

# 非编码小 RNA 对细菌毒力及耐药性的调控作用研究进展

谢兆邦, 刘欢\*, 雷化雨, 史懿乐, 赵燕妮\*

陕西科技大学食品科学与工程学院, 陕西 西安 710016

谢兆邦, 刘欢, 雷化雨, 史懿乐, 赵燕妮. 非编码小 RNA 对细菌毒力及耐药性的调控作用研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(5): 2204-2214.

XIE Zhaobang, LIU Huan, LEI Huayu, SHI Yile, ZHAO Yanni. sRNA's regulation of bacterial virulence and antibiotic resistance[J]. Microbiology China, 2023, 50(5): 2204-2214.

**摘要:**近年来的研究发现, 细菌非编码小 RNA (small non-coding RNA, sRNA) 对其不同生理进程起到了重要的调控作用。随着大量 sRNA 被发现并鉴定, 细菌 sRNA 的功能被逐步阐明, 其可在转录后水平广泛调控细菌的生理代谢、毒力及耐药性等。本文综述了 sRNA 对细菌毒力和耐药性调控作用的研究进展, 对揭示细菌转录后水平毒力及耐药性调控机制具有一定意义。

**关键词:** 细菌非编码小 RNA; 细菌毒力; 耐药性

## sRNA's regulation of bacterial virulence and antibiotic resistance

XIE Zhaobang, LIU Huan\*, LEI Huayu, SHI Yile, ZHAO Yanni\*

School of Food Biological Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710016, Shaanxi, China

**Abstract:** It has been revealed that bacterial small non-coding RNAs are post-transcriptional regulatory molecules that tune important processes in bacterial physiology, such as the metabolism, virulence, and antibiotic resistance. In this paper, we review sRNAs' regulation of bacterial virulence and antibiotic resistance, which is of significance for revealing the post-transcriptional mechanism of bacterial virulence and drug resistance.

资助项目: 国家自然科学基金面上项目(32070129); 陕西省重点研发计划一般项目(2020NY-164); 陕西科技大学博士启动项目(BJ12-24)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32070129), the General Projects of Shaanxi Provincial Key Research and Development Program (2020NY-164), and the Doctoral Startup Project of Shaanxi University of Science and Technology (BJ12-24).

\*Corresponding authors. E-mail: LIU Huan, liuhuan@sust.edu.cn; ZHAO Yanni, zhaoyanni@sust.edu.cn

Received: 2022-08-07; Accepted: 2022-12-23; Published online: 2023-01-30

**Keywords:** sRNA; bacterial virulence; antibiotic resistance

生物体内的 RNA 可分为编码 RNA 和非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA), 与作为蛋白质翻译模板的编码 RNA 不同, 非编码 RNA 极为广泛地调控着生物体内的重要生命活动, 包括 DNA 的转录与失活、基因的表达与关闭等, 目前在真核生物体内已发现了数千条非编码 RNA<sup>[1]</sup>。与真核生物相同, 在原核生物甚至是病毒体内也存在一些非编码 RNA 片段, 被称作非编码小 RNA (small non-coding RNA, sRNA), 从转录后水平影响原核生物的生理代谢以及致病菌的毒力和耐药性等。

## 1 sRNA

sRNA 是一类存在于原核生物细胞内, 长度通常在 40–500 个核苷酸之间, 由 DNA 转录但不编码蛋白质的 RNA 分子<sup>[2]</sup>。sRNA 通常由位于两个开放阅读框之间的非编码序列转录而来, 也有小部分是从 mRNA 的头部或尾部非翻译区剪切而来<sup>[3]</sup>。这些 sRNA 具有各不相同的生物学功能, 根据作用机制可将其分为 3 类, 如表 1 所示。

## 2 sRNA 对细菌毒力调控作用的研究进展

目前, 绝大部分病原菌中均发现有 sRNA 存在, 而且通过多种途径在转录后水平调控细菌毒力及致病性。

### 2.1 sRNA 调控细菌自身基因表达影响毒力

#### 2.1.1 大肠杆菌

大肠杆菌(*Escherichia coli*)是一种模式微生物, 也是 sRNA 研究最为全面的细菌, 目前已从中发现了上百种 sRNA, 而且多数参与了大肠杆菌毒力及致病性的调控。大肠杆菌的碳储存调节

器(carbon storage regulator, Csr)系统将大肠杆菌的碳代谢与其他生理活动联系起来<sup>[15]</sup>, 调节蛋白 CsrA 是 Csr 系统的中心组件, 能够调控糖原生物合成、运动性、群体感应、醋酸盐代谢和鞭毛合成等, 在毒力调控中发挥着重要作用, 而 sRNA 分子 CsrB/CsrC 能够负反馈调节 CsrA 蛋白的活性, 从而调控大肠杆菌的多种代谢途径影响其毒力<sup>[6]</sup>。

对于大多数致病性细菌而言, 铁代谢与其侵染能力密切相关, 铁摄取调节蛋白(ferric uptake regulator, Fur)是细菌重要的毒力调控因子, 可通过调控 sRNA 的转录, 全局性地调控细菌铁稳态, 满足细菌在富铁/缺铁不同状态下的铁需求; 在大肠杆菌中, sRNA RyhB 参与了铁稳态的调控, 在富铁条件下,  $\text{Fe}^{2+}$ -Fur 蛋白与 *ryhB* 基因结合, 抑制 RyhB 的转录; 而在缺铁条件下, Fur 蛋白与  $\text{Fe}^{2+}$  解离后失去活性, *ryhB* 基因的转录抑制被解除, 转录得到的 RyhB 与多种编码必需铁结合蛋白的 mRNA 结合后, 诱导 RNase E 降解被结合的 mRNA, 从而降低大肠杆菌对铁的需求和消耗, 提高其对宿主限铁环境的适应性<sup>[16]</sup>。此外, RyhB 还对大肠杆菌的定殖能力具有调控作用, 研究发现  $\Delta\text{ryhB}$  突变株在小鼠膀胱内的定殖能力较原始菌株显著下降<sup>[17]</sup>。

志贺氏毒素(Shiga toxin, Stx)是肠出血性大肠杆菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*)的主要毒力因子, 分为 Stx1 和 Stx2 两类, 可与宿主细胞膜上的受体球丙糖酰基鞘氨醇(globotriaosylceramide, Gb3)结合, 使核糖体 28S rRNA 3'端腺苷酸脱嘌呤, 抑制蛋白质合成, 从而导致细胞死亡; 而 sRNA StxS 能够直接与 *stx1B* mRNA 的核糖体结合位点结合而抑制其翻译, 使得 Stx1 的合成下调 67%; 此外, StxS 还

表 1 不同 sRNA 的作用机制

Table1 The action mechanisms of various sRNAs

机制特点 Mechanism characteristics	实例 Example	作用机制 Action mechanism	参考文献 References
自身具有特殊活性 Self-special activity	M1 RNA	作为 RNase P 的催化亚单位参与 tRNA 前体的剪切 As a catalytic subunit of RNase P, it participates in the splicing of tRNA precursors	[2]
	tmRNA	同时具有 tRNA 和 mRNA 的功能 Both tRNA and mRNA functions	[2]
	4.5S RNA	与核糖体结合, 使翻译得到的蛋白质向内质网或细菌质膜转移 It combines with ribosomes to transfer translated proteins to endoplasmic reticulum or bacterial plasma membrane	[3]
与蛋白质相互作用 Interaction with protein	RsmY/RsmZ	与 RsmA 蛋白结合, 降低 RsmA 对其靶标 mRNA 翻译的抑制 It combines with RsmA protein to reduce the inhibition of RsmA on target mRNA translation	[4]
	6S RNA	与 RNA 聚合酶(S70)结合改变其活性, 抑制细菌在高 pH 环境下生存 必需基因 <i>pspF</i> 的转录 It combines with RNA polymerase (S70) to change its activity, thus inhibiting the transcription of <i>pspF</i> , a gene necessary for bacteria to survive in high pH environment	[5]
	CsrB/CsrC	与转录后调控因子 CsrA 蛋白结合, 抑制其与目的基因的结合 It combines with the post transcriptional regulator CsrA protein and inhibits its binding to the target gene	[6]
与 mRNA 配对结合 Paired binding with mRNA	PrrF	在伴侣蛋白 Hfq 蛋白的协助下, 与 <i>antR</i> mRNA 结合后抑制其翻译, 从而调节铜绿假单胞菌的群体感应和毒力因子的产生 With the help of the chaperone Hfq protein, it combines with <i>antR</i> mRNA and inhibits its translation, thus regulating the population sensing and virulence factor production of <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[7]
	STnc150	与鼠伤寒沙门氏菌中的 <i>fimA</i> mRNA 结合, 抑制其翻译, 降低细菌的入侵能力 It combines with <i>fimA</i> mRNA in <i>Salmonella typhimurium</i> to inhibit its translation, thus reducing the invasive ability of bacteria	[8]
	LhrC	与编码单增李斯特菌进入非吞噬细胞所需的黏附素的 <i>lapB</i> mRNA 结合, 抑制其翻译, 从而降低细菌毒力 It combines with <i>lapB</i> mRNA encoding the adhesin required by <i>Listeria monocytogenes</i> to enter non-phagocytic cells and inhibits its translation, thus reducing bacterial virulence	[9]
	RyhB	与多种 mRNA 配对, 协助 RNase E 降解结合的 mRNA It pairs with a variety of mRNA to help RNase E degrade the combined mRNA	[10]
	Spot42	与 <i>galE</i> mRNA 结合, 干扰 <i>galK</i> 基因的转录 It combines with <i>galE</i> mRNA, thus interfering with the transcription of <i>galK</i> gene	[11]
	DsrA/RprA	与 <i>rpoS</i> mRNA 结合, 暴露其核糖体结合位点, 促进其翻译, 从而影响大肠杆菌的毒力 It combines with <i>rpoS</i> mRNA, exposes its ribosomal binding site and promotes its translation, thus affecting the virulence of <i>Escherichia coli</i>	[12]
	OxyS	与 <i>flhA</i> mRNA 配对, 封闭其核糖体结合位点, 抑制其翻译 It pairs with <i>flhA</i> mRNA, blocks its ribosomal binding site and inhibits its translation	[13]
	Qrr	与 <i>luxR</i> mRNA 结合, 封闭其核糖体结合位点, 抑制其翻译, 进而抑制溶藻弧菌毒力因子——碱性丝氨酸蛋白酶的表达 It combines with <i>luxR</i> mRNA, blocks its ribosomal binding site and inhibits its translation, thus inhibiting the expression of basic serine protease, a virulence factor of <i>Vibrio alginolyticus</i>	[14]

可与稳定期压力响应调控因子  $\sigma^S$  5'UTR 区配对结合进而激活其表达, 使得肠出血性大肠杆菌在基本培养基中生长时稳定期细胞密度上升 20%<sup>[18]</sup>。

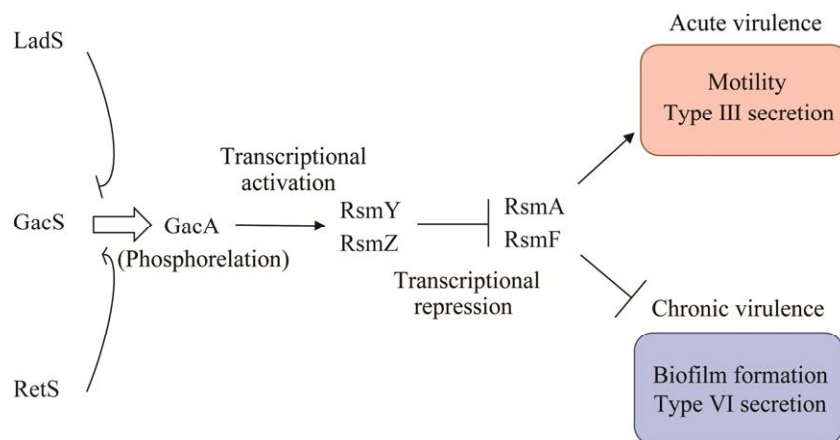
尿路致病性大肠杆菌(*uropathogenic Escherichia coli*)中的 sRNA RyfA 能够通过控制细菌 1 型和 p 型菌毛相关蛋白的合成, 从而影响其在尿路中的定殖能力; 实验结果表明, 尿路致病性大肠杆菌的  $\Delta ryfA$  缺失株在小鼠膀胱和肾脏内的定殖率分别下降至原始菌株的 1/146 和 1/10 000<sup>[19]</sup>。

### 2.1.2 铜绿假单胞菌

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)是一种常见且分布广泛的致病菌, 在自然界及人体皮肤、肠道和呼吸道中均有发现, 其毒力系统的表达受到复杂而精细的调控网络控制。GacS/GacA 双组分系统对铜绿假单胞菌的毒力

至关重要, 其能够通过正调控氰化氢、磷脂酶 C 和 AprA 蛋白(一种碱性蛋白酶)的合成影响细菌毒力, 同时磷酸化的 GacA 激活 sRNA RsmY、RsmZ 的转录, RsmY 和 RsmZ 与翻译调节蛋白 RsmA 及 RsmF 结合, 间接影响二者对靶标 mRNA 的调控, 进而影响细菌毒力; 铜绿假单胞菌的 VI 型菌毛、T3SS 等急性毒力因子的表达受到 RsmA/RsmF 的促进, 而 T6SS、生物被膜等慢性毒力因子的表达则受到抑制(图 1); 因此该毒力调控系统被认为在铜绿假单胞菌对宿主的侵染从急性转变为慢性的过程中发挥着关键作用<sup>[4]</sup>。

NrsZ 是在铜绿假单胞菌中由 NtrB/NtrC 双组分系统诱导产生的 sRNA, 其能够通过正向调节 rhIA mRNA 的表达调控鼠李糖脂的合成, 而鼠李糖脂是与铜绿假单胞菌的集群运动密切相



**图 1 GacS-GacA-RsmY/RsmZ-RsmA/RsmF 毒力调控网络示意图** 双组分系统 GacS/GacA 由传感器激酶 GacS 和同源的反应调节器蛋白 GacA 组成, 当 GacS 被激活, GacS 与 GacA 之间发生磷转移, GacA 被磷酸化, LadS、RetS 是两个独立的传感器激酶, 分别对 GacS 存在促进和抑制作用; 磷酸化的 GacA 激活 sRNA RsmY/Z 的转录, 二者与翻译调节蛋白 RsmA/F 结合, 进而影响受 RsmA/F 蛋白调控的 T3SS、T6SS 及生物被膜等毒力因子的表达

Figure 1 Schematic diagram of GacS-GacA-RsmY/RsmZ-RsmA/RsmF virulence control network. The two-component system GacS/GacA is composed of sensor kinase GacS and homologous reaction regulator protein GacA, phosphorus transfer occurs between GacS and GacA, and GacA is phosphorylated when GacS is activated, LadS and RetS are two independent sensor kinases, which promote and inhibit GacS respectively; Phosphorylated GacA activates the transcription of sRNA RsmY/Z, which combines with the translation regulatory protein RsmA/F, thus affecting the expression of bacterial virulence factors such as T3SS, T6SS and biofilm regulated by RsmA/F protein.

关的毒力因子<sup>[20]</sup>。PesA 是 PAPI-1 毒力岛所转录的 sRNA, 能够与编码杀伤蛋白 S3A 和免疫蛋白 S3I 的 *pyoS3A*、*pyoS3I* mRNA 结合并诱导二者表达, 从而正向调节铜绿假单胞菌外毒素绿脓菌素 S3 的表达, 利用囊性纤维化的人类支气管上皮细胞进行感染实验, 发现感染  $\Delta pesA$  突变株的细胞存活率明显高于感染野生型菌株的细胞<sup>[21]</sup>。

sRNA AmiL 是在铜绿假单胞菌中新发现的一种群体感应调节 sRNA, 其对铜绿假单胞菌的多种毒力均有不同程度的影响, 包括绿脓菌素的合成、生物被膜形成、溶血活性等, 研究发现 AmiL 能够靶向抑制 PhzC 蛋白(绿脓菌素合成途径中的关键蛋白)的表达, 从而抑制绿脓菌素的合成; 实验结果显示,  $\Delta amiL$  突变株的绿脓菌素表达水平相较于野生型提高了近 60%, 而 *amiL* 过表达菌株的绿脓菌素表达水平则下降了约 30%<sup>[22]</sup>。

### 2.1.3 霍乱弧菌

霍乱弧菌(*Vibrio cholera*)是人类急性传染病“霍乱”的病原体, 患者感染后将出现剧烈的呕吐、腹泻, 并在极短的时间内死亡。在霍乱弧菌中, sRNA Qrr1、Qrr2、Qrr3 和 Qrr4 的转录受到群体感应系统的调节, 低密度条件下 Qrr1-4 的转录被磷酸化的 LuxO 激活后, 能够在伴侣蛋白 Hfq 的协助下激活低密度关键调控元件 AphA 的表达, 并抑制高密度关键调控元件 LuxR 的翻译, 以调控霍乱弧菌的毒力<sup>[23]</sup>。最近的研究发现, 另一种新型 sRNA VqmR 同样通过霍乱弧菌群体感应系统影响其毒力。当细胞密度不断增加时, 自诱导物 3,5-二甲基吡-2-醇(3,5-dimethylpyrazin-2-ol, DPO)不断累积, 激活 VqmR 的转录进而抑制 AphA 蛋白的合成, 从而抑制霍乱弧菌毒力基

因的表达<sup>[24]</sup>。

sRNA VrrA 被证明是霍乱弧菌外膜蛋白 A (Outer membrane protein A, OmpA)的合成抑制因子, 其能够与 *ompA* mRNA 的核糖体结合位点配对来抑制 OmpA 蛋白的翻译; 通过抑制 OmpA 的合成, VrrA 能够正向调控外膜囊泡 (outer-membrane vesicles, OMVs)的释放, 而越来越多地研究表明 OMVs 的形成和释放与毒力因子传递途径相关, 同时 VrrA 还能够通过调控定殖因子毒素共调菌毛(toxin co-regulated pilus, Tcp)的合成来影响霍乱弧菌的肠内定殖能力; 此外, 研究还发现 VrrA 在伴侣蛋白 Hfq 的协助下, 下调了核糖体相关抑制蛋白 Vrp 的表达, 这有助于霍乱弧菌在寡营养条件下的生存<sup>[25]</sup>。另一 sRNA CoaA 被证实能够靶向结合编码 Tcp 负调控因子的 *tcpI* mRNA 以抑制其翻译, 从而提高霍乱弧菌的肠内定殖能力, 霍乱弧菌  $\Delta coaR$  突变株的小肠内定殖能力相较于野生型菌株有所下降<sup>[26]</sup>。

### 2.1.4 金黄色葡萄球菌

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是一种常见的致病微生物, 能够引起人与动物的多种疾病。在金黄色葡萄球菌中, sRNA RNAIII 能够调控多个毒力相关基因的表达。其 5'端与呈折叠状态的 *hla* mRNA ( $\alpha$ -溶血素编码 mRNA)结合时, 能够暴露其核糖体结合位点, 从而激活  $\alpha$ -溶血素的表达; 其 3'端能够与靶标 mRNA (如 *spa* mRNA、*rot* mRNA)的核糖体结合位点结合, 抑制靶标 mRNA 的翻译, 并与 RNase III 共同作用诱导靶标 mRNA 降解(图 2), 其中 *spa* mRNA 编码金黄色葡萄球菌的主要黏附蛋白 A; 而 *rot* mRNA 编码毒素抑制调控蛋白 Rot, RNA III 可通过抑制 Rot 蛋白合成间接激活多种外毒素的转录<sup>[27]</sup>。

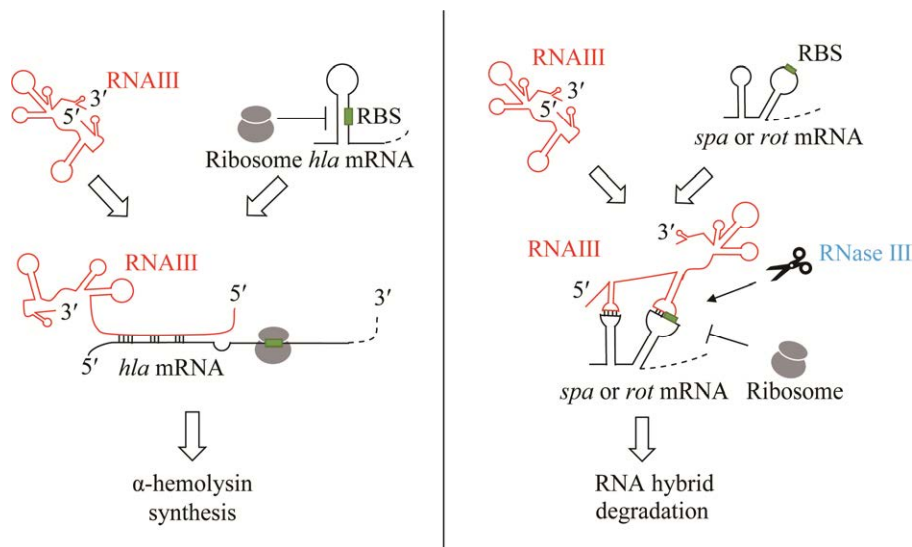


图2 RNAIII结合靶标 mRNA 示意图 RNAIII与不同的 mRNA 结合调控其对应蛋白的表达,文中提供了进一步的阐述

Figure 2 Schematic diagram of RNAIII binding target mRNA. RNAIII combines with different mRNA to regulate the expression of its corresponding protein, further explanation is provided in the text.

Autolysin (ATL)蛋白是金黄色葡萄球菌的主要自溶素,作为重要的毒力因子之一参与了对宿主细胞的黏附和侵袭,与金黄色葡萄球菌的致病性密切相关;sRNA SprC 能够与 *atl* mRNA 结合以阻止核糖体就位,从而抑制 ATL 蛋白的合成,研究表明金黄色葡萄球菌  $\Delta sprC$  突变株的 ATL 蛋白表达水平相较于野生型菌株有所提高,但宿主的单核细胞和巨噬细胞对突变株的吞噬作用也相应增强,猜测该 sRNA 的表达有利于细菌与宿主共生<sup>[28]</sup>。

透明质酸裂解酶 A (hyaluronate lyase A, HysA)和胞外丝氨酸蛋白酶 D (serine protease like protein D, SplD)是金黄色葡萄球菌重要的毒力因子,二者均在其侵袭宿主细胞的过程中发挥着重要的作用;sRNA RsaF 对 HysA 和 SplD 蛋白的表达具有正向调节作用,实验结果显示,  $\Delta rsaF$  突变株中 *hysA* mRNA 转录水平下调了 80%–99.9%, HysA 酶活性下降了 80%–90%,并

促进了其生物膜的形成, *splD* mRNA 转录水平下调了 20%,同时通过酶谱分析发现多种蛋白酶的活性均有所降低;相反地, RsaF 的过表达则导致 *hysA* mRNA 水平和透明质酸裂解酶活性上调了 2–4 倍,而且 *hysA* 和 *splD* mRNA 在 *rsaF*<sup>+</sup> 回补株中的稳定性均有所增强<sup>[29]</sup>。

$\alpha$ 型酚溶性调节蛋白(phenol-soluble modulins, PSM- $\alpha$ )是金黄色葡萄球菌能够产生的最强的细菌毒素之一,可引起包括红细胞、白细胞在内的多种细胞发生裂解,刺激炎症反应的发生,并促进生物膜的形成<sup>[30]</sup>。sRNA Teg41 是由金黄色葡萄球菌中编码 PSM- $\alpha$  基因座中的片段转录而来的一种 sRNA,研究发现 Teg41 的过表达提高了 PSM- $\alpha$  的表达水平及溶血能力,而在敲除了 Teg41 的 3'端 24 个碱基之后,鼠脓肿感染模型中金黄色葡萄球菌溶血活性和毒力均减弱,这种减弱在对 Teg41 进行回补后得到恢复<sup>[30]</sup>。表明 Teg41 可促进 PSM- $\alpha$  的表达,随着

对 Tcg41 产生与作用机制的进一步深入研究,相信 Tcg41 可能将成为抗金黄色葡萄球菌感染的新作用靶点。

## 2.2 sRNA 调控细菌宿主基因表达影响毒力

外膜囊泡(OMVs)是由细菌外膜分泌的球状囊泡,由脂质、蛋白质和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)构成,OMVs 介导的宿主免疫应答是宿主和病原菌相互作用的一种重要机制<sup>[31]</sup>。研究发现多种革兰氏阴性菌的 OMVs 中存在大量 sRNAs,并且 OMVs 能够保护其中的 sRNAs 不被 RNA 酶破坏,其中部分 sRNAs 能够通过调控宿主基因的表达影响病原菌毒力<sup>[31]</sup>。例如,存在于支气管上皮细胞黏液层中的铜绿假单胞菌通过分泌 OMVs 将 sRNA-52320 递送到宿主细胞中,sRNA-52320 通过靶向 LPS/MAPK 信号通路中的多个基因,抑制宿主对细菌感染的免疫反应,减少 IL-8 分泌和中性粒细胞向小鼠肺部的迁移,有助于铜绿假单胞菌在免疫受损个体中建立慢性肺部感染;伴放线放线杆菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)通过 OMVs 分泌的 sRNAs 可以穿过血脑屏障,激活巨噬细胞中的 NF- $\kappa$ B 信号通路来刺激 TNF- $\alpha$  产生,从而促进大脑促炎细胞因子的分泌;尿路致病性大肠杆菌 OMVs 中的 sRNAs 被转移到膀胱上皮细胞,可抑制 LPS 诱导的 IL-1 $\alpha$  分泌<sup>[32-34]</sup>。类似地,单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*) OMVs 中的 sRNA Rli32 被发现能够刺激骨髓源性巨噬细胞产生 IFN- $\beta$ ,从而促进病原菌在细胞内的增殖<sup>[35]</sup>。

## 3 sRNA 对细菌抗生素耐药性的调控作用

大量研究表明细菌可利用 sRNA 进行转录后调控以应答抗生素压力,这些 sRNA 可通过不

同的作用机制来影响细菌的抗生素耐药性<sup>[36]</sup>。

### 3.1 通过调控细胞壁膜的合成与修饰影响细菌耐药性

sRNA GlmY/GlmZ 能够通过参与大肠杆菌中葡萄糖胺-6-磷酸合成酶(glucosamine-6-phosphate synthase, GlmS)的合成通路,进而调节 LPS 及肽聚糖的合成;GlmZ 在伴侣蛋白 Hfq 的协助下与 *glmS* mRNA 结合,暴露出 *glmS* 核糖体结合位点,从而促进其翻译表达,RapZ 蛋白可与 GlmZ 结合,并诱导 RNase E 降解 GlmZ,而 GlmY 与 GlmZ 结构类似,同样能够与 RapZ 结合;当菌体内的葡萄糖胺-6-磷酸(glucosamine-6-phosphate, GlcN6P)水平降低时,GlmY 得到积累并与 RapZ 竞争性结合使得 GlmZ 的降解被抑制,从而促进 *glmS* mRNA 的翻译,使得 GlcN6P 不断被合成,当菌体 GlcN6P 水平提高时 GlmY 的积累被抑制,此时 RapZ 与 GlmZ 结合,GlcN6P 的合成受到抑制(图 3);这种调节机制为大肠杆菌提供了针对相关抗生素的保护作用,抗生素引起的 GlcN6P 表达水平下降促进了 sRNA GlmY 的积累,最终促进 GlmS 的表达使得 GlcN6P 表达水平回调,进而克服抗生素对菌体的生长抑制<sup>[37]</sup>。

除直接调控细胞壁膜的合成外,sRNA 还能通过修饰细菌 LPS 成分影响细菌耐药性。EptB 是大肠杆菌的一种 LPS 修饰酶,能够降低 LPS 中脂质 A 的负电荷,从而减弱 LPS 对带有正电荷的多黏菌素的亲和力,进而产生耐药性<sup>[38]</sup>。sRNA 分子 MgrR 能够抑制 *eptB* mRNA 的翻译,从而提高 LPS 负电荷,使得大肠杆菌对多黏菌素类抗生素的敏感性提高,实验表明  $\Delta mgrR$  突变株的多黏菌素抗性是野生型的近 10 倍<sup>[39]</sup>。此外,铜绿假单胞菌中的 sRNA Sr006 的过表达明显提高类脂 A 脱酰基酶 PagL 的水平,从而降低铜绿假单胞菌对多黏菌素类抗生素的敏感性<sup>[40]</sup>。



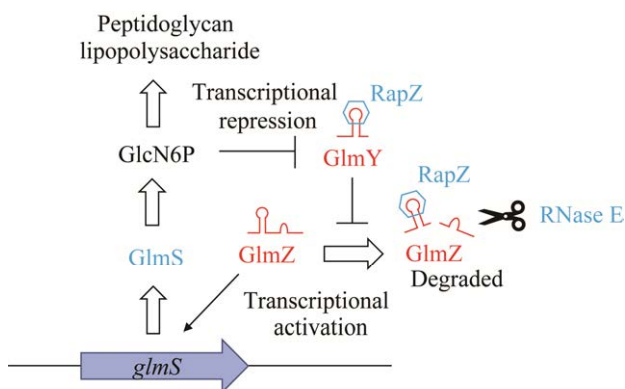


图 3 GlmY/Z-GlmS 系统调节细胞膜合成机制示意图 sRNA GlmY/GlmZ 通过参与大肠杆菌中 GlmS 的合成通路调节 LPS 及肽聚糖的合成, 文中提供了进一步的阐述

Figure 3 Schematic diagram of GlmY/Z system regulating cell membrane synthesis. sRNA GlmY/GlmZ regulates the synthesis of LPS and peptidoglycan by participating in the synthesis pathway of GlmS in *Escherichia coli*, further explanation is provided in the text.

### 3.2 通过调控药物的摄取与外排影响细菌耐药性

大肠杆菌中的 *cycA* mRNA 编码抗生素 D-环丝氨酸的转运蛋白, 而 sRNA GcvB 能在伴侣蛋白协助下与之结合并抑制其翻译, 从而降低细菌对 D-环丝氨酸的敏感性<sup>[41]</sup>。类似地, OprD 蛋白是铜绿假单胞菌负责碳青霉烯类抗生素摄取的主要孔蛋白, sRNA Sr0161 能够靶向 *oprD* mRNA 而抑制其翻译, 使细菌对碳青霉烯类抗生素耐药<sup>[40]</sup>。sRNA 也可通过控制细菌对药物的外排影响细菌耐药性。由 MdtE、MdtF 及 TolC 蛋白共同组成的 MdtEF-TolC 系统是大肠杆菌重要的多药外排泵之一, sRNA DsrA 可以通过激活大肠杆菌中的 MdtE 和 MdtF 蛋白编码基因的表达, 而 sRNA SdsR 与 *tolC* mRNA 核糖体结合位点上游配对抑制其表达, 从而改变大肠杆菌对新生霉素的耐药性<sup>[42-44]</sup>。

### 3.3 通过改变细菌遗传信息影响细菌耐药性

大肠杆菌 sRNA SdsR 的表达受到 RpoS (一般

压力应答  $\sigma$  因子)介导的细菌致突变修复(一类以引入突变为代价的 DNA 损伤修复)的调控, SdsR 被激活后能够通过抑制错配修复蛋白 MutS 的合成, 致使突变在细胞内不断地积累, 使细菌获得耐药变异的可能性增加<sup>[45]</sup>。同时, 研究发现某些 sRNA 在环境压力下能够促进细菌的致突变修复, 例如 sRNA GcvB 能够通过维持大肠杆菌的膜完整性降低细胞内的 RpoE (膜压力应答  $\sigma$  因子)水平, 而 RpoE 在高水平下会抑制 RpoS 的调控作用(图 4), 因此 GcvB 通过抑制大肠杆菌中 RpoE 的表达间接促进了 RpoS 介导的致突变修复<sup>[46]</sup>。

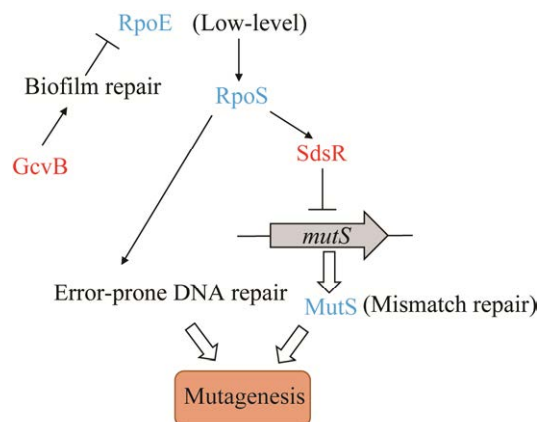


图 4 GcvB、SdsR 参与大肠杆菌遗传信息改变机制示意图 sRNA GcvB 通过维持膜完整性使得 RpoE 蛋白的表达水平下降, 进而使得 RpoS 蛋白的表达水平上升; 除激活 sRNA SdsR 抑制错配修复外, RpoS 蛋白还能够促进 DNA 聚合酶 IV 的表达, 凭借 DNA 聚合酶 IV 参与修复时易出错的特性间接促进大肠杆菌的突变

Figure 4 Schematic diagram of GcvB and SdsR participating in genetic information change of *Escherichia coli*. sRNA GcvB reduces the expression level of RpoE protein by maintaining membrane integrity, thus increasing the expression level of RpoS protein; In addition to activating sRNA SdsR to inhibit the mismatch repair of *Escherichia coli*, RpoS protein can also promote the expression of DNA polymerase IV, and indirectly promote the mutation of *Escherichia coli* by virtue of the error-prone nature of DNA polymerase IV in repair.



## 4 总结与展望

现有文献表明, sRNA 在细菌的毒力基因调控网络中发挥着关键作用, 其通过多种作用机制在转录后水平对靶标基因进行调节, 从而有效地调控细菌毒力。然而目前的研究主要集中在 sRNA 分子对细菌自身基因的表达影响上, 对于其在病原菌-宿主作用过程中的作用研究较少。此外, 细菌 sRNA 分子进入到宿主细胞后如何维持其稳定性继而发挥作用是值得深入探索的问题。现有研究发现 sRNA 分子也可以通过细胞壁膜、药物进入及排出系统、改变 DNA 遗传信息等方面影响细菌抗生素耐药性。然而, 相关研究主要集中在 sRNA 对细菌固有耐药性方面的调控作用, 而对于获得性耐药性的研究较少, 这些水平转移耐药基因不受 sRNA 调控的原因尚不清楚。此外, 细菌在抗生素应激过程中 sRNA-mRNA 互作网络的变化情况解析尚不全面。相信随着 sRNA 互作组分析、Term-Seq、RNase 作用位点分析等相关技术的进步, 对于 sRNA 如何参与调控网络以控制病原微生物致病性及抗生素耐药性的认识将不断提高, 致病菌防治手段的开发也将更加有的放矢。

## REFERENCES

- [1] DESGRANGES E, MARZI S, MOREAU K, ROMBY P, CALDELARI I. Noncoding rna[J]. Microbiology Spectrum, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0038-2018>.
- [2] 聂佳佳, 金鑫, 孟宪臣, 朱国强. 细菌非编码小 RNA 的分类及功能简介[J]. 中国动物传染病学报, 2013, 21(3): 75-79.  
NIE JJ, JIN X, MENG XC, ZHU GQ. Classifications and functions of small non-coding RNA in bacteria[J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2013, 21(3): 75-79 (in Chinese).
- [3] 张伟, 童贻刚, 冯福民. 细菌非编码小 RNA 研究进展[J]. 微生物学通报, 2009, 36(7): 1025-1030.  
ZHANG W, TONG YG, FENG FM. Research progress of small non-coding RNA in bacteria[J]. Microbiology, 2009, 36(7): 1025-1030 (in Chinese).
- [4] JANSSEN KH, DIAZ MR, GOLDEN M, GRAHAM JW, SANDERS W, WOLFGANG MC, YAHR TL. Functional analyses of the RsmY and RsmZ small noncoding regulatory RNAs in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 2018, 200(11): e00736-e00717.
- [5] BURENINA OY, ELKINA DA, OVCHARENKO A, BANNIKOVA VA, SCHLÜTER MAC, ORETSKAYA TS, HARTMANN RK, KUBAREVA EA. Involvement of *E. coli* 6S RNA in oxidative stress response[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(7): 3653.
- [6] CARZANIGA T, FALCHI FA, FORTI F, ANTONIANI D, LANDINI P, BRIANI F. Different *csrA* expression levels in C versus K-12 *E. coli* strains affect biofilm formation and impact the regulatory mechanism presided by the CsrB and CsrC small RNAs[J]. Microorganisms, 2021, 9(5): 1010.
- [7] DJAPGNE L, PANJA S, BREWER LK, GANS JH, KANE MA, WOODSON SA, OGLESBY-SHERROUSE AG. The *Pseudomonas aeruginosa* PrrF1 and PrrF2 small regulatory RNAs promote 2-alkyl-4-quinolone production through redundant regulation of the *antR* mRNA[J]. Journal of Bacteriology, 2018, 200(10): e00704-e00717.
- [8] LI J, LI N, NING CC, GUO Y, JI CH, ZHU XZ, ZHANG XX, MENG QL, SHANG YX, XIAO CC, XIA XZ, CAI XP, QIAO J. sRNA STnc150 is involved in virulence regulation of *Salmonella typhimurium* by targeting *fimA* mRNA[J]. FEMS Microbiology Letters, 2021, 368(18): fnab124.
- [9] KRAWCZYK-BALSKA A, ŁADZIAK M, BURMISTRZ M, ŚCIBEK K, KALLIPOLITIS BH. RNA-mediated control in *Listeria monocytogenes*: insights into regulatory mechanisms and roles in metabolism and virulence[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 622829.
- [10] LALAOUNA D, PRÉVOST K, PARK S, CHÉNARD T, BOUCHARD MP, CARON MP, VANDERPOOL CK, FEI JY, MASSÉ E. Binding of the RNA chaperone hfq on target mRNAs promotes the small RNA RyhB-induced degradation in *Escherichia coli*[J]. Non-Coding RNA, 2021, 7(4): 64.
- [11] JEON HJ, LEE Y, N MPA, WANG X, CHATTORAJ DK, LIM HM. sRNA-mediated regulation of *gal* mRNA in *E. coli*: involvement of transcript cleavage by RNase E together with Rho-dependent transcription

- termination[J]. PLoS Genetics, 2021, 17(10): e1009878.
- [12] KIM W, CHOI JS, KIM D, SHIN D, SUK S, LEE Y. Mechanisms for hfq-independent activation of *rpoS* by DsrA, a small RNA, in *Escherichia coli*[J]. Molecules and Cells, 2019, 42(5): 426-439.
- [13] SCHULZ EC, SEILER M, ZULIANI C, VOIGT F, RYBIN V, POGENBERG V, MÜCKE N, WILMANN M, GIBSON TJ, BARABAS O. Intermolecular base stacking mediates RNA-RNA interaction in a crystal structure of the RNA chaperone Hfq[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 9903.
- [14] LIU H, LIU W, HE XX, CHEN XF, YANG JF, WANG Y, LI Y, REN JM, XU WS, ZHAO YN. Characterization of a cell density-dependent sRNA, Qrr, and its roles in the regulation of the quorum sensing and metabolism in *Vibrio alginolyticus*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(4): 1707-1720.
- [15] 王禄, 郑欣, 王诗达, 李继遥, 徐欣. 细菌非编码小 RNA 对细菌毒力的调控作用[J]. 华西口腔医学杂志, 2016, 34(4): 433-438.
- WANG L, ZHENG X, WANG SD, LI JY, XU X. Role of small noncoding RNA in the regulation of bacterial virulence[J]. West China Journal of Stomatology, 2016, 34(4): 433-438 (in Chinese).
- [16] TRONNET S, GARCIE C, BRACHMANN AO, PIEL J, OSWALD E, MARTIN P. High iron supply inhibits the synthesis of the genotoxin colibactin by pathogenic *Escherichia coli* through a non-canonical Fur/RyhB-mediated pathway[J]. Pathogens and Disease, 2017, 75(5): ftx066.
- [17] PORCHERON G, HABIB R, HOULE S, CAZA M, LÉPINE F, DAIGLE F, MASSÉ E, DOZOIS CM. The small RNA RyhB contributes to siderophore production and virulence of uropathogenic *Escherichia coli*[J]. Infection and Immunity, 2014, 82(12): 5056-5068.
- [18] SY BM, TREE JJ. Small RNA regulation of virulence in pathogenic *Escherichia coli*[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021, 10: 622202.
- [19] BESSAIAH H, POKHAREL P, LOUCIF H, KULBAY M, SASSEVILLE C, HABOURIA H, HOULE S, BERNIER J, MASSÉ É, van GREVENYNGHE J, DOZOIS CM. The RyfA small RNA regulates oxidative and osmotic stress responses and virulence in uropathogenic *Escherichia coli*[J]. PLoS Pathogens, 2021, 17(5): e1009617.
- [20] PUSIC P, SONNLEITNER E, BLÄSI U. Specific and global RNA regulators in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(16): 8632.
- [21] FERRARA S, FALCONE M, MACCHI R, BRAGONZI A, GIRELLI D, CARIANI L, CIGANA C, BERTONI G. The PAPI-1 pathogenicity island-encoded small RNA PesA influences *Pseudomonas aeruginosa* virulence and modulates pyocin S3 production[J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0180386.
- [22] PU JY, ZHANG SB, HE X, ZENG JM, SHEN C, LUO YF, LI HL, LONG YF, LIU JP, XIAO Q, LU Y, HUANG B, CHEN C. The small RNA AmiL regulates quorum sensing-mediated virulence in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(2): e0221121.
- [23] VINCENT HA, HENDERSON CA, STONE CM, CARY PD, GOWERS DM, SOBOTT F, TAYLOR JE, CALLAGHAN AJ. The low-resolution solution structure of *Vibrio cholerae* Hfq in complex with Qrr1 sRNA[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(17): 8698-8710.
- [24] HERZOG R, PESCHEK N, FRÖHLICH KS, SCHUMACHER K, PAPENFORT K. Three autoinducer molecules act in concert to control virulence gene expression in *Vibrio cholerae*[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(6): 3171-3183.
- [25] SABHARWAL D, SONG TY, PAPENFORT K, WAI SN. The VrrA sRNA controls a stationary phase survival factor Vrp of *Vibrio cholerae*[J]. RNA Biology, 2015, 12(2): 186-196.
- [26] XI DY, LI YJ, YAN JX, LI YH, WANG XC, CAO BY. Small RNA coaR contributes to intestinal colonization in *Vibrio cholerae* via the two-component system EnvZ/OmpR[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(10): 4231-4243.
- [27] BRONESKY D, WU ZF, MARZI S, WALTER P, GEISSMANN T, MOREAU K, VANDENESCH F, CALDELARI I, ROMBY P. *Staphylococcus aureus* RNAIII and its regulon link quorum sensing, stress responses, metabolic adaptation, and regulation of virulence gene expression[J]. Annual Review of Microbiology, 2016, 70: 299-316.
- [28] le PABIC H, GERMAIN-AMIOT N, BORDEAU V, FELDEN B. A bacterial regulatory RNA attenuates virulence, spread and human host cell phagocytosis[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(19): 9232-9248.
- [29] PATEL N, NAIR M. The small RNA RsaF regulates the expression of secreted virulence factors in *Staphylococcus aureus* Newman[J]. Journal of Microbiology, 2021, 59(10): 920-930.
- [30] ZAPF RL, WIEMELS RE, KEOGH RA, HOLZSCHU

- DL, HOWELL KM, TRZECIAK E, CAILLET AR, KING KA, SELHORST SA, NALDRETT MJ, BOSE JL, CARROLL RK. The small RNA Tcg41 regulates expression of the alpha phenol-soluble modulins and is required for virulence in *Staphylococcus aureus*[J]. mBio, 2019, 10(1): e02484-e02418.
- [31] 李泽, 祝丙华, 叶中杨, 王立贵, 宋宏彬. 致病菌与宿主相互作用中 sRNA 的调控作用[J]. 生命科学, 2018, 30(3): 327-332.
- LI Z, ZHU BH, YE ZY, WANG LG, SONG HB. sRNA roles in pathogenic bacteria-host interactions[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2018, 30(3): 327-332 (in Chinese).
- [32] KOEPPE K, HAMPTON TH, JAREK M, SCHARFE M, GERBER SA, MIELCARZ DW, DEMERS EG, DOLBEN EL, HAMMOND JH, HOGAN DA, STANTON BA. A novel mechanism of host-pathogen interaction through sRNA in bacterial outer membrane vesicles[J]. PLoS Pathogens, 2016, 12(6): e1005672.
- [33] HAN EC, CHOI SY, LEE Y, PARK JW, HONG SH, LEE HJ. Extracellular RNAs in periodontopathogenic outer membrane vesicles promote TNF- $\alpha$  production in human macrophages and cross the blood-brain barrier in mice[J]. FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 2019, 33(12): 13412-13422.
- [34] DAUROS-SINGORENKO P, HONG J, SWIFT S, PHILLIPS A, BLENKIRON C. Effect of the extracellular vesicle RNA cargo from uropathogenic *Escherichia coli* on bladder cells[J]. Frontiers in Molecular Biosciences, 2020, 7: 580913.
- [35] FRANTZ R, TEUBNER L, SCHULTZE T, la PIETRA L, MÜLLER C, GWOZDZINSKI K, PILICH H, HAIN T, WEBER-GERLACH M, PANAGIOTIDIS GD, MOSTAFA A, WEBER F, ROHDE M, PLESCHKA S, CHAKRABORTY T, ABU MRAHEIL M. The secRNome of *Listeria monocytogenes* harbors small noncoding RNAs that are potent inducers of beta interferon[J]. mBio, 2019, 10(5): e01223-e01219.
- [36] DERSCH P, KHAN MA, MÜHLEN S, GÖRKE B. Roles of regulatory RNAs for antibiotic resistance in bacteria and their potential value as novel drug targets[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 803.
- [37] KHAN MA, DURICA-MITIC S, GÖPEL Y, HEERMANN R, GÖRKE B. Small RNA-binding protein RapZ mediates cell envelope precursor sensing and signaling in *Escherichia coli*[J]. The EMBO Journal, 2020, 39(6): e103848.
- [38] ELIZABETH R, BAISHYA S, KALITA B, WANGKHEIMAYUM J, CHOUDHURY MD, CHANDA DD, BHATTACHARJEE A. Colistin exposure enhances expression of eptB in colistin-resistant *Escherichia coli* co-harboring mcr-1[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 1348.
- [39] KWIATKOWSKA J, WROBLEWSKA Z, JOHNSON KA, OLEJNICZAK M. The binding of Class II sRNA MgrR to two different sites on matchmaker protein Hfq enables efficient competition for Hfq and annealing to regulated mRNAs[J]. RNA (New York, N Y), 2018, 24(12): 1761-1784.
- [40] ZHANG YF, HAN K, CHANDLER CE, TJADEN B, ERNST RK, LORY S. Probing the sRNA regulatory landscape of *P. aeruginosa*: post-transcriptional control of determinants of pathogenicity and antibiotic susceptibility[J]. Molecular Microbiology, 2017, 106(6): 919-937.
- [41] STAUFFER LT, STAUFFER GV. The *Escherichia coli* GcvB sRNA uses genetic redundancy to control cycA expression[J]. ISRN Microbiology, 2012, 2012: 636273.
- [42] SCHAFFNER SH, LEE AV, PHAM MTN, KASSAYE BB, LI HF, TALLADA S, LIS C, LANG M, LIU YY, AHMED N, GALBRAITH LG, MOORE JP, BISCHOF KM, MENKE CC, SLONCZEWSKI JL. Extreme acid modulates fitness trade-offs of multidrug efflux pumps MdtEF-TolC and AcrAB-TolC in *Escherichia coli* K-12[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(16): e0072421.
- [43] NISHINO K, YAMASAKI S, NAKASHIMA R, ZWAMA M, HAYASHI-NISHINO M. Function and inhibitory mechanisms of multidrug efflux pumps[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 737288.
- [44] GAN IN, TAN HS. A small RNA decreases the sensitivity of *Shigella sonnei* to norfloxacin[J]. BMC Research Notes, 2019, 12(1): 97.
- [45] GUTIERREZ A, LAURETI L, CRUSSARD S, ABIDA H, RODRÍGUEZ-ROJAS A, BLÁZQUEZ J, BAHAROGLU Z, MAZEL D, DARFEUILLE F, VOGEL J, MATIC I.  $\beta$ -lactam antibiotics promote bacterial mutagenesis via an RpoS-mediated reduction in replication fidelity[J]. Nature Communications, 2013, 4: 1610.
- [46] BARRETO B, ROGERS E, XIA J, FRISCH RL, RICHTERS M, FITZGERALD DM, ROSENBERG SM. The small RNA GcvB promotes mutagenic break repair by opposing the membrane stress response[J]. Journal of Bacteriology, 2016, 198(24): 3296-3308.