

非编码sRNA在细菌耐药机制方面的研究进展

洪守强 李娜 方鼎丽 王岱*

(分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室, 厦门大学, 厦门 361102)

摘要: 近年来的研究发现, 细菌应答抗生素压力时会产生特异的非编码小RNA(small RNA, sRNA)谱, 进而可能调控下游基因的表达, 帮助细菌克服抗生素压力。sRNA以各种方式调控细菌耐药相关基因(如抗生素转运蛋白、药物外排泵、细胞被膜的合成与修饰), 参与细菌耐药网络。因此, sRNA及其相关因子(如Hfq)可能被用作抗菌治疗的靶标。本文将从sRNA应答抗生素压力并产生抗生素耐药及其作为药物靶点的前景等方面, 综述sRNA在细菌耐药调控方面的研究进展。

关键词: 非编码sRNA; 细菌耐药; 药物靶点; Hfq

中图分类号: R9, Q933 文献标志码: A

DOI:10.13461/j.cnki.cja.006222

Research progress of non-coding small RNA in bacterial resistance mechanism

Hong Shou-qiang, Li Na, Fang Ding-li and Wang Dai

(State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, Xiamen University, Xiamen 361102)

Abstract Recent studies have found that bacteria respond with generating a special non-coding small RNA (small RNA, sRNA) repertoire to antibiotic stress, which may regulate the downstream gene and help the bacteria overcome the antibiotic challenge. Then, sRNA are involved in bacterial resistance network by regulating bacterial resistance related genes (such as antibiotic transporters, drug efflux pumps, synthesis and modification of cell envelope) in various ways. Thus, sRNA and its partners (such as Hfq) may be used as targets for antimicrobial therapy. In this review, we will address the role of sRNA in responding to antibiotic stress, generating antibiotic resistance and prospects as drug targets to elaborate the progress of sRNA in bacterial resistance regulation.

Key words Non-coding small RNA; Bacterial resistance; Drug target; Hfq

抗生素的不合理使用造成细菌耐药菌以及多重耐药菌株出现, 对人类健康生活以及临床医疗构成重大威胁, 而新型抗生素的研发面临困境, 人们迫切希望研制出新的抗菌药物和疗法。sRNA在已知研究的所有细菌中都有发现, 大多数sRNA是调控诸如群体感应、生物膜形成、迁移能力和致病因子等生理过程的转录后调控因子^[1-4]。

sRNA功能的发挥通常依赖于其伴侣蛋白Hfq或

结合蛋白ProQ、CsrA。在革兰阴性菌中, Hfq是促进sRNA-mRNA结合的环状蛋白质复合物, 大多数调节性sRNA的活性取决于它们与Hfq同源六聚体的结合^[5-6], 结合后的sRNA可以免受核糖核酸酶E的降解^[7]。此外, Hfq还可以通过封闭核糖体结合位点直接抑制翻译起始^[8], 在这种情况下, sRNA可以引导Hfq到作用靶点^[9-10]。而在革兰阳性菌中, sRNA的稳定性和功能似乎并不依赖于Hfq, 虽然革兰阳性菌在

收稿日期: 2017-11-08

基金项目: 国家自然科学基金(No. 31370166、No. 81473251和No. 81301474); 福建省自然科学基金(No. 2015J01345和No. 2014J01139);

厦门大学校长基金(No. 20720160060)

作者简介: 洪守强, 男, 生于1992年, 在读硕士研究生, 研究方向为病原微生物学, E-mail: hsq1208722162@163.com

*通讯作者, E-mail: daiwang@xmu.edu.cn

其基因组中有编码Hfq类似蛋白的基因,但这些蛋白质的作用尚不清楚^[11-12]。CsrA属于CsrA/RsmA家族,细菌sRNA通过GGA基序与其相互作用。在大肠埃希菌(*Escherichia coli*)中,sRNA CsrB/C和McaS阻断了翻译阻遏CsrA,进而调控下游的数百个mRNA^[13-14]。ProQ是ProQ/FinO家族中保守的丰富的RNA结合蛋白,广泛分布在 α -、 β -、 γ -变形菌(*Proteus bacillus vulgaris*)和大肠埃希菌,在鼠伤寒沙门菌(*Salmonella Typhimurium*)中,ProQ促进sRNA RaiZ与hupA mRNA结合,抑制HU- α 的合成^[15-17]。从上面的介绍可以初步看出,sRNA及其伴侣蛋白Hfq、结合蛋白ProQ和CsrA在调控细菌的生理过程中发挥着重要作用。本文将从sRNA如何参与细菌应答抗生素压力,如何建立细菌耐药,sRNA及其相关蛋白作为药物靶点的前景等方面对sRNA在耐药方面的研究进展进行综述,为新抗菌药物的研发提供新的方向和理论基础。

1 sRNA是细菌应答抗生素压力的关键

Wecke和Mascher等^[18]应用omics技术发现,非致死浓度(sub-MIC concentration)的抗生素引起细菌的转录组和蛋白质组化合物特异性的变化。这些变化有助于细菌产生抗生素耐受,从而克服生长抑制。

1.1 sRNA谱应答抗生素压力

初步的研究报告表明,在药物治疗后细菌的多种sRNA水平有所改变。例如,Sinel等^[19]首次对屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)中的sRNA与细菌耐药进行研究,在亚MIC达托霉素处理后,7种sRNA的表达受到影响,包括一个经实验证实的sRNA_0160,并且细菌对达托霉素的耐药水平也有增加。类似地,Yu等^[20]发现沙门菌(*Salmonella*)与肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)中,多种sRNA在氨苄青霉素、替加环素治疗后发生积累。随着研究的深入,发现抗生素治疗后细菌sRNA谱的变化要比预计的广泛得多。准确地说,将耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)用抗生素处理,会上调某些sRNA的表达水平,而且在多重耐药恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)中检测到140个候选的sRNA^[21-23]。值得注意的是,每种抗生素会产生其独特的sRNA表达谱,可能影响几种、数十种sRNA的表达^[22]。

1.2 sRNA广泛参与细菌耐药

Kim等^[24]最近以更新系统的方式评估sRNA的影响,向人们揭示了sRNA对细菌耐药调节的重要性。

他们通过测试过表达或缺失单个sRNA的大肠埃希菌株文库对各种临床相关抗生素的敏感性,以调查一般的sRNA对细菌耐药的影响。有趣的是,26个测试的sRNA中有17个过表达后影响大肠埃希菌对抗生素的敏感性。这些sRNA中的大多数在沙门菌中也产生相同的效果,表明这种潜在机制的保守性,只有少数相同的sRNA敲除株会产生相反的表型^[24-25]。研究者并没有给出解释,因为大量表达的Hfq依赖性sRNA可以螯合伴侣蛋白Hfq,间接与其他Hfq依赖性sRNA竞争来影响细菌耐药^[4,26]。这些发现都表明,细菌在抗生素压力下会协调几种、几十种sRNA与其他防御机制一起参与细菌应答抗生素压力的生理代谢过程。目前,sRNA谱的作用还需要进一步研究,以便确认其中的sRNA是否会影响细菌耐药的产生,是直接还是间接地起作用。

2 sRNA调控细菌耐药的机制

抗生素压力下产生的sRNA谱如何协调作用克服抗生素压力的机制尚不可知。但具体到单个sRNA时,它们可以通过表1中的作用机制管理细菌的各种生理过程(细胞被膜的合成与修饰、膜蛋白的合成、遗传信息的调控)来调控细菌耐药^[25]。

2.1 sRNA通过细胞被膜影响耐药

2.1.1 sRNA通过细胞被膜的合成影响耐药

Serra等^[27]发现表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallocatechin gallate, EGCG)一方面直接干扰curli菌毛组装成淀粉样纤维,另一方面通过促进 σ^F 依赖性的sRNA RybB的表达靶向csgD mRNA,进而降低CsgD(curli菌毛和纤维素生物合成的活化剂)的合成,最终抑制细胞被膜的形成,并影响生物膜介导的抗生素耐药和宿主防御。另外,sRNA GlmY/GlmZ也可以通过调控肠内细菌中葡糖胺-6-磷酸合成酶(glucosamine-6-phosphate synthase, GlmS)的合成调节细胞被膜的形成^[28](表1)。GlmS通过产生关键的代谢物葡糖胺-6-磷酸(glucosamine-6-phosphate, GlcN6P)启动细胞被膜的合成,GlmY/GlmZ随着这种代谢物的消耗不断积累,从而刺激glmS mRNA翻译以补充GlcN6P。这种机制还提供了针对抗生素(例如荣杆菌素,通过抑制GlmS起作用)的保护作用,其所导致的GlcN6P水平的下降诱导sRNA的表达,反过来又过表达GlmS,从而克服抗生素的生长抑制^[29]。

2.1.2 sRNA通过细胞被膜的修饰影响耐药

sRNA Sr006、MgrR通过介导对细胞被膜的修饰

表1 参与细菌耐药机制的sRNA
Tab. 1 The sRNA contributing to the bacterial resistance mechanism

微生物	sRNA	耐药/诱导剂	机制	引用
大肠埃希菌	DsrA	奥西西林、红霉素、新生霉素	上调MdtEF, 促进药物外排	[41]
大肠埃希菌	GcvB	D-环丝氨酸	下调CycA, 抑制药物积累	[34]
大肠埃希菌	MgrR	多黏菌素B	下调EptB, 促进多黏菌素B结合	[30]
大肠埃希菌	RybB	EGCG	促进RybB的表达, 抑制CsgD介导的生物膜合成	[27]
大肠埃希菌	RyhB	大肠菌素Ia	上调CirA, 促进药物积累	[10]
大肠埃希菌	SdsR (RyeB)	氨基西林	下调MutS, 产生耐药突变	[43]
大肠埃希菌	3'ETS ^{leuZ}	大肠菌素Ia	下调RyhB, 抑制其功能	[38]
大肠埃希菌	GcvB	抗生素	促进致突变修复的产生	[45]
大肠埃希菌、沙门菌	GlmY/GlmZ	溶杆菌素	促进GlmS的表达, 调控细胞被膜合成	[29]
大肠埃希菌、沙门菌	MicF	头孢菌素类, 诺氟沙星	下调OmpF, 抑制药物积累	[24]
大肠埃希菌、沙门菌	SdsR (RyeB)	喹诺酮类, 新生霉素	下调TolC, 促进药物积累	[24,40]
沙门菌	SroC	多黏菌素B	下调sRNA MgrR, 抑制多黏菌素B结合	[37]
铜绿假单胞菌	Sr0161	碳青霉烯类	下调OprD, 抑制药物积累	[18]
铜绿假单胞菌	Sr006	多黏菌素	促进PagL的表达	[18]
铜绿假单胞菌	PesA	环丙沙星	促进pyocin S3的表达	[42]
金黄色葡萄球菌	SprX(RsaOR)	糖肽类	抑制SpoVG合成	[46]

分别调控铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、大肠埃希菌对抗菌肽多黏菌素的敏感性^[18,30]。Zhang等^[18]发现,铜绿假单胞菌中的sRNA Sr006在没有Hfq的情况下,上调脂质A脱酰基酶-PagL,减少其促炎特性并对多黏菌素耐药。大肠埃希菌中,EptB是一种修饰磷酸乙醇胺和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的酶,修饰后的脂多糖净阴离子水平降低。sRNA MgrR靶向eptB mRNA并抑制其翻译,增加LPS的净阴离子电荷从而促进多黏菌素B的结合,提高对多黏菌素B敏感性^[30](表1)。

2.2 sRNA通过膜蛋白影响耐药

2.2.1 sRNA通过膜蛋白对药物的摄取影响耐药

在铜绿假单胞菌中,OprD是碳青霉烯类抗生素摄取的主要孔蛋白。Zhang等^[18]发现sRNA Sr0161靶向oprD mRNA抑制其合成导致细菌对美罗培南耐药。Sr0161还与三型分泌系统(type III secretion system, T3SS)的调节因子exsA mRNA相互作用导致T3SS装置和效应蛋白的组分合成阻断。sRNA RyhB、GcvB和MicF通过调节抗生素摄取所需的基因来调控大肠埃希菌的抗生素敏感性(表1)。大肠菌素是由一些大肠埃希菌株产生的特异针对大肠埃希菌的毒素。在铁匮乏的情况下,主调控因子Fur蛋白失活,sRNA ryhB的转录被激活,进而促进铁载体受体CirA合成,大肠菌素Ia在胞内积累,使大肠埃希菌对大肠菌素Ia的敏感性增强^[10]。类似的,sRNA MicF

靶向ompF mRNA抑制孔蛋白OmpF的合成^[31-33],药物摄取受阻,细菌对头孢菌素和诺氟沙星耐药^[24]。还有,cycA编码了一个转运甘氨酸,D-丙氨酸,D-丝氨酸和D-环丝氨酸的转运蛋白,而sRNA GcvB与cycA mRNA结合并抑制它的翻译,伴侣蛋白Hfq也参与其中,gcvB的缺失提高了细菌对D-环丝氨酸的敏感性^[34]。另一种被称为RNA“海绵”的sRNA,它们能够封闭不同的sRNA间接影响细菌耐药^[35-36](表1)。例如,sRNA SroC可以结合并封闭sRNA MgrR,所以当sroC缺失时,自由的MgrR水平增加,增强了鼠伤寒沙门菌对多黏菌素B的敏感性^[37]。类似的,在大肠埃希菌中,tRNA前体-3'ETS^{leuZ}被切除的间隔区与大肠埃希菌中其他sRNA互补配对,包括MicF和RyhB。因此,3'ETS^{leuZ}的突变使RyhB高水平表达,导致大肠埃希菌对大肠菌素Ia更加敏感^[25,38]。

2.2.2 sRNA通过膜蛋白对药物的外排影响耐药

另外几种sRNA通过调控药物外排泵基因参与耐药调控网络(表1)。在大肠埃希菌和沙门菌中,tolC编码外排泵的常见组分,包括外排亲脂性抗生素的广谱AcrAB系统,SdsR结合并抑制tolC mRNA的翻译,导致药物在胞内积累^[24,39-40]。因此,SdsR的过表达提高了细菌对新生霉素和几种喹诺酮类抗生素的敏感性^[24,40]。类似的,大肠埃希菌中的sRNA DsrA调节多种药物外排泵基因,mdtE是编码组成MdtEF外排泵的重要基因,DsrA的过表达促进MdtE的合成,加

速了药物从胞内的排出,使得细菌对苯唑西林,氯唑西林,红霉素,罗丹明6G和新生霉素等多种抗生素耐药^[41]。

2.3 sRNA通过改变遗传信息应答抗生素压力

Ferrara等^[42]发现,sRNA PesA促进铜绿假单胞菌中的pyocin S3的表达,其基因位点分别包含编码杀伤S3A和免疫S3I蛋白的两个结构基因*pyoS3A*和*pyoS3I*。有趣的是,*pesA*基因的缺失导致铜绿假单胞菌对紫外线辐射和环丙沙星的敏感性增加,显示出与*pyoS3A-I*缺失菌株相似的紫外线敏感性,这些结果表明pyocin S3参与DNA损伤修复及sRNA PesA对该功能存在调节作用。另一项研究中,非致死浓度的抗生素会激活大肠埃希菌的RpoS(一般压力应答反应的主调节因子)的表达,进而对下游基因进行调控,在适应环境过程中发挥关键作用^[43-44]。当 β -内酰胺类抗生素对细胞壁造成破坏时,Rcs(regulation of capsular synthesis)磷酸赖氨酸信号转导系统很快检测到,进而激活RpoS的表达(图1)。RpoS的诱导不仅能激活抵抗应激的基因,还可以上调DNA聚合酶IV(DNA PolIV),使细菌产生修复突变。另外,RpoS还激活了sRNA SdsR的表达,进而下调错配修复蛋白MutS,导致突变在胞内的不断积累^[43-44](图1)。这种机制一方面增加了遗传多样性,另一方面也可能导致细菌耐药突变的产生。而在前面这一应答反应

中,Rcs磷酸赖氨酸信号转导系统对RpoS的激活是间接产生的,sRNA也可能参与了对RpoS的调控。例如,致突变修复(mutagenic break repair, MBR)指的是一类以引入突变为代价修复DNA损伤的过程,Barreto等^[45]发现,在大肠埃希菌中,sRNA GcvB、DsrA和RprA在长期饥饿的环境下可以促进致突变修复的发生。其中,GcvB通过维持膜的完整性,抑制RpoE(膜压力应答 σ 因子)介导的膜应答反应,间接促进RpoS介导的一般压力反应和突变的产生。所以sRNA GcvB、DsrA和RprA也可能参与应答非致死浓度抗生素压力。在这类sRNA参与的细菌应激应答反应中,细菌的遗传信息迫于环境压力发生了突变(进化),从而获得了其耐药表型。

3 潜在的药物靶标

目前,以sRNA为靶标的感染治疗研究仍处于初级阶段。近来关于sRNA SprX通过碱基互补配对抑制SpoVG(Stage V sporulation protein G)的合成,从而调控金黄色葡萄球菌对糖肽抗生素敏感性的报告,表明这是治疗耐甲氧西林葡萄球菌(*Staphylococcus*)感染的宝贵药物,这也可能适用于其他病原菌^[46](表1)。针对sRNA的药物不会直接导致细菌死亡,却可以一定程度上减弱细菌对环境的耐受能力,适合与其他治疗方法联用。目前尚不清楚在体内能直接干扰sRNA功能的药物^[25],但是可以使用调控sRNA

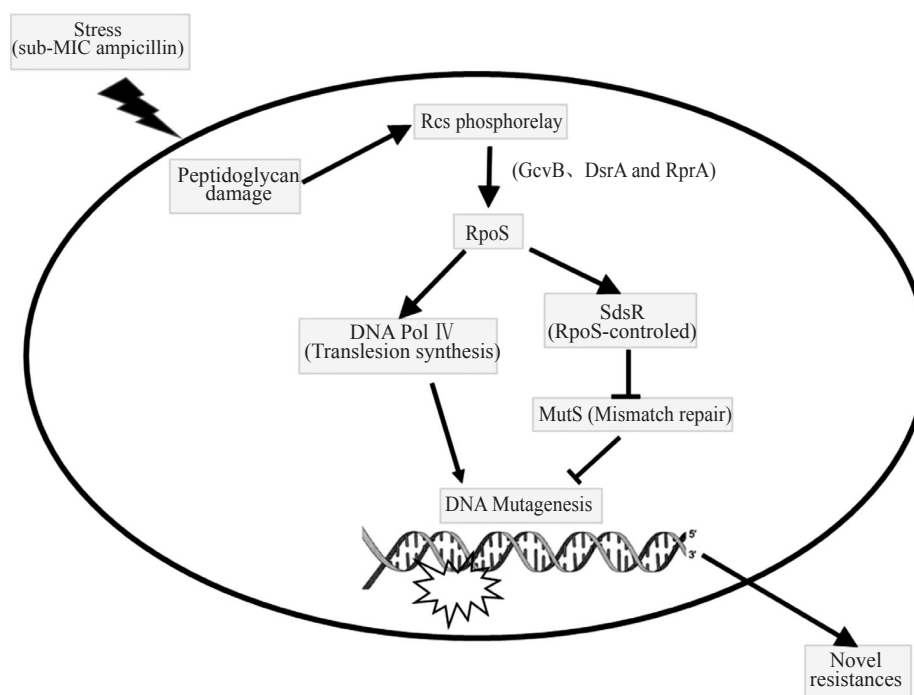


图1 sRNA参与大肠埃希菌对非致死浓度的氨苄青霉素的压力应答

Fig. 1 The stress response of *E. coli* to sublethal concentrations of ampicillin involves sRNA

水平的化合物来调节细菌耐药。如在前文提到的GlcN6P和EGCG, 添加不能代谢的GlcN6P类似物可以增加GlmS抑制剂的杀菌效力, 而EGCG可以作为佐剂, 在联合治疗当中降低细菌的耐药性。此外, Libis等^[47]以碱基互补配对原则为基础, 设计合成并通过M13噬菌体载体在大肠埃希菌中表达针对耐药靶基因的人工sRNA, 发现其能够提高大肠埃希菌对氯霉素和卡那霉素的敏感性。这也是利用sRNA进行感染治疗的另一种尝试。

针对sRNA伴侣蛋白Hfq的突变不仅减弱了细菌毒力, 更增加了细菌对抗生素的敏感性^[48]。但是, 由于许多sRNA都是Hfq依赖性的, 它们有着复杂的调控网络, 所以其直接缺失对细菌耐药基因的影响难以预测。但El-Mowafi等^[49]发现, RI20可以抑制Hfq-sRNA的相互作用, 进而不仅抑制了革兰阴性致病菌毒力基因的表达, 还提高了细菌对H₂O₂与抗生素的敏感性。此外, 预测的RI20与Hfq的近端位点结合也是大部分sRNA与Hfq结合所需的部位^[50]。因此, RI20可能全局性抑制Hfq与sRNA的相互作用, 进而抑制了细菌的毒力和抗生素耐药性。另一个sRNA结合蛋白CsrA在细菌中广泛存在, 并调控多种病原体中毒力因子的表达, 如分泌系统, 生物膜合成、群体感应和吞噬逃逸等^[51-52]。Maurer等^[53]通过基于表面等离子体共振技术和荧光偏振的竞争测定的两种方法寻找CsrA-RNA相互作用的抑制剂。最后他们发现黏液细菌代谢物最为有效, 而以RNA为基础的抑制剂GGA RNA可以模拟CsrA结合基序来抑制CsrA-RNA的相互作用。此类抑制剂的发现表明对伴侣蛋白进行功能抑制策略的可行性, 为之后的感染模型的建立提供了实验基础。ProQ作为新发现的sRNA结合蛋白, 目前其与抗生素耐药关系的研究还很少。

4 结论与展望

大量的创新性研究表明, 细菌中的sRNA在细菌耐药机制方面起着关键的作用。抗生素诱导产生的sRNA谱影响细菌耐药, 但其如何协调应答抗生素压力还有待研究。sRNA不仅参与复杂的生理代谢调控网络, 调控抗生素转运、药物外排泵的合成或与抗生素耐药相关的其他功能, 如细胞被膜的合成和修饰(表1), 更可以从基因层面改变遗传信息(表1)。同时, 以sRNA为靶标的药物研究还处于初始阶段, 调控sRNA水平的化合物-GlcN6P和EGCG有着联合用药的潜力, 而Hfq的活性抑制蛋白RI20适用于感染模型

的构建。sRNA参与细菌耐药机制的研究及以sRNA为靶标的治疗模型的尝试, 为新抗菌药物的研发提供新的方向和理论基础, 给了我们新的研究视角和启示。还有一些可能的耐药机制尚不清楚, 有待我们去进一步探索。例如, sRNA RyhB可以下调蛋氨酸硫氧化物还原酶B(methionine sulfoxide reductase B, MsrB), 抑制其修复活性氧(reactive oxygen species, ROS)造成的损伤^[54]。该作用与抗生素杀菌的共有通路(ROS)直接相关^[55-56], 所以sRNA、ROS和抗生素杀菌之间的关系还有待研究。相信在未来, 现在面临的问题都会得到圆满解决。

致谢: 感谢厦门大学分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室提供的研究平台, 感谢厦门大学公共卫生学院病原微生物与抗感染治疗课题组老师和同学在文献撰写方面提供的宝贵意见和帮助。

参考文献

- [1] Gottesman S, Storz G. Bacterial small RNA regulators: Versatile roles and rapidly evolving variations[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 3(12): a003798-a003798.
- [2] Storz G, Vogel J, Wassarman K M. Regulation by small RNAs in bacteria: expanding frontiers[J]. *Mol Cell*, 2011, 43(6): 880-891.
- [3] Mika F, Hengge R. Small regulatory RNAs in the control of motility and biofilm formation in *E. coli* and *Salmonella*[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3): 4560-4579.
- [4] Papenfort K, Vogel J. Small RNA functions in carbon metabolism and virulence of enteric pathogens[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2014, 4: 91.
- [5] Hopkins J F, Panja S, Woodson S A. Rapid binding and release of Hfq from ternary complexes during RNA annealing[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(12): 5193-5202.
- [6] Panja S, Woodson S A. Hfq proximity and orientation controls RNA annealing[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(17): 8690-8697.
- [7] Vogel J, Luisi B F. Hfq and its constellation of RNA[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9(8): 578-589.
- [8] Sonnleitner E, Blasi U. Regulation of Hfq by the RNA CrcZ in *Pseudomonas aeruginosa* carbon catabolite repression[J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(6): e1004440.
- [9] Desnoyers G, Masse E. Noncanonical repression of translation initiation through small RNA recruitment of the RNA chaperone Hfq[J]. *Genes Dev*, 2012, 26(7): 726-739.
- [10] Salvail H, Caron M P, Belanger J, et al. Antagonistic functions between the RNA chaperone Hfq and an sRNA regulate sensitivity to the antibiotic colicin[J]. *EMBO J*,

- 2013, 32(20): 2764-2778.
- [11] Bohn C, Rigoulay C, Bouloc P. No detectable effect of RNA-binding protein Hfq absence in *Staphylococcus aureus*[J]. *BMC Microbiol*, 2007, 7: 10.
- [12] Rochat T, Bouloc P, Yang Q, *et al.* Lack of interchangeability of Hfq-like proteins[J]. *Biochimie*, 2012, 94(7): 1554-1559.
- [13] Jorgensen M G, Thomason M K, Havelund J, *et al.* Dual function of the McaS small RNA in controlling biofilm formation[J]. *Genes Dev*, 2013, 27(10): 1132-1145.
- [14] Romeo T, Vakulskas C A, Babitzke P. Post-transcriptional regulation on a global scale: form and function of Csr/Rsm systems[J]. *Environ Microbiol*, 2013, 15(2): 313-324.
- [15] Attaiech L, Glover J N, Charpentier X. RNA Chaperones step out of Hfq's Shadow[J]. *Trends Microbiol*, 2017, 25(4): 247-249.
- [16] Olejniczak M, Storz G. ProQ/FinO-domain proteins: Another ubiquitous family of RNA matchmakers[J]. *Mol Microbiol*, 2017, 104(6): 905-915.
- [17] Smirnov A, Wang C, Drewry L L, *et al.* Molecular mechanism of mRNA repression in trans by a ProQ-dependent small RNA[J]. *EMBO J*, 2017, 36(8): 1029-1045.
- [18] Zhang Y F, Han K, Chandler C E, *et al.* Probing the sRNA regulatory landscape of *P. aeruginosa*: Post-transcriptional control of determinants of pathogenicity and antibiotic susceptibility[J]. *Mol Microbiol*, 2017, 106(6): 919-937..
- [19] Sinel C, Augagneur Y, Sassi M, *et al.* Small RNAs in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* involved in daptomycin response and resistance[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11067.
- [20] Yu J, Schneiders T. Tigecycline challenge triggers sRNA production in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium[J]. *BMC Microbiol*, 2012, 12: 195.
- [21] Howden B P, Beaume M, Harrison P F, *et al.* Analysis of the small RNA transcriptional response in multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* after antimicrobial exposure[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(8): 3864-3874.
- [22] Molina-Santiago C, Daddaoua A, Gomez-Lozano M, *et al.* Differential transcriptional response to antibiotics by *Pseudomonas putida* DOT-T1E[J]. *Environ Microbiol*, 2015, 17(9): 3251-3262.
- [23] Jeeves R E, Marriott A A, Pullan S T, *et al.* Mycobacterium tuberculosis is resistant to isoniazid at a slow growth rate by single nucleotide polymorphisms in katG codon ser³¹⁵[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138253.
- [24] Kim T, Bak G, Lee J, *et al.* Systematic analysis of the role of bacterial Hfq-interacting sRNAs in the response to antibiotics[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70(6): 1659-1668.
- [25] Dersch P, Khan M A, Muhlen S, *et al.* Roles of regulatory RNAs for antibiotic resistance in bacteria and their potential value as novel drug targets[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 803.
- [26] Moon K, Gottesman S. Competition among Hfq-binding small RNAs in *Escherichia coli*[J]. *Mol Microbiol*, 2011, 82(6): 1545-1562.
- [27] Serra D O, Mika F, Richter A M, *et al.* The green tea polyphenol EGCG inhibits *E. coli* biofilm formation by impairing amyloid curli fibre assembly and downregulating the biofilm regulator CsgD via the sigma (E)-dependent sRNA RybB[J]. *Mol Microbiol*, 2016, 101(1): 136-151.
- [28] Gopel Y, Khan M A, Gorke B. Menage a trois: Post-transcriptional control of the key enzyme for cell envelope synthesis by a base-pairing small RNA, an RNase adaptor protein, and a small RNA mimic[J]. *RNA Biol*, 2014, 11(5): 433-442.
- [29] Khan M A, Gopel Y, Milewski S, *et al.* Two small RNAs conserved in *Enterobacteriaceae* provide intrinsic resistance to antibiotics targeting the cell wall biosynthesis enzyme glucosamine-6-phosphate synthase[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 908.
- [30] Moon K, Gottesman S. A PhoQ/P-regulated small RNA regulates sensitivity of *Escherichia coli* to antimicrobial peptides[J]. *Mol Microbiol*, 2009, 74(6): 1314-1330.
- [31] Mizuno T, Chou M Y, Inouye M. A unique mechanism regulating gene expression: Translational inhibition by a complementary RNA transcript (micRNA)[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81(7): 1966-1970.
- [32] Andersen J, Forst S A, Zhao K, *et al.* The function of micF RNA. micF RNA is a major factor in the thermal regulation of OmpF protein in *Escherichia coli*[J]. *J Biol Chem*, 1989, 264(30): 17961-17970.
- [33] Andersen J, Delihans N. micF RNA binds to the 5' end of ompF mRNA and to a protein from *Escherichia coli*[J]. *Biochemistry*, 1990, 29(39): 9249-9256.
- [34] Pulvermacher S C, Stauffer L T, Stauffer G V. Role of the sRNA GcvB in regulation of cycA in *Escherichia coli*[J]. *Microbiology*, 2009, 155(Pt 1): 106-114.
- [35] Miyakoshi M, Chao Y, Vogel J. Cross talk between ABC transporter mRNAs via a target mRNA-derived sponge of the GcvB small RNA[J]. *EMBO J*, 2015, 34(11): 1478-1492.
- [36] Bossi L, Figueroa-Bossi N. Competing endogenous RNAs: A target-centric view of small RNA regulation in bacteria[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(12): 775-784.
- [37] Acuna L G, Barros M J, Penalzoza D, *et al.* A feed-forward loop between SroC and MgrR small RNAs modulates the expression of eptB and the susceptibility to polymyxin B in *Salmonella typhimurium*[J]. *Microbiology*, 2016, 162(11): 1996-2004.

- [38] Lalaouna D, Carrier M C, Semsey S, *et al.* A 3' external transcribed spacer in a tRNA transcript acts as a sponge for small RNAs to prevent transcriptional noise[J]. *Mol Cell*, 2015, 58(3): 393-405.
- [39] Frohlich K S, Haneke K, Papenfort K, *et al.* The target spectrum of SdsR small RNA in *Salmonella*[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(21): 10406-10422.
- [40] Parker A, Gottesman S. Small RNA regulation of TolC, the outer membrane component of bacterial multidrug transporters[J]. *J Bacteriol*, 2016, 198(7): 1101-1113.
- [41] Nishino K, Yamasaki S, Hayashi-Nishino M, *et al.* Effect of overexpression of small non-coding DsrA RNA on multidrug efflux in *Escherichia coli*[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(2): 291-296.
- [42] Ferrara S, Falcone M, Macchi R, *et al.* 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.
- [43] Gutierrez A, Laureti L, Crussard S, *et al.* Beta-lactam antibiotics promote bacterial mutagenesis via an RpoS-mediated reduction in replication fidelity[J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1610.
- [44] Mathieu A, Fleurier S, Frenoy A, *et al.* Discovery and function of a general core hormetic stress response in *E. coli* induced by sublethal concentrations of antibiotics[J]. *Cell Rep*, 2016, 17(1): 46-57.
- [45] Barreto B, Rogers E, Xia J, *et al.* The small RNA GcvB promotes mutagenic break repair by opposing the membrane stress response[J]. *J Bacteriol*, 2016, 198(24): 3296-3308.
- [46] Eyraud A, Tattevin P, Chabelskaya S, *et al.* A small RNA controls a protein regulator involved in antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(8): 4892-4905.
- [47] Libis V K, Bernheim A G, Basier C, *et al.* Silencing of antibiotic resistance in *E. coli* with engineered phage bearing small regulatory RNAs[J]. *ACS Synth Biol*, 2014, 3(12): 1003-1006.
- [48] Yamada J, Yamasaki S, Hirakawa H, *et al.* Impact of the RNA chaperone Hfq on multidrug resistance in *Escherichia coli*[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2010, 65(5): 853-858.
- [49] El-Mowafi S A, Alumasa J N, Ades S E, *et al.* Cell-based assay to identify inhibitors of the Hfq-sRNA regulatory pathway[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(9): 5500-5509.
- [50] Updegrove T B, Zhang A, Storz G. Hfq: The flexible RNA matchmaker[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2016, 30: 133-138.
- [51] Vakulskas C A, Potts A H, Babitzke P, *et al.* Regulation of bacterial virulence by Csr (Rsm) systems[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2015, 79(2): 193-224.
- [52] Heroven A K, Nuss A M, Dersch P. RNA-based mechanisms of virulence control in Enterobacteriaceae[J]. *RNA Biol*, 2017, 14(5): 471-487.
- [53] Maurer C K, Fruth M, Empting M, *et al.* Discovery of the first small-molecule CsrA-RNA interaction inhibitors using biophysical screening technologies[J]. *Future Med Chem*, 2016, 8(9): 931-947.
- [54] Bos J, Duverger Y, Thouvenot B, *et al.* The sRNA RyhB regulates the synthesis of the *Escherichia coli* methionine sulfoxide reductase MsrB but not MsrA[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63647.
- [55] Kohanski M A, Dwyer D J, Hayete B, *et al.* A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics[J]. *Cell*, 2007, 130(5): 797-810.
- [56] Kohanski M A, DePristo M A, Collins J J. Sublethal antibiotic treatment leads to multidrug resistance via radical-induced mutagenesis[J]. *Mol Cell*, 2010, 37(3): 311-320.