



УДК 577.21

МАЛЫЕ НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК – ГЛОБАЛЬНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА БАКТЕРИЙ

© 2025 г. Ю. В. Скворцова*, #, А. С. Григоров*, О. С. Быченко*, Т. Л. Ажикина*

* ФГБУН ГНЦ “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН,
Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 30.05.2025 г.

После доработки 12.06.2025 г.

Принята к публикации 13.06.2025 г.

Бактерии используют широкий спектр регуляторных систем, приспосабливаясь к жизни в различных условиях окружающей среды. Среди таких регуляторов важнейшее место занимают малые некодирующие РНК (нкРНК). Действуя преимущественно на посттранскрипционном уровне, малые нкРНК позволяют бактериям быстро корректировать экспрессию генов в ответ на внешние воздействия. Они участвуют в регуляции практически всех клеточных процессов, включая репликацию, транскрипцию, трансляцию, энергетический и общий метаболизм, устойчивость к антибиотикам, бактериальную вирулентность, а также в механизмах, связанных с бактериальным патогенезом. Бактериальные малые нкРНК способны опосредовать взаимодействие между бактериями и организмом хозяина, напрямую модулируя экспрессию эукариотических генов (чаще всего связанных с иммунным ответом). Таким образом, нкРНК служат универсальными и мощными регуляторными элементами, обеспечивающими выживание и активное функционирование бактерий в неблагоприятных условиях.

Ключевые слова: бактериальные некодирующие РНК, посттранскрипционная регуляция экспрессии, патоген-хозяин, везикулы, инфекция

DOI: 10.31857/S0132342325050045

СОДЕРЖАНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	769
2. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ нкРНК	770
2.1. Механизмы действия бактериальных транс-кодируемых нкРНК	771
3. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ нкРНК ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ БАКТЕРИЙ С МАКРООРГАНИЗМОМ	775
3.1. Механизмы секреции нкРНК из бактериальных клеток	775
3.2. Бактериальные везикулы как средство модулирования иммунного ответа при инфекции	776
4. ПРОЦЕССИНГ НЕКОДИРУЮЩИХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ РНК: РНК “РАЗМЕРА микроРНК”	779
5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	780
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	781

1. ВВЕДЕНИЕ

По сравнению с эукариотами некодирующие последовательности прокариот значительно меньше представлены в геноме. Однако в транскриптоме их доля существенно возрастает и превосходит количество белок-кодирующих РНК. Качественное разнообразие и количественное соотношение

различных некодирующих РНК используются бактериями для регуляции функционирования организма и адаптации к условиям окружающей среды. Регуляторные РНК имеют преимущество перед регуляторными белками, поскольку их синтез требует меньше энергии и они характеризуются пластичной транскрипцией, что позволяет быстро

Сокращения: нкРНК – некодирующая РНК; EV – внеклеточная везикула (extracellular vesicle); OMV – везикулы внешней мембранны (outer membrane vesicles); RLR – RIG-подобные рецепторы (RIG-like receptors).

Автор для связи: (тел.: +7 (495) 330-69-92; эл. почта: ju.skvortsova@gmail.com).

настраивать транскриптом и менять метаболизм бактерии, обеспечивая реакцию на новые условия [1]. Кроме того, их совместная деградация с целевыми мРНК повышает точность регуляции, что выступает ключевым способом адаптации бактерий к иммунному ответу хозяина.

Главная особенность некодирующих РНК (нкРНК) – способность одноцепочечных молекул за счет их уникальных нуклеотидных последовательностей легко образовывать альтернативные вторичные структуры, которые специфически взаимодействуют с определенными молекулами-мишениями и макромолекулярными комплексами и, тем самым, участвуют в широком диапазоне клеточных процессов [2]. Для бактерий изменение вторичной структуры РНК энергетически выгодно, что обеспечивает быструю координацию взаимодействий нкРНК с другими регуляторными факторами.

Некодирующий бактериальный транскриптом изучается достаточно давно, но существенный импульс этим исследованиям был придан в последние годы с внедрением высокопроизводительных, в том числе “омиксных”, технологий. Соответственно, резко увеличилось количество обзорных статей по этой проблематике. Например, в журнале “Биоорганическая химия” в 2023 году был опубликован обзор Е. А. Кубаревой с соавт., акцент в котором

сделан на антисмыловых нкРНК и их роли в бактериальных стрессах [3]. В нашем обзоре мы хотим уделить внимание транс-кодируемым нкРНК и их огромному регуляторному потенциалу в инфекционных процессах.

2. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ нкРНК

Малые некодирующие РНК играют ключевую роль в сложных процессах регуляции экспрессии бактериальных генов. Они представляют собой РНК длиной от ~30 до ~500 нуклеотидов, обычно без открытых рамок считываивания. Они выполняют регуляторные функции на уровне РНК, влияя на разнообразные клеточные процессы, включая ответ на различные стрессы, метаболические процессы и патогенез.

Механизм действия большинства нкРНК предполагает спаривание оснований нкРНК с комплементарными областями мРНК-мишеней, что может влиять на стабильность или трансляцию последних. Малые некодирующие РНК могут быть разделены на два крупных подкласса: цис-кодируемые нкРНК (также называемые антисмыловыми РНК) и транс-кодируемые нкРНК (или межгенные нкРНК). Также в последнее время выделяют группу недавно обнаруженных РНК “размера микроРНК” (microRNA-size, msRNA) (рис. 1).

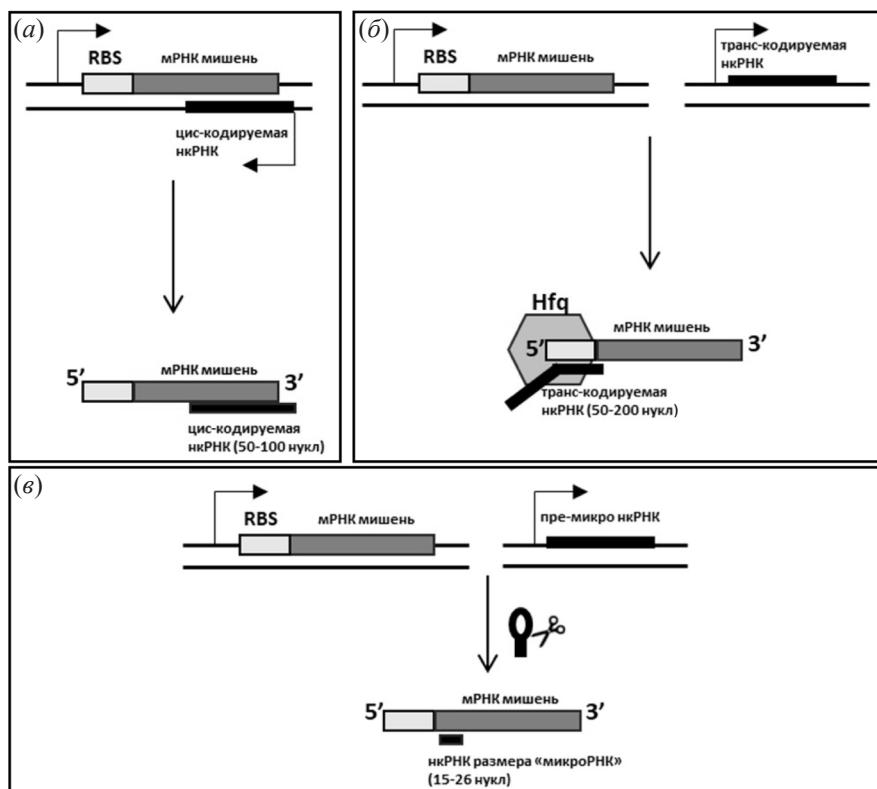


Рис. 1. Принцип действия основных групп малых нкРНК бактерий: цис-кодируемый (а), транс-кодируемый (б), “размера микроРНК” (в). RBS- Ribosome Binding Site, сайт посадки рибосомы.

Цис-кодируемые нкРНК транскрибируются с цепи ДНК, противоположной той, с которой идет транскрипция гена, который они регулируют. Они, как правило, характеризуются полной комплементарностью с их мРНК-мишенью, что обеспечивает формирование протяженного РНК-РНК дуплекса [4].

Пример хорошо изученной цис-кодируемой нкРНК – малая РНК *Escherichia coli* *SymR*. Это малая РНК представляет собой транскрипт длиной 77 нуклеотидов, который комплементарен 5'-области мРНК SOS-индуцируемого токсина с экзонуклеазной активностью *SymE* [5]. В данном контексте *SymR* функционирует как РНК-антитоксин, действуя в качестве репрессора. Эта нкРНК контролирует уровень транскрипции *symE*, стимулируя деградацию мРНК этого гена. Транс-кодируемые РНК транскрибируются в межгенных локусах и имеют лишь ограниченную область комплементарности с их мРНК-мишенью (обычно 6–12 нуклеотидов). Это позволяет им участвовать в регуляции сразу нескольких транскриптов. Большинство транс-кодируемых РНК функционируют при помощи РНК-шаперонов, таких как *Hfq*, *ProQ* и *CspA*, которые стабилизируют нкРНК и облегчают их взаимодействие с целевыми мРНК [6]. Классический механизм действия транс-кодируемых малых РНК предполагает взаимодействие нкРНК с мРНК в области, находящейся рядом с сайтом связывания рибосом (или перекрывающей его), что может вести к активации или, чаще, к ингибированию трансляции [7]. Однако существует достаточно большое количество вариантов альтернативных механизмов.

2.1. Механизмы действия бактериальных транс-кодируемых нкРНК

Позитивная регуляция. Механизм активации экспрессии с помощью транс-кодируемых РНК может реализовываться в виде двух основных вариантов. Первый называется “анти-антисенс” механизмом и подразумевает наличие в мРНК-мишени вторичной структуры в районе последовательности Шайна–Дальгарно, которая препятствует процессу трансляции. Малая нкРНК, контролирующая экспрессию мРНК, способна взаимодействовать с ней, приводя к изменению вторичной структуры и высвобождению регуляторных последовательностей инициации трансляции. Пример малой РНК, действующей согласно такому механизму, выступает нкРНК RNAIII патогенной бактерии *Staphylococcus aureus* [8]. RNAIII связывается с мРНК *hla*, что приводит к дестабилизации вторичной структуры типа

“шпилька”, которая ингибирует трансляцию. Важно отметить, что это не единственная функция RNAIII. Эта нкРНК также содержит в своей последовательности открытую рамку считывания, кодирующую δ -гемолизин [9], и напрямую ингибирует трансляцию ряда генов, участвующих в процессах вирулентности [10, 11].

Второй механизм активации называется трансляционно-независимым и предполагает связывание малой РНК с кодирующей последовательностью транскрипта мРНК, что приводит к стабилизации последнего. Пример нкРНК, работающей по этому механизму, выступает *SgrS* из *Salmonella typhimurium*. *SgrS* контролирует экспрессию гена фосфатазы *yigL*, которая необходима для выживания в условиях накопления фосфорилированных форм сахаров в клетке [12]. *SgrS* стабилизирует интермедиат бицистронного транскрипта *pldB-yigL*, который в нормальных условиях гидролизуется РНКазой E (рис. 2). При этом *SgrS*, подобно RNAIII, способна негативно регулировать экспрессию ряда генов (*ptsG*, *manX*, *sopD*) [13, 14] и содержит открытую рамку считывания короткого пептида *SgrT* [15].

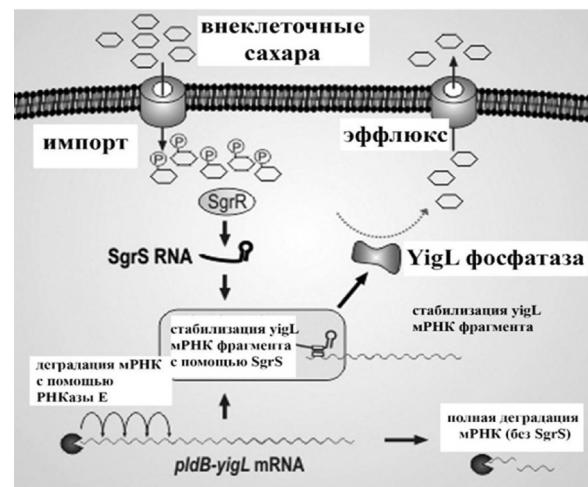


Рис. 2. Схема механизма действия малой РНК *SgrS* *S. typhimurium* (адаптировано из [12]).

Негативная регуляция. Негативная регуляция экспрессии – более частый эффект действия бактериальных нкРНК и может реализовываться через механизмы преждевременной терминации транскрипции, репрессии трансляции и стимулирования деградации мРНК.

Преждевременная терминация транскрипции происходит в том случае, если после спаривания нкРНК с мРНК-мишенью образуется транскрипционный аттенюатор – вторичная структура, сти-

мулирующая остановку транскрипции. Транскрипционная антирминация – один из двух известных механизмов действия малой РНК RnaG патогенной бактерии *Shigella flexneri* [16]. RnaG регулирует экспрессию гена *icsA*, который кодирует белок, играющий ключевую роль в процессе инвазии в эпителиальные клетки кишечника. Авторы работы показали, что RnaG подавляет экспрессию *icsA* двумя способами. Первый – за счет транскрипционной интерференции: транскрипция с сильного промотора RnaG подавляет транскрипцию со слабого промотора *icsA* из-за перекрытия обоих промоторов. Второй механизм репрессии заключается в том, что RnaG способна связываться с последовательностью, находящейся в открытой рамке считывания *icsA*, стимулируя образование внутреннего терминатора и, как следствие, преждевременную остановку транскрипции этого гена.

Ингибиование трансляции считается наиболее изученным способом посттранскрипционной регуляции экспрессии, осуществляющейся с помощью бактериальных регуляторных РНК, а также самым распространенным механизмом их действия. Реализация этого варианта чаще всего заключается в прямой конкуренции нкРНК за сайт связывания рибосом мРНК-мишени. Регуляторная РНК связывается с областью мРНК, перекрывающей последовательность Шайна–Дальгарно или расположенной достаточно близко от нее. Образование РНК-РНК дуплекса предотвращает дальнейшую ассоциацию мРНК с 30S-субъединицей рибосомы, блокируя трансляцию. Каноничным примером такого механизма служит взаимодействие нкРНК MicA *Escherichia coli* с ее мРНК-мишенью [17]. MicA транскрибируется в поздней стационарной фазе роста и подавляет экспрессию порина внешней мембранны OmpA путем спаривания с 5'-нетранслируемой областью мРНК *ompA* в районе последовательности Шайна–Дальгарно. Избыток MicA в клетке приводит к ингибиции связывания рибосомы с сайтом старта трансляции *ompA*, что в дальнейшем стимулирует деградацию транскрипта с помощью РНКазы E.

При этом для ингибиции трансляции нкРНК могут связываться не только с областью Шайна–Дальгарно, но и с фланкирующими ее регионами, контактирующими с 30S-субъединицей рибосомы. Это открывает потенциальные возможности для контроля экспрессии безлидерных мРНК с помощью нкРНК [18].

Схожий механизм ингибиции трансляции предполагает спаривание регуляторной РНК с определенными сайтами мРНК, которые распо-

лагаются в 5'-НТО более чем за 100 нуклеотидов от сайта старта трансляции. Несмотря на удаленность от региона, контактирующего с 30S-субъединицей рибосомы, такое связывание также приводит к остановке инициации трансляции. Примером нкРНК, действующей по этому механизму, служит малая РНК GcvB *Salmonella enterica*, которая связывает некоторые свои мРНК-мишени в областях трансляционных энхансеров, удаленных от последовательности Шайна–Дальгарно [19].

Еще один “ингибирующий” вариант действия нкРНК – стимуляция деградации таргетной мРНК посредством рекрутования различных рибонуклеаз. Ингибиование трансляции, опосредованное малыми РНК, зачастую делает мРНК-мишень более доступной для действия рибонуклеаз, как это, например, показано для малой РНК *Escherichia coli* MicA и регулируемого ею транскрипта *ompA* [17]. Предположительно это связано с тем, что рибосома больше не экранирует мРНК от ферментативного расщепления.

Однако деградация с участием РНКаз может быть не только пассивным следствием ингибиции трансляции, но и результатом прямого действия нкРНК. В таком случае сайт образования РНК-РНК дуплекса может располагаться практически в любом регионе мРНК. Примером подобного механизма служит малая РНК MicC *Salmonella typhimurium*, регулирующая экспрессию порина OmpD. Участок мРНК, комплементарный MicC, находится в позиции от +67 до +78 относительно старт-кодона *ompD* [20]. Образование РНК-РНК дуплекса в данном случае не препятствует инициации трансляции и не блокирует движение рибосомы на стадии элонгации. Вместо этого MicC направляет и активирует РНКазу E, обеспечивая специфическое расщепление мРНК в соответствующем сайте узнавания [21]. Ключевую роль в этом механизме играет 5'-конец нкРНК, на котором должна присутствовать монофосфатная группа. Именно этот участок действует РНК-РНК дуплекс уязвимым для действия РНКазы E, обладающей 5'-чувствительным “карманом”. Взаимодействие между 5'-монофосфатом MicC и этим “карманом” индуцирует конформационную перестройку фермента, переводя его в активное состояние, оптимальное для расщепления одноцепочечного субстрата. При этом в активном сайте фермента размещается именно мРНК-мишень.

Опосредованное влияние. В случае би- и полицистронных транскриптов влияние нкРНК на трансляцию может быть опосредованным: экспрессия одной рамки считывания модулируется через

регуляцию другой. Впервые подобный механизм был описан для малой нкРНК *Escherichia coli* RyhB, участвующей в регуляции метаболизма железа. Матричная РНК гена транскрипционного железозависимого репрессора *fur* содержит дополнительную рамку считывания (*uof*), состоящую из 28 кодонов. Эта рамка расположена проксимально к кодирующей последовательности *fur* и перекрывает с ней на 5'-конце (рис. 3) [22].

Экспрессия *fur* зависит от трансляции рамки *uof*, что было подтверждено как в экспериментах

in vitro, так и *in vivo*. Последняя содержит регион, комплементарный нкРНК RyhB. Образование РНК-РНК дуплекса с этой областью подавляет трансляцию как рамки *uof*, так и основной кодирующей последовательности *fur*. Таким образом, RyhB, блокируя трансляцию соседней рамки, одновременно ингибирует синтез транскрипционного фактора, что, в свою очередь, инициирует экспрессию генов, ответственных за транспорт и запасание железа.

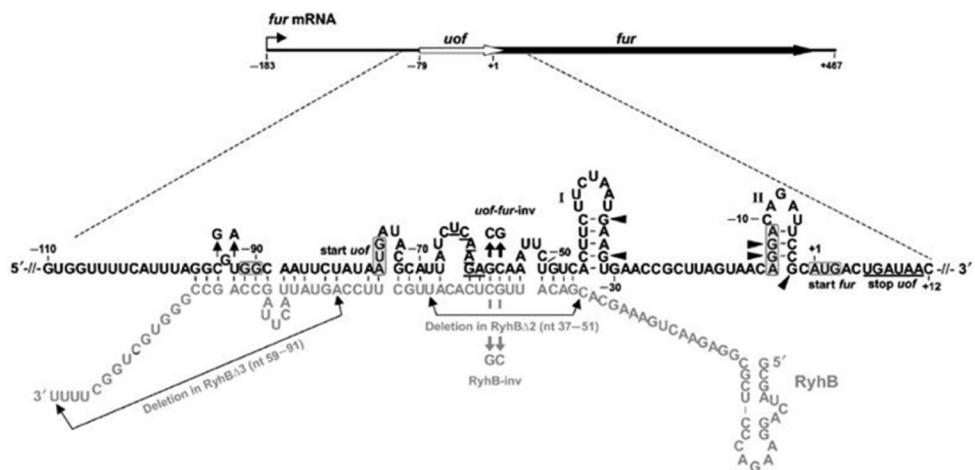


Рис. 3. Организация мРНК *fur E. coli* и схематичное изображение ее РНК-РНК дуплекса с нкРНК RyhB [22].

Такое опосредованное влияние может приводить не только к ингибированию трансляции, но и к ее активации. Пример нкРНК, действующей согласно такому механизму, – регуляторная РНК патогенной бактерии *Pseudomonas aeruginosa* PhrS. PhrS опосредованно влияет на экспрессию гена одного из ключевых регуляторов чувства квorumа – *pqrS* [23]. Транскрипт *pqrS* содержит дополнительную рамку считывания *uof*, расположенную выше по потоку относительно целевого гена. Взаимодействие PhrS с мРНК *pqrS* приводит к образованию РНК-РНК-дуплекса с областью, находящейся перед сайтом посадки рибосом *uof*. Такое взаимодействие изменяет вторичную структуру мРНК, открывая сайт посадки рибосом, что приводит к стимуляции трансляции обеих рамок считывания. Этот механизм активируется в условиях низкой концентрации кислорода и представляет собой первый пример того, как бактериальная нкРНК выступает связующим регуляторным звеном между доступностью кислорода в среде и образованием биопленок.

Сочетание механизмов. Необходимо подчеркнуть, что описанные механизмы могут комбинироваться, и одна и та же нкРНК способна одновременно останавливать трансляцию и стимулировать деградацию своей мРНК-мишени. Подобное сочетание характерно и для вышеописанной нкРНК RyhB. Взаимодействие RyhB с одной из ее мишени – мРНК гена супероксиддисмутазы *sodB* – в районе сайта связывания рибосомы приводит к расщеплению транскрипта мРНК в области, удаленной от места взаимодействия более чем на 350 нуклеотидов [24]. На первом этапе происходит ингибирование инициации трансляции. После того как “последняя” транслирующая рибосома проходит сайт эндонуклеазы, комплекс RyhB с шаперонным белком Hfq запускает опосредованное расщепление транскрипта *sodB* деградосомой. Предполагается, что многие другие нкРНК, участвующие в ингибировании трансляции, могут действовать по аналогичному механизму. Тем не менее, на молекулярном уровне различить оба процесса

достаточно сложно, что не позволяет сделать окончательный вывод о распространенности описанного механизма.

Секвестрация белков. Существуют бактериальные нкРНК, механизм действия которых не предполагает прямого взаимодействия с мРНК-мишениями, а связан с рекрутированием белков. Самый известный пример такой нкРНК – 6S РНК – одна из первых открытых бактериальных регуляторных РНК, широко распространенная у различных видов бактерий [25]. 6S РНК регулирует транскрипцию путем взаимодействия с холоферментом РНК-полимеразы, ассоциированной с сигма-фактором 70 (также известным как сигма-фактор “домашнего хозяйства”) [26, 27]. Это взаимодействие происходит преимущественно в стационарной фазе роста и подавляет транскрипцию всех генов, находящихся под контролем сигма-фактора 70. Изменение паттерна экспрессии генов, происходящее в результате этого процесса, способствует адаптации бактерии к новым условиям и повышает ее выживаемость (рис. 4).

Малые РНК из семейства CsrB – еще один пример нкРНК, действующих путем секвестрации белков [28]. Гомологи CsrB-подобных РНК распространены среди многих эубактерий и участвуют в глобальном контроле различных процессов, включая углеродный метаболизм, образование биопленок, патогенез, секрецию различных молекул и т. д. Семейство нкРНК CsrB содержит многочисленные сайты связывания регуляторного белка CsrA. Этот белок, функционирующий в форме димера, способен взаимодействовать с сайтами посадки рибосом, тем самым ингибируя трансляцию [29]. Малые РНК семейства CsrB секвестрируют CsrA, выступая в роли его антагониста.

Приведенные выше механизмы демонстрируют, как малая РНК может функционировать в качестве глобального мастер-регулятора, одновременно контролируя множество независимых друг от друга процессов.

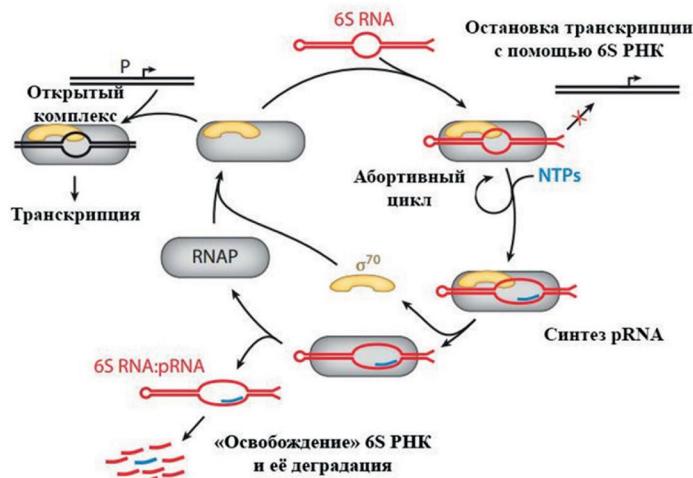


Рис. 4. Модель действия 6S РНК *E. coli* (адаптировано из [82]).

РНК-губки (RNA sponges). Малые некодирующие РНК могут регулировать не только мРНК, но и другие нкРНК. Такие регуляторные РНК называются “РНК-губками”, а их основная функция заключается в модуляции активности других нкРНК путем их секвестрации. Один из примеров контроля экспрессии с участием таких РНК-губок – регуляция активности вышеописанной нкРНК GcvB, вовлеченной в аминокислотный метаболизм. Активность GcvB контролируется с помощью двух РНК-губок – SroC и AgvB [30]. Малая РНК AgvB, кодируемая в геноме бактериофага, способна связываться с GcvB, конкурируя с ее

мишениями. Такая секвестрация GcvB избытком AgvB приводит к повышению экспрессии гена dppA. Этот ген кодирует периплазматический связывающий компонент ABC-транспортера, и его мРНК – одна из ключевых мишеней GcvB. Еще одна РНК-губка, SroC, способна взаимодействовать с определенными участками GcvB и активировать ее деградацию, снижая доступную концентрацию GcvB для ее мишеней [31]. Поскольку GcvB – мастер-регулятор нескольких мРНК, контроль ее активности с помощью SroC приводит к изменениям в экспрессии генов всего реплуона (рис. 5).

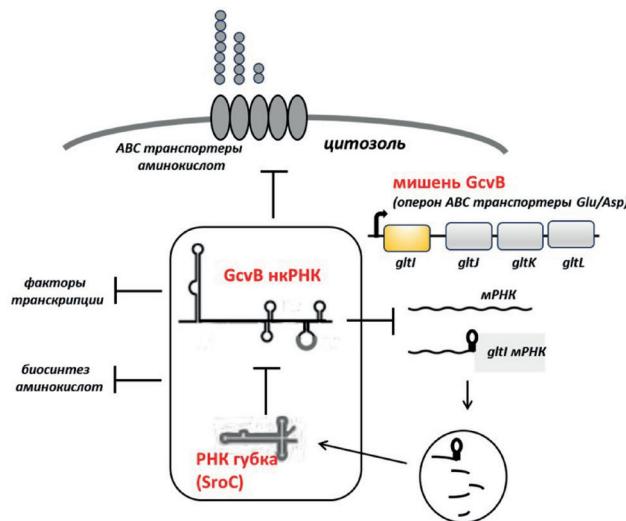


Рис. 5. Схематичное изображение механизма контроля нкРНК *GcvB* *S. enterica* с помощью РНК-губки *SroC* (адаптировано из [31]).

3. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ нкРНК ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ БАКТЕРИЙ С МАКРООРГАНИЗМОМ

Существует еще один принцип действия бактериальных нкРНК, находящийся на ранней стадии изучения, но уже значительно расширивший представления о межвидовой коммуникации на уровне транскриптомов. Бактериальные малые РНК способны опосредовать взаимодействие между бактерией и организмом хозяина, напрямую модулируя экспрессию эукариотических генов, чаще всего связанных с иммунным ответом. Такой тип взаимодействия на сегодняшний день лучше всего изучен на примере патогенных бактерий, однако предполагается, что аналогичные механизмы могут использоваться и симбиотическими, и комменсальными микроорганизмами. Для прямого взаимодействия бактериальных РНК с эукариотическими клеточными факторами необходимо,

чтобы нкРНК была доставлена в цитоплазму клетки хозяина.

3.1. Механизмы секреции нкРНК из бактериальных клеток

На сегодняшний день знания о механизмах выхода бактериальных РНК в цитоплазму эукариотических клеток остаются ограниченными. Один из описанных способов секреции реализуется у бактерии *Listeria monocytogenes*, в которой бактериальный белок *Zea* обеспечивает активный транспорт РНК, в том числе малой нкРНК *g132*, из бактериальной клетки в цитоплазму клетки хозяина [32]. В ходе инфекции этот белок секретируется в комплексе с различными РНК, включая нкРНК, и напрямую взаимодействует с рецептором чужеродной РНК *RIG-I*, активируя его и тем самым модулируя иммунный ответ (рис. 6). Делекция гена *zea* приводит к снижению вирулентности *Listeria monocytogenes*, что выра-

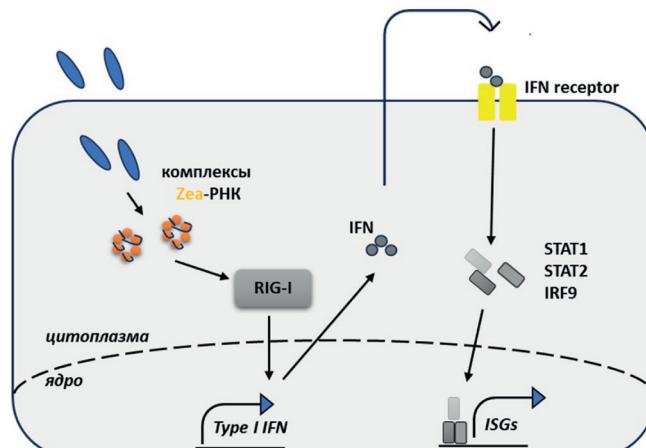


Рис. 6. Активация синтеза интерферонов I типа при инфекции *L. Monocytogenes*. РНК-связывающий белок *Zea* связывает RIG-I и модулирует ответ IFN типа I (адаптировано из [32]).

жается в статистически значимом снижении бактериальной нагрузки на селезенку и печень у инфицированных мышей линии BALB/c.

Патогенные микобактерии *Mycobacterium tuberculosis* и *Mycobacterium avium* также способны секретировать свои РНК в цитоплазму клетки хозяина при помощи системы секреции SecA2. Эта секреция индуцирует продукцию интерферонов I типа, опосредованную сигнальным каскадом RIG-I/MAVS/TBK1 [33, 34].

Нами впервые была установлена динамика локализации малых РНК микобактерий в инфицированных макрофагах [35]. В частности, была визуализирована малая РНК MTS1338 в цитоплазме инфицированных макрофагов с использованием химерных конструкций, экспрессирующих MTS1338-MangoII алтамер (рис. 7). В ходе наблюдения за флуоресцентным сигналом в течение 1.5 ч была зафиксирована миграция сигнала химерной РНК, тогда как MangoII без РНК-связанной части не мигрировал, а сигналы постепенно затухали.

3.2. Бактериальные везикулы как средство модулирования иммунного ответа при инфекции

Продукты секреции микроорганизмов играют важную роль в коммуникации между бактериями и в их взаимодействии с организмом хозяина. Один из ключевых средств переноса секретируемых факторов у бактерий, как и у эукариот, – внеклеточные везикулы.

Внеклеточные везикулы бактерий (EV, *extracellular vesicles*) – это сферические структуры размером от 20 до 1000 нм, окруженные бислойной

липидной мембраной и образующиеся на поверхности бактериальных клеток. Наиболее изученные – везикулы грамотрицательных бактерий, которые отделяются от внешней мембраны путем образования пузырей (blebbing), в связи с чем они получили название везикул внешней мембраны (OMV – *outer membrane vesicles*) [36]. Однако секреция EV также была обнаружена у грамположительных [37] и кислотоустойчивых бактерий [38].

Внеклеточные везикулы (EV) опосредуют взаимодействие между микроорганизмами [39], а также облегчают их связь с окружающей средой [40]. Они участвуют в секреции факторов вирулентности, токсинов, адгезинов [41], а также играют важную роль в коммуникации внутри бактериальных сообществ, включая биопленки [42].

Состав EV и, соответственно, их биологические свойства могут варьировать в зависимости от физиологического состояния производящей клетки и условий окружающей среды. Как правило, бактериальные внеклеточные везикулы содержат липополисахариды, патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP), разнообразные виды РНК и ДНК, белки, факторы устойчивости к антибиотикам, вирулентные белки и токсины. Эти компоненты обеспечивают различные иммунные реакции со стороны организма хозяина и способствуют выживанию, а также распространению патогена [43]. EV участвуют в передаче молекулярных сигналов как между бактериями, так и между бактериями и представителями других биологических царств, включая взаимодействие между внутриклеточными патогенами и эукариотическими клетками-хозяевами [44].

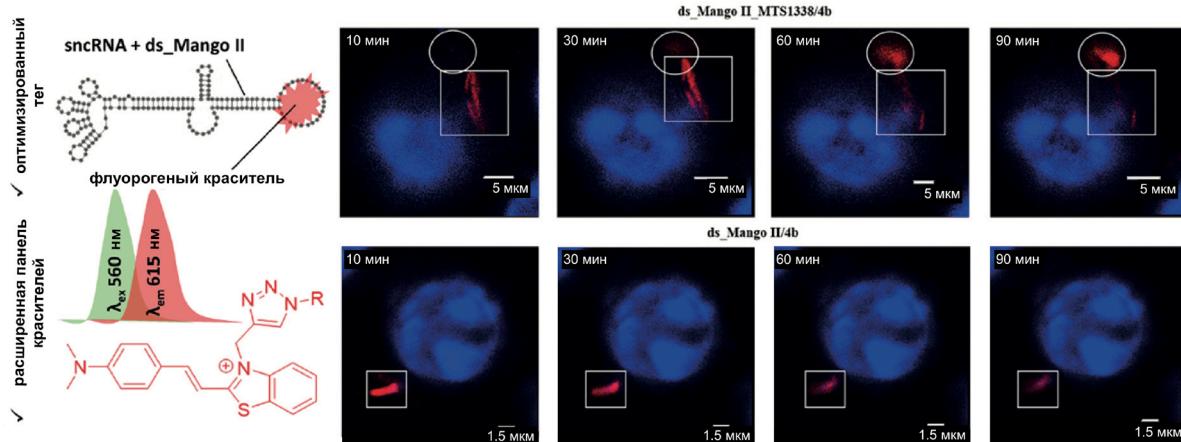


Рис. 7. Визуализация малой нкРНК MTS1338 при инфекции макрофагов RAW264.7 с помощью флуорогенного красителя 4b.

Бактериальные внеклеточные везикулы могут доставлять свое содержимое в клетки-реципиенты либо в внеклеточное пространство посредством взаимодействия по принципу рецептор-лиганд, либо путем слияния мембран, либо путем опосредованного рецепторами эндоцитоза [45] (рис. 8). Функциональная активность бактериальных EV весьма разнообразна: они могут участвовать в регуляции клеточной пролиферации, ангиогенезе, иммунных ответах, запускать провоспалительные реакции в клетках врожденного иммунитета и оказывать иммуномодулирующее действие в неиммунных клетках [46]. Интересно, что бактериальные внеклеточные везикулы могут вызывать как провоспалительные, так и противовоспалительные эффекты, в зависимости от состава их содержимого [47, 48].

Нуклеиновые кислоты были впервые обнаружены в мембранных пузырьках бактерий еще в 1989 г. [49], а возможность целенаправленной доставки РНК с помощью везикул была показана в 2000-х гг. [50, 51]. Однако лишь в 2014 г. глубокое секвенирование РНК, ассоциированной с везикулами морской цианобактерии *Prochlorococcus*, позволило впервые продемонстрировать широкое разнообразие РНК, присутствующих в этих структурах [52]. В 2015 г. были проанализированы везикулы, выделенные из дикого штамма *Vibrio cholerae* O1 El Tor; это исследование стало первым, в котором была охарактеризована бактериальная РНК в составе EV, взаимодействую-

щих с клетками хозяина [53]. Было показано, что в везикулах преимущественно содержатся короткие РНК, происходящие из межгенных регионов. В том же году Ghosal и соавторы исследовали внеклеточный РНК-компонент модельной грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* и показали, что OMV, секретируемые штаммом *Escherichia coli* MG1655, содержат многочисленные бактериальные малые нкРНК [54].

Дальнейшие исследования подтвердили преобладание нкРНК в бактериальных везикулах как у грамотрицательных [55–57], так и у грамположительных бактерий [58–60].

Количественный состав и качественное разнообразие РНК, содержащихся в бактериальных внеклеточных везикулах, отличаются от соответствующих показателей клеточного пула, что свидетельствует о существовании активных механизмов сортировки РНК, предназначенных для включения в везикулы. Учитывая, что многие РНК, обнаруженные в EV, имеют длину менее 250 нуклеотидов, классифицируются как малые некодирующие РНК (нкРНК) и способны формировать стабильные вторичные структуры [61, 62], предполагается, что такие структурные детерминанты могут играть роль в их селективной упаковке. Тем не менее, механизмы сортировки и селекции РНК до настоящего времени остаются не полностью изученными и требуют дальнейших исследований.

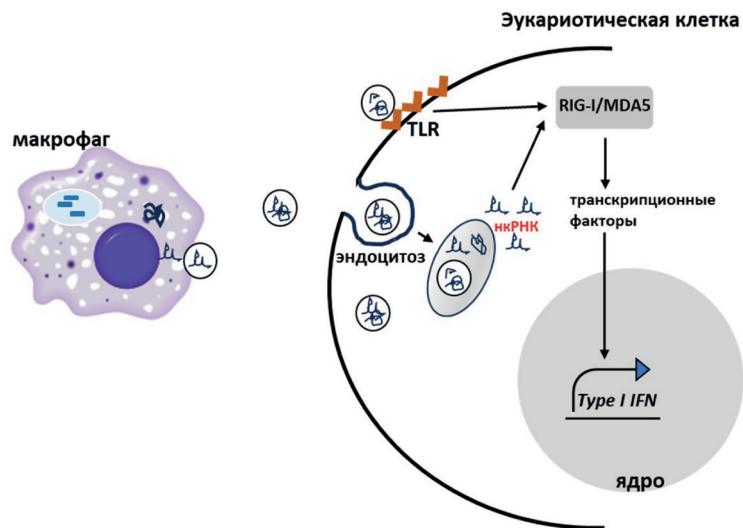


Рис. 8. Транспорт РНК в составе везикул из инфицированного макрофага в другие эукариотические клетки. Везикулы попадают в клетки-реципиенты посредством эндоцитоза или через toll-like рецепторы (TLR). Высвобождающаяся РНК активирует РНК сенсоры RIG-I/MDA5.

Биологические функции многих нкРНК, транспортируемых бактериальными EV, до сих пор не выяснены. Однако полученные на сегодняшний день данные указывают на их возможную роль как в межбактериальной коммуникации [63], так и во взаимодействиях между бактериями и клетками хозяина [56, 62]. Так, на моделях, имитирующих инфекцию *Staphylococcus aureus* *in vitro* – в условиях дефицита железа и в присутствии субингибиторных концентраций ванкомицина – было показано обогащение секрецируемых везикул малыми РНК sRNAs SsrA, RsaC и RNAIII, ассоциированными с вирулентными свойствами [64].

Передаваемая с помощью EV бактериальная РНК способна взаимодействовать с цитозольными сенсорами чужеродной РНК – так называемыми RLR-рецепторами (RIG-I-like receptors), что приводит к активации врожденного иммунного ответа (рис. 8). В частности, *Edwardsiella tarda* посредством везикулярной РНК индуцирует активацию RLR-рецепторов, что сопровождается индукцией экспрессии IFN- β и генов, активируемых интерфероновым ответом I типа, а также развитием провоспалительной реакции [65].

На основании исследований РНК везикул, выделенных у простейших, Garcia-Silva и соавторы высказали гипотезу, что транспортируемые везикулами РНК-молекулы могут модулировать экспрессию определенных транскриптов генов хозяина [66]. Впервые конкретные изменения в транскриптоме клетки хозяина под действием нкРНК патогена были продемонстрированы при инфекции, вызываемой *Trypanosoma cruzi* [66].

В 2016 году Коэрреп и соавторы впервые описали уникальный механизм действия малых нкРНК из везикул *Pseudomonas aeruginosa* на клетки дыхательного эпителия человека и на легочную ткань у мышей [62]. Малая РНК sRNA52320 ингибировала экспрессию IL-8 – одного из ключевых провоспалительных интерлейкинов, секрецируемых макрофагами. Предположительно, этот эффект реализуется через взаимодействие sRNA52320 с мРНК компонентов MAPK-сигнального пути, активируемого липополисахаридами, что в итоге приводит к подавлению воспалительного ответа. Авторы предполагают, что механизм действия данной РНК может напоминать функцию эукариотических микроРНК, которые осуществляют подавление трансляции путем взаимодействия с комплементарными участками мРНК.

Бактерия *Legionella pneumophila* использует внеклеточные везикулы (EV) для трансфера бактериальных малых РНК в клетки хозяина [67]. В составе EV *Legionella pneumophila* были выявлены малая РНК RsmY и тРНК-Phe, способные

ингибировать сенсорные и регуляторные компоненты врожденного иммунного ответа. Установлено, что RsmY связывается с 3'-нетранслируемой областью (3'-НТО) мРНК гена *ddx58* (кодирующего RIG-I) и *cRel*, в то время как тРНК-Phe взаимодействует с *ddx58* и *irak1*. Совместное действие этих РНК приводит к снижению экспрессии *RIG-I*, *IRAK1* и *cRel*, что, в свою очередь, сопровождается подавлением продукции IFN- β .

Взаимодействие малых бактериальных РНК с транскриптом клеток хозяина не ограничивается патогенами. При инфицировании пробиотической бактерией *Lactobacillus murinus* наблюдается подавление метаболизма полиаминов в клетках хозяина, что связано с прямым взаимодействием бактериальных нкРНК с мРНК, кодирующими ключевые ферменты этого пути. В частности, sR-182871 нацелена на мРНК орнитин-декарбоксилазы-1 (*ODC1*), sR-242825 – на S-аденоцилметиониндекарбоксилазу-1 (*AMD1*), а sR-257800 – на спермидинсинтазу (*SRM*), что приводит к снижению уровня синтеза полиаминов [68].

Aggregatibacter actinomycetemcomitans – грам-отрицательная, факультативно-анаэробная неподвижная бактерия, ассоциированная с локализованным агрессивным пародонтитом – секreteирует OMV, способные пересекать гематоэнцефалический барьер. Содержащиеся в этих везикулах малые нкРНК стимулируют выработку TNF- α и индуцируют секрецию провоспалительных цитокинов в тканях головного мозга [69, 70].

Везикулы, секрецируемые *Escherichia coli*, также способны доставлять малые нкРНК в эпителиальные клетки мочевого пузыря. Эти РНК ингибируют продукцию IL-1 α , индуцированную действием липополисахаридов, что может способствовать снижению воспалительного ответа при урогенитальных инфекциях [71].

Не менее важную роль бактериальные нкРНК могут играть и в контексте симбиотических взаимодействий. Так, бактерия *Vibrio fischeri* живет в симбиозе с кальмарам *Euprymna scolopes* в специализированном “светящемся” органе – фотофоре. Именно благодаря бактериям обеспечивается люминесцентное свечение кальмара, что, как считается, служит механизмом камуфляжа и защиты от хищников. Moriano-Gutierrez и соавторы продемонстрировали, что малая РНК SsrA *Vibrio fischeri* необходима для поддержания этого симбиотического взаимодействия [72]. Данная нкРНК транспортируется в эпителиальные клетки кальмара в составе бактериальных везикул и модулирует иммунный ответ хозяина, предположительно через receptor RIG-I.

Хотя мутантный штамм *Vibrio fischeri* с делецией гена *ssrA* способен колонизировать фотофор кальмара наравне с родительским штаммом, он не может длительно персистировать в организме хозяина. При этом уровень люминесценции фотофора, колонизированного мутантным штаммом, значительно снижен по сравнению с колонизацией родительским штаммом. Анализ транскриптома фотофора выявил изменение экспрессии ряда эукариотических генов при колонизации штаммом $\Delta ssrA$, включая повышение уровня экспрессии гена лакказы-3 – внеклеточного белка, вовлеченного в синтез меланина и иммунный ответ у многих беспозвоночных [73]. Авторы предполагают, что снижение люминесценции связано именно с увеличением активности лакказы-3, так как этот фермент обладает оксидазной активностью и снижает концентрацию кислорода, необходимого для люциферин-люциферазной реакции *Vibrio fischeri*.

Таким образом, deleция нкРНК *ssrA* оказывает негативное влияние как на бактерию, снижая ее выживаемость в фотофоре, так и на хозяина, который теряет способность к эффективной люминесценции. Детали молекулярного механизма действия SsrA пока остаются неясными, однако данный пример – первое и крайне важное свидетельство того, что бактериальные малые РНК могут приносить пользу другому виду. Учитывая исключительное разнообразие и долгую эволюционную историю микробиома человека, можно предположить существование аналогичных нкРНК и механизмов межвидового взаимодействия у бактерий, входящих в состав человеческого микробиома.

4. ПРОЦЕССИНГ НЕКОДИРУЮЩИХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ РНК: РНК “РАЗМЕРА микроРНК”

Недавно в бактериях были обнаружены РНК “размера микроРНК” (microRNA-size RNAs, msRNA), которые привлекают особое внимание как предполагаемые аналоги эукариотических микроРНК [74]. MsRNA характеризуются рядом признаков, сходных с эукариотическими микроРНК: длиной от 15 до 26 нуклеотидов, образованием посредством расщепления более длинных предшественников, а также способностью изменять экспрессию генов через комплементарное взаимодействие с целевыми мРНК (рис. 1б). Комплементарное взаимодействие msRNA с 3'-НТО мРНК приводит к расщеплению мРНК при полной комплементарности и к ингибиованию

трансляции при частичной комплементарности [75].

Современные методы высокопроизводительного секвенирования позволили выявить широкий спектр msRNA в бактериальных клетках. Хотя роль msRNA еще окончательно не установлена, для некоторых представителей этого класса уже получены экспериментальные подтверждения их существования и функциональной активности. Например, высокопроизводительное секвенирование коротких РНК выявило более 400 уникальных msRNA в транскриптоме *Escherichia coli* [76]. В *Streptococcus mutans* три msRNA участвуют в посттранскрипционной регуляции генов, ответственных за синтез экзополисахаридов [77]. В *Mycobacterium tuberculosis* недавно были обнаружены msRNA, обозначенные авторами как “smaller noncoding RNAs” (sncRNAs), процессинг которых происходит с участием пока неидентифицированных бактериальных РНКаз. Одна из этих msRNA – sncRNA-1 – предположительно участвует в биосинтезе олеиновой кислоты и способствует выживанию и росту микобактерий на обедненных средах и в инфицированных макрофагах [78].

РНК “размера микроРНК” также выявлены в цитоплазме эукариотических клеток, инфицированных патогенами. Furuse и соавторы предположили существование механизма биогенеза бактериальных аналогов микроРНК при инфекции, включающего три стадии: (1) экспрессию пре-микроРНК-подобной бактериальной РНК (малой РНК, фрагментов рРНК или мРНК), обладающей вторичной структурой, характерной для эукариотических пре-микроРНК, (2) транслокацию этой РНК в цитоплазму клетки-хозяина и (3) процессинг с помощью эукариотической рибонуклеазы Dicer [79]. Эти события приводят к образованию микроРНК-подобных молекул, которые в составе RISC-комплекса способны модулировать экспрессию генов хозяина.

Авторы провели секвенирование коротких (до 40 нуклеотидов) РНК из эукариотических клеток, инфицированных внутриклеточными патогенами, включая *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium smegmatis* и *Mycobacterium marinum*. Несмотря на присутствие бактериальных РНК-фрагментов во фракции коротких РНК, внимание было сосредоточено на молекулах длиной 22 нуклеотида – характерной длине продуктов процессинга с помощью Dicer. Для *Mycobacterium tuberculosis* кандидатных msRNA, соответствующих этим критериям, не было обнаружено. Единственная msRNA, удовлетворяющая условиям, – ММ-Н РНК длиной 23 нуклеотида, была идентифицирована в *Mycobacterium marinum*. Furuse и соавторы предполо-

жили, что эта молекула регулирует экспрессию генов в клетках хозяина.

В последние годы появилось все больше примеров коротких секрецируемых бактериальных РНК, оказывающих влияние на иммунную систему хозяина. Так, ряд msRNA был идентифицирован в патогенных бактериях, обитающих в ротовой полости человека, включая *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и *Streptococcus sanguinis* [80]. Показано, что патогены посредством мембранных везикул секрецируют msRNA, которые способны подавлять экспрессию ряда цитокинов (IL-5, IL-13, IL-15), тем самым влияя на иммунный ответ хозяина. Эти короткие РНК могут выступать в роли сигнальных молекул, обеспечивающих не только коммуникацию между бактерией и эукариотическими клетками хозяина, но и взаимодействие между самими бактериями в ходе инфекции.

В 2017 г. были опубликованы данные, подтверждающие аналогичный механизм, с помощью которого *Salmonella enterica* избегает иммунного ответа и выживает в инфицированных клетках [81]. Авторами была выявлена некодирующая РНК Sal-1, выполняющая функцию репрессии синтеза индуцибелльной NO-синтазы (iNOS). Sal-1 попадает в цитоплазму клетки хозяина в виде транскрипта-предшественника, который, образуя комплекс с белком Argonaute 2, процессируется до зрелой формы, имитирующей эукариотическую миРНК. Взаимодействие зрелой Sal-1 с транскриптом iNOS приводит к ингибированию трансляции NO-синтазы, что снижает продукцию оксида азота (NO) и повышает вирулентность патогена. Деплеция этой РНК-фракции вызывает аттенюацию сальмонеллы. Механизм транспортировки Sal-1 в клетки хозяина пока не установлен.

Таким образом, накапливаются данные в пользу существования фракции миРНК-подобных бактериальных РНК. Предполагается, что некоторые из них образуются из предшественников с помощью пока не идентифицированных бактериальных РНКаз и, вероятно, участвуют в регуляции бактериальных процессов. Другая группа msRNA внутриклеточных патогенов обнаружена в цитоплазме инфицированных эукариотических клеток, и есть доказательства участия эукариотических ферментов (Dicer, Ago2) в их процессинге. Можно предположить, что такие msRNA способствуют адаптации бактерий к внутриклеточному персистированию.

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как патогенные, так и непатогенные бактерии в течение своего жизненного цикла сталкиваются

с множеством биотических и абиотических стрессов, которые играют ключевую роль в их выживании, распространении и формировании эволюционных траекторий. Биотические стрессы связаны с живыми компонентами окружающей среды – это иммунные реакции организма-хозяина в контексте патогенеза, бактериофаги, а также другие организмы, оказывающие давление на бактериальные популяции или конкурирующие с ними. Абиотические стрессы представляют собой факторы неживой природы: колебания температуры, изменение кислотности и солености среды, радиация, дефицит питательных веществ и др. Для успешного преодоления этих воздействий бактерии должны реагировать не только эффективно, но и быстро.

В ходе эволюции бактерии выработали широкий спектр адаптивных механизмов, среди которых особое место занимают малые некодирующие РНК – они отличаются высокой эффективностью, скоростью действия и низкими энергозатратами. Особенно интересно и перспективно с практической точки зрения то, что нкРНК внутриклеточных бактериальных патогенов способны непосредственно модулировать экспрессию эукариотических генов, адаптируя иммунный ответ хозяина в свою пользу. Воздействие на эти нкРНК может стать основой для разработки антимикробных средств нового поколения.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и образования РФ (соглашение № 075-15-2021-1049).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая обзорная статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов. Информированное согласие не требовалось.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы ЮВС и АСГ внесли равный вклад в написание статьи.

Концептуализация –ЮВС и ТЛА; АСГ; написание статьи – ЮВС, ОСБ, АСГ, ТЛА; анализ данных – ЮВС, ОСБ, АСГ, ТЛА; администрирование проекта – ТЛА.

Все авторы дали одобрение на окончательный вариант рукописи.

ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Eichner H., Karlsson J., Loh E.* // Trends Microbiol. 2022. V. 30. P. 959–972. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2022.03.007>
2. *Marek M.S., Johnson-Buck A., Walter N.G.* // Phys. Chem. Chem. Phys. 2011. V. 13. P. 11524–11537. <https://doi.org/10.1039/C1CP20576E>
3. *Карпов А.С., Елкина Д.А., Орецкая Т.С., Кубарева Е.А.* // Биоорг. химия. 2023. V. 49. P. 555–574. <https://doi.org/10.31857/S0132342323060088>
4. *Saberi F., Kamali M., Najafi A., Yazdanparast A., Moghaddam M.M.* // Cell. Mol. Biol. Lett. 2016. V. 21. P. 1–17. <https://doi.org/10.1186/s11658-016-0007-z>
5. *Kawano M., Aravind Á., Storz G.* // Mol. Microbiol. 2007. V. 64. P. 738–754. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05688.x>
6. *Quendera A.P., Seixas A.F., Dos Santos R.F., Santos I., Silva J.P., Arraiano C.M., Andrade J.M.* // Front. Mol. Biosci. 2020. V. 7. P. 78. <https://doi.org/10.3389/fmolsb.2020.00078>
7. *Watkins D., Arya D.P.* // Non-coding RNA Investig. 2019. V. 3. P. 28. <https://doi.org/10.21037/ncri.2019.10.02>
8. *Morfeldt E., Taylor D., von Gabain A., Arvidson S.* // EMBO J. 1995. V. 14. P. 4569. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb00136.x>
9. *Novick R.P., Ross H., Projan S., Kornblum J., Kreiswirth B., Moghazeh S.* // EMBO J. 1993. V. 12. P. 3967. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1993.tb06074.x>
10. *Chevalier C., Boisset S., Romilly C., Masquida B., Fechter P., Geissmann T., Vandenesch F., Romby P.* // PLoS Pathog. 2010. V. 6. P. e1000809. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000809>
11. *Huntzinger E., Boisset S., Saveanu C., Benito Y., Geissmann T., Namane A., Lina G., Etienne J., Ehresmann B., Ehresmann C.* // EMBO J. 2005. V. 24. P. 824–835. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600572>
12. *Papenfort K., Sun Y., Miyakoshi M., Vanderpool C.K., Vogel J.* // Cell. 2013. V. 153. P. 426–437. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.003>
13. *Kawamoto H., Koide Y., Morita T., Aiba H.* // Mol. Microbiol. 2006. V. 61. P. 1013–1022. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05288.x>
14. *Vanderpool C.K., Gottesman S.* // Mol. Microbiol. 2004. V. 54. P. 1076–1089. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04348.x>
15. *Wadler C.S., Vanderpool C.K.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. P. 20454–20459. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708102104>
16. *Giangrossi M., Prosseda G., Tran C.N., Brandi A., Colonna B., Falconi M.* // Nucleic Acids Res. 2010. V. 38. P. 3362–3375. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq025>
17. *Udekwu K.I., Darfeuille F., Vogel J., Reimegård J., Holmqvist E., Wagner E.G.H.* // Genes Dev. 2005. V. 19. P. 2355–2366. <https://doi.org/10.1101/gad.354405>
18. *Leiva L.E., Katz A.* // Microorganisms. 2022. V. 10. P. 723. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040723>
19. *Sharma C.M., Darfeuille F., Plantinga T.H., Vogel J.* // Genes Dev. 2007. V. 21. P. 2804–2817. <https://doi.org/10.1101/gad.447207>
20. *Pfeiffer V., Papenfort K., Lucchini S., Hinton J.C., Vogel J.* // Nat. Struct. Mol. Biol. 2009. V. 16. P. 840–846. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1631>
21. *Bandyra K.J., Said N., Pfeiffer V., Górná M.W., Vogel J., Luisi B.F.* // Mol. Cell. 2012. V. 47. P. 943–953. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.07.015>
22. *Věcerék B., Moll I., Bläsi U.* // EMBO J. 2007. V. 26. P. 965–975. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601553>
23. *Sonnleitner E., Gonzalez N., Sorger-Domenigg T., Heeb S., Richter A.S., Backofen R., Williams P., Hüttenhofer A., Haas D., Bläsi U.* // Mol. Microbiol. 2011. V. 80. P. 868–885. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2011.07620.x>
24. *Prévost K., Desnoyers G., Jacques J.-F., Lavoie F., Massé E.* // Genes Dev. 2011. V. 25. P. 385–396. <https://doi.org/10.1101/gad.2001711>
25. *Brownlee G.* // Nature New Biol. 1971. V. 229. P. 147–149. <https://doi.org/10.1038/newbio229147a0>
26. *Burenina O.Y., Elkina D.A., Hartmann R.K., Oretskaya T.S., Kubareva E.A.* // Biochemistry (Moscow). 2015. V. 80. P. 1429–1446. <https://doi.org/10.1134/S0006297915110048>
27. *Wassarman K.M., Storz G.* // Cell. 2000. V. 101. P. 613–623. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80873-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80873-9)
28. *Liu M.Y., Gui G., Wei B., Preston J.F., Oakford L., Yuksel U., Giedroc D.P., Romeo T.* // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. P. 17502–17510. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.28.17502>
29. *Baker C.S., Morozov I., Suzuki K., Romeo T., Babitzke P.* // Mol. Microbiol. 2002. V. 44. P. 1599–1610. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02982.x>
30. *Lalaouna D., Eyraud A., Devinck A., Prévost K., Massé E.* // Mol. Microbiol. 2019. V. 111. P. 473–486. <https://doi.org/10.1111/mmi.14168>
31. *Miyakoshi M., Chao Y., Vogel J.* // EMBO J. 2015. V. 34. P. 1478–1492.

32. *Pagliuso A., Tham T.N., Allemand E., Robertin S., Dupuy B., Bertrand Q., Becavin C., Koutero M., Najburg V., Nahori M.A., Tangy F., Stavru F., Bessonov S., Dessen A., Muchardt C., Lebreton A., Komarova A.V., Cossart P.* // *Cell Host Microbe*. 2019. V. 26. P. 823–835.e11. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.10.004>

33. *Abdullah Z., Schlee M., Roth S., Mraheil M.A., Barchet W., Bottcher J., Hain T., Geiger S., Hayakawa Y., Fritz J.H., Civril F., Hopfner K.P., Kurts C., Rueland J., Hartmann G., Chakraborty T., Knolle P.A.* // *EMBO J.* 2012. V. 31. P. 4153–4164. <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.274>

34. *Cheng Y., Schorey J.S.* // *J. Exp. Med.* 2018. V. 215. P. 2919–2935. <https://doi.org/10.1084/jem.20180508>

35. *Bychenko O.S., Khrulev A.A., Svetlova J.I., Tsvetkov V.B., Kamzeeva P.N., Skvortsova Y.V., Tupertsev B.S., Ivanov I.A., Aseev L.V., Khodarovich Y.M., Belyaev E.S., Kozlovskaia L.I., Zatsepin T.S., Azhikina T.L., Varizhuk A.M., Aralov A.V.* // *Nucleic Acids Res.* 2023. V. 51. P. 2586–2601. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad100>

36. *Schwechheimer C., Kuehn M.J.* // *Nat. Rev. Microbiol.* 2015. V. 13. P. 605–619. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3525>

37. *Gurung M., Moon D.C., Choi C.W., Lee J.H., Bae Y.C., Kim J., Lee Y.C., Seol S.Y., Cho D.T., Kim S.I.* // *PLoS One*. 2011. V. 6. P. e27958. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027958>

38. *Prados-Rosales R., Baena A., Martinez L.R., Luque-Garcia J., Kalscheuer R., Veeraraghavan U., Camara C., Nosanchuk J.D., Besra G.S., Chen B.* // *J. Clin. Invest.* 2011. V. 121. P. 1471–1483.

39. *Mashburn L.M., Whiteley M.* // *Nature*. 2005. V. 437. P. 422–425. <https://doi.org/10.1038/nature03925>

40. *Thuan Tong T., Mörgelin M., Forsgren A., Riesbeck K.* // *J. Infect. Dis.* 2007. V. 195. P. 1661–1670. <https://doi.org/10.1086/517611>

41. *Kesty N.C., Mason K.M., Reedy M., Miller S.E., Kuehn M.J.* // *EMBO J.* 2004. V. 23. P. 4538–4549. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600471>

42. *Tashiro Y., Yawata Y., Toyofuku M., Uchiyama H., Nomura N.* // *Microbes Environ.* 2013. V. 28. P. 13–24. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME12167>

43. *Guerrero-Mandujano A., Hernández-Cortez C., Ibarra J.A., Castro-Escarpulli G.* // *Traffic*. 2017. V. 18. P. 425–432. <https://doi.org/10.1111/tra.12488>

44. *Caruana J.C., Walper S.A.* // *Front. Microbiol.* 2020. V. 11. P. 432. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00432>

45. *O'Donoghue E.J., Krachler A.M.* // *Cell. Microbiol.* 2016. V. 18. P. 1508–1517. <https://doi.org/10.1111/cmi.12655>

46. *Kaparakis-Liaskos M., Ferrero R.L.* // *Nat. Rev. Immunol.* 2015. V. 15. P. 375–387. <https://doi.org/10.1038/nri3837>

47. *Patten D.A., Hussein E., Davies S.P., Humphreys P.N., Collett A.* // *Microbiology*. 2017. V. 163. P. 702–711. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000468>

48. *Skerniškytė J., Karazijaitytė E., Lučiūnaitė A., Sužiedėlienė E.* // *Pathogens*. 2021. V. 10. P. 407. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040407>

49. *Dorward D.W., Garon C.F., Judd R.C.* // *J. Bacteriol.* 1989. V. 171. P. 2499–2505. <https://doi.org/10.1128/jb.171.5.2499-2505.1989>

50. *Alvarez-Erviti L., Seow Y., Yin H., Betts C., Lakhai S., Wood M.J.* // *Nat. Biotechnol.* 2011. V. 29. P. 341–345. <https://doi.org/10.1038/nbt.1807>

51. *Wood M., Yin H., McClorey G.* // *PLoS Genet.* 2007. V. 3. P. e109. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030109>

52. *Biller S.J., Schubotz F., Roggensack S.E., Thompson A.W., Summons R.E., Chisholm S.W.* // *Science*. 2014. V. 343. P. 183–186. <https://doi.org/10.1126/science.1243457>

53. *Sjöström A.E., Sandblad L., Uhlin B.E., Wai S.N.* // *Sci Rep.* 2015. V. 5. P. 15329. <https://doi.org/10.1038/srep15329>

54. *Ghosal A., Upadhyaya B.B., Fritz J.V., Heintz-Buschart A., Desai M.S., Yusuf D., Huang D., Baumuratov A., Wang K., Galas D., Wilmes P.* // *Microbiology Open*. 2015. V. 4. P. 252–266. <https://doi.org/10.1002/mbo3.235>

55. *Blenkiron C., Simonov D., Muthukaruppan A., Tsai P., Dauros P., Green S., Hong J., Print C.G., Swift S., Phillips A.R.* // *PLoS One*. 2016. V. 11. P. e0160440. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160440>

56. *Choi H.I., Kim M., Jeon J., Han J.K., Kim K.S.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017. V. 490. P. 991–996. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.06.152>

57. *Malabirade A., Habier J., Heintz-Buschart A., May P., Godet J., Halder R., Etheridge A., Galas D., Wilmes P., Fritz J.V.* // *Front Microbiol.* 2018. V. 9. P. 2015. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02015>

58. *Choi J.S., Kim W., Suk S., Park H., Bak G., Yoon J., Lee Y.* // *RNA Biol.* 2018. V. 15. P. 1319–1335. <https://doi.org/10.1080/15476286.2018.1532252>

59. *Resch U., Tsatsaronis J.A., Le Rhun A., Stübiger G., Rohde M., Kasvandik S., Holzmeister S., Tinnefeld P., Wai S.N., Charpentier E.* // *mBio*. 2016. V. 7. P. e00207-16. <https://doi.org/10.1128/mBio.00207-16>

60. *Rodriguez B.V., Kuehn M.J.* // *Sci Rep.* 2020. V. 10. P. 18293. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75123-9>

61. *Buck A.H., Coakley G., Simbari F., McSorley H.J., Quintana J.F., Le Bihan T., Kumar S., Abreu-Goodger C., Lear M., Harcus Y., Ceroni A., Bayayan S.A., Blaxter M., Ivens A., Maizels R.M.* // *Nat Commun.* 2014. V. 5. P. 5488. <https://doi.org/10.1038/ncomms6488>

62. Koeppen K., Hampton T.H., Jarek M., Scharfe M., Gerber S.A., Mielcarz D.W., Demers E.G., Dolben E.L., Hammond J.H., Hogan D.A., Stanton B.A. // PLoS Pathog. 2016. V. 12. P. e1005672.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005672>

63. Ho M.-H., Chen C.-H., Goodwin J.S., Wang B.-Y., Xie H. // PLoS One. 2015. V. 10. P. e0123448.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123448>

64. Joshi B., Singh B., Nadeem A., Askarian F., Wai S.N., Johannessen M., Hegstad K. // Front Mol Biosci. 2021. V. 7. P. 566207.
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.566207>

65. Xu H., Li H., Sun B., Sun L. // Curr. Res. Microb. Sci. 2024. V. 7. P. 100318.
<https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100318>

66. Garcia-Silva M.R., Cabrera-Cabrera F., das Neves R.F., Souto-Padron T., de Souza W., Cayota A. // Biomed. Res Int. 2014. V. 2014. P. 305239.
<https://doi.org/10.1155/2014/305239>

67. Sahr T., Escoll P., Rusniok C., Bui S., Pehau-Arnauudet G., Lavieu G., Buchrieser C. // Nat. Commun. 2022. V. 13. P. 762.
<https://doi.org/10.1038/s41467-022-28454-x>

68. Fan L., Liu B., Wang Y., Tang B., Xu T., Fu J., Wang C., Liu Y., Ge L., Wei H. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2024. V. 121. P. e2413241121.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2413241121>

69. Han E.-C., Choi S.-Y., Lee Y., Park J.-W., Hong S.-H., Lee H.-J. // FASEB J. 2019. V. 33. P. 13412.
<https://doi.org/10.1096/fj.201901575R>

70. Ha J.Y., Choi S.Y., Lee J.H., Hong S.H., Lee H.J. // Front Mol. Biosci. 2020. V. 7. P. 596366.
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.596366>

71. Dauros-Singorenko P., Hong J., Swift S., Phillips A., Blenkiron C. // Front Mol. Biosci. 2020. V. 7. P. 580913.
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.580913>

72. Moriano-Gutierrez S., Bongrand C., Essock-Burns T., Wu L., McFall-Ngai M.J., Ruby E.G. // PLoS Biol. 2020. V. 18. P. e3000934.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000934>

73. Luna-Acosta A., Breitwieser M., Renault T., Thomas-Guyon H. // Mar. Pollut. Bull. 2017. V. 122. P. 5–16.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.031>

74. Bloch S., Wegrzyn A., Wegrzyn G., Nejman-Falenczyk B. // Toxins (Basel). 2017. V. 9. P. 181.
<https://doi.org/10.3390/toxins9060181>

75. Mullany L.E., Herrick J.S., Wolff R.K., Slattery M.L. // PLoS One. 2016. V. 11. P. e0154177.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154177>

76. Kang S.-M., Choi J.-W., Lee Y., Hong S.-H., Lee H.-J. // Curr. Microbiol. 2013. V. 67. P. 609–613.
<https://doi.org/10.1007/s00284-013-0411-9>

77. Mao M.-Y., Yang Y.-M., Li K.-Z., Lei L., Li M., Yang Y., Tao X., Yin J.-X., Zhang R., Ma X.-R. // Front Microbiol. 2016. V. 7. P. 687.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00687>

78. Coskun F.S., Srivastava S., Raj P., Dozmorov I., Belkaya S., Mehra S., Golden N.A., Bucsan A.N., Chapagain M.L., Wakeland E.K. // Front Microbiol. 2020. V. 11. P. 1631.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01631>

79. Furuse Y., Finethy R., Saka H.A., Xet-Mull A.M., Sisk D.M., Smith K.L., Lee S., Coers J., Valdivia R.H., Tobin D.M., Cullen B.R. // PLoS One. 2014. V. 9. P. e106434.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106434>

80. Choi J.W., Kim S.C., Hong S.H., Lee H.J. // J. Dent. Res. 2017. V. 96. P. 458–466.
<https://doi.org/10.1177/0022034516685>

81. Gu H., Zhao C., Zhang T., Liang H., Wang X.M., Pan Y., Chen X., Zhao Q., Li D., Liu F., Zhang C.Y., Zen K. // Sci. Rep. 2017. V. 7. P. 2392.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-02669-1>

82. Cavanagh A.T., Wasserman K.M. // Annu. Rev. Microbiol. 2014. V. 68. P. 45–60.
<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092611-150135>

Small Non-Coding RNAs of Bacteria are Global Regulators of the Bacterial Life Cycle

Y. V. Skvortsova*, #, A. S. Grigorov*, O. S. Bychenko*, and T. L. Azhikina*

Phone: +7 (495) 330-69-92; e-mail: ju.skvortsova@gmail.com

* Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS,
ul. Miklukho-Maklaya, 16/10, Moscow, 117997 Russia

Bacteria utilize a wide range of regulatory systems to adapt to life in various environmental conditions. Among these regulators, small non-coding RNAs (ncRNAs) play a particularly important role. Acting primarily at the post-transcriptional level, small ncRNAs enable bacteria to rapidly adjust expression of genes in response to external stimuli. They participate in the regulation of virtually all cellular processes, including replication, transcription, translation, energy and general metabolism, antibiotic resistance, bacterial virulence, as well as mechanisms associated with bacterial pathogenesis. Bacterial small ncRNAs are capable of mediating interactions between the bacterium and the host organism, directly modulating the expression of eukaryotic genes (most often those related to the immune response). Thus, ncRNAs serve as universal and powerful regulatory elements that ensure the survival and active functioning of bacteria under any adverse conditions.

Keywords: bacterial non-coding RNAs, post-transcriptional regulation of expression, pathogen-host, vesicles, infection