



专论与综述

细菌 RNA 结合蛋白 Hfq 的 DNA 压缩和复制作用研究进展

杨兴涛 董梦瑶 周紫骁 刘海峰 钟志军 彭广能*

四川农业大学动物医学院 四川省动物疫病与人类健康重点实验室 四川 成都 611130

摘要: RNA 结合蛋白(RNA-Binding Protein) Hfq 是一种重要的细菌转录后调节因子, 之前对 Hfq 的研究大多集中在该蛋白对小分子非编码 RNA (Small Non-Coding RNA, sRNA)和 mRNA 的作用上。Hfq 最典型的功能是促进 sRNA 与其靶标 mRNA 碱基配对, 在转录后介导对 RNA 的稳定性和翻译的调控。此外, Hfq 也能与多种蛋白质直接或间接相互作用。然而, 近年来的研究表明, 除了 RNA 和蛋白质, Hfq 还可以与 DNA 相互作用, 在 DNA 压缩(DNA Compaction)和 DNA 复制(DNA Replication)等多种 DNA 代谢过程中发挥直接或间接的调控作用。额外的靶标和功能的鉴定将进一步夯实 Hfq 作为细菌中多种代谢途径核心调控因子的重要地位, 也表明该蛋白的功能并不局限于其在 RNA 和蛋白质代谢中的作用。本文总结了 Hfq 在 DNA 代谢调控中的近几年最新研究进展, 并展望了其前景。

关键词: 细菌, Hfq, DNA 压缩, DNA 复制

Research progress on DNA compaction and replication of Hfq, a bacterial RNA binding protein

YANG Xingtiao DONG Mengyao ZHOU Ziyao LIU Haifeng ZHONG Zhijun
PENG Guangneng*

Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China

Abstract: RNA-binding protein Hfq is an important post-transcription regulator of bacteria. Previous studies on Hfq mostly focused on the effects of this protein on small non-coding RNA (sRNA) and mRNA. The most typical function of Hfq is to promote the base pairing of sRNA with its target mRNA and mediate the regulation of RNA stability and translation after transcription. In addition, Hfq can interact directly or indirectly with a variety of proteins. However, recent studies have shown that in addition to RNA and proteins, Hfq can also interact with DNA and play a direct or indirect regulatory role in various DNA metabolism processes such as DNA compaction and DNA replication. Additional target and functional identification will further reinforce the importance of Hfq as a core regulator of multiple metabolic pathways in bacteria. It also indicates that the function of this protein is not limited to its role in

Foundation items: Chengdu Giant Panda Breeding Research Foundation (CPF2015-09, CPF2017-12)

*Corresponding author: E-mail: pgn.sicau@163.com

Received: 09-06-2020; **Accepted:** 31-07-2020; **Published online:** 22-09-2020

基金项目: 成都大熊猫繁育研究基金会项目(CPF2015-09, CPF2017-12)

*通信作者: E-mail: pgn.sicau@163.com

收稿日期: 2020-06-09; **接受日期:** 2020-07-31; **网络首发日期:** 2020-09-22

RNA and protein metabolism. In this manuscript, the latest research progress of Hfq in the regulation of DNA metabolism in recent years is summarized and its prospect is prospected.

Keywords: bacteria, Hfq, DNA compaction, DNA replication

RNA 结合蛋白(RNA-Binding Protein) Hfq 是近半个世纪前在大肠杆菌(*Escherichia coli*)中作为噬菌体 Q β 进行 RNA 复制所必需的一种寄主因子而被发现的,最初被命名为 Host Factor for RNA Phage Q β Replication (HF-1)^[1-2]。Hfq 是 RNA 结合蛋白家族的一员,而这种蛋白质家族在真核生物、原核生物和古细菌中均有发现^[3-4]。已完成的细菌全基因组测序结果表明,约 50% 的细菌中含有 Hfq,而且编码该蛋白的基因序列都具有高度的相似性和保守性^[3,5]。

自从发现 Hfq 可在 RNA 代谢中发挥调控作用以来,对 Hfq 的研究大多集中在该蛋白对小分子非编码 RNA (Small Non-Coding RNA, sRNA) 和 mRNA 的作用上^[6-8]。Hfq 最典型的功能是促进 sRNA 与其靶标 mRNA 碱基配对,在转录后介导对 RNA 稳定性和翻译的调控^[3,8-9]。此外, Hfq 也能与多种蛋白质直接或间接相互作用,在 RNA 稳定性、转录终止和核糖体代谢中发挥重要功能^[10-12]。然而, Hfq 除了在 RNA 和蛋白质代谢中发挥调控作用外,还被鉴定为细菌的拟核相关蛋白(Nucleoid Associated Proteins, NAP)之一^[13]。细胞定位试验表明,细菌中约 20% 的 Hfq 与 DNA 结合,这种结合被认为是非序列特异性的^[13-15]。2010 年, Updegrave 等曾通过碱基突变和凝胶迁移滞后实验(Electrophoretic Mobility Shift Assays, EMSA)证明, Hfq 远端面 and CTR 中的碱基突变会抑制该蛋白与双链(Double Stranded, ds) DNA 的结合,而近端面和侧面似乎在 Hfq 与 dsDNA 结合方面不起作用^[16]。但由于 Hfq 在 RNA 代谢和蛋白质代谢中的研究热潮,该蛋白与 DNA 之间的相互作用在此后的很长一段时间里未得到较好的研究。

随着 Hfq 在 DNA 复制和 DNA 压缩中的作用被逐步揭示,这种功能强大的细菌 RNA 结合蛋白

和拟核相关蛋白在 DNA 代谢中的潜在作用再次引起了研究者的关注^[17-18]。近年来的一系列研究表明, Hfq 可以通过调控 DNA 桥接(DNA-Bridging)、拟核蛋白自组装 (Self-Assembly of Nucleoid Proteins) 和 DNA 超螺旋(DNA Supercoiling)的发生,共同促进 DNA 压缩(DNA Compaction)^[17,19-20]。此外, Hfq 也被证明可直接或间接调控 DNA 复制效率、错配修复和基因突变等 DNA 复制(DNA Replication)相关活动,预示着该蛋白对细菌环境适应和基因组进化可能存在更为复杂的调控网络^[19,21-22]。额外的靶标和功能的鉴定将进一步夯实 Hfq 作为细菌中多种代谢途径核心调控因子的重要地位,也表明该蛋白的功能并不局限于其在 RNA 和蛋白质代谢中的作用。本文主要介绍了 Hfq 与其新靶标 DNA 的相互作用及其相应功能,并讨论了 Hfq 在 DNA 代谢调控中的重要价值。

1 Hfq 的基本结构和功能

通常来说, Hfq 的每个亚基均包含 1 个结构性的氨基(N)末端区域(N-Terminal Region, NTR)和 1 个非结构性的羧基(C)末端区域(C-Terminal Region, CTR)^[23-24]。其中, NTR 由 1 个 α 螺旋和 5 个高度扭曲且弯曲的反平行 β 链组成, α 螺旋和 β 链可共同形成 Sm 折叠;不同亚基间的 Sm 折叠可发生相互作用,最终组装成一个含有 6 个亚基的圆盘状 Hfq 六聚体;圆盘中心有孔,并存在至少 3 个 RNA 结合面(近端面、侧面和远端面)和 1 个 CTR (图 1)^[3,7,25]。sRNA 或 mRNA 可在转录后过程中与 Hfq 的 3 个 RNA 结合面或 CTR 进行不同方式的结合^[7]。

Hfq 最典型的功能是促进 sRNA 与其靶标 mRNA 碱基配对,在转录后介导对 RNA 稳定性和翻译的调控^[3,8-9]。除了 sRNA 和 mRNA, Hfq 也能与其他 RNA (如 rRNA 和 tRNA)相互作用,正向调

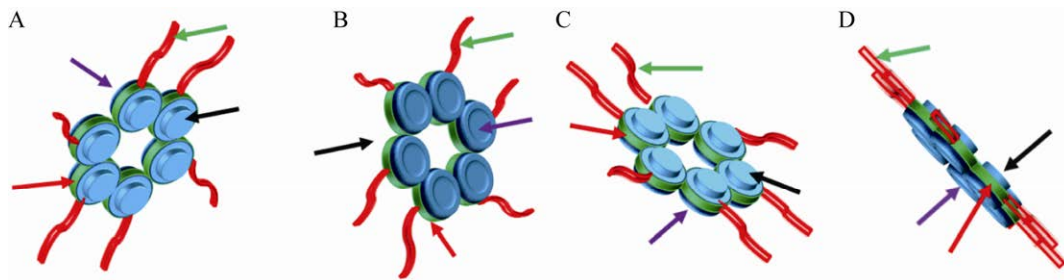


图 1 大肠杆菌 Hfq 的结构模型

Figure 1 Structural model of *Escherichia coli* Hfq

注: A、B、C、D 中不同颜色的箭头分别代表 Hfq 的近端面(NTR)、远端面、侧面和 CTR。其中, 黑色箭头代表近端面(NTR), 紫色箭头代表远端面, 红色箭头代表侧面, 绿色箭头代表 CTR

Note: The different colored arrows in A, B, C and D represent the proximal face (NTR), rim, distal face, and CTR of the Hfq, respectively. Among them, the black arrow represents the proximal face (NTR), the purple arrow represents the distal face, the red arrow represents the rim, and the green arrow represents CTR

控核糖体生物合成、rRNA 加工和 tRNA 成熟等生命活动过程^[26-28]。此外, Hfq 也能直接或间接调控核糖核酸酶 E (RNase E)、PolyA 聚合酶 I [Poly (A) Polymerase I, PAP I]、Rho 和热不稳定延伸因子(Elongation Factor Thermo Unstable, EF-Tu)等蛋白质的活性, 在 RNA 稳定性、转录终止和核糖体代谢中发挥重要作用^[10-12]。Hfq 缺失后, 大多数革兰氏阴性菌在其生长、运动、生物膜形成、毒力和环境胁迫的适应等方面都表现出不同程度的缺陷^[29-32]。相比而言, Hfq 在革兰氏阳性菌中的研究较少。不过, 现在可以明确的是, 单核球增多性李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)的生长、生物膜形成和毒力与 Hfq 的存在密切相关^[33-34]。此外, Hfq 在枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的趋化性、运动性和生长稳定期存活中的作用最近也被证实^[35-37]。总而言之, 大量研究已经表明, Hfq 可作为一种核心调控因子参与细菌中多种代谢途径的直接或间接调控^[7,38]。

2 Hfq 在 DNA 压缩中的研究进展

正常情况下, 细菌中的 DNA 双螺旋被压缩成一种紧凑状态并形成拟核^[39]。DNA 压缩是不同机制协同作用的结果, 包括 DNA 桥接、DNA 弯曲(DNA-Bending)、DNA 超螺旋、拟核蛋白自组装和相分离(Phase Separation)^[19,40]。截至目前,

这种同时作为 RNA 结合蛋白和拟核相关蛋白的 Hfq 已被证明可通过调控 DNA 桥接、拟核蛋白自组装和 DNA 超螺旋来发挥其在 DNA 压缩中的作用(图 2)^[17,19-20]。

2.1 Hfq 通过正向调控 DNA 桥接促进 DNA 压缩

Hfq 在 DNA 桥接中的作用最早是在 2015 年被发现的^[17]。一项基于纳米流体学(Nanofluidics)、中子小角散射(Small Angle Neutron Scattering, SANS)和原子力显微镜(Atomic Force Microscopy, AFM)的试验数据表明, 当 Hfq 的浓度超过阈值时, dsDNA 可在纳米通道内被压缩成凝聚形式(Condensed Form), 并且这种压缩效应随着缓冲液离子强度、纳米通道横断面积和 Hfq 浓度的增加而增强^[17]。同样, 作为 NAPs 的 H-NS 和 HU 也先后被证实可在纳米通道内将 dsDNA 压缩成凝聚形式, 不过相比而言, Hfq 在纳米通道内的 DNA 压缩效率远高于 H-NS 和 HU^[17,41-42]。例如, 当缓冲液(含有 3 mmol/L NaCl 的 T-Buffer)和纳米通道横断面积(200×300 nm²)等其他条件均一致时, Hfq、H-NS 和 HU 将 dsDNA 压缩成凝聚形式的阈值浓度分别为 0.005 μmol/L (Hfq:bp=1:1 000)、0.5 μmol/L (Hfq:bp=1:10)和 0.5 μmol/L (Hfq:bp=1:10)^[17,41-42]。Hfq 也可以在不限制条件(无纳米通道限制)下将 dsDNA 压缩成凝聚形式, 不过这需

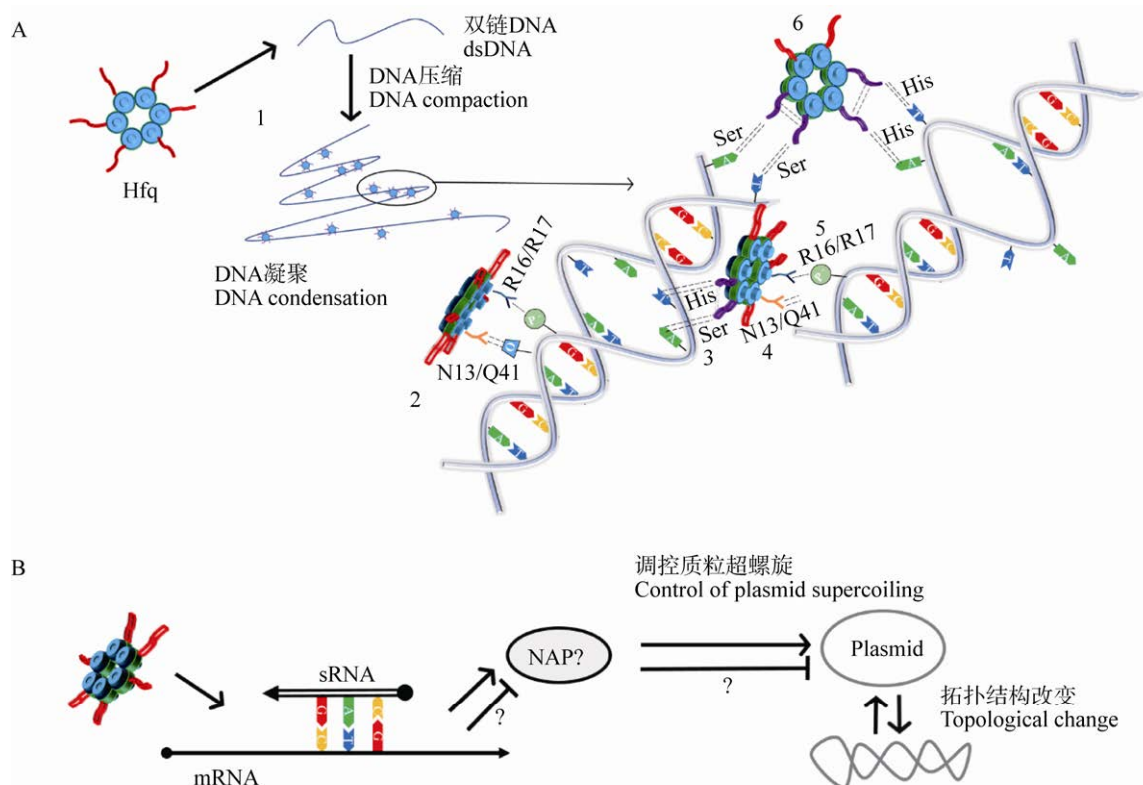


图2 Hfq 调控 DNA 压缩的机制

Figure 2 The mechanism of Hfq regulating DNA compaction

注: A: Hfq 调控 DNA 桥接和核蛋白自组装, 促进 DNA 压缩。1: Hfq 和 dsDNA 相互作用后, 可将 dsDNA 压缩成凝聚形式; 2: NTR 中的残基可分别以静电相互作用(残基 R16/R17 与 dsDNA 磷酸基团)和形成氢键(残基 N13/Q41 与 dsDNA 磷酸基团中的 O 原子)的方式与 dsDNA 的磷酸骨架形成初步不稳定结合; 3: CTR 中的 His/Ser 残基和 dsDNA (部分富含 A/T 的双链解开)中的 A/T 以形成氢键的方式锚定结合, 锚定结合后的 1 个或多个 CTR 可在 dsDNA 的诱导下自组装成淀粉样蛋白纤维; 4: CTR 与 dsDNA 锚定结合且自组成淀粉样蛋白纤维后, 原本与 dsDNA 形成初步不稳定结合的残基 R16/R17 或(和) N13/Q41 从磷酸骨架上脱落; 5: 空出结合位点的 R16/R17 或(和) N13/Q41 残基重新与新的 dsDNA 形成如 2 中所述的结合; 6: 已与 dsDNA 片段锚定结合且自组成淀粉样蛋白纤维的 1 个或多个 CTR 可将其剩余的 CTR 与另一 dsDNA 片段锚定结合且自组成淀粉样蛋白纤维, 实现 DNA 桥接, 从而促进 DNA 压缩。B: Hfq 调控 DNA 超螺旋, 促进 DNA 压缩。Hfq 可能通过促进 sRNA (DNA 拓扑结构相关) 与其靶标 mRNA 间的多种相互作用, 调控某一 NAPs 的表达, 从而实现对 DNA 拓扑结构的间接调控(维持 DNA 超螺旋), 促进 DNA 压缩

Note: A: Hfq regulates DNA-bridging and self-assembly of nucleoid proteins to promote DNA compaction. 1: After the interaction between Hfq and dsDNA, dsDNA can be compacted into condensed form; 2: The residues in NTR can form an initial unstable binding with the phosphate skeleton of dsDNA by electrostatic interaction (residue R16/R17 with dsDNA phosphate group) and hydrogen bond (residue N13/Q41 with O atom in dsDNA phosphate group), respectively; 3: The His/Ser residues in CTR and A/T in dsDNA (partial dissociation of double strands rich in uracil) are anchored to form hydrogen bonds. One or more CTR after anchoring binding can be self-assembled into amyloid fibers under the induction of dsDNA; 4: After CTR anchored with dsDNA and self-assembled amyloid fiber, residues R16/R17 or (and) N13/Q41 which initially formed unstable binding with dsDNA fell off from the phosphate skeleton; 5: The R16/R17 or (and) N13/Q41 residues of the vacated binding site are recombined with the new dsDNA, as described in 2; 6: One or more CTR that have anchored dsDNA fragments and self-assembled amyloid fibers can anchor the remaining CTR to another dsDNA fragment and form amyloid fibers themselves to achieve DNA bridging, thereby promoting DNA compaction. B: Hfq regulates DNA supercoiling to promote DNA compaction. Hfq may regulate the expression of a certain NAPs by promoting a variety of interactions between sRNA (related to DNA topology) and its target mRNA, thus indirectly regulating the topology of DNA (maintain DNA supercoiling) and promoting DNA compaction

要更高的蛋白浓度;在 AFM 中观察到,高浓度下的 Hfq (Hfq:bp=1:15)可与较长的 dsDNA 片段(10 kb)相互作用,并形成不同片段间的 DNA 桥接,桥接导致长链 DNA 片段中的反向折叠(Back Folding)、环化(Looping)和并行聚集(Side-by-Side Aggregation)增多;为了排除 DNA 分子内的并行聚集等不利因素对持续长度(Persistence Length)和轮廓总长(Contour Length)分析的影响,短链 DNA 片段(1 000 bp)被用于后续 AFM 试验,结果表明,低浓度组(Hfq:bp=1:300)的持续长度和轮廓总长相应为 49.1 ± 0.3 nm 和 350 ± 20 nm,而高浓度组(Hfq:bp=1:6)则分别为 60.4 ± 0.3 nm 和 270 ± 20 nm,简单分析可知,低浓度组的持久长度和轮廓总长与细菌中典型的 B 型裸露 DNA 力学性质(持续长度为 50 nm,轮廓总长为 340 nm)相似,而高浓度组的持续长度和轮廓总长则分别升高和降低约 20%,升高的持续长度表明 Hfq 与 dsDNA 的结合并不是牢固的对接,相反,该蛋白与 dsDNA 结合后仍然保持了其“灵活性”^[17]。SANS 试验结果进一步支持了该观点,分析表明,Hfq 和 dsDNA 间还存在约 5 nm 的径向距离,Hfq 可能仅通过其一小部分位点与 dsDNA 结合并形成核蛋白复合物,该复合物中的 Hfq 似乎是“悬挂”在 dsDNA 上的^[17]。这种结合方式与在 H-NS 和 HU 中发现的均不同,相比于 Hfq,H-NS 与 dsDNA 的结合更加紧密,而 HU 与 dsDNA 的结合则会导致 dsDNA 发生强烈弯曲(105° – 140°)^[17,41-42]。此外,研究者认为,高浓度组中轮廓总长的降低可能与 Hfq 和 dsDNA 结合过程中富含 AT 碱基的双链打开有关^[17]。总而言之,该研究发现,Hfq 和细菌拟核可形成一种核蛋白复合物,后者能改变 dsDNA 的力学性质,并将 dsDNA 压缩成凝聚形式^[17]。这种强烈的压缩效应与 Hfq 和 dsDNA 孵育后在 AFM 中观察到的 DNA 桥接密切相关^[17]。事实上,已经有人提出,CTR 可沿着大沟或小沟与 dsDNA 磷酸骨架相互作用^[7]。结合 SANS 试验中证明的 Hfq 在 dsDNA 上

的部分结合,加上该蛋白本身作为六聚体并且含有 CTR 的结构特性,可以认为 Hfq 具有较强的桥接 DNA 的倾向^[3,7,17]。然而,Hfq 是如何介导不同 dsDNA 片段间的 DNA 桥接,并最终将 dsDNA 压缩成凝聚形式的具体作用机制还有待进一步阐明。

最近,CTR 在 DNA 桥接中的作用被进一步强调^[20]。研究者们将大肠杆菌的 Hfq NTR (残基 1–72)和 CTR (残基 64–102)片段连接表达质粒后在大肠杆菌 BL21 中进行了蛋白表达和纯化,并对独立的 NTR 和 CTR 进行了较为系统的 DNA 压缩特性分析^[20],结果表明,随着 Hfq、NTR 或 CTR 浓度的增加,Hfq 和 CTR 在纳米通道和非纳米通道组成的系统中均可将 DNA 压缩成凝聚形式,但相比于完整的 Hfq,CTR 要实现 DNA 凝聚(DNA Condensation)则需要更高的浓度^[17,20]。出现这种浓度梯度的差异可能与 CTR 中 NTR 的结构缺失有关,虽然 NTR 已被证实不能直接将 DNA 压缩成凝聚形式,但其能促进 Hfq 与 dsDNA 的结合^[20]。该研究认为,Hfq 首先通过其六聚体中带正电荷的侧面或远端面残基与 dsDNA 中带负电荷的磷酸盐以静电相互作用的方式初步结合,并将六聚体“粘贴”在 dsDNA 表面;Hfq 与 dsDNA 形成初步不稳定结合后,该蛋白的一个或多个 CTR 再利用氢键(如 CTR 中相对丰富的组氨酸和丝氨酸残基)等非静电相互作用与局部解开双链的 DNA 碱基(如 A 和/或 T)进行锚定结合,从而达到稳定的结合状态;一旦 Hfq 与 dsDNA 稳定结合后,该蛋白可将其剩余的一个或多个 CTR 继续锚定结合在另一 dsDNA 片段上,实现 DNA 桥接^[20]。

简而言之,Jiang 等和 Malabirade 等的研究结果表明,Hfq 主要通过其 CTR 来发挥桥接 DNA 的作用,DNA 桥接能促进 DNA 压缩,最终导致 dsDNA 被压缩成凝聚形式^[17,20]。NTR 的单独作用并不能直接导致 DNA 凝聚的发生,但其可以通过组装形成的六聚体以静电相互作用的方式与

dsDNA 初步结合;这种初步不稳定结合有利于 CTR 在 dsDNA 上的结合锚定,从而使得 DNA 桥接更容易进行^[20]。Orans 等对大肠杆菌 Hfq NTR (残基 2-69)和 dsDNA 形成的晶体复合物进行了分析,试验结果也支持 NTR 在 DNA 桥接中的辅助作用^[24],不过该研究与 Updegrave 等和 Malabirade 等的研究结果存在差异^[16,20,24]。比如, Malabirade 等认为 NTR 仅通过静电相互作用与 dsDNA 结合^[20]。然而,最新的晶体复合物研究表明, NTR 除了可以借助其 R16 和 R17 残基与 dsDNA 发生静电相互作用外,还可以通过其 N13 和 Q41 残基与 dsDNA 形成氢键^[24]。尽管现在还没有文献对 CTR 和 dsDNA 形成的晶体复合物进行分析,但现有研究已经表明, CTR 在生理 pH 条件下是电中性的^[20]。因此, CTR 与 dsDNA 的结合几乎不可能涉及静电相互作用。考虑到 CTR 中存在丰富的组氨酸和丝氨酸残基,形成氢键应该是其与 dsDNA 较为理想的结合方式^[20]。不过, Malabirade 等和 Orans 等的研究结果均进一步支持 NTR 相对于 CTR 具有更高的亲和力,所以更容易在 DNA 桥接中产生初步结合,从而间接调控 DNA 压缩这一事实^[20,24]。此外,晶体复合物结构分析表明, NTR 中唯一发现的与 dsDNA 存在相互作用的 4 个残基(R16、R17、N13 和 Q41)均存在于其六聚体近端面的 α 螺旋中^[24]。因此, Updegrave 等此前关于 Hfq 的近端面在该蛋白与 dsDNA 结合中不发挥作用的论断可被推翻^[16,24]。

2.2 Hfq 通过自组装成淀粉样蛋白纤维促进 DNA 压缩

淀粉样蛋白(Amyloids)是一种纳米结构,由多个拷贝的肽或蛋白质单体聚集而成,最终形成纤维^[43]。淀粉样蛋白纤维(Amyloid Fibers)通常被认为是神经退行性病变的标志之一,但也存在不少关于细菌表面蛋白淀粉样和纤维化的报道^[44-45]。随着细菌 DNA 压缩概念的阐明,拟核蛋白自组装也被定义为促进 DNA 压缩的主要机制之一^[40]。作为拟核相关蛋白的 Hfq,最近被证实可通过其

CTR 在体外自组装成淀粉样蛋白纤维,但这种体外的自组装似乎是一种相当缓慢的过程,研究还发现, Hfq 的完整组装在很大程度上得益于其 CTR 具有的淀粉样蛋白自组装功能,然而研究者并未将这种强大的自组装能力与 DNA 压缩联系在一起^[46]。

鉴于 CTR 在 DNA 压缩中的作用已经显现, Malabirade 等利用同步辐射圆二色谱(Synchrotron Radiation Circular Dichroism, SRCD)、傅里叶变换红外光谱(Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR Spectroscopy)和小角 X 射线散射(Small Angle X-Ray Scattering, SAXS)分别研究了 DNA 与 CTR 具有的淀粉样蛋白自组装功能之间的潜在联系^[19-20,46]。结果表明,无论 CTR 是否与 dsDNA 共同孵育, CTR 仍然能在体外自组装成淀粉样蛋白纤维;不过,相比于和 dsDNA 共同孵育(7 d),单独孵育的 CTR 要实现淀粉样蛋白纤维化则需要更长的时间(>14 d),因此该研究发现, DNA 能诱导 CTR 在体外自组装成淀粉样蛋白纤维,在体内可能也是如此;此外,研究者还认为, CTR 在其淀粉样蛋白纤维化中发生的自组装促进了 DNA 桥接和 DNA 压缩^[19]。

总而言之, Hfq 现已被证明可通过其 CTR 在体外自组装成淀粉样蛋白纤维, DNA 可诱导 CTR 实现淀粉样蛋白纤维化,而纤维化过程中发生的自组装促进了 DNA 桥接和 DNA 压缩^[19-20,46]。实际上,纤维化后的蛋白质其刚度会变得更高,而刚度的增加正好有利于稳定 CTR 和 dsDNA 间形成的 DNA 桥接,从而进一步促进 DNA 压缩^[47]。

2.3 Hfq 通过正向调控 DNA 超螺旋的发生促进 DNA 压缩

DNA 除了作为遗传信息的载体,也是控制基因表达的重要因素,这种调控机制主要源于其拓扑结构的动态变化。超螺旋是 DNA 拓扑结构的主要形式,其可分为正超螺旋和负超螺旋两类,在一定条件下,这两者可以相互转变^[48]。基于 Hfq 插入失活的早期研究表明, Hfq 的失活可减少大

肠杆菌中质粒 DNA 形成的超螺旋, 使质粒更加松弛^[30]。然而, 这种表型差异与 Hfq 之间的相互作用关系并未阐明。

Malabirade 等在体外和体内分别研究了 Hfq 与质粒超螺旋的相互作用, 并讨论了 CTR 对质粒超螺旋的影响: 纯化的 Hfq 和 pHSG298 质粒完成共同孵育并经拓扑异构酶以及质粒 DNA 去蛋白处理后, 被用来进行凝胶电泳分析, 在此条件下, 超螺旋 DNA 的凝胶迁移速度相比于非超螺旋 DNA 更快; 拓扑异构酶的处理会减少质粒 DNA 形成的超螺旋, 其对应的凝胶迁移速度也就更慢; 体外试验观察到, 无论 Hfq 是否与质粒 DNA 共同孵育, 经拓扑异构酶处理后的质粒 DNA 超螺旋程度均降低至同一水平, 这些数据表明, Hfq 并不能直接调控质粒 DNA 超螺旋结构的动态变化^[19]。因此, 早期研究发现的 Hfq 在质粒 DNA 超螺旋结构变化中的调控作用可能是该蛋白在体内间接调控其他基因的结果^[19,30]。体内试验则主要是对分别来源于大肠杆菌野生型、Hfq72 (=ΔCTR) 和 ΔHfq 菌株的 pHSG298 质粒进行同样的凝胶电泳分析, 数据显示, 来源于大肠杆菌 ΔHfq 菌株的质粒超螺旋程度明显低于野生型和 Hfq72 (=ΔCTR)^[19]。这与 Tsui 等的早期研究结果相似, 即 Hfq 的缺失可影响质粒 DNA 的超螺旋程度^[19,30]。此外, Malabirade 等还发现, 尽管 CTR 已被证明可在 DNA 压缩中发挥重要作用, 但 CTR 与 DNA 间的直接相互作用并不会显著影响超螺旋形式的拓扑结构, 这一点在体内试验中得到了证实, 即无论 CTR 是否存在, 从不同菌株中提取的 pHSG298 在凝胶电泳分析中均表现出相似的质粒 DNA 超螺旋程度^[19]。

总而言之, 研究已经表明, Hfq 缺失所产生的质粒超螺旋结构改变并不是由该蛋白与质粒 DNA 直接相互作用的结果^[19]。但无论如何, Hfq 在 DNA 超螺旋结构维持中的正向调控作用已经显现, 而 DNA 超螺旋也是促进 DNA 压缩的主要机制

之一^[19,30,40]。因此, 该蛋白也可以通过正向调控 DNA 超螺旋的形成, 进而促进 DNA 压缩^[19,30,40]。考虑到 Hfq 在 RNA 代谢调控中的多种相互作用, 可以假设这种质粒超螺旋的结构变化是通过某些依赖于 Hfq 的 sRNA 调控某些 DNA 拓扑结构相关 mRNA 的表达而导致的间接效应^[3,7,19]。至少, 现在可以明确的是, Hfq 可以在体外结合 sRNA-DsrA, 该蛋白的体内缺失除了会降低 sRNA-DsrA 的稳定性以外, 还会影响 sRNA-DsrA 对部分蛋白翻译起始的转录后调控, 比如 H-NS^[49]。H-NS 已被证实可通过调控 DNA 拓扑结构(如超螺旋)的动态变化在 DNA 压缩等 DNA 代谢过程中发挥重要作用^[50]。

3 Hfq 在 DNA 复制中的研究进展

3.1 Hfq 在质粒 DNA 复制效率中的作用

Hfq 在 DNA 复制中的作用最早是在 ColE1 型质粒中发现的, 该研究利用基因敲除探索了 Hfq 对 ColE1 型质粒(pET22b、pUC18 和 pACYC177) 和噬菌体 λ 衍生质粒(pKBamp) DNA 复制效率的影响, 结果表明, 相较于 Hfq 缺失株, 存在于野生型菌株的 ColE1 型质粒在指数早期的复制效率更高, 而在指数晚期和稳定期早期中的复制效率则更低; 相反, Hfq 对噬菌体 λ 衍生质粒的 DNA 复制效率并无显著影响^[18]。

Malabirade 等同样发现了大肠杆菌 Hfq 的缺失会导致 ColE1 型质粒(pHSG298) DNA 复制效率相对于野生株更高, 这与 Cech 等的研究结果一致^[18-19]。该研究分别在指数晚期和稳定期对来源于大肠杆菌野生型、Hfq72 (=ΔCTR) 和 ΔHfq 菌株的 pHSG298 质粒进行了数量统计, 结果发现, 野生型和 Hfq72 中的质粒数量均显著低于 ΔHfq 菌株^[19]。Hfq 的缺失已被证明会显著影响质粒 DNA 超螺旋和 DNA 压缩, 而 CTR 的缺失只会影响 DNA 压缩^[17,19-20]。在这种情况下, 如果 Hfq 缺失引起的 DNA 复制与 DNA 压缩直接相关, 则 Hfq72 中的 CTR 缺失也会影响质粒数量; 然而, 来源于

野生型和 Hfq72 的质粒数量在指数晚期和稳定期均未观察到显著差异,因此该研究认为,Hfq 在质粒 DNA 复制效率中的负调控作用与质粒 DNA 超螺旋程度的改变直接相关,而与质粒 DNA 压缩无关^[19]。

事实上,虽然大多数质粒 DNA 的复制都需要负超螺旋形式的拓扑结构来促进环状 dsDNA 中复制位点的打开,但对于拥有 RNA II 作为其复制起始位点的 ColE1 型质粒来说,超螺旋减少导致的质粒松弛将更有利于 DNA 复制^[19,51]。不过,Hfq 对 ColE1 型质粒 DNA 复制效率的具体调控机制还有待进一步阐明。

3.2 Hfq 在基因突变和错配修复中的作用

细菌在 DNA 复制或转录等过程中可形成 G-四链体(G-Quadruplex),这种类型的拓扑结构会阻碍 DNA 复制,甚至会导致基因突变^[21]。研究发现,大肠杆菌中也存在 G-四链体,Hfq 可在体外特异性结合并稳定该结构,从而促进 G-四链体在 DNA 复制中的负调控(如复制效率降低,基因突变增加)^[21]。此外,Hfq 对 DNA 复制的负调控效应比想象中更大,因为这种 RNA 结合蛋白和拟核相关蛋白还被证明可以在转录后抑制错配修复(MMR)基因 *mutS* 和 *mutH* 的表达^[52]。Chen 等证实,Hfq 在生长稳定期中对 *mutS* 的抑制是通过在其 5'非翻译区(UTR)内的直接结合和与 sRNA 的相互作用而实现^[22]。

尽管 Hfq 在质粒 DNA 和染色体(拟核) DNA 的复制中都表现出了明显的负调控作用,但这种调控的意义尚不清楚^[18-19,21]。研究者们更倾向于将 Hfq 对染色体(拟核) DNA 复制的这种负调控行为(错配修复能力降低,基因突变率增加)归因于该蛋白对环境应激做出的适应,因为这种调控效应无论是对于细菌的应激诱导突变还是基因表达调控的进化而言均是有益的^[21-22]。

4 存在的问题和挑战

细菌中的 DNA 大多都以负超螺旋形式的 B 型

DNA 存在,在这种情况下,细菌可将通过挫折欠旋而节约的能量(如降低的扭曲压力和碱基对的旋转)重新分配给可用于驱动转录、复制和转移等 DNA 代谢过程的双链^[48]。然而,ColE1 型质粒 DNA 是独立于染色体之外能自主复制的一类双链 DNA 分子^[19,51]。RNA II 是一种作为复制起始引物的 RNA,可正调控质粒 DNA 复制,而 RNA I (RNA II 的反义 RNA)和 RNA II 形成的复合物则会严重阻碍质粒 DNA 复制^[51]。Rom 基因能将 RNA I-RNA II 复合物进一步稳定,从而负调控 DNA 复制^[19,51]。考虑到 Hfq 在 RNA 代谢调控中介导的多种 RNA-RNA 相互作用,以及 Cech 等和 Malabirade 等在 ColE1ΔRom 型质粒中观察到的 Hfq 对 DNA 复制效率的调控降低,可以假设 Hfq 对 ColE1 型质粒的调控作用主要是通过位于其 NTR 或 CTR 中的 RNA 结合位点分别与 RNA II 和 RNA I 结合,从而引导 RNA I-RNA II 复合物的形成^[7,18-19]。这种假设的 Hfq 功能与 Rom 类似,即两者均能间接抑制质粒 DNA 的复制,但 Hfq 并不参与 RNA I-RNA II 复合物的进一步稳定。然而,Hfq 表现出的对质粒 DNA 复制效率的负调控到底具有何种意义,仍然是一个悬而未决的问题。一种可能的意义是,Hfq 对高拷贝 ColE1 型质粒 DNA 复制的抑制是为了将其数量控制在菌体可接受的范围内。此外,体内质粒数量过多也并不利于拟核 DNA 的表达。

尽管近年来的研究已经揭示了 Hfq 与 RNA、蛋白质和 DNA 的多种相互作用,但这些研究绝大多数都是在革兰氏阴性菌特别是大肠杆菌中进行的^[10,24,53]。相比于革兰氏阴性菌,Hfq 在革兰氏阳性菌中的研究较少。Hfq 在革兰氏阳性菌趋化性和运动性中的正向调控作用已在枯草芽孢杆菌中被证实,此外,研究还发现 Hfq 可能在枯草芽孢杆菌环境胁迫方面发挥正向调控作用^[35]。本实验室先前的工作已经证明了纤维素环境对于枯草芽孢杆菌来说是一种压力胁迫环境,尽管如此,该菌株仍然可以通过降解纤维素来获得维持自身存

活的碳源, 并通过调控相关基因的表达来逐渐适应这种压力环境^[54-56]。值得一提的是, 在枯草芽孢杆菌中, 内切葡聚糖酶、 β -葡萄糖苷酶和类膨胀蛋白 BsEXLX1 这 3 种功能蛋白对纤维素的微生物降解至关重要, 但该系统的具体作用机制仍未阐明^[57-58]。鉴于 Hfq 与多种蛋白质的直接相互作用已经显现, 一种可能的假设是, 枯草芽孢杆菌 Hfq 能直接与上述 3 种蛋白的一种或几种产生相互作用, 从而实现纤维素环境的适应^[10,35,54]。另一方面, 考虑到近年来发现的 Hfq 在 DNA 代谢中的强大功能, 该蛋白也可能通过间接调控其他 NAPs 的表达而改变 DNA 的拓扑结构, 从 DNA 层面实现对上述 3 种蛋白中的一种或几种的调控, 进而有助于枯草芽孢杆菌在纤维素环境中的适应^[19,54,59]。至少, 在大肠杆菌中已经发现了 Hfq 能与同样作为 NAPs 的 H-NS 相互作用^[49]。因此, 对 Hfq 与上述 3 种蛋白相互作用的深入研究将有助于进一步阐明枯草芽孢杆菌适应纤维素环境的具体作用机制。

5 结语

综上所述, Hfq 的功能已经超出了其在 RNA 和蛋白质代谢中的作用, 除了 RNA (sRNA、mRNA、rRNA、tRNA 等) 和蛋白质这些已知的靶标, Hfq 还可以与 DNA 相互作用。近年来的一系列研究表明: Hfq 不仅可以通过调控 DNA 桥接、拟核蛋白自组装和 DNA 超螺旋的发生来促进 DNA 压缩, 还被证明可对 DNA 复制相关活动产生负调控行为(复制效率和错配修复能力降低, 而基因突变率增加)。因此, Hfq 的调控谱比先前设想的大。Hfq 与 DNA 的相互作用将有助于进一步理解该蛋白在细菌中的整体功能, 也表明 Hfq 的调控能力并不局限于其在 RNA 和蛋白质代谢中的作用。

REFERENCES

- [1] Carmichael GG, Weber K, Niveleau A, Wahba AJ. The host factor required for RNA phage Q β RNA replication *in vitro*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1975, 250(10): 3607-3612
- [2] De Fernandez MTF, Eoyang L, August JT. Factor fraction required for the synthesis of bacteriophage Q β -RNA[J]. Nature, 1968, 219(5154): 588-590
- [3] Vogel J, Luisi BF. Hfq and its constellation of RNA[J]. Nature Reviews Microbiology, 2011, 9(8): 578-589
- [4] Fan B, Chen S, Li YL. Structure, function and mechanisms of bacterial protein Hfq[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2016, 40(5): 155-162 (in Chinese)
樊奔, 陈晟, 李昱龙. 细菌 Hfq 蛋白的结构、功能及作用机制[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2016, 40(5): 155-162
- [5] Sun XG, Zhulin I, Wartell RM. Predicted structure and phyletic distribution of the RNA-binding protein Hfq[J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30(17): 3662-3671
- [6] Xu QL, Song YZ, Guo YB. Non-coding RNA and RNA chaperone Hfq in bacteria[J]. Acta microbiologica Sinica, 2018, 58(9): 1511-1520 (in Chinese)
徐巧林, 宋艳钊, 郭岩彬. 细菌非编码 RNA 及其分子伴侣 Hfq[J]. 微生物学报, 2018, 58(9): 1511-1520
- [7] Updegrove TB, Zhang AX, Storz G. Hfq: the flexible RNA matchmaker[J]. Current Opinion in Microbiology, 2016, 30: 133-138
- [8] Guo YF, Yuan JY, Wang YF, Cui MQ. Research progress of bacterial RNA binding protein Hfq[J]. Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army, 2015, 33(5): 584-586 (in Chinese)
郭英飞, 袁玖云, 王玉飞, 崔明全. 细菌 RNA 结合蛋白 Hfq 研究进展[J]. 解放军预防医学杂志, 2015, 33(5): 584-586
- [9] Liu FR, Zhong ZJ, Zhou ZY, Peng GN, Yang P, Wang YP, Liao L. The mechanism of small RNAs response to environmental stresses in bacteria[J]. Microbiology China, 2015, 42(10): 2012-2018 (in Chinese)
刘福芮, 钟志军, 周紫峒, 彭广能, 杨平, 王亚萍, 廖莉. 细菌 sRNA 对环境胁迫的响应机制[J]. 微生物学通报, 2015, 42(10): 2012-2018
- [10] Caillet J, Baron B, Boni IV, Caillet-Saguy C, Hajnsdorf E. Identification of protein-protein and ribonucleoprotein complexes containing Hfq[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 14054
- [11] Rabhi M, Espéli O, Schwartz A, Cayrol B, Rahmouni AR, Arluison V, Boudvillain M. The Sm-like RNA chaperone Hfq mediates transcription antitermination at rho-dependent terminators[J]. The EMBO Journal, 2011, 30(14): 2805-2816
- [12] Mohanty BK, Maples VF, Kushner SR. The Sm-like protein Hfq regulates polyadenylation dependent mRNA decay in *Escherichia coli*[J]. Molecular Microbiology, 2004, 54(4): 905-920
- [13] Azam TA, Ishihama A. Twelve species of the nucleoid-associated protein from *Escherichia coli* sequence

- recognition specificity and DNA binding affinity[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(46): 33105-33113
- [14] Diestra E, Cayrol B, Arluison V, Risco C. Cellular electron microscopy imaging reveals the localization of the Hfq protein close to the bacterial membrane[J]. PLoS One, 2009, 4(12): e8301
- [15] Azam TA, Hiraga S, Ishihama A. Two types of localization of the DNA-binding proteins within the *Escherichia coli* nucleoid[J]. Genes to Cells, 2000, 5(8): 613-626
- [16] Updegrave TB, Correia JJ, Galletto R, Bujalowski W, Wartell RM. *E. coli* DNA associated with isolated Hfq interacts with Hfq's distal surface and C-terminal domain[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms, 2010, 1799(8): 588-596
- [17] Jiang K, Zhang C, Guttula D, Liu F, Van Kan JA, Lavelle C, Kubiak K, Malabirade A, Lapp A, Arluison V, et al. Effects of Hfq on the conformation and compaction of DNA[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(8): 4332-4341
- [18] Cech GM, Pakula B, Kamrowska D, Wegrzyn G, Arluison V, Szalewska-Palasz A. Hfq protein deficiency in *Escherichia coli* affects ColE1-like but not λ plasmid DNA replication[J]. Plasmid, 2014, 73: 10-15
- [19] Malabirade A, Partouche D, Hamoui OE, Turbant F, Geinguenaud F, Recouvreur P, Bizien T, Busi F, Wien F, Arluison V. Revised role for Hfq bacterial regulator on DNA topology[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 16792
- [20] Malabirade A, Jiang K, Kubiak K, Diaz-Mendoza A, Liu F, Van Kan JA, Berret JF, Arluison V, Van Der Maarel JRC. Compaction and condensation of DNA mediated by the C-terminal domain of Hfq[J]. Nucleic Acids Research, 2017, 45(12): 7299-7308
- [21] Parekh VJ, Niccum BA, Shah R, Rivera MA, Novak MJ, Geinguenaud F, Wien F, Arluison V, Sinden RR. Role of Hfq in genome evolution: instability of G-Quadruplex sequences in *E. coli*[J]. Microorganisms, 2020, 8(1): 28
- [22] Chen JD, Gottesman S. Hfq links translation repression to stress-induced mutagenesis in *E. coli*[J]. Genes & Development, 2017, 31(13): 1382-1395
- [23] Link TM, Valentin-Hansen P, Brennan RG. Structure of *Escherichia coli* Hfq bound to polyriboadenylate RNA[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(46): 19292-19297
- [24] Orans J, Kovach AR, Hoff KE, Horstmann NM, Brennan RG. Crystal structure of an *Escherichia coli* Hfq core (residues 2-69)-DNA complex reveals multifunctional nucleic acid binding sites[J]. Nucleic Acids Research, 2020, 48(7): 3987-3997
- [25] Cech GM, Szalewska-Palasz A, Kubiak K, Malabirade A, Grange W, Arluison V, Wegrzyn G. The *Escherichia coli* Hfq protein: an unattended DNA-transactions regulator[J]. Frontiers in Molecular Biosciences, 2016, 3: 36
- [26] Sharma IM, Korman A, Woodson SA. The Hfq chaperone helps the ribosome mature[J]. The EMBO Journal, 2018, 37(11): e99616
- [27] Andrade JM, Dos Santos RF, Chelysheva I, Ignatova Z, Arraiano CM. The RNA-binding protein Hfq is important for ribosome biogenesis and affects translation fidelity[J]. The EMBO Journal, 2018, 37(11): e97631
- [28] Lee T, Feig AL. The RNA binding protein Hfq interacts specifically with tRNAs[J]. RNA, 2008, 14(3): 514-523
- [29] Lei SS. Investigation into *B. melitensis* *hfq* deletion mutant on virulence and immune protective effect[D]. Chengdu: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2016 (in Chinese)
雷霜霜. 羊种布鲁氏菌 *hfq* 突变株毒力及其免疫保护作用研究[D]. 成都: 四川农业大学硕士学位论文, 2016
- [30] Tsui HCT, Leung HCE, Winkler ME. Characterization of broadly pleiotropic phenotypes caused by an *hfq* insertion mutation in *Escherichia coli* K-12[J]. Molecular Microbiology, 1994, 13(1): 35-49
- [31] Guisbert E, Rhodius VA, Ahuja N, Witkin E, Gross CA. Hfq modulates the σ^E -mediated envelope stress response and the σ^{32} -mediated cytoplasmic stress response in *Escherichia coli*[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(5): 1963-1973
- [32] Wang MC, Chien HF, Tsai YL, Liu MC, Liaw SJ. The RNA chaperone Hfq is involved in stress tolerance and virulence in uropathogenic *Proteus mirabilis*[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e85626
- [33] Yao H, Kang MQ, Wang YT, Feng YW, Kong SW, Cai XX, Ling ZT, Chen SS, Jiao XA, Yin YL. An essential role for Hfq involved in biofilm formation and virulence in serotype 4b *Listeria monocytogenes*[J]. Microbiological Research, 2018, 215: 148-154
- [34] Lu HT, Qiao J, Meng QL, Peng YL, Chen C, Liu TL, Cai XP, Chen CF. Effect of chaperone *hfq* gene deletion on *Listeria monocytogenes* virulence and biofilm formation[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2017, 32(1): 94-98 (in Chinese)
卢海亭, 乔军, 孟庆玲, 彭叶龙, 陈诚, 刘田莉, 才学鹏, 陈创夫. 分子伴侣 *hfq* 基因缺失对单核细胞增生李斯特菌毒力及生物被膜生成的影响[J]. 华北农学报, 2017, 32(1): 94-98
- [35] Jagtap CB, Kumar P, Rao KK. *Bacillus subtilis* Hfq: a role in chemotaxis and motility[J]. Journal of Biosciences, 2016, 41(3): 347-358
- [36] Rochat T, Delumeau O, Figueroa-Bossi N, Noirot P, Bossi L, Dervyn E, Boulloc P. Tracking the elusive function of *Bacillus subtilis* Hfq[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e124977
- [37] Hämmerle H, Amman F, Večerek B, Stülke J, Hofacker I, Bläsi U. Impact of Hfq on the *Bacillus subtilis* transcriptome[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e98661
- [38] Kavita K, De Mets F, Gottesman S. New aspects of RNA-based regulation by Hfq and its partner sRNAs[J]. Current Opinion in Microbiology, 2018, 42: 53-61
- [39] Janissen R, Arens MMA, Vtyurina NN, Rivai Z, Sunday ND,

- Eslami-Mossallam B, Gritsenko AA, Laan L, De Ridder D, Artsimovitch I, et al. Global DNA compaction in stationary-phase bacteria does not affect transcription[J]. *Cell*, 2018, 174(5): 1188-1199
- [40] Joyeux M. Compaction of bacterial genomic DNA: clarifying the concepts[J]. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2015, 27(38): 383001
- [41] Zhang C, Guttula D, Liu F, Malar PP, Ng SY, Dai L, Doyle PS, Van Kan JA, Van Der Maarel JRC. Effect of H-NS on the elongation and compaction of single DNA molecules in a nanospace[J]. *Soft Matter*, 2013, 9(40): 9593-9601
- [42] Guttula D, Liu F, Van Kan JA, Arluison V, Van Der Maarel JRC. Effect of HU protein on the conformation and compaction of DNA in a nanochannel[J]. *Soft Matter*, 2018, 14(12): 2322-2328
- [43] Partouche D, Mathurin J, Malabirade A, Marco S, Sandt C, Arluison V, Deniset-Besseau A, Trépout S. Correlative infrared nanospectroscopy and transmission electron microscopy to investigate nanometric amyloid fibrils: prospects and challenges[J]. *Journal of Microscopy*, 2019, 274(1): 23-31
- [44] Zhou YZ, Blanco LP, Smith DR, Chapman MR. Bacterial amyloids[A]//Sigurdsson E, Calero M, Gasset M. *Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*[M]. Switzerland AG: Humana Press, 2012, 849: 303-320
- [45] Zhou YZ, Smith D, Leong BJ, Brännström K, Almqvist F, Chapman MR. Promiscuous cross-seeding between bacterial amyloids promotes interspecies biofilms[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(42): 35092-35103
- [46] Fortas E, Piccirilli F, Malabirade A, Militello V, Trépout S, Marco S, Taghbalout A, Arluison V. New insight into the structure and function of Hfq C-terminus[J]. *Bioscience Reports*, 2015, 35(2): e00190
- [47] Fitzpatrick AWP, Park ST, Zewail AH. Exceptional rigidity and biomechanics of amyloid revealed by 4D electron microscopy[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(27): 10976-10981
- [48] Dorman CJ, Dorman MJ. DNA supercoiling is a fundamental regulatory principle in the control of bacterial gene expression[J]. *Biophysical Reviews*, 2016, 8(3): 209-220
- [49] Sledjeski DD, Whitman C, Zhang AX. Hfq is necessary for regulation by the untranslated RNA DsrA[J]. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(6): 1997-2005
- [50] Winardhi RS, Yan J, Kenney LJ. H-NS regulates gene expression and compacts the nucleoid: Insights from single-molecule experiments[J]. *Biophysical Journal*, 2015, 109(7): 1321-1329
- [51] Wang ZJ, Yuan ZH, Wen YM. Study on replication and regulation of ColE1 type plasmid DNA vector[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2003, 30(6): 863 (in Chinese)
- 王志军, 袁正宏, 闻玉梅. ColE1 型质粒 DNA 载体的复制与调控研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2003, 30(6): 863
- [52] Tsui HT, Feng G, Winkler ME. Negative regulation of *mutS* and *mutH* repair gene expression by the Hfq and *rpoS* global regulators of *Escherichia coli* K-12[J]. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(23): 7476-7487
- [53] Dos Santos RF, Arraiano CM, Andrade JM. New molecular interactions broaden the functions of the RNA chaperone Hfq[J]. *Current Genetics*, 2019, 65(6): 1313-1319
- [54] Zhou ZY, Zhou XX, Li J, Zhong ZJ, Li W, Liu XH, Liu FR, Su HY, Luo YJ, Gu WY, et al. Transcriptional regulation and adaptation to a high-fiber environment in *Bacillus subtilis* HH2 isolated from feces of the Giant Panda[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0116935
- [55] Zhou ZY, Liu FR, Zhang XY, Zhou XX, Zhong ZJ, Su HY, Li J, Li ZH, Feng F, Lan JC, et al. Cellulose-dependent expression and antibacterial characteristics of surfactin from *Bacillus subtilis* HH2 isolated from the Giant Panda[J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191991
- [56] Li J, Zhong ZJ, Su HY, Zhou ZY, Li W, Liu FR, Lan JC, Zhou XX, Zhang WP, Peng GN. Isolation, identification and partial biology research of *Bacillus* in Giant Panda intestines[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(2): 351-359 (in Chinese)
- 李进, 钟志军, 苏怀益, 周紫峒, 李魏, 刘福芮, 兰景超, 周潇潇, 张文平, 彭广能. 大熊猫肠道芽孢杆菌的分离鉴定及部分生物学特性[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(2): 351-359
- [57] Duan YH, Ma YY, Zhao XD, Huang RL, Su RX, Qi W, He ZM. Real-time adsorption and action of expansin on cellulose[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2018, 11(1): 317
- [58] Zhang PQ, Ma YY, Cui M, Wang JY, Huang RL, Su RX, Qi W, He ZM, Thielemans W. Effect of sugars on the real-time adsorption of expansin on cellulose[J]. *Biomacromolecules*, 2020, 21(5): 1776-1784
- [59] Wien F, Martinez D, Le Brun E, Jones NC, Hoffmann SV, Waeytens J, Berbon M, Habenstein B, Arluison V. The bacterial amyloid-like Hfq promotes *in vitro* DNA alignment[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(12): 639