

МНОГООБРАЗИЕ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА LSM: СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЯ

©2021 г. Н. В. ЛЕКОНЦЕВА,
Е. А. СТОЛБОУШКИНА, А. Д. НИКУЛИН
Институт белка РАН, Пущино, Московская область

I. Введение. II. Структурная организация белков Lsm. III. Функциональная роль белков семейства Lsm. IV. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Sm и Sm-подобные (Like-Sm, Lsm) белки принадлежат к большому семейству белков, которые участвуют в метаболизме РНК. Представители данного семейства идентифицированы во всех трех доменах жизни: бактериях, археях и эукариотах. Все они содержат Sm домен, состоящий из двух консервативных мотивов Sm1 и Sm2, разделенных вариабельным по длине и аминокислотному составу участком [1, 2].

Эукариотические представители данного семейства – Sm белки, были открыты при изучении аутоиммунного заболевания – системной красной волчанки (Smith antigen, впервые антиген был обнаружен у пациентки по фамилии Смит). В ходе болезни человеческий организм вырабатывает антитела против собственных белковых антигенов, которые, как позднее выяснилось, входят в состав сплайсосомы и формируют комплексы с малыми ядерными РНК [3]. На сегодняшний день в геномах эукариот обнаружено, по крайней мере, 18 различных Sm и Lsm белков, которые образуют не менее 6 различных гетерогептамерных комплексов [4]. Эти белки участвуют в процессинге предшественников малых ядрышковых РНК, рРНК, тРНК, сплайсинге мРНК, созревании гистонов, деградации мРНК [2].

Принятые сокращения: Sm – Smith antigen (впервые антиген был обнаружен у пациентки по фамилии Смит), Lsm белки – Like-Sm (Sm-подобные белки), SmAP – Sm Archaeal Proteins (архейные Sm белки), Hfq – Host factor Q-beta replicase (Host factor I, принимающий участие в репликации бактериофага Qβ), мяРНК – малые ядерные РНК, мрРНК – малые регуляторные РНК, мяРПП – малые ядерные рибонуклеопротеиды.

Адрес для корреспонденции: lekontseva@vega.protres.ru

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-74-20186.

Бактериальный представитель семейства Lsm – высоко консервативный белок Hfq, обнаруженный во многих геномах [5]. Хотя по аминокислотной последовательности белок Hfq не обладает высокой степенью гомологии с другими представителями семейства, он поразительно схож с ними по пространственной структуре [6]. Hfq связывает аденин/уридин-богатые участки РНК в трех сайтах на поверхности образуемого им гексамера [7]. Он является глобальным регулятором транскрипции и трансляции, а также РНК-шапероном, способствующим взаимодействию малых регуляторных РНК и их целевых мРНК [8].

Некоторые археи (представитель рода *Pyrococcus* и галофильные археи) кодируют только один ген белка (Lsm1), тогда как другие содержат два гена белков Lsm1 и Lsm2 [9]. У кренархеот обнаружен дополнительный представитель семейства, белок Lsm3. В последнем случае Sm домен соединен с еще одним, добавочным, доменом гибким линкером [10]. Несмотря на то, что первые структуры архейных Lsm белков были открыты более 20 лет назад, их функции исследованы очень слабо [11, 12]. Известно, что архейные Lsm белки связывают уридин-богатые участки малых РНК и тРНК, а также взаимодействуют с рядом белков, участвующих в регуляции трансляции и метаболизме РНК [1, 13].

Поскольку семейство Lsm белков включает в себя представителей, исторически открытых независимо друг от друга, то в литературе Lsm белки разных доменов жизни имеют разные наименования: бактериальные – Hfq (Host factor Q-beta replicase); входящие в состав сплайсосомы эукариотические белки называются Sm, их паралоги – Lsm (Like-Sm); архейные белки также называются Lsm или SmAP (Sm Archaeal Proteins) [1].

В представленном обзоре будут рассмотрены структурные особенности белков семейства Lsm из разных доменов жизни, а также влияние структуры на выполнение их клеточных функций.

II. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВ LSM

Первыми структурами Sm белков, полученными с помощью рентгеноструктурного анализа, были комплексы двух гетеродимеров D1·D2 и D3·В из клеток человека [14]. Немногим позже были определены гомопентамерные структуры SmAP из архей *Methanobacterium thermautotrophicum* [11], *Pyrobaculum aerophilum* [15] и *Archeoglobus fulgidus* [12]. Вскоре были получены пространственные структуры белков *Staphylococcus aureus* Hfq [16], *Escherichia coli* Hfq [17] и *Pseudomonas aeruginosa* Hfq [18], которые формируют гомогексамерную четвертичную структуру.

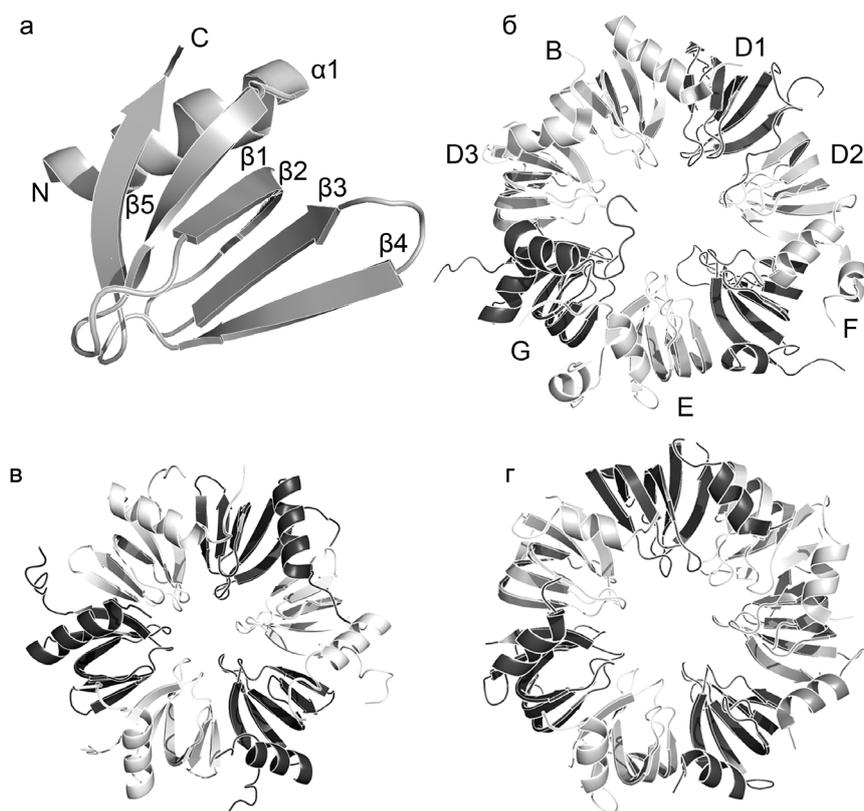


Рис.1. Пространственные структуры ряда Sm- и Sm-подобных белков.

(а) Ленточная модель мономера Sm-белка. (б) Коровый домен U1 малого ядерного рибонуклеопротеида человека (PDB 3CW1). Гетерогептамер состоит из Sm-белков B, D1, D2, F, E, G и D3. (в) Гомогексамер белка Hfq *P. aeruginosa* (PDB 1U1S). (г) Гомогептамер белка Sm1 *Archaeoglobus fulgidus* (PDB 1I4K).

В данном и последующих рисунках соседние мономеры выделены светло-серым и темно-серым оттенками.

Из анализа структур белков семейства Lsm следует, что практически все представители архейных белков SmAP формируют гомогептамеры (рис. 1г), эукариотические Sm/Lsm белки – гетерогептамеры (рис. 1б), а белки Hfq – гомогексамеры (рис. 1в) [13]. Однако имеются исключения. Например, SmAP2 из археи *Archaeoglobus fulgidus* формирует либо гексамеры, либо гептамеры в зависимости от наличия РНК в растворе и рН среды. Гексамеры формируются в кислой среде

при отсутствии РНК, а добавление уридин-богатой РНК приводит к формированию гептамеров [19]. Кроме того, встречаются тримеры (N-концевой фрагмент белка Lsm4 из дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*) [20], пентамеры (Lsm цианофага) [21], октамеры (Lsm3 из *Saccharomyces cerevisiae*) [22].

Белки семейства Lsm имеют одинаковую пространственную укладку элементов вторичной структуры (фолд) в виде 5-тяжевого антипараллельного β -листа, как правило, соединенного с N-концевой α -спиралью (рис. 1а). N-концевая α -спираль не является необходимой для сохранения структуры мономера и может отсутствовать у некоторых представителей семейства. Так, у Sm-подобного белка, полученного из морского метагенома и ведущее свое происхождение предположительно от цианофага, α -спираль расположена на C-конце [21]. Мономеры Lsm белков самоорганизуются в стабильную тороидальную четвертичную структуру, причем α -спирали мономеров оказываются по одну сторону мультимера. Эту сторону в литературе называют «проксимальной», а противоположную сторону тора – «дистальной» [1].

Мономеры белка исключительно многофункциональны: одна часть Sm фолда (Sm2, тяжи β 4 и β 5) поддерживает межсубъединичные контакты, тогда как другая (Sm1, тяжи β 1, β 2 и β 3) участвует в формировании нескольких РНК-связывающих сайтов (сайт связывания одноцепочечных уридин-богатых РНК, обнаруженный у всех белков; поли(А) РНК-связывающий сайт и боковой РНК-связывающий сайт у белков Hfq) [1].

Следует отметить, что представители семейства Lsm, относящиеся к разным доменам жизни, имеют свои характерные черты (рис. 2). Большинство бактериальных белков Hfq имеют протяженный неупорядоченный C-конец, короткую петлю L4, соединяющую мотивы

Рис. 2. Сравнение аминокислотных последовательностей белков семейства Lsm из бактерий, архей и эукариот.

Последовательности: бактериальные – *Escherichia coli* (Eco Hfq), *Staphylococcus aureus* (Sau Hfq), *Bacillus subtilis* (Bsu Hfq); архейные – *Methanococcus jannaschii* (Mja SmAP), *Methanococcus vannielii* (Mva SmAP1), *Sulfolobus acidocaldarius* (Sac SmAP2); эукариотические – белки Lsm4 и Lsm7 из дрожжей (Yeast Lsm4 и Yeast Lsm7) и белок SmB человека (Human SmB).

Нумерация над блоками соответствует последовательностям белков Eco Hfq, Mva SmAP1 и Yeast Lsm7, соответственно. Консервативные среди всех приведенных последовательностей аминокислотные остатки выделены черным цветом, консервативные не менее чем среди 80% белков – темно-серым цветом, не менее чем в половине белков – светло-серым. Снизу обозначены области консервативных мотивов Sm1 и Sm2. (см. рис на сл. стр. →)

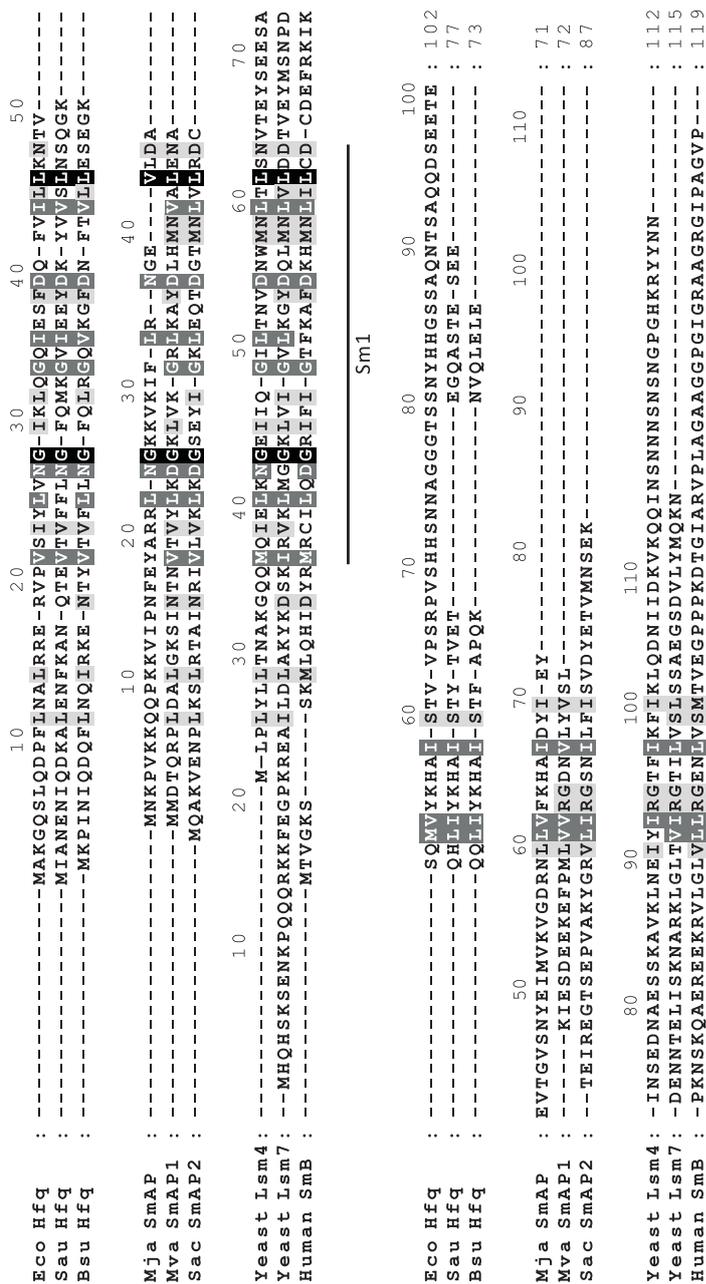


Рис. 2. Подпись к рисунку дана на предыдущей странице.

Sm1 и Sm2, и консенсус [Y/F]KNAI Sm2-мотива, являющийся частью РНК-связывающего сайта на проксимальной поверхности мультимера. У архейных представителей отсутствует удлиненный С-конец, они имеют длинную петлю L4 между мотивами Sm1 и Sm2, а консенсус Sm2-мотива представляет собой последовательность RGXX, где X – любая заряженная аминокислота. Эукариотические Sm/Lsm белки, как и бактериальные Hfq имеют удлиненный С-конец, но длинную петлю L4 и консенсус RGXX Sm2-мотива, как архейные SmAP [13, 23]. Показано, что петли L4 у эукариотических белков SmD2 и SmB, формирующих мяРНК U1, образуют сайт связывания РНК и стабилизируют шпильку мяРНК [24].

III. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА LSM

Sm/Lsm белки и их бактериальные гомологи активно участвуют в биогенезе РНК, а также во взаимодействии молекул РНК со своими партнерами [25]. Так, белок Hfq в *E. coli* влияет на распад мРНК, ингибируя 3'-5'-экзонуклеазную активность рибонуклеаз [26], а также способствуют взаимодействию малых регуляторных РНК с целевыми мРНК, влияя на эффективность их трансляции [27]. Эукариотические белки этого семейства формируют целый ряд мяРНК, которые необходимы для процессинга и созревания РНК в клетках [28]. Об архейных Lsm белках известно лишь то, что они взаимодействуют с полинуклеотидфосфорилазой Р и уридин-богатыми последовательностями РНК, и, возможно, участвуют в процессинге тРНК [1].

ФУНКЦИИ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ SM/LSM

Эукариотические Sm белки являются частью сплайсосомных мяРНК (малые ядерные рибонуклеопротеиды) и связываются с уридин-богатыми последовательностями мяРНК, вместе с которыми формируют гетерогептамерные Sm-комплексы [29]. Имеется целый ряд гомологичных формирующих гетерогептамерные комплексы Lsm белков. Наиболее изучены из них комплексы Lsm 1-7 и Lsm 2-8, которые находятся в цитоплазме и в ядре, соответственно.

Сплайсосома – это многокомпонентный РНК комплекс, состоящий из нескольких мяРНК (четыре основных из пяти – это мяРНК U1, U2, U4 и U5), которые связываются с чередой Sm белков. После экспорта мяРНК U1, U2, U4 и U5 в цитоплазму, белки, сопровождаемые комплексом SMN (survival motor neuron, выживания мотор-

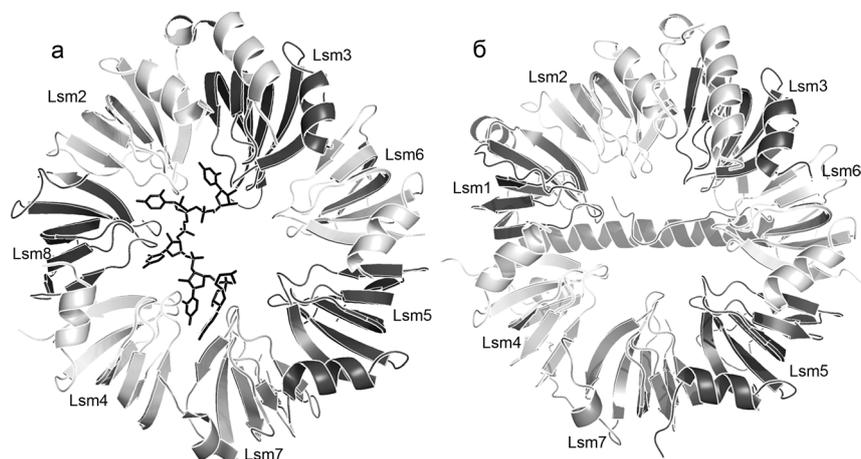


Рис. 3. (а) Структура гетерогептамерного комплекса Lsm2-8 из дрожжей в комплексе с мяРНК U6 (PDB 4M7A). (б) Структура гетерогептамерного комплекса Lsm1-7 из дрожжей (PDB 4C92).

ных нейронов), собираются вокруг участка одноцепочечной уридин-богатой последовательности мяРНК, называемой сайтом Sm, с образованием корового домена мяРНК. В комплекс включаются белки-протомеры SmE, SmG, SmD3, SmB/B', SmD1, SmD2 и SmF (перечислены в порядке взаимодействия с РНК от 5' к 3' концу) (рис. 1б). Каждый протомер связывает одно основание в своем РНК-связывающем сайте [23]. Формирование корового домена мяРНК является предпосылкой для импорта в ядро, где эти мяРНК созревают путем добавления белков, специфичных для каждого рибонуклеопротеида, с формированием сплайсосомы [24].

В отличие от Sm комплексов, комплекс Lsm 2-8 собирается в отсутствие РНК, а затем специфически связывается с 3'-концом сплайсосомной мяРНК U6, которая содержит пять уридинов и 2'-3' циклофосфат вместо 3'-гидроксильной группы (рис. 3а) [30, 31]. По всей видимости, длина уридинового участка важна для связывания Lsm. Растущая U6 мяРНК содержит только 4 уридина на 3'-конце, что позволяет ей связывать белок La [32]. Впоследствии этот участок увеличивается терминальной уридилтрансферазой, а затем обрезается экзонуклеазой MPN1 [33]. В ходе созревания белок Lsm вытесняет La и защищает U6 мяРНК от экзонуклеазного укорачивания [30], таким образом влияя на стабильность транскрипта [34]. Возможно, эти циклы увеличения и обрезки необходимы для того, чтобы U6 мяРНК оставалась неизменной после каждого цикла сплайсинга [25].

Сравнение аминокислотных последовательностей Lsm протомеров (Lsm5, Lsm7, Lsm4, Lsm8, Lsm2, Lsm3 и Lsm6) и Sm протомеров (SmE, SmG, SmD3, SmBB', SmD1, SmD2 и SmF) показало высокую степень гомологии между соответствующими субъединицами [35].

Цитоплазматический комплекс Lsm1-7 вовлечен в процесс деградации мРНК [36]. Он узнает мРНК с короткими поли(А) 3'-концами (≤ 10 аденинов), которые образуются в результате действия деаденилазы CCR4/NOT или PARN [37]. Хотя функции Lsm белков в процессе деградации мРНК еще не совсем ясны, существуют два явных последствия данного связывания: первое – 3'-конец мРНК защищен от экзонуклеаз, второе – Lsm1-7 связывает факторы, необходимые для декэпирования 5'-конца мРНК, что ускоряет её деградацию [38]. Lsm1-7 связывает и защищает 3'-концы деаденилированных мРНК и инициирует их декэпирование, чаще всего, путем связывания С-концевого домена активатора декэпирования Pat1 [39]. Существует предположение, что Lsm1-7 вызывает декэпирование промежуточных продуктов распада олигоаденилированных мРНК, которые появляются в результате деаденилирования мРНК комплексами PAN2-PAN3 и CCR4-NOT [37]. Результаты, полученные *in vitro*, говорят о том, что эти интермедиаты напрямую узнаются комплексом Lsm1-7/Pat1 [38].

Структурно комплекс Lsm1-7 очень похож на комплекс Lsm2-8 (рис. 3б) [40], образуя дугу из 6 нуклеотид-связывающих карманов, начинающихся на Lsm7 и заканчивающихся на Lsm6 [23]. Оба комплекса Lsm1-7 и Lsm2-8 взаимодействуют с уридин-богатыми последовательностями РНК, однако Lsm1-7 связывает U8 РНК в 100 раз слабее, чем комплекс Lsm2-8 [40]. Причина снижения сродства Lsm1-7 к уридин-богатым РНК может заключаться в сужении поры гептамера Lsm1-7 из-за длинной С-концевой α -спирали протомера Lsm1, которая проходит вдоль всей поры и достигает поверхности Lsm6. Следует подчеркнуть, что активную роль в повышении субстратной специфичности Lsm1-7 к РНК играет еще один белок – белок Pat1, который связывается с субъединицами Lsm2 и Lsm3 комплекса Lsm1-7, и также взаимодействует с РНК [41].

Недавние исследования показали, что Lsm1-7 может по-новому выполнять свою функцию в цитоплазматических путях распада мРНК: через процесс олигоуридилрования 3'-конца мРНК. Большинство цитоплазматических мРНК в клетках *S. cerevisiae* деградируют по пути деаденилирования, который сохраняется у высших организмов [37]. Однако имеются убедительные доказательства дополнительного пути деградации у грибов и растений. Например, у *Schizosaccharomyces pombe* значительная доля мРНК распадается по пути, не требующего

деаденилирования. Этот альтернативный путь также требует взаимодействия Lsm белков с 3'-концом РНК. В данном процессе принимает участие терминальная уридинтрансфераза Cid1 [42]. Она способна добавлять один или два уридина на А-богатый 3'-конец некоторых транскриптов, что ведет к декэпированию мРНК в обход деаденилирования, но требует участия Lsm1-7 и ассоциированных с ним декэпирующих факторов. Похожий механизм обнаружен у гриба *Aspergillus nidulans*, у которого все мРНК приобретают модификацию 3'-CUCU после укорочения поли(А)-хвоста до 15 остатков. Эта модификация осуществляется нуклеотидилтрансферазами CutA и CutB, родственными Cid1 *S. pombe* [43]. Хотя белки Lsm из *Aspergillus* не были охарактеризованы, по всей видимости, они вовлечены в данный механизм распада. Подобный путь также наблюдается у *Arabidopsis*, где на поли(А) 3'-концах мРНК обнаруживаются один или два пиримидина (чаще всего, уридины) [44]. До сих пор не ясно, сохраняется ли этот путь распада мРНК в клетках млекопитающих, хотя он очень похож на механизм, обнаруженный при деградации неаденилированных гистоновых мРНК у млекопитающих [25].

ФУНКЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ HFQ

Белок Hfq был описан более 50 лет назад как клеточный белок *E. coli* HF-I (Host factor I), принимающий участие в репликации бактериофага Q β [45]. Однако его принадлежность к семейству Lsm и наличие Sm фолда были приписаны гораздо позже из-за того, что последовательность РНК-связывающего сайта, характерная для гомологичных белков архей и эукариот, у Hfq другая [1]. Первые кристаллографические структуры Hfq доказали принадлежность этих белков к семейству Lsm. Каждый мономер белка также состоит из N-концевой α -спирали, пяти β -тяжей и неструктурированного C-конца, однако они формируют гексамер с диаметром $\sim 65 \text{ \AA}$, а не гептамер [46].

Hfq выполняет функцию регулятора экспрессии многих генов, связывая малые регуляторные РНК (мРНК) и способствуя их взаимодействию с целевыми мРНК, что ведет к изменению их стабильности и/или уровня трансляции. У бактериальных штаммов с делецией гена *hfq* наблюдаются плейотропные эффекты, включающие чувствительность к стрессу и сниженную вирулентность [27].

Считается, что Hfq имеет четыре РНК-связывающих участка: проксимальный сайт (со стороны α -спиралей всех субъединиц белка), дистальный сайт (противоположная проксимальной поверхности гексамера), боковой сайт на внешней поверхности тора и C-концевой [47].

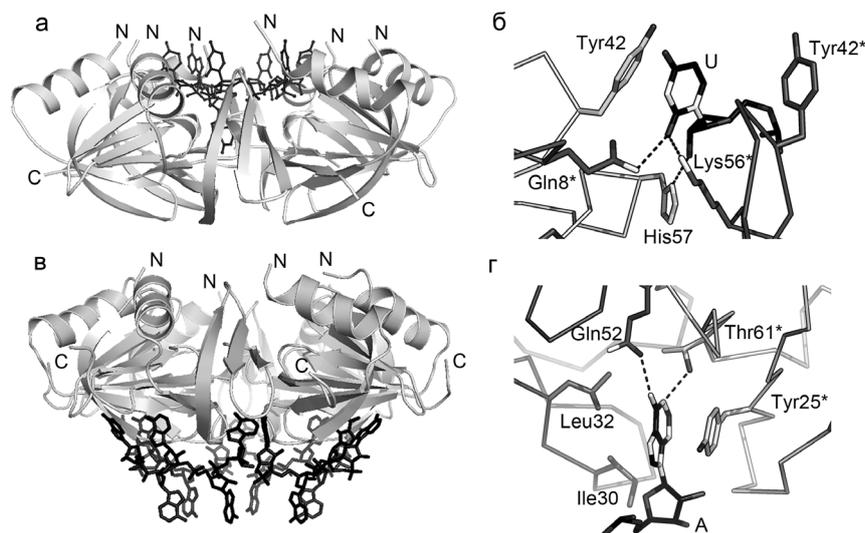


Рис. 4. (а) Комплекс белка Hfq из *S. aureus* с олиго(U) РНК (PDB 1KQ2). (б) Положение уридина на поверхности белка SauHfq. (в) Комплекс белка Hfq из *E. coli* с поли(А) РНК (PDB 3GIВ). (г) Положение аденина на поверхности белка EcoHfq.

Соседние мономеры выделены светло-серым и темно-серым оттенками. Номера аминокислотных остатков со звездочками и без звездочек относятся к соседним мономерам. На панелях б и г белым цветом выделены атомы азота, темно-серым – атомы кислорода.

Важность проксимального сайта Hfq, который специфически связывает уридин-богатые последовательности РНК, подтверждена многими исследованиями [48]. Пространственные структуры комплексов Hfq из *E. coli* [49], *Salmonella typhimurium* [50] и *Staphylococcus aureus* [16] с олиго(U) РНК показывают, что структуры сайтов схожи между собой, а уридины в комплексах образуют стэкинг-взаимодействия с фенилаланинами каждого мономера (рис. 4 а,б). Исследования, направленные на изучение регуляции мРНК посредством мРНК в штаммах *E. coli*, продуцирующих различные мутантные формы Hfq, показывают, что замены консервативных остатков проксимального сайта Gln8Ala, Phe42Ala и Lys56Ala влияют на взаимодействие белка с многими из них [51]. Также обнаружено, что аминокислотные остатки Asp9, Glu18 и Glu37 важны для специфичности связывания мРНК белком Hfq. Замены этих остатков приводили к потере специфичности связывания РНК, а также снижали эффективность отжига мРНК–мРНК [52].

Пространственная структура комплекса Hfq из *E. coli* с поли(А) РНК показала особенности узнавания триплетов аденинов в другом, дистальном РНК-связывающем сайте белка (рис. 4в,г) [53]. В этом участке Hfq связывает РНК с повторяющимся мотивом (AAN)_n, где А – аденин, а N – любой нуклеотид, не имеющий контактов с поверхностью белка и выполняющий роль спейсера в триплетах. Позже была получена структура комплекса Hfq из грамположительной бактерии *Bacillus subtilis* с (AG)₃A РНК [54]. Hfq из *B. subtilis* обладает меньшим сродством к поли(А) РНК по сравнению с белками грамотрицательных бактерий, но специфически связывает AG-богатую РНК. Структура комплекса показала, что Hfq из *B. subtilis* связывает мотив, в котором с белком связывается каждый второй нуклеотид (аденин), а гуанин выполняет роль спейсера [47]. Таким образом было показано, что белки Hfq из грамотрицательных и грамположительных бактерий узнают разные мотивы поли(А) РНК.

Еще один, боковой РНК-связывающий сайт Hfq из *E. coli* содержит кластер положительно заряженных остатков (аргинины 16, 17 и 19), что позволяет ему связывать уридин/аденин-богатые последовательности РНК [55]. Эксперименты *in vitro* показали, что замена этих аргининов в белке приводит к значительному ослаблению связывания мРНК RybB, а белок Hfq дикого типа, в свою очередь, не способен связывать мРНК RybB и SgrS при заменах нуклеотидов в уридин/аденин-богатых участках [56]. В белках Hfq грамположительных бактерий (например, *Bacillus anthracis* и *S. aureus*) такой кластер положительных остатков на боковой поверхности отсутствует, однако РНК связывается с белком за счет других аминокислотных остатков [57].

С-концевой участок белков Hfq значительно варьируется по длине и последовательности от вида к виду. Из-за своей неструктурированности он не виден в картах электронной плотности. Исследования функциональной значимости этого участка белка долгое время давали противоречивые результаты [57]. Однако недавние данные свидетельствуют о том, что С-конец исключительно важен для связывания белка Hfq с некоторыми мРНК. Было показано *in vivo*, что время полужизни RydС мРНК уменьшается при делеции С-конца Hfq из *E. coli* [58]. Аналогичная делеция снижает сродство белка к мРНК Qтг из *Vibrio cholera*, а эксперименты по тушению флуоресценции триптофана показали, что С-конец способен связывать мРНК *hfq* [59, 60].

По типу взаимодействия с Hfq мРНК из *E. coli* можно разделить на два больших класса с некоторыми исключениями [55]. I класс, наиболее обширный, включает мРНК, связывающиеся в проксимальном и боковом сайтах, а их целевые мРНК связываются в дистальном

участке. II класс составляют мРНК, которые взаимодействуют с проксимальным и дистальным сайтами, а мРНК связывается в боковом сайте гексамера. мРНК I класса используют уридин-богатую последовательность rho-независимого терминатора для связывания с проксимальным сайтом Hfq и уридин/аденин-богатые последовательности для взаимодействия с боковым сайтом. мРНК, регулируемые этим классом мРНК, взаимодействуют с дистальным сайтом Hfq A-богатыми участками. Взаимодействие мРНК I класса и ее целевой мРНК с Hfq приводит к формированию нового дуплекса и последующей деградации РНК. Второй класс мРНК использует уридин-богатую последовательность rho-независимого терминатора для связывания с проксимальным сайтом Hfq и аденин-богатую последовательность для связывания с дистальным сайтом. мРНК, регулируемые этим классом мРНК, содержат уридин/аденин-богатые участки, которые позволяют им взаимодействовать с боковым сайтом Hfq. Связывание мРНК II класса и соответствующей им мРНК с Hfq приводит к формированию нового дуплекса с последующей регуляцией экспрессии, но не обязательно к деградации РНК [55].

Следует отметить, что у белка Hfq список субстратов достаточно обширен. Так, например, было показано, что Hfq связывает структурные элементы тРНК (D-петлю и T-петлю) в проксимальном сайте [61]. В экспериментах по иммунопреципитации с использованием РНК-чипов было установлено, что Hfq предпочтительно соосаждается с тРНК-предшественниками, а не со зрелыми тРНК [62]. Вероятно, белок Hfq принимает участие в созревании тРНК – процессинге и/или модификации тРНК.

Приблизительно 20% белка Hfq в клетке образует комплекс с ДНК [63]. Показано, что Hfq является нуклеоид-ассоциированным белком и принимает участие в пространственной организации бактериальной хромосомы [63]. За компактизацию ДНК отвечает С-конец Hfq [64].

В дополнение к способности связывать нуклеиновые кислоты, Hfq также взаимодействует с белками. Было показано, что Hfq совыделяется с полинуклеотидфосфорилазой [65] и РНКазой E [66]. Hfq регулирует биосинтетическую активность поли(А) полимеразы PAP I [67], является вспомогательным белком при формировании мультисубъединичного ядра комплекса РНК-полимеразы [68]. Hfq связывается с терминатором транскрипции Rho и влияет на его активность, ингибируя гидролиз АТФ, разворачивание дуплекса и Rho-зависимую терминацию транскрипции [69].

Последние исследования указывают на новую роль Hfq в клетке – роль фактора биогенеза рибосом [70]. В 2018 году Андраде с соавторами показали, что штамм, дефектный по гену белка Hfq имел холодо-

чувствительный фенотип: нокаут гена *hfq* приводил к замедлению роста клеток *E. coli* при пониженной температуре (16°C) и к накоплению непротранслированного предшественника 16S рРНК – 17S рРНК, как и в случае с другими известными белковыми факторами созревания рибосом: RbfA, Era, RsgA, RimM [71]. Белок Hfq специфически связывается с 5'- и 3'-концевыми последовательностями 17S рРНК и совыделяется только с незрелыми 30S субчастицами. В клетках *E. coli* с делецией гена *hfq* содержание 70S рибосом значительно снижалось, а синтез рекомбинантного белка Hfq *in trans* (с плазмиды) восстанавливал содержание рибосом до уровня дикого типа. Кроме того, в таком штамме *E. coli* также значительно уменьшались как эффективность трансляции, так и ее точность: увеличивалась частота сдвига рамки считывания, инициации трансляции на альтернативных стартовых кодонах и преждевременной терминации. Это соответствует данным, согласно которым Hfq взаимодействует с рибосомным белком S12 [72], который играет ключевую роль в точности трансляции, располагаясь в районе декодирующего центра рядом с мРНК-связывающим каналом малой рибосомной субчастицы поверх спирали H44 16S рРНК [73, 74]. По-видимому, Hfq локализуется вблизи белка S12 и способствует формированию продуктивной структуры концевых последовательностей 17S рРНК, обеспечивая их дальнейший процессинг РНКазами. Андраде с соавторами также показали, что только один из трех РНК-связывающих сайтов белка (дистальный сайт) является критически важным для участия Hfq в биогенезе рибосом: мутации в дистальной части белка приводили к появлению рибосомного профиля, близкого к тому, что наблюдался в штаммах, лишенных Hfq [71].

ФУНКЦИИ АРХЕЙНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА LSM

Архейные Lsm белки (SmAP) впервые обнаружены в 1999 году в ходе системного анализа геномов эукариот и архей. Результаты анализа показали, что в археях закодированы гены одного или двух Sm-подобных белков, которые относятся к двум подсемействам, названных Sm1 и Sm2 (позже – SmAP1 и SmAP2) [9]. Последовательности белков семейства SmAP1 из разных организмов схожи между собой не менее чем на 60%, в то время как последовательности SmAP1 и SmAP2 белков одного организма могут отличаться друг от друга более чем на 70% [19].

Пространственные структуры архейных белков семейства SmAP1 из *Methanobacterium thermoautotrophicum* [11], *Pyrobaculum aerophilum* [15] и *Archaeoglobus fulgidus* [12] показали, что все исследуемые белки формируют гомогептамеры с межсубъединичными контактами, аналогичными таковым в димерах эукариотических

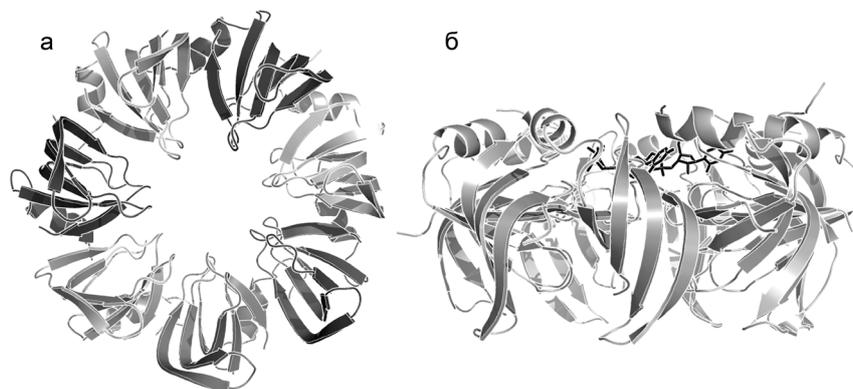


Рис. 5. (а) Пространственная структура SmAP1 из *M. thermotrophicum* (PDB 1I81). (б) Структура белка SmAP1 из *A. fulgidus* в комплексе с олиго(U) РНК (PDB 1I5L).

Sm и в гексамерах бактериальных белков Hfq. Это позволило констатировать консервативность структур белков семейства Lsm в процессе эволюции (рис. 5а) [13]. В 2002 году было показано, что SmAP2 *Archaeoglobus fulgidus* может формировать как гексамеры, так и гептамеры, в зависимости от pH раствора и присутствия РНК [19, 34]. Анализ кристаллической структуры AfuSmAP1 в комплексе с олиго(U) РНК показал, что уридины взаимодействуют с консервативными аминокислотными остатками в поре гептамера путем образования специфических водородных связей (рис. 5б). Эта структура подтвердила специфичность архейных и эукариотических представителей семейства Sm-подобных белков к уридин-богатым последовательностям [19].

В 2007 была определена структура белка SmAP из *Methanococcus jannaschii*, которая показала, что данный белок формирует гексамеры (рис. 6а) [75]. Авторы даже именуют этот белок как «Hfq из *M. jannaschii*». Сравнение структур MjaSmAP, Hfq из *Escherichia coli* и из *Staphylococcus aureus* подтвердило консервативность центральной части белков. Тем не менее, MjaSmAP имеет меньшую длину N-концевой α -спирали и полностью deletированную неупорядоченную C-концевую часть по сравнению с белками Hfq (рис. 2). Другим важным отличием стала отрицательно заряженная дистальная поверхность MjaSmAP (в EcoHfq эта область имеет положительный потенциал), что позволило предположить отсутствие характерного для многих бактериальных представителей поли(A)-связывающего сайта на этой стороне гексамера [1]. В 2017 году были проведены структурно-

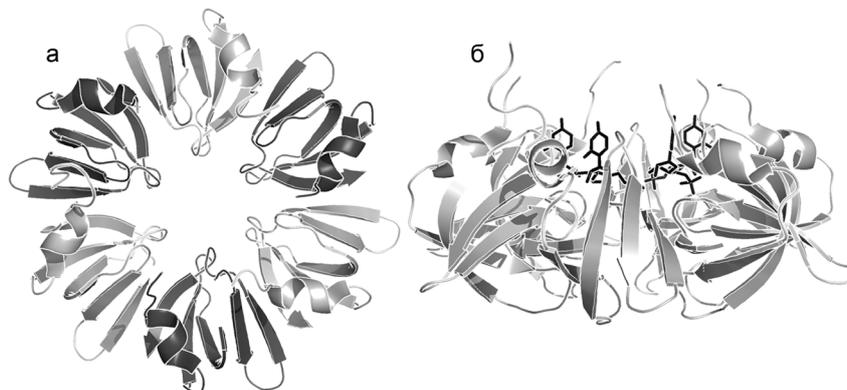


Рис. 6. (а) Общий вид структуры белка MjaSmAP (PDB 4X9C). (б) Структура белка MjaSmAP в комплексе с уридинмонофосфатами (PDB 4X9D). Белок связывает нуклеотиды в проксимальном сайте.

функциональные исследования РНК-связывающих свойств данного белка [76]. Сравнение структуры MjaSmAP со структурой EsoHfq показало, что MjaSmAP сохраняет проксимальный РНК-связывающий сайт, который специфичен к уридин-богатым последовательностям РНК, а дистальный аденин-связывающий и боковой РНК-связывающие сайты претерпевают значительные структурные изменения (рис. 6б). Природные аминокислотные замены в этих областях приводят к потере способности связывать основания РНК из-за отсутствия полярных оснований, которые могли бы взаимодействовать с нуклеотидом. Тем не менее, MjaSmAP обладает сродством к поли (А) РНК, которая, по-видимому, связывается с неструктурированным положительно заряженным N-концом белка [76].

Несмотря на то, что первые структуры архейных SmAP были получены более 20 лет назад, об их функциях до сих пор известно очень мало. На сегодняшний день имеются результаты лишь нескольких экспериментов, направленных на исследование функций архейных SmAP белков в клетке. Для обоих паралога SmAP из *A. fulgidus* методом ко-иммунопреципитации удалось обнаружить взаимодействия с РНКазой Р (процессирует 5'-концы в пре-тРНК) и с её длинным прекурсором, что предполагает участие белка в созревании этого важного рибозима [12]. В данной работе также показано, что антитела, специфичные для одного белка, могут соосаждаться с другим паралогом; это может говорить о потенциальном взаимодействии белков *in vivo* [1].

Аналогичная работа была проделана для SmAP белков кренархеи *Sulfolobus solfataricus*. Показано, что Sso SmAP1 и Sso SmAP2 очищаются совместно с белками, участвующими в процессинге РНК, а также с белками экзосомы, участвующей в 3'-5' деградации РНК [77]. В частности, таким белком экзосомы является поли(А)-связывающая (дополнительная) субъединица DnaG, которая напрямую связывается с SmAP. Повышение уровня экспрессии обоих белков (DnaG и SmAP) приводит к увеличению растворимой фракции экзосом, что предполагает влияние SmAP на субклеточную локализацию экзосомы в клетке. Повышенная растворимость экзосомы сопровождалась увеличением уровня РНК с удлинёнными поли(А)-хвостами. Полученные данные могут указывать на до сих пор неизвестную функцию SmAP белков в археях [77].

Этими же авторами было показано, что белки Sso SmAP1 и Sso SmAP2 могут связывать как одинаковые РНК, так и специфические субстраты [78]. Sso SmAP1 соосаждается в большей степени с интрон-содержащими тРНК, что предполагает его участие в процессинге тРНК и рРНК. Sso SmAP2, по всей видимости, обладает специфичностью к мРНК и, следовательно, может участвовать в регуляции их трансляции. Такую специфичность авторы объясняют некоторыми структурными различиями в РНК-связывающих сайтах белков, а также отличиями электростатических потенциалов поверхности Sso SmAP1 и Sso SmAP2 [78].

Исследования по поиску партнеров SmAP у галофильной эуархеи *Haloferax volcanii* выявили сродство SmAP белка к олиго(U) РНК, тРНК и к пулу малых регуляторных РНК [79]. Ко-иммунопреципитация FLAG-tagged SmAP с клеточными РНК, реализованная *in vivo*, подтвердила, что белок связывает малые регуляторные РНК [79]. В работе была показана способность SmAP формировать комплексы с целым рядом белков нескольких отличающихся классов. Сделано предположение, что в комплексе с этими белками SmAP может участвовать в различных клеточных процессах. Также в данной работе было показано, что единственный SmAP белок этой археи необходим для роста клеток. Как и в случае бактериального Hfq, инактивация гена белка ведет к плеiotропным фенотипам и дефектам роста, которые проявляются в зависимости от условий роста. Тем не менее, мутанты *H. volcanii* с делецией SmAP являются жизнеспособными и их фенотип схож с мутантами *E. coli*, нокаутированными по гену *hfq* [79].

В 2020 году были определены структуры еще двух белков – SmAP1 из *Methanococcus vannielii* и SmAP2 из *Sulfolobus acidocaldarius* [80]. Эти белки также формируют гомогептамеры и сохраняют уридин-связывающий сайт. Однако вариации в аминокислотном составе уридин-

связывающих сайтов этих SmAP приводят к разнице в средстве белков к олиго(U) РНК. По всей видимости, их функции в клетке отличаются ввиду разного средства к РНК. Можно предположить, что некоторым SmAP (например, SmAP2 из *S. acidocaldarius* и SmAP2 из *S. solfataricus*) необходима помощь других белков для связывания РНК. Кроме того, эксперименты с молекулярным маяком показали, что SmAP белки из *M. vanniellii* и *S. acidocaldarius* способны связывать шпилечные РНК и обеспечивать их взаимодействие с комплементарными РНК, однако механизм их взаимодействия с РНК, по всей видимости, отличается от белков Hfq. Так, они, в отличие от белков Hfq, могут самостоятельно плавить структуру РНК в отсутствие комплементарной РНК при небольшом избытке белка [80].

IV. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все белки семейства Lsm объединяет наличие Sm-фолда, а также способность образовывать комплексы с олиго(U) последовательностями РНК. Белки связывают олиго(U) РНК во внутренней полости олигомера со стороны α -спиралей мономеров (проксимальный сайт). В отличие от своих эукариотических и архейных гомологов, бактериальные белки Hfq имеют дополнительные РНК-связывающие сайты, расположенные на боковой поверхности (латеральный сайт) и дистальной стороне гексамера (аденин-специфический РНК-связывающий сайт).

Эукариотические Sm белки входят в состав сплайсосомы и выполняют функцию каркасных белков, а Lsm белки участвуют в процессинге и деградации РНК. Функция архейных SmAP белков до сих пор детально не ясна, поскольку не имеется данных о вовлеченности белков SmAP в регуляцию трансляции, а развитой системы сплайсинга в археях нет. Бактериальные гомологи – белки Hfq являются глобальными регуляторами экспрессии многих генов, способствуя взаимодействию малых регуляторных РНК с их целевыми мРНК. Кроме того, последние исследования указывают на новую роль Hfq в клетке – роль фактора биогенеза рибосом. Белок способствует формированию продуктивной структуры концевых последовательностей 17S рРНК, обеспечивая их дальнейший процессинг РНКазами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mura, C., Randolph, P.S., Patterson, J., Cozen, A.E. (2013) Archaeal and eukaryotic homologs of Hfq, *RNA Biology*, **10** (4), 636–651.
2. Wilusz, C.J. and Wilusz, J. (2005) Eukaryotic Lsm proteins: lessons from bacteria, *Nature Structural & Molecular Biology*, **12** (12), 1031–1036.
3. Notman, D.D., Kurata, N., Tan, E.M. (1975) Profiles of antinuclear antibodies in systemic rheumatic diseases, *Annals of Internal Medicine*, **83** (4), 464–469.
4. Thore, S., Mayer, C., Sauter, C., Weeks, S., Suck, D. (2003) Crystal structures of the *Pyrococcus abyssi* Sm core and its complex with RNA: Common features of RNA binding in archaea and eukarya, *Journal of Biological Chemistry*, **278** (2), 1239–1247.
5. Sun, X. (2002) Predicted structure and phyletic distribution of the RNA-binding protein Hfq, *Nucleic Acids Research*, **30** (17), 3662–3671.
6. Møller, T., Franch, T., Højrup, P., Keene, D.R., Bächinger, H.P., Brennan, R.G., Valentin-Hansen, P. (2002) Hfq: a bacterial Sm-like protein that mediates RNA-RNA interaction, *Molecular Cell*, **9** (1), 23–30.
7. Murina, V., Lekontseva, N., Nikulin, A. (2013) Hfq binds ribonucleotides in three different RNA-binding sites, *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, **69** (8), 1504–1513.
8. Wassarman, K.M., Repoila, F., Rosenow, C., Storz, G., Gottesman, S. (2001) Identification of novel small RNAs using comparative genomics and microarrays, *Genes & Development*, **15**, 1637–1651.
9. Salgado-Garrido, J., Bragado-Nilsson, E., Kandels-Lewis, S., Séraphin, B. (1999) Sm and Sm-like proteins assemble in two related complexes of deep evolutionary origin, *The EMBO Journal*, **18** (12), 3451–3462.
10. Mura, C., Phillips, M., Kozhukhovskiy, A., Eisenberg, D. (2003) Structure and assembly of an augmented Sm-like archaeal protein 14-mer, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100** (8), 4539–4544.
11. Collins, B.M., Harrop, S.J., Kornfeld, G.D., Dawes, I.W., Curmi, P.M., Mabbutt, B.C. (2001) Crystal structure of a heptameric Sm-like protein complex from archaea: implications for the structure and evolution of snRNPs, *Journal of Molecular Biology*, **309** (4), 915–923.
12. Törö, I., Thore, S., Mayer, C., Basquin, J., Séraphin, B., Suck, D. (2001) RNA binding in an Sm core domain: X-ray structure and functional analysis of an archaeal Sm protein complex, *The EMBO Journal*, **20** (9), 2293–22303.
13. Мурина В.Н., Никулин А.Д. (2011) РНК-связывающие Sm-подобные белки бактерий и архей: сходство и различия структур и функций, *Успехи биологической химии*, **51**, 133–164.
14. Kambach, C., Walke, S., Young, R., Avis, J.M., De La Fortelle, E., Raker, V.A., Luhrmann, R., Li, J., Nagai, K. (1999) Crystal structures of two Sm protein complexes and their implications for the assembly of the spliceosomal snRNPs, *Cell*, **96** (3), 375–387.
15. Mura, C., Cascio, D., Sawaya, M.R., Eisenberg, D.S. (2001) The crystal structure of a heptameric archaeal Sm protein: Implications for the eukaryotic snRNP core, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98** (10), 5532–5537.
16. Schumacher, M.A., Pearson, R.F., Møller, T., Valentin-Hansen, P., Brennan, R.G. (2002) Structures of the pleiotropic translational regulator Hfq and an Hfq-RNA complex: a

- bacterial Sm-like protein, *The EMBO Journal*, **21** (13), 3546–3556.
17. Sauter, C., Basquin, J., Suck, D. (2003) Sm-like proteins in Eubacteria: The crystal structure of the Hfq protein from *Escherichia coli*, *Nucleic Acids Research*, **31** (14), 4091–4098.
 18. Nikulin, A., Stolboushkina, E., Pederina, A., Vassilieva, I., Blaesi, U., Moll, I., Kachalova, G., Yokoyama, Sh., Vassilyev, D., Garber, M., Nikonov, S. (2005) Structure of *Pseudomonas aeruginosa* Hfq protein, *Acta Crystallographica. Section D, Biological Crystallography*, **61** (2), 141–146.
 19. Törö, I., Basquin, J., Teo-Dreher, H., Suck, D. (2002) Archaeal Sm proteins form heptameric and hexameric complexes: crystal structures of the Sm1 and Sm2 proteins from the hyperthermophile *Archaeoglobus fulgidus*, *Journal of Molecular Biology*, **320** (1), 129–142.
 20. Wu, D., Jiang, S., Bowler, M.W., Song, H. (2012) Crystal structures of Lsm3, Lsm4 and Lsm5/6/7 from *Schizosaccharomyces pombe*, *PLoS ONE*, **7** (5), e36768.
 21. Das, D., Kozbial, P., Axelrod, H.L., Miller, M.D., McMullan, D., Krishna, S.S., et al. (2009) Crystal structure of a novel Sm-like protein of putative cyanophage origin at 2.60 Å resolution, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, **75** (2), 296–307.
 22. Naidoo, N., Harrop, S.J., Sobti, M., Haynes, P.A., Szymczyna, B.R., Williamson, J.R., Curmi, P.M.G., Mabbitt B.C. (2008) Crystal structure of Lsm3 octamer from *Saccharomyces cerevisiae*: implications for Lsm ring organisation and recruitment, *Journal of Molecular Biology*, **377** (5), 1357–1371.
 23. Weichenrieder, O. (2014) A trade-off between optimal sequence readout and RNA backbone conformation RNA binding by Hfq and ring-forming (L)Sm proteins, *RNA Biology*, **11** (5), 537–549.
 24. Weber, G., Trowitzsch, S., Kastner, B., Lührmann, R., Wahl, M.C. (2010) Functional organization of the Sm core in the crystal structure of human U1 snRNP, *The EMBO Journal*, **29** (24), 4172–4184.
 25. Wilusz, C.J. and Wilusz, J. (2013) Lsm proteins and Hfq, *RNA Biology*, **10** (4), 592–601.
 26. Vogel, J. and Luisi, B.F. (2011) Hfq and its constellation of RNA, *Nature Reviews Microbiology*, **9** (8), 578–589.
 27. Wagner, E.G.H. (2013) Cycling of RNAs on Hfq, *RNA Biology*, **10** (4), 619–626.
 28. Tharun, S. (2008) Roles of Eukaryotic Lsm Proteins in the Regulation of mRNA Function, *International Review of Cell and Molecular Biology*, **272**, 149–189.
 29. Walke, S., Bragado-Nilsson, E., Séraphin, B., Nagai, K. (2001) Stoichiometry of the Sm proteins in yeast spliceosomal snRNPs supports the heptamer ring model of the core domain, *Journal of Molecular Biology*, **308** (1), 49–58.
 30. Licht, K., Medenbach, J., Luhrmann, R., Kambach, C., Bindereif, A. (2008) 3'-cyclic phosphorylation of U6 snRNA leads to recruitment of recycling factor p110 through LSm proteins, *RNA*, **14** (8), 1532–1538.
 31. Zaric, B., Chami, M., Rémy, H., Engel, A., Ballmer-Hofer, K., Winkler, F.K., Kambach, C. (2005) Reconstitution of two recombinant LSm protein complexes reveals aspects of their architecture, assembly, and function, *Journal of Biological Chemistry*, **280** (16), 16066–16075.
 32. Rinke, J. and Steitz, J.A. (1985) Association of the lupus antigen La with a subset of U6 snRNA molecules, *Nucleic Acids Research*, **13** (7), 2617–2629.
 33. Shchepachev, V., Wischniewski, H., Missiaglia, E., Sonesson, C., Azzalin, C.M. (2012) Mpn1, mutated in poikiloderma with neutropenia protein 1, is a conserved 3'-to-5' RNA exonuclease processing U6 small

- nuclear RNA, *Cell Reports*, **2** (4), 855–865.
34. Achsel, T., Stark, H., Lührmann, R. (2001) The Sm domain is an ancient RNA-binding motif with oligo(U) specificity, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98** (7), 3685–3689.
 35. Zhou, L., Hang, J., Zhou, Y., Wan, R., Lu, G., Yin, P., Yan, C., Shi, Y. (2014) Crystal structures of the Lsm complex bound to the 3' end sequence of U6 small nuclear RNA, *Nature*, **506** (7486), 116–120.
 36. Tharun, S., He, W., Mayes, A.E., Lennertz, P., Beggs, J.D., Parker, R. (2000) Yeast Sm-like proteins function in mRNA decapping and decay, *Nature*, **404** (6777), 515–518.
 37. Chen, C.-Y.A. and Shyu, A.-B. (2011) Mechanisms of deadenylation-dependent decay, *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, **2** (2), 167–183.
 38. Chowdhury, A., Mukhopadhyay, J., Tharun, S. (2007) The decapping activator Lsm1p-7p-Pat1p complex has the intrinsic ability to distinguish between oligoadenylated and polyadenylated RNAs, *RNA (New York, N.Y.)*, **13** (7), 998–1016.
 39. Braun, J.E., Tritschler, F., Haas, G., Igraja, C., Truffault, V., Weichenrieder, O., Izaurralde, E. (2010) The C-terminal α - α superhelix of Pat is required for mRNA decapping in metazoa, *The EMBO Journal*, **29** (14), 2368–2380.
 40. Zhou, L., Zhou, Y., Hang, J., Wan, R., Lu, G., Yan, C., Shi, Y. (2014) Crystal structure and biochemical analysis of the heptameric Lsm1-7 complex, *Cell Research*, **24** 497–500.
 41. Wu, D., Muhlrads, D., Bowler, M.W., Jiang, S., Liu, Z., Parker, R., Song, H. (2014) Lsm2 and Lsm3 bridge the interaction of the Lsm1-7 complex with Pat1 for decapping activation, *Cell Research*, **24** (2), 233–246.
 42. Rissland, O.S. and Norbury, C.J. (2009) Decapping is preceded by 3' uridylation in a novel pathway of bulk mRNA turnover, *Nature Structural and Molecular Biology*, **16** (6), 616–623.
 43. Morozov, I.Y., Jones, M.G., Razak, A.A., Rigden, D.J., Caddick, M.X. (2010) CUCU modification of mRNA promotes decapping and transcript degradation in *Aspergillus nidulans*, *Molecular and Cellular Biology*, **30** (2), 460–469.
 44. Morozov, I.Y., Jones, M.G., Gould, P.D., Crome, V., Wilson, J.B., Hall, A.J.W., Rigden D.J., Caddick, M.X. (2012) mRNA 3' tagging is induced by nonsense-mediated decay and promotes ribosome dissociation, *Molecular and Cellular Biology*, **32** (13), 2585–2595.
 45. Franze de Fernandez, M.T., Hayward, W.S., August, J.T. (1972) Bacterial proteins required for replication of phage Q ribonucleic acid. Purification and properties of host factor I, a ribonucleic acid-binding protein, *The Journal of Biological Chemistry*, **247** (3), 824–831.
 46. Sauer, E. (2013) Structure and RNA-binding properties of the bacterial LSm protein Hfq, *RNA Biology*, **10** (4), 610–618.
 47. Updegrove, T.B., Zhang, A., Storz, G. (2016) Hfq: The flexible RNA matchmaker, *Current Opinion in Microbiology*, **30**, 133–138.
 48. Otaka, H., Ishikawa, H., Morita, T., Aiba, H. (2011) PolyU tail of rho-independent terminator of bacterial small RNAs is essential for Hfq action, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108** (32), 13059–13064.
 49. Wang, W., Wang, L., Wu, J., Gong, Q., Shi, Y. (2013) Hfq-bridged ternary complex is important for translation activation of rpoS by DsrA, *Nucleic Acids Research*, **41** (11), 5938–5948.
 50. Sauer, E. and Weichenrieder, O. (2011) Structural basis for RNA 3'-end recognition by Hfq, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108** (32), 13065–13070.

51. Zhang, A., Schu, D.J., Tjaden, B.C., Storz, G., Gottesman, S. (2013) Mutations in interaction surfaces differentially impact E. coli Hfq association with small RNAs and their mRNA targets, *Journal of Molecular Biology*, **425** (19), 3678–3697.
52. Panja, S., Santiago-Frangos, A., Schu, D.J., Gottesman, S., Woodson, S.A. (2015) Acidic residues in the Hfq chaperone increase the selectivity of sRNA binding and annealing, *Journal of Molecular Biology*, **427** (22), 3491–3500.
53. Link, T.M., Valentin-Hansen, P., Brennan, R.G. (2009) Structure of Escherichia coli Hfq bound to poly-riboadenylate RNA, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106** (46), 19292–19297.
54. Someya, T., Baba, S., Fujimoto, M., Kawai, G., Kumasaka, T., Nakamura, K. (2012) Crystal structure of Hfq from Bacillus subtilis in complex with SELEX-derived RNA aptamer: Insight into RNA-binding properties of bacterial Hfq, *Nucleic Acids Research*, **40** (4), 1856–1867.
55. Schu, D.J., Zhang, A., Gottesman, S., Storz, G. (2015) Alternative Hfq-sRNA interaction modes dictate alternative mRNA recognition, *The EMBO Journal*, **34** (20), 2557–73.
56. Sauer, E., Schmidt, S., Weichenrieder, O. (2012) Small RNA binding to the lateral surface of Hfq hexamers and structural rearrangements upon mRNA target recognition, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109** (24), 9396–401.
57. Sobrero, P. and Valverde, C. (2012) The bacterial protein Hfq: much more than a mere RNA-binding factor, *Critical Reviews in Microbiology*, **38** (4), 276–299.
58. Dimastrogiovanni, D., Fröhlich, K.S., Bandyra, K.J., Bruce, H.A., Hohensee, S., Vogel, J., Luisi, B.F. (2014) Recognition of the small regulatory RNA RydC by the bacterial Hfq protein, *ELife*, **3**, e05375.
59. Robinson, K.E., Orans, J., Kovach, A.R., Link, T.M., Brennan, R.G. (2014) Mapping Hfq-RNA interaction surfaces using tryptophan fluorescence quenching, *Nucleic Acids Research*, **42** (4), 2736–2749.
60. Vincent, H.A., Henderson, C.A., Ragan, T.J., Garza-Garcia, A., Cary, P.D., Gowers, D.M., Malfois, M., Driscoll, P.C., Sobbot, F., Callaghan, A.J. (2012) Characterization of Vibrio cholerae Hfq provides novel insights into the role of the Hfq C-terminal region, *Journal of Molecular Biology*, **420**, 56–69.
61. Lee, T. and Feig, A.L. (2008) The RNA binding protein Hfq interacts specifically with tRNAs, *RNA*, **14**, 514–523.
62. Zhang, A., Wassarman, K.M., Rosenow, C., Tjaden, B.C., Storz, G., Gottesman, S. (2003) Global analysis of small RNA and mRNA targets of Hfq, *Molecular Microbiology*, **50** (4), 1111–1124.
63. Azam, T.A., Hiraga, S., Ishihama, A. (2000) Two types of localization of the DNA-binding proteins within the Escherichia coli nucleoid, *Genes to Cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms*, **5** (8), 613–626.
64. Malabirade, A., Jiang, K., Kubiak, K., Diaz-Mendoza, A., Liu, F., van Kan, J.A., Berret, J.-F., Arluison, V., van der Maarel, J.R.C. (2017) Compaction and condensation of DNA mediated by the C-terminal domain of Hfq, *Nucleic Acids Research*, **45** (12), 7299–7308.
65. Andrade, J.M., Pobre, V., Matos, A.M., Arraiano, C.M. (2012) The crucial role of PNPase in the degradation of small RNAs that are not associated with Hfq, *RNA*, **18** (4), 844–855.
66. Moll, I., Leitsch, D., Steinhauser, T., Bläsi, U. (2003) RNA chaperone activity of the Sm-like Hfq protein, *EMBO Reports*, **4** (3), 284–289.

67. Régnier, P. and Hajsnsdorf, E. (2013) The interplay of Hfq, poly(A) polymerase I and exoribonucleases at the 3' ends of RNAs resulting from Rho-independent termination: A tentative model, *RNA Biology*, **10** (4), 602–609.
68. Sukhodolets, M. V. and Garges, S. (2003) Interaction of Escherichia coli RNA polymerase with the ribosomal protein S1 and the Sm-like ATPase Hfq, *Biochemistry*, **42** (26), 8022–8034.
69. Rabhi, M., Espéli, O., Schwartz, A., Cayrol, B., Rahmouni, A.R., Arluisson, V., Boudvillain, M. (2011) The Sm-like RNA chaperone Hfq mediates transcription antitermination at Rho-dependent terminators, *The EMBO Journal*, **30** (14), 2805–2816.
70. dos Santos, R.F., Arraiano, C.M., Andrade, J.M. (2019) New molecular interactions broaden the functions of the RNA chaperone Hfq, *Current Genetics*, **65** (6), 1313–1319.
71. Andrade, J.M., Santos, R.F., Chelysheva, I., Ignatova, Z., Arraiano, C.M. (2018) The RNA-binding protein Hfq is important for ribosome biogenesis and affects translation fidelity, *The EMBO Journal*, **37** (11), 1–13.
72. Strader, M.B., Hervey, W.J., Costantino, N., Fujigaki, S., Chen, C.Y., Akal-Strader, A., Ihunnah, C.A., Makusky, A.J., Court, D.L., Markey, S.P., Kowalak, J.A. (2013) A coordinated proteomic approach for identifying proteins that interact with the E. coli ribosomal protein S12, *Journal of Proteome Research*, **12** (3), 1289–1299.
73. Yusupov, M.M., Yusupova, G.Z., Baucom, A., Lieberman, K., Earnest, T.N., Cate, J.H.D., Noller, H.F. (2001) Crystal structure of the ribosome at 5.5 Å resolution, *Science*, **292** (5518), 883–896.
74. Cukras, A.R., Southworth, D.R., Brunelle, J.L., Culver, G.M., Green, R. (2003) Ribosomal proteins S12 and S13 function as control elements for translocation of the mRNA:tRNA complex, *Molecular Cell*, **12** (2), 321–328.
75. Nielsen, J.S., Boggild, A., Andersen, C.B.F., Nielsen, G., Boysen, A., Brodersen, D.E., Valentin-Hansen, P. (2007) An Hfq-like protein in archaea: Crystal structure and functional characterization of the Sm protein from Methanococcus jannaschii, *RNA*, **13** (12), 2213–2223.
76. Nikulin, A., Mikhailina, A., Lekontseva, N., Balobanov, V., Nikonova, E., Tishchenko, S. (2017) Characterization of RNA-binding properties of the archaeal Hfq-like protein from Methanococcus jannaschii, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **35** (8), 1615–1628.
77. Märtens, B., Hou, L., Amman, F., Wolfinger, M.T., Evguenieva-Hackenberg, E., Bläsi, U. (2017) The SmAP1/2 proteins of the crenarchaeon Sulfolobus solfataricus interact with the exosome and stimulate A-rich tailing of transcripts, *Nucleic Acids Research*, **45** (13), 7938–7949.
78. Märtens, B., Bezerra, G.A., Kreuter, M.J., Grishkovskaya, I., Manica, A., Arkhipova, V., Djinovic-Carugo, K., Bläsi, U. (2015) The heptameric SmAP1 and SmAP2 proteins of the crenarchaeon Sulfolobus solfataricus bind to common and distinct RNA targets, *Life (Basel, Switzerland)*, **5** (2), 1264–1281.
79. Fischer, S., Benz, J., Späth, B., Maier, L.-K., Straub, J., Granzow, M., Raabe, M., Urlaub, H., Hoffmann, J., Brutschy, B., Allers, T., Soppa, J., Marchfelder, A. (2010) The archaeal Lsm protein binds to small RNAs, *The Journal of Biological Chemistry*, **285** (45), 34429–38.
80. Lekontseva, N., Mikhailina, A., Fando, M., Kravchenko, O., Balobanov, V., Tishchenko, S., Nikulin, A. (2020) Crystal structures and RNA-binding properties of Lsm proteins from archaea Sulfolobus acidocaldarius and Methanococcus vannielii: Similarity and difference of the U-binding mode, *Biochimie*, **175**, 1–12.