

大肠杆菌 RNA 分子伴侣 Hfq 与 DsrA 和 *rpoS* 作用机制的研究进展 *

王丽君 王维维 龚庆国 吴季辉 施蕴渝 **

(中国科学技术大学合肥微尺度物质科学国家实验室(筹), 生命科学学院, 合肥 230026)

摘要 RNA 分子伴侣 Hfq 是细菌重要的转录后调节因子, 它能够帮助非编码 small RNA(sRNA)与目标 mRNA 配对. mRNA *rpoS* 编码的稳态 sigma 因子 σ^s 是大肠杆菌中应激响应的核心调控因子. 在低温下, Hfq 蛋白对于 sRNA DsrA 介导的 mRNA *rpoS* 的翻译激活是必需的. 然而, Hfq 使用何种机制来促进 sRNA 和 mRNA 配对一直有两种并不互斥的模型存在: Hfq 远侧和近侧两个表面同时结合 sRNA 和 mRNA, 使得两条 RNA 相互靠近, 便于形成碱基配对; Hfq 可能结合一条或者两条 RNA, 改变它们的二级结构或者三级结构, 从而促进 sRNA-mRNA 配对的实现. 最近的研究报道, 成功在体外捕捉到了 sRNA-Hfq-mRNA 三元复合物, 测定了 AU₆A-Hfq-A₇ 三元复合物的晶体结构, 并且在大肠杆菌体内证实了三元复合物的形成对于 Hfq 帮助 sRNA DsrA 激活 mRNA *rpoS* 的翻译是重要的. 本文以 sRNA DsrA 和 mRNA *rpoS* 为例综述了蛋白质 Hfq 与 RNA 的结合特性, 同时也讨论了 sRNA-Hfq-mRNA 三元复合物的存在对于研究 sRNA 介导的调控机制的一些启示.

关键词 Hfq, RNA 分子伴侣, sRNA DsrA, mRNA *rpoS*, Hfq-RNA 复合物晶体结构, 翻译激活

学科分类号 Q617

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00277

1 非编码小 RNA 调控细菌的应激响应

细菌为了应对外界环境的变化(如紫外照射、氧化应激、热休克、低温、高渗透压、磷脂糖毒性、铁离子浓度等)会产生许多非编码的小 RNA (sRNA). 这些 sRNA 的调控目标通常是在编码应激响应过程中发挥重要功能的蛋白质的 mRNA. 这种对外界环境变化的响应对细菌的生存是至关重要的. 在多数情况下, sRNA 的调控需要 RNA 分子伴侣 Hfq 的参与.

sRNA 对于 mRNA 翻译的调控方式是多种多样的. 一些 sRNA, 如 SgrS、RyhB 等, 在 Hfq 蛋白的帮助下, 能够与目标 mRNA 的核糖体结合位点 Shine-Dalgarno(SD)序列附近的碱基形成配对. 这样的配对会阻碍核糖体的结合和翻译的起始, 从而抑制目标 mRNA 的翻译. 在另一些情况下, RNA 酶 E(RNaseE)会被招募到 sRNA-Hfq-mRNA 复合体上并降解 mRNA, 从而实现对 mRNA 翻译的不可逆抑制. 一些 mRNA 的 5'非翻译区域(5'-untranslated region, 5'-UTR)会因为与自身的 SD

序列配对形成高级结构而不能与核糖体结合, 从而无法被翻译成蛋白质. DsrA、RprA 等 sRNA 会和这些 mRNA 的 5'-UTR 形成碱基配对, 并将自抑制的核糖体结合位点释放出来, 从而使得 mRNA 能够有效地与核糖体结合并被翻译成蛋白质. 还有一些 sRNA 能够与 mRNA 的 SD 序列形成完美的配对并抑制其与核糖体的结合, 同时 RNaseE 会将 mRNA 降解而实现对该 mRNA 的不可逆抑制. 其他一些 sRNA, 如 GlmY, 会直接与蛋白质相互作用而抑制其活性, 而 GadY, 则需要 Hfq 的帮助下, 与目标 mRNA 的 3'端配对并将原本不稳定的 mRNA 变得稳定, 从而使得其编码的蛋白质得以有效表达^[1].

* 国家重点基础研究发展计划(973)(2011CB966302, 2011CB911104), 自然科学基金面上项目(31270782)和中国科学院“引进杰出技术人才”计划资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0551-63607464, Fax: 0551-63603745, E-mail: yyshi@ustc.edu.cn

收稿日期: 2013-06-19, 接受日期: 2013-06-26

2 RNA 分子伴侣 Hfq

在大肠杆菌中, Hfq 最早是作为噬菌体 Q β 复制的管家因子被发现的. 早期研究发现 Hfq 结合在病毒 RNA 正义链富含胞嘧啶的 3' 端, 噬菌体 Q β 反义链需要结合 Hfq 来合成起始的复制酶. 20 世纪 90 年代初已有研究报道, Hfq 对于细菌自身生存也是重要的, 缺失了 *hfq* 基因的细菌在应激响应中的适应和修复能力显著降低, 病原菌的侵染力也会降低^[1]. 近年来, 研究表明 Hfq 是整个转录后调控网络里的核心成员, 它的存在大大促进了 sRNA 通过部分碱基配对对目标 mRNA 的调控过程. Hfq 介导的 sRNA 调控的生理机制最近得到了广泛的关注, 目前普遍认为 Hfq 在细菌体内结合 sRNA, 促进 sRNA 和目标 mRNA 的配对, 从而触发翻译水平的调控(激活、抑制或者降解).

Hfq 是属于(L)Sm 蛋白家族的一类蛋白质.(L)Sm 家族蛋白在原核生物、真核生物和古细菌中普遍存在, 该家族蛋白都具有保守的折叠方式: 即蛋白质折叠成一个 N 端的 α 螺旋(α 1)以及 5 个紧跟着的 β 片(β 1~5), 上述二级结构单元构成了所谓的(L)Sm 结构域. 在一级序列上, (L)Sm 结构域由两段保守序列构成: 前 3 个 β 片(β 1~3)构成的 Sm1 以及后 2 个 β 片(β 4~5)构成的 Sm2. 经典的真核生物 Sm (SmB/B'、SmD1、SmD2、SmD3、SmE、SmF、SmG)和 LSm(LSm1~8 和 LSm10、11)蛋白都组装成环状的异七聚体^[2]. 而在细菌中, Hfq 组装成同六聚体, 每个亚基由一个保守的 N 端 Sm 结构域和一个无结构的 C 端尾巴构成, 该 C 端尾巴的长度和序列在不同的物种间差别较大. 大肠杆菌中, 每个单体由 102 个氨基酸残基构成, 1~65 个氨基酸残基构成保守的 Sm 结构域, 66~102 个氨基酸则构成 C 端尾巴.

Hfq Sm 结构域六聚后呈圆盘状, 圆盘中心有孔. Hfq 蛋白 N 端的 α 螺旋(α 1)所在的一面比较不平整并带有大量的正电荷, 这一面被称为近侧(proximal side), 富含尿嘧啶(U-rich)的单链 RNA 能够结合到近侧靠近中心孔的结合口袋内, 多数 sRNA 都具有富含尿嘧啶的区域, 所以 Hfq 多用近侧与 sRNA 相互作用. 与近侧相对应的另外一面叫做远侧(distal side), 这一面相对比较平坦. 和近侧相似, Hfq 的远侧也带有大量的正电荷. 所以一个 Hfq 六聚体圆盘上有 2 个 RNA 结合表面, 分别能够结合富含尿嘧啶 U 和富含腺嘌呤 A 的单链

RNA. 由于富含 U 的序列是很多 sRNA 上的 Hfq 结合位点, 而富含 A 的序列则在 mRNA 的多聚腺嘌呤尾巴以及非翻译区域很常见, 因此人们很早就猜测, 一个 Hfq 六聚体有可能可以同时结合 sRNA 的富含 U 的序列以及 mRNA 的富含 A 的序列, 从而帮助两者的配对, 但是直接的结构证据一直未见报道. 直到最近, Hfq 同时结合富含 A 和富含 U 的 RNA 片段的复合物才在晶体结构中被捕捉到^[4]. 结构信息显示, 与先前推测的结果一致, 富含腺嘌呤的单链 RNA 结合在 Hfq 的远侧, 而富含尿嘧啶的单链 RNA 结合在 Hfq 的近侧. 该研究证实了 Hfq 的远侧和近侧确实可以同时结合两条单链 RNA.

3 低温下 sRNA DsrA 对 mRNA *rpoS* 翻译的调控

Sigma 因子是 RNA 聚合酶全酶的组成部分, 它是细菌内的转录起始因子, 决定着 RNA 聚合酶全酶与基因启动子之间的特异性相互作用. 在大肠杆菌中共有 7 个 Sigma 因子. σ^S 或称 σ^{38} 是由 mRNA *rpoS* 编码的 37.8 ku 的蛋白质. σ^S 是大肠杆菌对外界刺激的一般应激响应过程中的核心蛋白, 它控制着大肠杆菌在稳定期的很多应激响应过程^[5]. DsrA 是一种 87 个核苷酸组成的小 RNA, 它在低温下调节 *rpoS* 的有效翻译^[6-7]. 在没有激活因子(e.g. DsrA sRNA)存在时, mRNA *rpoS* 的 5' 非翻译区(5'-UTR)与翻译起始密码子附近的包括核糖体结合位点的序列形成高级结构, 使得核糖体不能有效地与该 mRNA 结合, 即 *rpoS* 处于无法翻译的自抑制状态. Hfq 会帮助 sRNA DsrA 第一个 stem loop 上的碱基与 *rpoS* 的 5'-UTR 区域配对, 从而将 *rpoS* 的核糖体结合位点暴露出来, 这样 mRNA *rpoS* 即进入了可以翻译的激活状态(图 1)^[8].

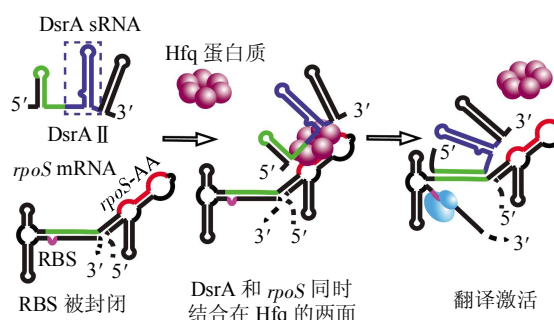


Fig. 1 Co-binding of Hfq to DsrA sRNA and *rpoS* mRNA is a possible mechanism of Hfq in mediating DsrA-dependent *rpoS* translation activation^[4]

图 1 Hfq 同时结合 DsrA 和 *rpoS*^[4]

这是 Hfq 帮助 DsrA 介导激活 *rpoS* 翻译的一种可能的机制.

4 Hfq 与 sRNA DsrA 中 AU₆A 的作用模式

近年来, 一系列 Hfq 与单链 RNA 复合物的晶体结构得到解析, 包括金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, Sa)Hfq 与 AU₅G 的复合物结构^[9], 伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*, St)Hfq 与 3' 端 U₆ 复合物结构^[10], 大肠杆菌 (*Escherichia coli*, Ec) Hfq 与多聚腺嘌呤 poly(A)₁₅ 的复合物结构^[11]和 Hfq 与 poly(A)₇ 的复合物结构^[4]. 这些复合物结构的解析揭示了 Hfq 蛋白和 sRNA 发生相互作用的结构基础. 尽管如此上述结构并未告诉我们 Hfq 与 DsrA 究竟是如何结合的. 最近大肠杆菌 Hfq 与 sRNA DsrA 的 U-rich AU₆A 序列结合的 AU₆A-Hfq-ADP 复合物的晶体结构得到解析. 在这个结构中(图 2a)^[12], Hfq 和天然底物序列 AU₆A 呈现了一种与以往报道的 Hfq-sRNA 结合模式不同的结合形式. 在该晶体结构中, ADP 占据了 Hfq 远端的 6 个嘌呤选择性结合位点(R site)中的 5 个, 剩下的 1 个位点被 AU₆A 5' 端的第一个腺嘌呤所占据, 而其 3' 端 3 个尿嘧啶和 1 个腺嘌呤则结合在另一个 Hfq 六聚体分子近端的尿嘧啶结合口袋里, 中间的 2 个尿嘧啶漂在 Hfq 中心圆孔的上方, 形成了一个 AU₆A 同时连接 2 个 Hfq 六聚体的“三明治”形式. AU₆A 5' 端的第一个腺嘌呤与 Hfq 远端结合的取向有利于 sRNA DsrA 5' 端延长的 A-rich 序列的结合. 而 AU₆A RNA 与 ADP 的结合并没有对 Hfq 蛋白质本身的结构造成显著的影响. AU₆A 同时结合 2 个 Hfq 六聚体的相互作用模式, 体现了在结合 AU₆A 时 2 个 Hfq 六聚体之间可能存在协同效应, 这一猜测通过体外荧光偏振实验、荧光共振能量转移 (fluorescence resonance energy transfer, FRET) 和顺磁弛豫增强 (paramagnetic relaxation enhancement, PRE) 实验得到了进一步的验证.

5 Hfq 介导的 sRNA DsrA 和 mRNA *rpoS* 相互作用及其功能意义

Hfq 在 sRNA 调控中发挥着重要作用, 但是对 Hfq 使用何种机制来促进 sRNA 和 mRNA 配对, 目前存在两种看法: a. Hfq 使用它的近侧和远侧分别结合 sRNA 和 mRNA, 形成三元复合物. 两条 RNA 同时结合在 Hfq 上使得它们彼此靠近, 便于形成碱基配对. b. Hfq 可能结合 1 个或者 2 个 RNAs, 改变它们的二级结构或者三级结构, 从而促进 sRNA-mRNA 配对的实现^[13]. 这两种机制并不

互斥, 可能同时存在于 Hfq 介导的 sRNA 对 mRNA 的调控过程中.

已有研究报道 Hfq 会和 mRNA *rpoS* 5'-非翻译区域的 poly(A)₆ 和 (AAN)₄ 序列结合, 并且这种结合对于 sRNA 调控 *rpoS* 的翻译是很重要的^[14]. 另外在 Hfq 介导的 *rpoS*-DsrA 配对过程中, 有研究发现, Hfq、mRNA *rpoS* 和 sRNA DsrA 可以形成两种三元复合物: 一种是稳定的三元复合物, 即 mRNA *rpoS* 和 sRNA DsrA 形成配对的双链, Hfq 则结合在其中一种 RNA (如 *rpoS*) 上; 第二种是不稳定的瞬态三元复合物, 即 DsrA 和 *rpoS* 同时结合在 Hfq 的两个面上. 这种瞬态三元复合物是不稳定的, 随即发生的 *rpoS* 和 DsrA 相互配对会破坏该三元复合物, 因此它可能仅存在于 mRNA 和 sRNA 相遇的初期^[15-16]. 虽然瞬态三元复合物存在的时间可能极短, 但它却可以潜在地提高 mRNA 和 sRNA 发生相互配对的效率, 因此对于 sRNA DsrA 发挥调控功能是重要的. 然而由于这种瞬态三元复合物的不稳定性, 很长时间都缺乏直接的证据来表明这种三元复合物的存在. 曾经有研究表明, 通过将 poly(A)₁₈、DsrAD II (DsrA 的片段: 核苷酸 23~60) 和 Hfq 化学交联在一起, 用质谱技术可以检测到 1:1:1 三元复合物的存在, 然而这种复合物在溶液里也是不稳定的^[17]. 最近, 王维维等通过凝胶电泳迁移技术 (electrophoretic mobility shift assay, EMSA), 使用 DsrA II (含有 Hfq 结合的 AU₆A 和 DsrA 第二个 stem loop) 和 *rpoS*-AA (*rpoS* 5' 非翻译区域与 Hfq 结合的序列, 含有 poly(A)₆ 和 (AAN)₄ 核苷酸序列, 在体外观察到稳定的三元复合物, 由于 DsrA II 和 *rpoS*-AA 并不包含会形成碱基配对的序列, 因此在实验中观察到的三元复合物是由 Hfq 介导的三元复合物. 进一步使用短的 AU₆A 和 poly(A)₇ 单链 RNA 与 Hfq 共结晶, 王维维等获得了 AU₆A-Hfq-A₇ 三元复合物的晶体结构 (图 2b). 这个三元复合物在突变了 Hfq 任何一面的结合位点后, 在体外都无法检测到三元复合物的形成, 并且这些结合位点的突变体在大肠杆菌体内会明显降低 mRNA *rpoS* 的翻译水平 (图 2c). 这些结果都表明在 Hfq 促进 *rpoS*-DsrA 的配对过程中, Hfq 介导的三元复合物的形成对于 Hfq 帮助 DsrA 激活 *rpoS* mRNA 的翻译是重要的^[4]. 这些结果也表明王维维等获得的 AU₆A-Hfq-A₇ 三元复合物的结构在很大程度上模拟了 Hfq 帮助 DsrA 与 *rpoS* 配对过程中 Hfq 同时与二者结合形成的亚稳的中间态.

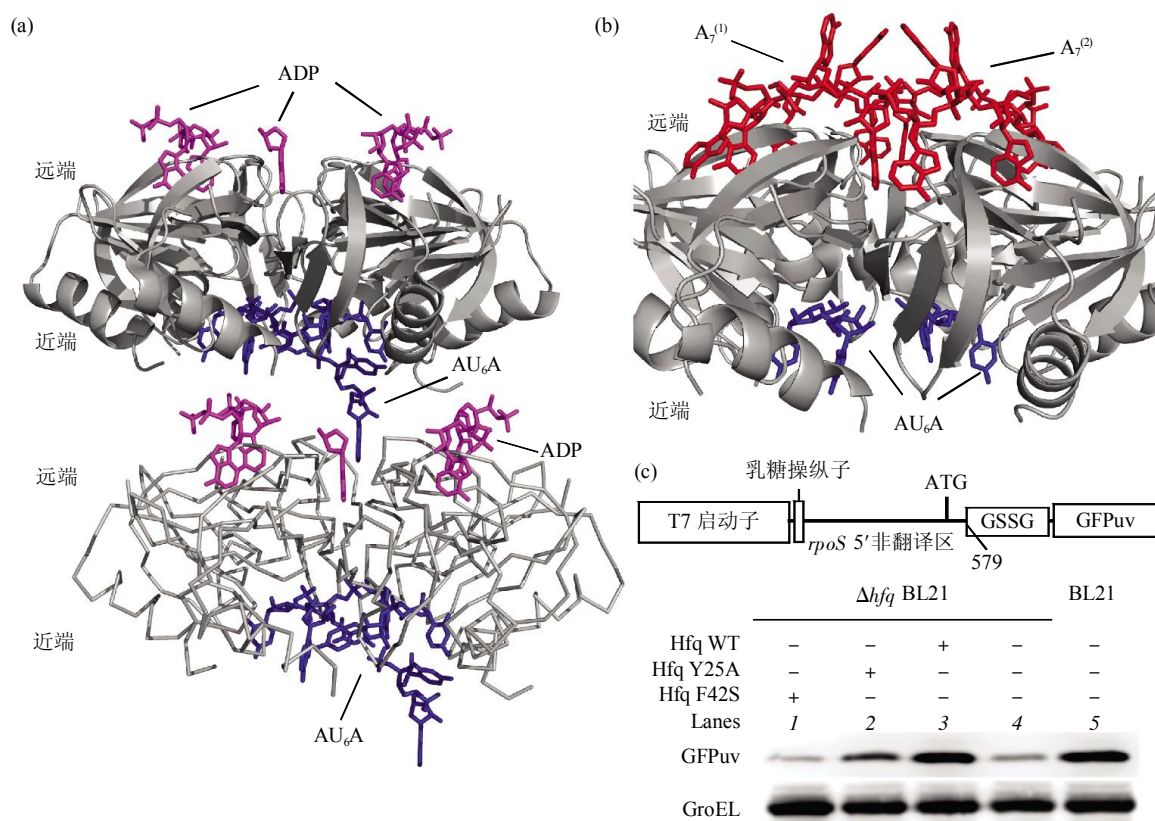


Fig. 2 At low temperatures, the mRNA *ropS* efficient translation requires Hfq binding to DSrA and *rpoS*^[4, 12]

图 2 Hfq 结合 DSrA 和 *rpoS*. 在低温条件下促进 *rpoS* 的翻译^[4, 12]

(a) AU₆A-Hfq-ADP 三元晶体复合物(PDB ID: 3RER)^[12]. (b) AU₆A-Hfq-A₇ 三元晶体复合物 (PDB ID: 4HT9)^[4]. (c) 在体内, Hfq 蛋白质的远侧和近侧的 RNA 结合位点对于 Hfq 帮助 DsrA 激活 *rpoS* 的翻译是重要的^[4]. 1~3: 在 Hfq 缺失菌株中分别转入 Hfq F42s 突变体、Hfq Y25A 突变体、Hfq WT 野生型; 4: Hfq 缺失菌株; 5: BL21 野生型菌株.

6 sRNA 和 mRNA 竞争导致的不稳定瞬态三元复合物

目前已知在体内 Hfq 参与了很多 sRNA 相关的重要调控过程, 然而 Hfq 在体内的量则是有限的^[18], 这就需要 Hfq 在与 RNA 结合发挥功能后可以快速释放循环使用. 另一方面, 研究发现, Hfq 与很多 RNA 的解离平衡常数都是纳摩尔级的, 显示二者可以形成很强的结合, 这似乎与 Hfq 在体内的快速循环使用是相矛盾的. 目前较为普遍接受的解释是, 这一过程的实现可能是通过 RNA 之间的竞争来实现的, 即一种竞争的 RNA 与已经形成的 Hfq-RNA 复合物瞬间接触, 然后前者与复合物上的 RNA 交换结合位点, 最终导致复合物上的 RNA 解离, 竞争 RNA 实现与 Hfq 的结合^[19]. 另外, 有体内实验证据显示大量的转录没有相对应靶标配对

RNA 的 sRNA 或者 mRNA 会饱和体内的 Hfq. 与之相对应的, 如果大量转录可以配对的 sRNA 和 mRNA, Hfq 则不会饱和, 这表明 sRNA-mRNA 配对的实现伴随着 Hfq 从结合的 RNA 上释放^[18], 并且这种释放会先于双链配对的形成^[20].

sRNA DsrA 上的 Hfq 结合位点和 DsrA 与 mRNA *rpoS* 配对的序列有部分重叠, 这也表明 DsrA-*rpoS* 配对的实现需要 sRNA DsrA 从 Hfq 上解离^[8]. 因而, 瞬态的三元复合物很可能是 DsrA-*rpoS* 形成配对前的中间状态, 伴随着配对的形成中间态三元复合物会被破坏, 这与报道的 EMSA 实验中高浓度的 RNA 加入会竞争掉三元复合物也是一致的^[4]. 此外, AU₆A-Hfq-A₇ 和 AU₆A-Hfq-ADP 复合物的晶体结构对比显示, A₇ 的结合位点与 AU₆A 5'端的腺嘌呤在 Hfq 远侧的结合位点是重合的, 这也暗示着 AU₆A 和 A₇ 会在 Hfq 远侧存在竞争结合的可能. 由于 mRNA *rpoS* 5'端非翻译区有更长

A-rich 区域, 相对于 sRNA DsrA 上 AU₆A 前面短的 A-rich 序列, mRNA *rpoS* 和 Hfq 远侧的亲合力会更强, 因此推测在体内存在的这种竞争可能在 DsrA 与 *rpoS* 配对过程中参与破坏 Hfq 与 DsrA 的结合, 从而促进了 DsrA-*rpoS* 配对的形成. 当然, 对这一机制的深入了解还需要更多的研究.

7 Hfq 侧面结合区域

除了 Hfq 的远侧和近侧是 RNA 的结合界面, 有研究发现 Hfq 六聚体圆盘的侧面带正电的保守区域也可以影响 Hfq 与 DNA、RNA 的相互作用^[21-22], 最近, Hfq 侧面也被发现是一个重要的结合界面, 能够与 sRNA 相互作用^[23], 体外的突变实验^[23]和核磁共振滴定实验时侧面氨基酸残基发生较大的扰动^[12, 20], 都表明了这一区域与 sRNA 存在相互作用. 体内实验也表明 Hfq 侧面区域的突变会影响 sRNA 的转录水平和 mRNA 的翻译效率^[24]. 在使用侧面区域的突变检测 DsrA-Hfq-*rpoS* 三元复合物的形成时, 二元复合物和三元复合物都检测不到^[4], 这暗示着带正电的边缘区域可能对 RNA 序列选择并不是像 Hfq 的远侧和近侧那样具有很强的特异性, 很可能侧面区域是用来增强 Hfq 与 RNA 的亲合力的. 然而这一带正电的侧面区域与 RNA 的相互作用究竟是否具有特异的选择性以及其具体的作用方式还需要深入的研究.

8 Hfq C 端区域

除了核心的 Sm 结构域, 在很多细菌中, Hfq 蛋白的 C 端都存在长短不一的延伸区域, 该区域在已有的高分辨率晶体结构中都是不可见的, 目前仅有一个低分辨率的 X 射线小角散射(small angle X-ray scattering, SAXS)研究显示全长的大肠杆菌 Hfq 的 C 端是高度柔性的、从 Sm 核心结构域的边缘部分向外延伸^[25]. Hfq 的 C 端含有较多带正电的氨基酸, 因此该区域有可能会影响 Hfq 和 RNA 的识别与结合. 然而, C 端区域的功能目前还是存在争议的, 有些研究发现 C 端区域对于 mRNA 的结合和核糖调控都是重要的^[26-28], 而另一些研究则报道并没有发现 C 端缺失会对核糖调控有影响^[29]. 在漫长的生物进化过程中, 有些细菌中的 Hfq 依然保留了很长的 C 端区域(例如: 大肠杆菌的 C 端区域有 37 个氨基酸, 占了全长的近 36%(37AA/102AA)), 因此这一区域的存在很有可能是有助于细菌生存的. 当然, 对其结构功能的理解需要更多深入的研究.

9 结论与展望

大量的研究表明, 在细菌 sRNA 对目标 mRNA 的调控过程中, Hfq 扮演了一个非常重要的角色. 近年来的研究显示, Hfq 与 sRNA 的相互作用是复杂的, 目前已经有的一些复合物晶体结构和生化实验数据均表明 Hfq 和 RNA 的识别与结合是一个复杂的过程. 然而, 在研究 Hfq(包括 C 端区域)和天然长度的 sRNA 和 mRNA 相互作用的结构基础时, 由于复合物本身的柔性和不均一性, Hfq 和全长 RNA 很难通过结晶的方式获得高分辨率复合物结构, 因而设计和选用短的可以代替全长的 RNA 片段来研究它与 Hfq 的相互作用仍然是获得高分辨率复合物结构的首选. 当然, 最终 Hfq-RNA 的所有生化性质都需要在体内获得证实.

此外, 近年来, 随着生物大分子核磁共振技术的发展, 甲基选择性标记、顺磁弛豫增强(paramagnetic relaxation enhancement, PRE)、赝接触化学位移(pseudo contact shift, PCS)技术广泛应用于蛋白质的研究中. 对于 Hfq C 端的柔性区域, 可以将相关核磁共振技术和体外生化实验以及体内功能实验相结合, 研究该区域与 Sm 结构域之间的相互作用, 从而进一步阐释 Hfq C 端的功能机制.

参 考 文 献

- [1] Liu J M, Camilli A. A broadening world of bacterial small RNAs. *Curr Opin Microbiol*, 2010, **13**(1): 18-23
- [2] Tsui H C T, Leung H C E, Winkler M E. Characterization of broadly pleiotropic phenotypes caused by an Hfq insertion mutation in *Escherichia-Coli*-K-12. *Molecular Microbiology*, 1994, **13**(1): 35-49
- [3] Wilusz C J, Wilusz J. Eukaryotic Lsm proteins: lessons from bacteria. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, **12**(12): 1031-1036
- [4] Wang W, Wang L, Wu J, *et al.* Hfq-bridged ternary complex is important for translation activation of *rpoS* by DsrA. *Nucleic Acids Res*, 2013, **41**(11): 5938-5948
- [5] Hengge-Aronis R. Stationary phase gene regulation: what makes an *Escherichia coli* promoter sigmaS-selective?. *Curr Opin Microbiol*, 2002, **5**(6): 591-595
- [6] Lease R A, Cusick M E, Belfort M. Riboregulation in *Escherichia coli*: DsrA RNA acts by RNA:RNA interactions at multiple loci. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(21): 12456-12461
- [7] Majdalani N, Cunnig C, Sledjeski D, *et al.* DsrA RNA regulates translation of *rpoS* message by an anti-antisense mechanism, independent of its action as an antisilencer of transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(21): 12462-12467
- [8] Lease R A, Woodson S A. Cycling of the Sm-like protein Hfq on the DsrA small regulatory RNA. *J Mol Biol*, 2004, **344**(5): 1211-

- 1223
- [9] Schumacher M A, Pearson R F, Moller T, *et al.* Structures of the pleiotropic translational regulator Hfq and an Hfq-RNA complex: a bacterial Sm-like protein. *EMBO J*, 2002, **21**(13): 3546–3556
- [10] Sauer E, Weichenrieder O. Structural basis for RNA 3'-end recognition by Hfq. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108** (32): 13065–13070
- [11] Link T M, Valentin-Hansen P, Brennan R G. Structure of *Escherichia coli* Hfq bound to polyribadenylate RNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(46): 19292–19297
- [12] Wang W, Wang L, Zou Y, *et al.* Cooperation of *Escherichia coli* Hfq hexamers in DsrA binding. *Genes Dev*, 2011, **25**(19): 2106–2117
- [13] Soper T J, Woodson S A. The *rpoS* mRNA leader recruits Hfq to facilitate annealing with DsrA sRNA. *RNA*, 2008, **14** (9): 1907–1917
- [14] Soper T, Mandin P, Majdalani N, *et al.* Positive regulation by small RNAs and the role of Hfq. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(21): 9602–9607
- [15] Vogel J, Luisi B F. Hfq and its constellation of RNA. *Nat Rev Microbiol*, 2011, **9**(8): 578–589
- [16] Soper T J, Doxzen K, Woodson S A. Major role for mRNA binding and restructuring in sRNA recruitment by Hfq. *RNA*, 2011, **17**(8): 1544–1550
- [17] Updegrove T B, Correia J J, Chen Y, *et al.* The stoichiometry of the *Escherichia coli* Hfq protein bound to RNA. *RNA*, 2011, **17** (3): 489–500
- [18] Hussein R, Lim H N. Disruption of small RNA signaling caused by competition for Hfq. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(3): 1110–1115
- [19] Fender A, Elf J, Hampel K, *et al.* RNAs actively cycle on the Sm-like protein Hfq. *Genes Dev*, 2010, **24**(23): 2621–2626
- [20] Hopkins J F, Panja S, Woodson S A. Rapid binding and release of Hfq from ternary complexes during RNA annealing. *Nucleic Acids Res*, 2011, **39**(12): 5193–5202
- [21] Sun X, Wartell R M. *Escherichia coli* Hfq binds A18 and DsrA domain II with similar 2:1 Hfq6/RNA stoichiometry using different surface sites. *Biochemistry*, 2006, **45**(15): 4875–4887
- [22] Updegrove T B, Correia J J, Galletto R, *et al.* *E. coli* DNA associated with isolated Hfq interacts with Hfq's distal surface and C-terminal domain. *Biochim Biophys Acta*, 2010, **1799** (8): 588–596
- [23] Sauer E, Schmidt S, Weichenrieder O. Small RNA binding to the lateral surface of Hfq hexamers and structural rearrangements upon mRNA target recognition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(24): 9396–9401
- [24] Zhang A, Schu D J, Tjaden B C, *et al.* Mutations in interaction surfaces differentially impact *E. coli* Hfq association with small RNAs and their mRNA targets. *J Mol Biol*, 2013 (doi: 10.1016/j.jmb.2013.01.006; Epub ahead of print)
- [25] Beich-Frandsen M, Vecerek B, Konarev P V, *et al.* Structural insights into the dynamics and function of the C-terminus of the *E. coli* RNA chaperone Hfq. *Nucleic Acids Res*, 2011, **39** (11): 4900–4915
- [26] Vecerek B, Rajkowitsch L, Sonnleitner E, *et al.* The C-terminal domain of *Escherichia coli* Hfq is required for regulation. *Nucleic Acids Res*, 2008, **36**(1): 133–143
- [27] Salim N N, Faner M A, Philip J A, *et al.* Requirement of upstream Hfq-binding (ARN)_x elements in *glmS* and the Hfq C-terminal region for *GlmS* upregulation by sRNAs *GlmZ* and *GlmY*. *Nucleic Acids Res*, 2012, **40**(16): 8021–8032
- [28] Sonnleitner E, Napetschnig J, Afonyushkin T, *et al.* Functional effects of variants of the RNA chaperone Hfq. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **323**(3): 1017–1023
- [29] Olsen A S, Moller-Jensen J, Brennan R G, *et al.* C-terminally truncated derivatives of *Escherichia coli* Hfq are proficient in riboregulation. *J Mol Biol*, 2010, **404**(2): 173–182

Research Progress of *Escherichia coli* RNA Chaperone Hfq Interaction With DsrA and *rpoS**

WANG Li-Jun, WANG Wei-Wei, GONG Qing-Guo, WU Ji-Hui, SHI Yun-Yu

(Hefei National Laboratory for Physical Sciences at Microscale and School of Life Sciences,
University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstract Hfq is a bacterial post-transcriptional regulator. It facilitates base-pairing between sRNA and target mRNA. The mRNA *rpoS*, which encodes the master regulator σ^S of general stress response, requires Hfq-facilitated base pairing with DsrA small RNA for efficient translation at low temperatures. Two mutually non-exclusive mechanisms have been proposed to explain the process of how Hfq facilitates base pairing of sRNA DsrA to mRNA *rpoS*: Hfq may form ternary complex with two RNAs *via* co-binding to bring the RNA strands into close proximity for optimal annealing; Hfq may bind one or both RNAs, and change its (or their) secondary (or tertiary) structure to facilitate the RNA pairing. Recently, several complex crystal structures of AU₆A-Hfq-ATP, A₇-Hfq, and AU₆A-Hfq-A₇ were acquired, and interesting structural features were extracted from them to deepen our understanding in the RNA binding properties of Hfq and its RNA complexes. Furthermore, the formation of ternary complex sRNA-Hfq-mRNA is proved to be necessary for translation activation of *rpoS* mRNA *in vivo*. This mini-review summarizes some recent structural biology advances in the research of DsrA-regulated translation of *rpoS* and the biological implications of the transient ternary complex are discussed.

Key words Hfq, RNA chaperone, sRNA DsrA, mRNA *rpoS*, Hfq-RNA crystal structures, translation activation

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00277

* This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2011CB966302, 2011CB911104), The National Natural Science Foundation of China (31270782) and The "Outstanding Technical Talent" Project of Chinese Academy of Sciences.

**Corresponding author.

Tel: 86-551-63607464, Fax: 86-551-63603745, E-mail: yyshi@ustc.edu.cn

Received: June 19, 2013 Accepted: June 26, 2013