

张家莉, 令狐远凤, 段世宇, 等. 鼠伤寒沙门菌 sRNA SdsR 靶基因的预测及验证分析 [J]. 福建农业学报, 2022, 37 (4): 439–444.
ZHANG J L, LINGHU Y F, DUAN S Y, et al. Prediction and Verification of sRNA SdsR Target Genes in *Salmonella typhimurium* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 37 (4): 439–444.

鼠伤寒沙门菌 sRNA SdsR 靶基因的预测及验证分析

张家莉^{1,2}, 令狐远凤^{1,2}, 段世宇^{1,2}, 潘永³, 杨琦^{1,2,4*}

(1. 贵州大学动物科学学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州大学动物疫病研究所, 贵州 贵阳 550025;
3. 贵州省农业科学院畜牧兽医研究所, 贵州 贵阳 550025; 4. 贵州省动物疫病研究室, 贵州 贵阳 550025)

摘要:【目的】筛选鼠伤寒沙门菌 sRNA SdsR 的靶基因, 为明确 sRNA 与靶基因的互作以及沙门菌的致病机制奠定基础。【方法】利用 TargetRNA2 软件预测 sRNA SdsR 的靶标, 基于前期的 sRNA SdsR 敲除后转录组测序结果, 将预测到的基因注释到 GO、KEGG 以及 eggNOG 数据库中进行分析, 通过 RT-qPCR 对预测到的杂交能量较高的部分靶基因进行验证。【结果】TargetRNA2 软件预测到 29 个靶标, 其中 *hemA*、*STM0951*、*mreC*、*STM1252*、*dcoC* 的杂交能量较高, 且能与 sRNA SdsR 有连续的碱基匹配, 分别与鼠伤寒沙门菌血红素合成、氧化还原过程、草酰乙酸脱羧酶的合成、膜的组成部分、细胞质蛋白的合成有关。RT-qPCR 结果显示, 相对于野生菌株 3409, 敲除 sRNA SdsR 后 *hemA*、*mreC* 的表达分别下调 0.70 和 0.39 倍; *STM0951*、*STM1252*、*dcoC* 的表达分别上调 0.51、0.35 和 1.86 倍。【结论】*hemA*、*STM0951*、*mreC*、*STM1252*、*dcoC* 基因很可能受 sRNA SdsR 的直接调控且对某些靶基因的表达有促进作用。

关键词: 鼠伤寒沙门菌; sRNA SdsR; TargetRNA2; 靶基因; 转录组测序

中图分类号: S 852.61

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2022) 04-0439-06

Prediction and Verification of sRNA SdsR Target Genes in *Salmonella typhimurium*

ZHANG Jiali^{1,2}, LINGHU Yuanfeng^{1,2}, DUAN Shiyu^{1,2}, PAN Yong³, YANG Qi^{1,2,4*}

(1. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. Institute of Animal Diseases, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China; 3. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Guizhou Academy of Agricultural Science, Guiyang, Guizhou 550025, China; 4. Guizhou Animal Disease Laboratory, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: 【Objective】Target genes of *Salmonella Typhimurium* sRNA SdsR were investigated to further understand the interactions between the sRNA and the target genes as well as the pathogenic mechanism of *S. typhimurium*. 【Method】The TargetRNA2 software was used to predict the target of sRNA SdsR in the pathogen. According to the results obtained in a previous sRNA SdsR knock-out transcriptome sequencing study, the predicted genes were annotated into GO, KEGG, and eggNOG databases for analysis. Those with high hybridization energy were further verified by RT-qPCR. 【Result】There were 29 targets predicted by TargetRNA2. Among them, *hemA*, *STM0951*, *mreC*, *STM1252*, and *dcoC* showed high hybridization energy with a possibility of having a continuous base to match the sRNA SdsR. They might be associated with the heme synthesis, redox process, oxaloacetate decarboxylase synthesis, and membrane components and cytoplasmic protein synthesis in *S. typhimurium*. The RT-qPCR showed, after sRNA SdsR knockout, *hemA* to be downregulated by 0.70 times and *mreC* 0.39 times, while *STM0951*, *STM1252*, and *dcoC* upregulated by 0.51, 0.35 and 1.86 times, respectively, over the wild strain 3409. 【Conclusion】It appeared that the genes identified in this study, including *hemA*, *STM0951*, *mreC*, *STM1252* and *dcoC*, could directly be regulated by the sRNA SdsR and might affect the expressions of some target genes.

Key words: *Salmonella Typhimurium*; sRNA SdsR; TargetRNA2; target gene; transcriptome sequencing

收稿日期: 2021-12-02 初稿; 2022-03-09 修改稿

作者简介: 张家莉 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 动物微生物 (E-mail: 1142153482@qq.com)

* 通信作者: 杨琦 (1983-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 动物微生物 (E-mail: yangqinmg@163.com)

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31760740、31602065)

0 引言

【研究意义】鼠伤寒沙门菌是一种常见的人畜共患病原菌，对我国的畜禽产业造成了严重的威胁。转录后水平的调控是调节细菌基因表达的重要方式，sRNA 通过分子内碱基配对与靶 mRNA 相互作用，通常通过隔离靶 mRNA 的核糖体结合位点（RBS）来调节翻译起始^[1]。揭示 sRNA 与靶基因的调控理论，找到沙门氏菌防控新方式，对保障人与畜牧业的健康发展具有重要意义。【前人研究进展】sRNA SdsR 以两种形式存在，一种是全长 100 nt sRNA，另一种是经过加工的 70 nt 分子^[2]。作为一种基因转录后调节因子，SdsR 影响细菌对压力条件的适应、毒力及生物膜形成^[3]。SdsR 是固定相 sigma 因子 (σ^S) 调节子的成员，通过有限且不完美的碱基互补配对与靶 mRNA 结合^[4]，结合区域常为相邻的 6~8 个碱基^[5]。Fröhlich 等^[6]确定并验证了 *ompD* mRNA 为 SdsR 的直接目标。之后通过 SdsR 脉冲表达与全基因组转录组学相结合，发现了 20 个以前未知的 SdsR 候选靶标，其中有 18 个靶标受 SdsR 的依赖性调节^[7]。【本研究切入点】*sdsR* 基因几乎存在于所有肠杆菌基因组中，说明 sRNA 一定存在额外的、保守的靶基因。TargetRNA2 是建立在 TargetRNA^[8]、IntaRNA^[9]、RNApredator^[10] 之上的用于识别细菌中被 sRNA 调控的 mRNA 靶标，其特点是既准确又有效^[11]。然而有关鼠伤寒沙门菌 sRNA SdsR 靶基因的预测及验证的研究还有待深入进行。【拟解决的关键问题】本研究利用 TargetRNA2 软件预测 sRNA SdsR 的潜在靶标，结合前期对 sRNA SdsR 敲除后的转录组数据，将预测到的部分基因注释到 GO、KEGG 以及 eggNOG 数据库中进行分析，并利用 RT-qPCR 对部分预测靶基因进行验证，筛选出可能受 sRNA SdsR 直接调控的靶基因，为进一步明确鼠伤寒沙门菌 sRNA SdsR 的调控机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌株及质粒 野生型鼠伤寒沙门菌标准株 3409 由法国国家科学研究中心（CNRS）分子遗传学 Bossi 实验室惠赠；SdsR 敲除株（基因型为 $\Delta sdsR::cat$ ）由本实验室构建。

1.1.2 主要试剂及仪器 试剂：RNA 提取试剂盒购自贵州卓一生物科技有限公司，反转录试剂盒 [Recombinant NovoScript 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix (gDNA Purge)] 及荧光染料 AceQ Universal

SYBR qPCR Master Mix 均购自宏达尔生物科技有限公司，试剂均为分析纯。

仪器：荧光定量 PCR 仪（CFX Connect optics Module），美国 Bio-RAD 公司；微量核酸测定仪（Nano Photometer NP80），德国 Implen 公司。

1.2 TargetRNA2 预测 SdsR 靶标

进入 TargetRNA2 靶基因预测网站（<http://cs.wellesley.edu/~btjaden/TargetRNA2/>），输入 sRNA SdsR 序列，分析对象为沙门氏菌肠道亚种，鼠伤寒沙门杆菌血清型 LT2 染色体。勾选 sRNA conservation and accessibility。目标参数为从上游 80 NTs 到 mRNA 翻译起始位点下游的 20 NTs，sRNA 窗口大小为 13，杂交种子数为 7，*P* 值阈值为 0.05，过滤器尺寸为 400。点击 search，将预测到的结果导出并选择杂交能量最高的 5 个基因进行后续的试验。

1.3 预测基因的生物学信息分析

本实验室前期已经将鼠伤寒沙门菌 sRNA SdsR 基因敲除后进行转录组测序。转录组测序结果已注释到 GO、KEGG 以及 eggNOG 数据库中。将预测到的靶标定位在测序结果中，分析其涉及的信号通路、所行使的生物学功能、蛋白质功能及其分类。

1.4 预测基因的 RT-qPCR 验证

选择杂交能量较高的 5 个预测到的靶基因 *hemA*、*STM0951*、*mreC*、*STM1252*、*dcoC*，对其进行 RT-qPCR 验证。根据 GenBank 提供的基因序列设计相应的 RT-qPCR 引物（表 1），送上海生工生物工程有限公

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequence

引物名称 Primer name	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	预扩增片段长度 Pre-amplified fragment length/bp
<i>hemA</i> -F	ACGAATCTGCTCCGACTGAC	200
<i>hemA</i> -R	GCAAACCTGGCGAACGCTTAT	
<i>STM0951</i> -F	ACATTGAGCGGCGAGAAAGT	116
<i>STM0951</i> -R	ACCCACGATGTTATCCCGAC	
<i>mreC</i> -F	ACAACAGCAGCAGATAGCGT	173
<i>mreC</i> -R	CGATATTCGCGTTGGCGATG	
<i>STM1252</i> -F	ATGGCGAATCATGGCTACCG	85
<i>STM1252</i> -R	ATGCCGCCCTCGCTAATAAT	
<i>dcoC</i> -F	CGGTGCTATTAGGTGAAGGCT	87
<i>dcoC</i> -R	GGATGGCGAAAATCAGCAGG	
<i>GAPDH</i> -F	CCCAGATGGGATTAGCTAGTTG	133
<i>GAPDH</i> -R	ATTCCCCACTGCTGCTCCCGT	

司进行合成。以 SdsR 敲除株为试验组、3409 标准株为对照组，提取总 RNA 样本，反转录成 cDNA 后进行 RT-qPCR 试验，反应体系为：2×AceQ qPCR SYBR Green Master Mix 10 μL，上下游引物各 0.4 μL，50×ROX Reference Dye 1 0.4 μL，cDNA 2 μL，ddH₂O 7.8 μL；反应程序为：95 ℃ 0.5 min；95 ℃ 5 s，60 ℃ 0.5 min，39 个循环，每个样本重复 3 次。数据采用 2^{-ΔΔCT} 法进行处理。将得到的结果结合转录组数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 sRNA SdsR 靶标预测结果

Target RNA2 软件预测到 29 个靶标（表 2），其中 *hemA*、*STM0951*、*mreC*、*STM1252*、*dcoC* 的杂交能量较高。*hemA* 编码谷氨酰-tRNA 还原酶（Glutamyl-tRNA reductase），*STM0951* 编码细胞质蛋白（Cytoplasmic protein），*mreC* 编码杆状决定蛋白 MreC（Rod shape-determining protein MreC），*STM1252* 编码细胞质蛋白（Cytoplasmic protein），*dcoC* 编码草酰乙酸脱羧酶亚基 γ（Oxaloacetate decarboxylase subunit gamma）。

杂交能量较高的 5 个基因的靶位点的预测结果（表 3）显示：*STM0951* 与 *dcoC* 在 5'UTR 区域与 sRNA SdsR 形成了 4 个连续的碱基互补配对，而 *hemA*、*mreC*、*STM1252* 则是在 CDS 区域与 sRNA SdsR 发生大于 7 个碱基的连续或不连续的互补配对。该结果说明所选择的 5 个基因均能与 sRNA SdsR 形成连续的碱基互补配对，且可能存在其他有待发现的作用机制。

2.2 预测靶基因 GO、KEGG 和 eggNOG 数据库注释

将筛选到的 5 个潜在靶基因注释到 GO、KEGG 和 eggNOG 数据库中（表 4）。GO 数据库注释结果显示，在生物过程方面，*hemA* 主要参与原卟啉原 IX 生物合成过程、氧化还原过程，*STM0951* 只参与氧化还原过程，*mreC* 影响细胞形状的调节，*dcoC* 参与脂质代谢过程；在细胞成分方面，*merC* 和 *dcoC* 同时与膜的组成部分质膜相关；在分子功能方面，*hemA* 和 *STM0951* 同时涉及槲皮素 2,3-双加氧酶活性，而 *dcoC* 涉及钠离子跨膜转运蛋白活性、草酰乙酸脱羧酶活性、水解酶活性。*STM1252* 的生物学功能未被富集到。KEGG 数据库注释结果显示 *hemA* 与 *dcoC* 分别富集到卟啉和叶绿素代谢途径与丙酮酸代谢途径。eggNOG 数据库注释结果显示，筛选出的 5 个基因均可注释到 eggNOG 数据库中的直系同源蛋白功能分类。其中 *hemA*、*STM0951*、*mreC*、*STM1252*、*dcoC* 分别注释到辅酶转运和代谢、仅一般功能预测、细胞壁/膜/包膜生物发生、碳水化合物运输和代

表 2 TargetRNA2 软件预测结果
Table 2 Prediction by TargetRNA2

排名 Rank	基因ID Gene ID	符号 Symbol	能量 Energy	P值 P value
1	STM1777	<i>hemA</i>	-16.51	0.000
2	STM0951	—	-15.39	0.000
3	STM3373	<i>mreC</i>	-14.91	0.001
4	STM1252	—	-12.84	0.004
5	STM0766	<i>dcoC</i>	-11.91	0.008
6	STM3127	—	-11.74	0.009
7	STM4500	<i>yjhP</i>	-11.69	0.009
8	STM0715	—	-11.03	0.013
9	STM1088	<i>pipB</i>	-10.89	0.015
10	STM4583	<i>trpR</i>	-10.75	0.016
11	STM4599	<i>yjiY</i>	-10.68	0.016
12	STM1625	<i>ydcl</i>	-10.52	0.018
13	STM0691	—	-10.52	0.018
14	STM3543	<i>gntR</i>	-10.2	0.021
15	STM0317	<i>gpt</i>	-10.2	0.021
16	STM3533	—	-10.1	0.022
17	STM0246	<i>metI</i>	-10.08	0.022
18	STM1445	<i>slyB</i>	-9.89	0.025
19	STM0720	—	-9.7	0.027
20	STM4520	—	-9.67	0.027
21	STM3888	<i>yieP</i>	-9.66	0.027
22	STM2193	<i>folE</i>	-9.22	0.034
23	STM1440	<i>sodC</i>	-9.2	0.034
24	STM4089	<i>menG</i>	-9.14	0.035
25	STM0529	<i>fdrA</i>	-8.69	0.042
26	STM3203	<i>ygiM</i>	-8.66	0.043
27	STM3803	<i>yidF</i>	-8.54	0.045
28	STM3563	<i>livH</i>	-8.52	0.046
29	STM0051	<i>rihC</i>	-8.43	0.047

谢以及能源生产和转化几个分类中。表明上述基因可能参与细菌的新陈代谢以及基本的生命活动。结合转录组数据，sRNA SdsR 敲除后 *hemA*、*mreC* 分别下调 0.23 和 0.39 倍；*STM0951*、*STM1252*、*dcoC* 分别上调 0.51、0.35 和 1.86 倍。由此可见，*dcoC* 基因表达差异倍数最大，但表达倍数小于 2 且未达到差异阈值，其差异性需要进一步验证。

2.3 预测靶基因的 RT-qPCR 验证

对预测到的杂交能量较高的 5 个潜在靶基因进

表 3 靶位点预测结果
Table 3 Predicted target sites

mRNA	功能 Function	靶位点预测 Target site prediction
<i>hemA</i>	谷氨酰-tRNA还原酶 Glutamyl-tRNA reductase	SdsR 78 CGGUUGAAAAUCGCGUGCCG 59 <i>hemA</i> 4 ACC--CUUUUAGCGCUCGG-- 20
<i>STM0951</i>	细胞质蛋白 Cytoplasmic protein	SdsR 79 ACGGUUGAAAAUCGCGUGC 61 <i>STM0951</i> -80 AGCC-A-UUUUAGC-CACU -65
<i>mreC</i>	棒状决定蛋白质 MreC Rod shape-determining protein MreC	SdsR 79 ACGGUUGAAAAUCGCGU 63 <i>mreC</i> 5 AGCCAAUUUUUAGC-CG 20
<i>STM1252</i>	细胞质蛋白 Cytoplasmic protein	SdsR 71 AAUUCGCGUGCCGA 58 <i>STM1252</i> 6 AUUAGCGCUCGUCA 19
<i>dcoC</i>	草酰乙酸脱羧酶γ亚基 Oxaloacetate decarboxylase subunit gamma	SdsR 90 CGGACGUAAUUAACGGU 75 <i>dcoC</i> -60 CCUUCUAUUUAAUGCCU -45

表 4 预测靶基因 GO、KEGG 和 eggNOG 数据库注释结果
Table 4 Annotation of predicted target genes by GO, KEGG, and eggNOG databases

基因ID Gene ID	长度 Length/bp	log ₂ 变化倍数 log ₂ FC	符号 Symbol	GO富集分析 GO	KEGG富集 分析 KEGG	直系同源蛋白 分组比对 eggNOG	eggNOG 蛋白 功能分类 eggNOG Class
<i>STM1 777</i>	1 276	—0.236 124 007	<i>hemA</i>	生物过程（原卅啉原IX生物合成过程、氧化还原过程）；细胞成分（-）；分子功能（槲皮素2,3-双加氧酶活性）；	卅啉与叶绿素代谢	proNOG01837	H：辅酶转运与代谢
<i>STM0951</i>	868	0.509 384 983	<i>STM0951</i>	生物过程（氧化还原过程）；细胞成分（-）；分子功能（槲皮素2,3-双加氧酶活性）；	—	proNOG03931	R：仅适用于一般功能预测
<i>STM3373</i>	1 069	—0.391 500 147	<i>merC</i>	生物过程（细胞形状的调节）；细胞成分（膜的组成部分；质膜）；分子功能（-）；	—	COG1792; proNOG06657	M：细胞壁/膜/包膜生物发生
<i>STM1 252</i>	1 049	0.346 239 576	<i>STM1 252</i>	生物过程（-）；细胞成分（-）；分子功能（-）；	—	proNOG13117	G：碳水化合物运输和代谢
<i>STM0766</i>	245	1.855 584 795	<i>dcoC</i>	生物过程（脂质代谢过程）；细胞成分（质膜；膜的组成部分）；分子功能（钠离子跨膜转运蛋白活性、草酰乙酸脱羧酶活性、水解酶活性）；	丙酮酸代谢	proNOG71341	C：能源生产和转换

行 RT-qPCR 验证，结果（图 1）显示，*hemA*、*mreC*、*STM0951*、*STM1 252*、*dcoC* 与野生型沙门菌 LT2 相

比转录水平分别下调 0.70 倍、下调 0.59 倍、上调 1.34 倍、上调 0.47 倍和上调 2.46 倍。以上结果表明，*hemA*、*mreC*、*STM0951*、*STM1252*、*dcoC* 是本研究筛选被 sRNA SdsR 调控的靶基因。

3 讨论

sRNA SdsR 是伴侣蛋白 Hfq 依赖性 sRNA 中的一员，它在肠杆菌的保守性以及经过验证的靶标的生物学作用使得 SdsR 成为 sRNA 研究领域深入研究的主题。Choi 等^[12] 对 sRNA SdsR 进行 RNA-seq 来寻找 SdsR 驱动的细胞死亡的靶基因。虽然此方法能筛选到大量的潜在靶基因，但由于筛选到的基因总数

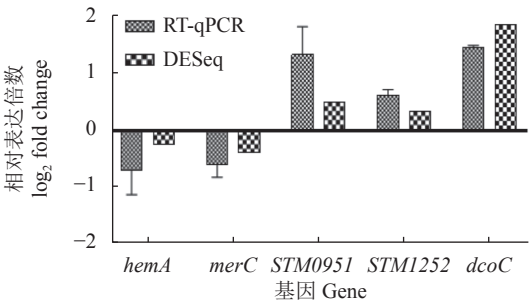


图 1 RT-qPCR 验证结果
Fig. 1 Results of RT-qPCR verification

太大, 验证 sRNA 直接调控的靶基因有着很大程度上的不确定性, 导致直接调控靶基因的确定较困难。TargetRNA2 在 sRNA 目标预测系统中具有独特的能力, 可以整合 RNA-seq 数据以提高预测结果。本研究采用 TargetRNA2 预测到 29 个靶基因, 选择其中的 5 个基因进行 RT-qPCR 验证, 结果发现 RT-qPCR 与 DESeq 的上下调趋势均相符, 但差异倍数不完全符合, 这可能与验证方法不同及仪器灵敏度差异有关, 且 RT-qPCR 检测结果整体高于 DESeq 检测结果, 说明荧光定量 PCR 的敏感性高于 DESeq 测序方法。以上结果表明这些基因可能受 SdsR 直接调控。很明显, 这种针对研究对象特性并结合软件预测的研究方法具有较高的筛选效率, 同时结合转录组测序的数据能极大提高靶基因的筛选效率。

SdsR 是 Hfq 依赖性 sRNA, Hfq 相关 sRNA 通常通过反式编码调节靶 mRNA, 导致在翻译、RNA 稳定性或两者水平上抑制或激活靶标^[13]。反式编码调控小 RNA 对靶 mRNA 的调控作用以负调节作用最为常见^[14]。在本次研究中, 筛选出的 5 个靶基因中 *hemA*、*merC* 的表达量下调, 说明在沙门菌中, SdsR 对某些靶基因的表达有促进作用, 其调控机制值得进一步深入研究。SdsR 与靶 mRNA 互补配对的位置通常位于其 5'UTR 靠近翻译的起始位点的区域, 而预测结果显示 SdsR 与 *hemA*、*mreC*、*STM1252* 的结合位点为起始密码子的 CDS 区, 这种结合方式并不常见。Verena Pfeiffer^[15]验证了与 Hfq 相关的 sRNA MicC 通过 CDS (密码子 23–26) 中的 r12-bp RNA 双链体沉默鼠伤寒沙门氏菌 *ompD* mRNA, 此外, *ArcZ-TPX*^[16]、*RybB-fdaL*^[17]、*SgrS-manX*^[18] 等都属于 sRNA 与靶基因的 CDS 区域相互作用。此机制已被证明是一种比以前认为的更为常见的机制。这些研究支撑了 *hemA*、*mreC*、*STM1252* 作为 SdsR 靶标的可能性。

TargetRNA2 预测到的 5 个基因中, *hemA* 编码谷氨酰-tRNA 还原酶^[19], 该酶是催化血红素生物合成途径中的第一个关键步骤。血红素可作为一种主要的铁来源, 铁是大多数生物包括细菌生命的必需营养元素^[20]。*STM0951* 基因 GO 富集到氧化还原过程, 鼠伤寒沙门菌作为需氧及兼性厌氧型细菌, 细菌的许多生命活动都会进行着复杂的氧化还原反应, 如呼吸作用、固氮作用及生物体内许多代谢活动。*merC* 与膜的组成部分质膜相关, *STM1252* 编码细胞质蛋白。*dcoC* 编码草酰乙酸脱羧酶亚基 γ , 草酰乙酸脱羧酶还有 α 、 β 另外两个亚基, 其具备钠离子转运功能; 另外, 研究还发现草酰乙酸脱羧酶对细菌的致病性及毒力起重要作用, 如在军团菌中草酰乙酸脱

羧酶突变导致其在宿主体内的增殖能力减弱^[21]。沙门菌作为重要的人畜共患病原菌, 掌握其 sRNA 与靶基因的互作方式及了解其靶基因的组织结构、生理功能等有利于人们应对沙门氏菌的威胁, 保证人类和动物的健康。

参考文献:

- [1] FRÖHLICH K S, PAPENFORT K. Regulation outside the box: New mechanisms for small RNAs [J]. *Molecular Microbiology*, 2020, 114 (3): 363–366.
- [2] RYAN D, MUKHERJEE M, SUAR M. The expanding targetome of small RNAs in *Salmonella* Typhimurium [J]. *Biochimie*, 2017, 137: 69–77.
- [3] WATERS L S, STORZ G. Regulatory RNAs in bacteria [J]. *Cell*, 2009, 136 (4): 615–628.
- [4] MELAMED S, PEER A, FAIGENBAUM-ROMM R, et al. Global mapping of small RNA-target interactions in bacteria [J]. *Molecular Cell*, 2016, 63 (5): 884–897.
- [5] BOUVIER M, SHARMA C M, MIKA F, et al. Small RNA binding to 5' mRNA coding region inhibits translational initiation [J]. *Molecular Cell*, 2008, 32 (6): 827–837.
- [6] FRÖHLICH K S, PAPENFORT K, BERGER A A, et al. A conserved RpoS-dependent small RNA controls the synthesis of major porin OmpD [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 40 (8): 3623–3640.
- [7] FRÖHLICH K S, HANEKE K, PAPENFORT K, et al. The target spectrum of SdsR small RNA in *Salmonella* [J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44 (21): 10406–10422.
- [8] TJADEN B, GOODWIN S S, OPDYKE J A, et al. Target prediction for small, noncoding RNAs in bacteria [J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34 (9): 2791–2802.
- [9] BUSCH A, RICHTER A S, BACKOFEN R. IntaRNA: efficient prediction of bacterial sRNA targets incorporating target site accessibility and seed regions [J]. *Bioinformatics*, 2008, 24 (24): 2849–2856.
- [10] EGGENHOFER F, TAHER H, STADLER P F, et al. RNApredator: fast accessibility-based prediction of sRNA targets [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39 (S2): W149–W154.
- [11] KERY M B, FELDMAN M, LIVNY J, et al. TargetRNA2: identifying targets of small regulatory RNAs in bacteria [J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42 (W1): W124–W129.
- [12] CHOI J S, KIM W, SUK S, et al. The small RNA, SdsR, acts as a novel type of toxin in *Escherichia coli* [J]. *RNA Biology*, 2018, 15 (10): 1319–1335.
- [13] VOGEL J, LUISI B F. Hfq and its constellation of RNA [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9 (8): 578–589.
- [14] MORITA T, MAKI K, AIBA H. RNase E-based ribonucleoprotein complexes: Mechanical basis of mRNA destabilization mediated by bacterial noncoding RNAs [J]. *Genes & Development*, 2005, 19 (18): 2176–2186.
- [15] PFEIFFER V, PAPENFORT K, LUCCHINI S, et al. Coding sequence

- targeting by MicC RNA reveals bacterial mRNA silencing downstream of translational initiation [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2009, 16 (8) : 840–846.
- [16] PAPENFORT K, SAID N, WELSINK T, et al. Specific and pleiotropic patterns of mRNA regulation by ArcZ, a conserved, Hfq-dependent small RNA [J]. *Molecular Microbiology*, 2009, 74 (1) : 139–158.
- [17] PAPENFORT K, BOUVIER M, MIKA F, et al. Evidence for an autonomous 5' target recognition domain in an Hfq-associated small RNA [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 (47) : 20435–20440.
- [18] RICE J B, VANDERPOOL C K. The small RNA SgrS controls sugar-phosphate accumulation by regulating multiple PTS genes [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39 (9) : 3806–3819.
- [19] WANG L, ELLIOTT M, ELLIOTT T. Conditional stability of the HemA protein (glutamyl-tRNA reductase) regulates heme biosynthesis in *Salmonella typhimurium* [J]. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181 (4) : 1211–1219.
- [20] 程兴军, 刘马峰, 程安春. 革兰氏阴性菌血红素转运系统结构及功能特点 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2014, 30 (9) : 848–855.
- CHENG X J, LIU M F, CHENG A C. Structural and functional properties of the heme acquisition system in gram-negative bacteria [J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 30 (9) : 848–855. (in Chinese)
- [21] MACHADO I, GARRIDO V, HERNANDEZ L I, et al. Rapid and specific detection of *Salmonella* infections using chemically modified nucleic acid probes [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1054: 157–166.

(责任编辑: 张梅)