, S.T. (2012) Genome-wide definition of the SigF regulon in *Mycobacterium tuberculosis*, *J. Bacteriol.*, **194**, 2001–2009.
  115. Solans, L., Gonzalo-Asensio, J., Sala, C., Benjak, A., Uplekar, S., Rougemont, J., Guilhot, C., Malaga, W., Martin, C., and Cole, S.T. (2014) The PhoP-dependent ncRNA Mcr7 modulates the TAT secretion system in *Mycobacterium tuberculosis*, *PLoS Pathog*, **10**, e1004183.
  116. Wiker, H.G., and Harboe, M. (1992) The antigen 85 complex: a major secretion product of *Mycobacterium tuberculosis*, *Microbiol. Rev.*, **56**, 648–661.
  117. Flores, A.R., Parsons, L.M., and Pavelka, M.S., Jr. (2005) Genetic analysis of the beta-lactamases of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis* and susceptibility to beta-lactam antibiotics, *Microbiology*, **151**, 521–532.
  118. Dittrich, D., Keller, C., Ehlers, S., Schultz, J.E., and Sander, P. (2006) Characterization of a *Mycobacterium tuberculosis* mutant deficient in pH-sensing adenylate cyclase Rv1264, *Int. J. Med. Microbiol.*, **296**, 563–566.
  119. Gazdik, M.A., Bai, G., Wu, Y., and McDonough, K.A. (2009) Rv1675c (cmr) regulates intramacrophage and cyclic AMP-induced gene expression in *Mycobacterium tuber-*



- culosis-complex mycobacteria, *Mol. Microbiol.*, **71**, 434–448.
120. Agarwal, N., Lamichhane, G., Gupta, R., Nolan, S., and Bishai, W.R. (2009) Cyclic AMP intoxication of macrophages by a *Mycobacterium tuberculosis* adenylate cyclase. *Nature*, **460**, 98–102.
  121. Kumar, A., Toledo, J.C., Patel, R.P., Lancaster, J.R., Jr., and Steyn, A.J. (2007) *Mycobacterium tuberculosis* DosS is a redox sensor and DosT is a hypoxia sensor, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 11568–11573.
  122. Honaker, R.W., Leistikow, R.L., Bartek, I.L., and Voskuil, M.I. (2009) Unique roles of DosT and DosS in DosR regulon induction and *Mycobacterium tuberculosis* dormancy, *Infect. Immun.*, **77**, 3258–3263.
  123. Weinberg, Z., Barrick, J.E., Yao, Z., Roth, A., Kim, J.N., Gore, J., Wang, J.X., Lee, E.R., Block, K.F., Sudarsan, N. *et al.* (2007) Identification of 22 candidate structured RNAs in bacteria using the CMfinder comparative genomics pipeline, *Nucleic Acids Res.*, **35**, 4809–4819.
  124. Chang, J.C., Miner, M.D., Pandey, A.K., Gill, W.P., Harik, N.S., Sasseti, C.M., and Sherman, D.R. (2009) *igr* Genes and *Mycobacterium tuberculosis* cholesterol metabolism, *J. Bacteriol.*, **191**, 5232–5239.
  125. Panek, J., Krasny, L., Bobek, J., Jezkova, E., Korelusova, J., and Vohradsky, J. (2011) The suboptimal structures find the optimal RNAs: homology search for bacterial non-coding RNAs using suboptimal RNA structures, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 3418–3426.
  126. Barrick, J.E., Sudarsan, N., Weinberg, Z., Ruzzo, W.L., and Breaker, R.R. (2005) 6S RNA is a widespread regulator of eubacterial RNA polymerase that resembles an open promoter, *RNA*, **11**, 774–784.
  127. Hnilicova, J., Jirat Matejkova, J., Sikova, M., Pospisil, J., Halada, P., Panek, J., and Krasny, L. (2014) Ms1, a novel sRNA interacting with the RNA polymerase core in mycobacteria, *Nucleic Acids Res.*, **42**, 11763–11776.
  128. Salina, E.G., Waddell, S.J., Hofmann, N., Rosenkrands, I., Butcher, P.D., and Kaprelyants, A.S. (2014) Potassium availability triggers *Mycobacterium tuberculosis* transition to, and resuscitation from, non-culturable (dormant) states. *Open Biol.*, **4**.
  129. Ignatov, D.V., Salina, E.G., Fursov, M.V., Skvortsov, T.A., Azhikina, T.L., Kaprelyants, A.S. (2016) Dormant non-culturable *Mycobacterium tuberculosis* retains stable low-abundant mRNA, *BMC Genomics*, in press.
  130. Houghton, J., Cortes, T., Schubert, O., Rose, G., Rodgers, A., De Ste Croix, M., Aebersold, R., Young, D.B., and Arnvig, K.B. (2013) A small RNA encoded in the Rv2660c locus of *Mycobacterium tuberculosis* is induced during starvation and infection, *PLoS One*, **8**, e80047.
  131. Uplekar, S., Rougemont, J., Cole, S.T., and Sala, C. (2013) High-resolution transcriptome and genome-wide dynamics of RNA polymerase and NusA in *Mycobacterium tuberculosis*, *Nucleic Acids Res.*, **41**, 961–977.
  132. Игнатов Д.В., Тимошина О.Ю., Логунова Н.Н., Скворцов Т.А. и Ажикина Т.Л. (2014) Экспрессия малых РНК *Mycobacterium tuberculosis* в мышечных моделях туберкулезной инфекции, *Биоорг. химия*, **40**, 253–256.
  133. Beisel, C.L., and Storz, G. (2011) The base-pairing RNA spot 42 participates in a multioutput feedforward loop to help enact catabolite repression in *Escherichia coli*, *Mol. Cell*, **41**, 286–297.