



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 577.112.083

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12588

Поиск белков, сорбирующихся на некодирующие РНК гена *uxuR* в *Escherichia coli* K-12

Артемий Ильич Дахновец¹, Татьяна Александровна Бессонова^{2,3},
Ольга Николаевна Озолинь², Мария Николаевна Тутукина^{1-3✉}

¹Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия, tutukina@iitp.ru✉

²Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

³Институт проблем передачи информации РАН им. А.А. Харкевича, Москва, Россия

Аннотация. При изучении бактериальных геномов и транскриптомов обнаружено несколько сотен малых некодирующих РНК и тысячи внутригенных транскриптов, в том числе, антисмысловых. У *Escherichia coli* их отношение к общему количеству аннотированных генов может достигать 25%, но функциональное значение установлено менее, чем для двух десятков малых РНК. Кроме того, недавно было обнаружено, что бактерии способны секретировать РНК во внешнюю среду – такие РНК получили название экзоРНК. Подавляющая часть экзоРНК *E. coli* синтезируется из кодирующих областей генов метаболических регуляторов. Так, в конце гена фактора транскрипции UxuR, контролирующего метаболизм гексуронатов, закодировано, по меньшей мере, три регуляторных РНК трех типов – внутреклеточная антисмысловая, антисмыловая экзоРНК и сонаправленная РНК UxuT. В данной работе с помощью жидкостной хромато-масс-спектрометрии (LC/MS) были идентифицированы белки-партнеры этих РНК. Химически синтезированные аналоги РНК были конъюгированы с биотином и иммобилизованы на покрытые стрептавидином магнитные частицы. На них были специфически сорбированы белки лизата клеток *E. coli*, выращенных до экспоненциальной фазы в присутствии D-глюкозы или D-галактуроната. LC/MS спектрометрия выявила зависимость спектра сорбированных белков от источника углерода, но в комплексах со всеми малыми РНК были обнаружены белки метаболизма гексуронатов и шаперон SecB. Это может говорить об участии некодирующих РНК гена *uxuR* в регуляции углеводного обмена и определенной роли SecB в их транспорте.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, некодирующие РНК, экзоРНК, сорбция на магнитные шарики, LC/MS спектроскопия.

Благодарности: работа выполнена при поддержке РНФ 24-24-00435

Для цитирования: Дахновец А.И., Бессонова Т.А., Озолинь О.Н., Тутукина М.Н. Поиск белков, сорбирующихся на некодирующие РНК гена *uxuR* в *Escherichia coli* K-12 // Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 6. С. 1015-1022. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12588>

Original article

Search for the proteins bound to the non-coding RNAs synthesized from the *uxuR* gene in *Escherichia coli* K-12

Artemiy I. Dakhnovets¹, Tatiana A. Bessonova^{2,3}, Olga N. Ozoline², Maria N. Tutukina^{1-3✉}

¹Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russian Federation, tutukina@iitp.ru✉

²Institute of Cell Biophysics RAS, Pushchino, Russian Federation

³A.A. Kharkevich Institute for Information Transmission Problems RAS, Moscow, Russian Federation

Abstract. While studying bacterial genomes and transcriptomes, several hundreds of small non-coding RNAs (sRNAs) and thousands of intragenic transcripts were found, including antisense ones. In *Escherichia coli*, their ratio to the total amount of annotated genes can be up to 25%, but only for less than two dozen of sRNAs



functions were revealed. Furthermore, it was recently discovered that bacteria can secrete small RNA in the external environment; such RNAs were named exoRNAs. The majority of the *E. coli* exoRNAs are synthesized from within the coding regions of genes for metabolic regulators. UxuR is one of such regulators that controls hexuronate metabolism. In the end of its gene at least three regulatory RNAs are encoded, belonging to three different classes: intracellular antisense RNA, secreted antisense RNA (exoRNA), and *in-cys* sRNA UxuT. In this work, protein partners of these RNAs were identified using liquid chromatography-mass-spectrometry (LC/MS). Chemical lysyn the sized RNA analogs were conjugated with biotin and immobilized on the streptavidin-coated magnetic beads. Then, they were used for specific sorption of the proteins from the lysates of the *E. coli* cells grown to exponential phase on D-glucose or D-galacturonate. LC/MS demonstrated the dependence of the spectrum of the sorbed proteins on the carbon source, however all small RNAs formed complexes with the proteins of hexuronate metabolism, and the SecB chaperone. This could indicate involvement of the *uxuR*-derived non-coding RNAs in the regulation of carbohydrate metabolism and participation of SecB in their transport.

Keywords: *Escherichia coli*, non-coding RNAs, exoRNAs, sorption on magnetic beads, LC/MS spectrometry.

Acknowledgments: the work was carried out with the support of the Russian Science Foundation 24-24-00435).

For citation: Dakhnovets A.I., Bessonova T.A., Ozoline O.N., Tutukina M.N. Search for the proteins bound to the non-coding RNAs synthesized from the *uxuR* gene in *Escherichia coli* K-12. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(6): 1015-1022. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpcchrom.2024.24/12588>

Введение

За несколько десятилетий у бактерий было обнаружено несколько сотен малых некодирующих РНК и тысячи внутригенных транскриптов, в том числе, антисмыловых. У *E. coli* их отношение к общему количеству аннотированных генов может достигать 20-25% [1, 2], однако функциональное значение установлено менее чем для двух десятков [3]. Существуют работы, показывающие, что в прокариотических организмах большинство антисмыловых РНК являются побочными продуктами смысловой транскрипции [4, 5]. В то же время, для эукариотических организмов было показано, что антисмыловые РНК, закодированные в конце белок-кодирующих генов или в их 3'-нетранслируемых областях, могут подавлять уровень экспрессионного шума [6]. У прокариот фрагменты 3'-концов мРНК также могут выполнять регуляторную функцию – например, малая РНК CpxQ, имеющая длину 60 нуклеотидов и представляющая собой результат процессинга мРНК гена шаперона *cpxP* РНКазой E, способна ингибировать гены периплазматических белков [7].

Не так давно было обнаружено, что бактерии способны секретировать короткие РНК (экзоРНК, 13-24 нт) во внешнюю среду [8]. Функции экзоРНК пока не

до конца понятны. Есть основание предполагать, что они выполняют, в первую очередь, сигнальную функцию и отвечают за взаимодействие бактерий друг с другом [9-11] или с организмом хозяина, как это делают аналогичные по длине фрагменты транспортных РНК (tRFs) [12, 13]. tRFs есть и среди коротких РНК, секрецируемых кишечной палочкой, но преобладают фрагменты мРНК и антисмыловые им транскрипты – причем часто они образуют комплементарные дуплексы [14]. Удивительно, но подавляющая часть экзоРНК *E. coli* синтезируется из кодирующих областей генов метаболических регуляторов. Так, ранее нами было обнаружено, что в конце гена фактора транскрипции UxuR, контролирующего метabolizm гексуронатов, закодировано, по меньшей мере, три регуляторных РНК трех типов – внутриклеточная антисмыловая, антисмыловая экзоРНК и сонаправленная РНК UxuT, синтез которой начинается в 3'-некодирующей области гена [15]. Целью данной работы был поиск потенциальных белков-партнеров, сорбирующихся на эти РНК.

Экспериментальная часть

Для определения спектра белков, взаимодействующих с малыми РНК гена *uxuR*, была использована сорбция биотинилированных РНК-олигонуклеотидов на покрытые стрептавидином магнитные



Таблица 1. Названия и последовательности использованных биотинилированных олигонуклеотидов для детекции взаимодействующих с ними белков.

Table 1. Names and sequences of biotinylated oligonucleotides used for the detection of proteins interacting with them

Название олигонуклеотида	Последовательность
<i>ixuR</i> -aRNA	5'- Biotin- CUAAGUACCGGCGACCUAUU-3'
<i>ixuR</i> -aRNA дуплекс	5'- Biotin- CUAAGUACCGGCGACCUAUU-3' 3'-UUCAUGGCCGCUGGAUAAAGU-Biotin-5'
<i>ixuR</i> -exoRNA388	5'- Biotin-ACUCUUUGCGAUACAGGCUGUC-3'
UxuT	5'- Biotin- CAAGGGUAAAACGUUCCUUGCGCUIUCUAAA UUAAGAACGCAAUGAGUAUUACUUUGUAA AUUGCAGGGUAUUGUUU-3'
<i>ixuR</i> -388-shuffle (контроль)	5'- Biotin-AUUAGUACAUGUGGCCGCUUCC-3'
aPHK <i>ixuB</i> (контроль)	5'- Biotin- CGAACGGCACAAACGUCUGCAACGAACUGUG-3'

частицы. Биотинилированные аналоги малых РНК были синтезированы в компании «Евроген» (Россия). В качестве модельных были выбраны две антисмысловые РНК: внутриклеточная антисмысловая *ixuR*-aRNA и *ixuR*-exoRNA388 (где 388 – это количество прочтений данной экзоРНК в предварительном эксперименте [14]). Поскольку антисмыловые РНК часто присутствуют в клетке в виде дуплексов, в эксперимент также была взята *ixuR*-aRNA с комплементарной последовательностью. Третьей исследуемой РНК была малая РНК, транскрибуируемая с конца гена *ixuR* – UxuT [15]. В качестве контроля неспецифического связывания белков был выбран олигонуклеотид с последовательностью антисмылового участка гена *ixuB*, для которого не был найден промотор и на который не было картировано антисмыловых транскриптов, как минимум, коротких. Вторым контролем служила рандомизированная последовательность *ixuR*-exoRNA388, для которой не было совпадений в геноме кишечной палочки – *ixuR*-388-shuffle. Для получения уникальной рандомизированной последовательности использовалось веб-приложение Shuffle DNA (<http://www.bioinformatics.org/>)

sms2/shuffle_dna.html). Последовательности РНК-олигонуклеотидов приведены в таблице 1. Поскольку *ixuR* кодирует регулятор метаболизма гексуронатов, то для поиска белков-партнеров закодированных в нем малых РНК, были использованы клетки дикого типа *E. coli* K-12 MG1655, выращенных на D-глюкозе и D-галактуронате (минимальная среда M9+0.2% источника углерода, 37°C, аэробные условия, оптическая плотность OD600=0.2).

20 мл культуры центрифугировали в течение 10 минут при 6000 грт, после чего супернатант удаляли, а осадок промывали несколько раз однократным раствором фосфатно-солевого буфера, содержащим 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄ и 1.8 mM KH₂PO₄. Далее клетки ресуспендировали в 1 мл буфера 1xTENT (20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 2 mM EDTA (pH 8.0), 500 mM NaCl, 1% Triton X-100) с добавлением ингибитора протеаз фенилметилсульфонил фторида (PMSF). Образцы обрабатывали ультразвуком (12 циклов) на приборе BioRuptor Pico (Diagenode, Нидерланды) и осаждали при 13400 грт в течение 15 минут при +4°C. Концентрацию белков в супернатанте измеряли на спектрофотометре NanoDrop-1000 (США) и выравнивали



концентрации различных образцов. Затем к 100 мкл клеточного лизата добавляли 1 мкг очищенной биотинилированной РНК, 5 мкл диэтилпирокарбоната в качестве ингибитора РНКаз и буфер 1xTENT, после чего инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут при постоянном перемешивании. Далее в образцы добавляли 50 мкл подготовленных частиц DynabeadsTM M-280 Streptavidin (Thermo Fisher Scientific, США), после чего образцы снова инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут при постоянном перемешивании для сорбции на носитель. Для удаления неспецифически связанных белков пробы трижды промывали буфером 1xTENT. Для десорбции специфически связанных белков образцы ресусспендировали в 60 мкл буфера, содержащего 4% SDS, 0.2 М Tris-HCl (рН 6.8) и 20% глицерин, и инкубировали при 95°C в течение 5 минут при 1000 грт. Супернатант отбирали и хранили на +4°C до дальнейшего масс-спектрометрического анализа.

Для электрофоретического разделения белков был использован 12.5% полиакриламидный гель (ПААГ). Электрофорез проводили по стандартному протоколу, описанному ранее [16]. Гель окрашивали нитратом серебра [16]. Как видно из электрофореграммы на рисунке 1, спектр белков, сорбирующихся на различные РНК, в основном, различался как между олигонуклеотидами, так и между клетками, растущими в присутствии различных источников углерода. Для качественного анализа спектра белков, специфически сорбированных на различные типы РНК, в ЦКП протеомики Сколтеха был проведён их хромато-масс-спектрометрический анализ. Пробоподготовка осуществлялась в несколько этапов. На первом этапе образцы гидролизовали трипсином на фильтре S-trap. Полученные смывы собирали в стеклянной вставке для высокоеффективной жидкостной хроматографии с электрораспылительной иониза-

цией в режиме тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС), упаривали в вакуумном концентраторе и растворяли в 20 мкл 0.1% водного раствора муравьиной кислоты. После гидролиза осуществляли хромато-масс-спектрометрический анализ проб на ВЭЖХ системе Ultimate 3000 RSLC nano, соединенной с масс-спектрометром Q-Exactive HF-X. Масс-спектрометрический анализ проводили в режиме положительной ионизации с использованием источника NESI (Thermo Fisher Scientific, США).

Идентификацию белков проводили при помощи программы MaxQuant (<https://www.maxquant.org/>) с использованием поискового алгоритма Andromeda. Для идентификации белков использовали базу данных UniProt (<https://www.uniprot.org/>) *E. coli*. Белки рассматривались в качестве достоверно идентифицированных, если для них было обнаружено, по крайней мере, два пептида. Безметковая количественная оценка содержания белков происходила на основе iBAQ и LFQ.

Белки, связанные с каждой из исследуемых РНК, сравнивали с белками, сорбированными на контрольные олигонуклеотиды. В случае отсутствия белка среди множества, связавшихся с контрольными олигонуклеотидами, его считали уникальным для той или иной РНК. Визуализацию состава белков, связавшихся с каждым образцом, осуществляли с использованием пакета webr (<https://cran.r-project.org/web/packages/webr/index.html>) для языка программирования R.

Обсуждение результатов

Несмотря на то, визуально спектр белков, сорбированных на *ixuR*-exoRNA388 и ее shuffle версию был похожим (дорожки 8 и 9 на рис. 1), LC/MS спектрометрия выявила ряд белков, специфически связавшихся именно с ней (рис.2). Из рисунка видно, что, независимо от источника углерода, с экзоРНК связываются шаперон транспорта пре-белков SecB и

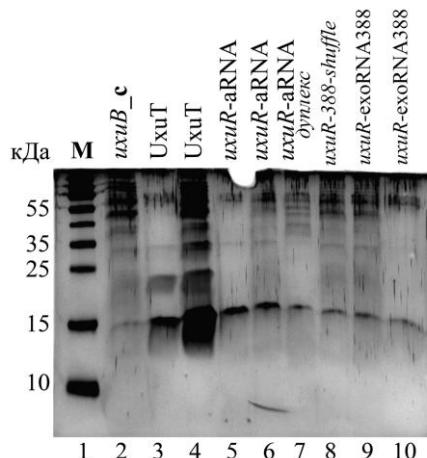


Рис. 1 Электрофореграмма белков-партнёров малых РНК *E. coli* K-12 MG1655. Олиго-нуклеотиды указаны над дорожками. Первая дорожка – маркер молекулярного веса. Вторая и восьмая дорожки – белки, сорбированные на контрольные олигонуклеотиды. Образцы на дорожках 2, 3, 5, 7, 8, 9 получены из клеток, выращенных на D-глюкозе, образцы на дорожках 4, 6, 10 – из клеток, выращенных на D-галактуронате.

Fig. 1 Electrophoregram of the protein partners of the *E. coli* K-12 MG1655 small RNAs. Oligonucleotides are indicated above the lanes. The first lane contains a marker of molecular weight. The second and eighth lanes contain proteins sorbed on the control oligonucleotides. Samples on the lanes 2, 3, 5, 7, 8, and 9 were obtained from cells grown on D-glucose, samples on lanes 4, 6, and 10 were obtained from cells grown on D-galacturonate.

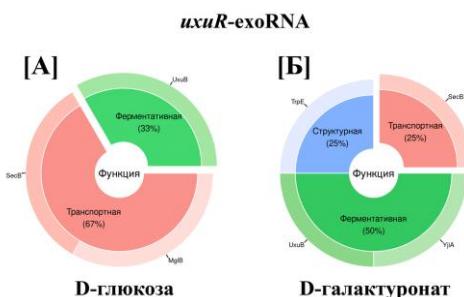


Рис. 2 Белки, сорбированные на антисмысловую экзоРНК (*uxiR*-exoRNA 388) при росте на (А) D-глюкозе (Б) D-галактуронате

Fig. 2 Proteins sorbed to the antisense exoRNA (*uxiR*-exoRNA 388) during growth on (A) D-glucose (B) D-galacturonate

D-маннонат оксидоредуктаза UxiB. Гуанозинтрифосфатаза YjIA и субъединица антраксилатсинтазы TrpE взаимодействуют с *uxiR*-exoRNA388 только в клетках, растущих на галактуронате, в то время как белок MgIA, участвующий в транспорте галактозы, обнаруживается только при росте на глюкозе. SecB – это основной шаперон пути секреции Sec, поддерживающий вновь синтезированые секреторные белки в несвернутом состоянии для транслокации [17]. Несмотря

на то, что его уровень понижен в присутствии глюкозы [18], он связывается с экзоРНК независимо от источника углерода. Это может говорить о том, что SecB играет определенную роль в их секреции из клетки.

С внутриклеточными малыми РНК – антисмысловой *uxiR*-aRNA (Рис. 3А) и сонаправленной UxiT (рис. 3Б) – связалось больше белков. Интересно, что с обеими РНК связывались практически одни и те же белки: ферменты метабо-

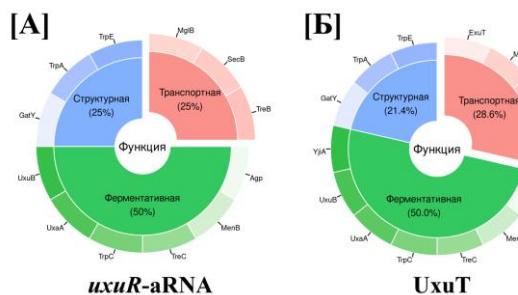


Рис. 3 Спектр белков, связавшихся с антисмысловой *uxuR*-aRNA (А) и сонаправленной с *uxuR* РНК UxuT (Б) при росте клеток в присутствии D-галактуроната.

Fig. 3 Spectrum of proteins bound to the antisense *uxuR*-aRNA (A) and co-directed with *uxuR* RNA UxuT (B) during cell growth in the presence of D-galacturonate

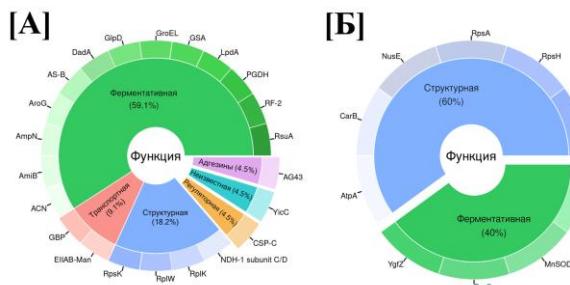


Рис. 4 Спектр белков, связавшихся с одноцепочечной *uxuR*-aRNA (А) и дуплексом *uxuR*-aRNA (Б) при росте клеток на D-галактуронате.

Fig. 4 Spectrum of proteins bound to the single-stranded *uxuR*-aRNA (A) and duplex *uxuR*-aRNA (B) during cell growth on D-galacturonate

лизма гексуронатов (D-маннонат оксидоредуктаза UxuB и дегидратаза UxuA), триптофана (структурные субъединицы антракнилат синтазы TrpE и триптофан синтазы TrpA, а также изомераза TrpC) и трегалозы (трегалоза-6-фосфатгидролаза TreC и PTS транспортер TreB). Кроме того, среди сорбированных белков были найдены D-тагатоза-1,6-бисфосфат альдолаза GatY, нафтоил СоA синтаза MenB. Общими с *uxuR*-экзоРНК стали периплазматический белок MgIB, участвующий в активном транспорте глюкозы и галактозы, и шаперон транспорта пре-белков SecB.

Среди белков-партнёров UxuT, по сравнению с *uxuR*-aRNA, были дополнитель но обнаружены только транспортер гексуронатов ExuT и ГТФаза YjiA. При росте же на глюкозе с этими малыми РНК были связаны всего два белка: D-маннонат оксидоредуктаза UxuB (*uxuR*-aRNA) и глюкозо-1-фосфатаза Agp (UxuT). Таким образом, спектр белков, сорбированных на внутриклеточные регуляторные РНК, закодированные в гене

uxuR, зависит в большей степени от источника углерода, на котором растет культура бактерий, чем от типа РНК.

Поскольку спектр белков, сорбированных на антисмысловую *uxuR*-aRNA, был существенно шире в присутствии D-галактуроната, то для сравнения белков, связанных с одноцепочечной РНК и её дуплексом были взяты именно такие условия. В данном случае мы не учитывали белки, связавшиеся с контрольными олигонуклеотидами, а сравнивали только белки, различавшиеся между одноцепочечной РНК и ее дуплексной формой. Результаты сравнения показаны на рис. 4. Видно, что функциональные категории белков, связавшихся с одноцепочечной аРНК и дуплексом, существенно отличались. Среди белков-партнёров одноцепочечной аРНК, помимо структурных белков и ферментов, есть также адгезин AG43 и шаперон GroEL, что может косвенно свидетельствовать о различиях в механизмах экспорта дуплексов и одиночных экзоРНК из клетки.



Заключение

Таким образом, проведенный анализ подтверждает адекватность выбранного подхода для решения задачи поиска белков, специфически сорбирующихся на регуляторные РНК. Установлено, что спектр белков-партнеров внеклеточных и внутриклеточных РНК различался, и для внутриклеточных РНК он зависел от источника углерода. При этом со всеми малыми РНК были ассоциированы белки метаболизма гексуронатов и шаперон SecB, что может говорить об участии

Список литературы/References

1. Georg J., Hess W.R., cis-antisense RNA, another level of gene regulation in bacteria, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2011; 75(2): 286-300. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00032-10>
2. Shavkunov K.S., Masulis I.S., Tutukina M.N., Deev A.A., Ozoline O.N., Gains and unexpected lessons from genome-scale promoter mapping, *Nucleic Acids Res.*, 2009; 37(15): 4919-4931. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp490>
3. Sesto N., Wurtzel O., Archambaud C., Sorek R., Cossart, P., The excludon: a new concept in bacterial antisense RNA-mediated gene regulation, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2013; 11:75-82. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2934>
4. Huttenhofer A., Vogel J., Experimental approaches to identify non-coding RNAs, *Nucleic Acids Res.*, 2006; 34(2): 635-646. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj469>
5. Lloréns-Rico V., Cano J., Kamminga T., Gil R., Latorre A., Chen W.H., Bork P., Glass J.I., Serrano L., Lluch-Senar M., Bacterial antisense RNAs are mainly the product of transcriptional noise. *Sci. Adv.*, 2016; 2(3):e1501363. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501363>
6. Huber F., Bunina D., Gupta I., Khmelinskii A., Meurer M., Theer P., Steinmetz L.M., Knop M., Protein Abundance Control by Non-coding Antisense Transcription. *Cell Rep.*, 2016; 15(12): РНК в регуляции углеводного обмена и определенной роли SecB в их транспорте. Для подтверждения полученных результатов целесообразно провести аналогичный эксперимент в присутствии конкурирующих неспецифических РНК.
7. Chao Y., Vogel J., A 3' UTR-Derived Small RNA Provides the Regulatory Noncoding Arm of the Inner Membrane Stress Response. *Mol. Cell.* 2016; 61(3): 352-363. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.12.023>
8. Dauros-Singorenko P., Blenkiron C., Phillips A., Swift S., The functional RNA cargo of bacterial membrane vesicles, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2018; 365(5): fny023. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny023>
9. Plaza J.J.G., Small RNAs in cell-to-cell communications during bacterial infection, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2018; 365(7): fny024. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny024>
10. Markelova N., Glazunova O., Alikina O., Panyukov V., Shavkunov K., Ozoline O., Suppression of *Escherichia coli* Growth Dynamics via RNAs Secreted by Competing Bacteria, *Front. Mol. Biosci.*, 2021; 8: 609979. <https://doi.org/10.3389/fmolsb.2021.609979>
11. Shavkunov K.S., Markelova N.Y., Glazunova O.A., Kolzhetsov N.P., Panyukov V.V., Ozoline O.N., The Fate and Functionality of Alien tRNA Fragments in Culturing Medium and Cells of *Escherichia coli*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2023; 24(16): 12960. <https://doi.org/10.3390/ijms241612960>
12. Lalaouna D., Carrier M.C., Semsey S., Brouard J.S., Wang J., Wade J.T., Massé E., A 3' external transcribed spacer in a

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

2625-2636. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.05.043>

7. Chao Y., Vogel J., A 3' UTR-Derived Small RNA Provides the Regulatory Noncoding Arm of the Inner Membrane Stress Response. *Mol. Cell.* 2016; 61(3): 352-363. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.12.023>

8. Dauros-Singorenko P., Blenkiron C., Phillips A., Swift S., The functional RNA cargo of bacterial membrane vesicles, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2018; 365(5): fny023. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny023>

9. Plaza J.J.G., Small RNAs in cell-to-cell communications during bacterial infection, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2018; 365(7): fny024. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny024>

10. Markelova N., Glazunova O., Alikina O., Panyukov V., Shavkunov K., Ozoline O., Suppression of *Escherichia coli* Growth Dynamics via RNAs Secreted by Competing Bacteria, *Front. Mol. Biosci.*, 2021; 8: 609979. <https://doi.org/10.3389/fmolsb.2021.609979>

11. Shavkunov K.S., Markelova N.Y., Glazunova O.A., Kolzhetsov N.P., Panyukov V.V., Ozoline O.N., The Fate and Functionality of Alien tRNA Fragments in Culturing Medium and Cells of *Escherichia coli*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2023; 24(16): 12960. <https://doi.org/10.3390/ijms241612960>

12. Lalaouna D., Carrier M.C., Semsey S., Brouard J.S., Wang J., Wade J.T., Massé E., A 3' external transcribed spacer in a



tRNA transcript acts as a sponge for small RNAs to prevent transcriptional noise. *Mol. Cell.*, 2015; 58(3): 393-405. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.03.013>

13. Shepherd J., Ibba M., Bacterial transfer RNAs. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2015; 39(3): 280-300. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv004>

14. Alikina O.V., Glazunova O.A., Bykov A.A., Kiselev S.S., Tutukina M.N., Shavkunov K.S., Ozoline O.N., A cohabiting bacterium alters the spectrum of short RNAs secreted by *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2018; 365(24). <https://doi.org/10.1093/femsle/fny262>

15. Tutukina M.N., Dakhnovets A.I., Kaznadzey A.D., Gelfand M.S., Ozoline O.N., Sense and antisense RNA products of the *uxuR* gene can affect motility and chemotaxis acting independent of the UxuR protein. *Front. Mol. Biosci.*, 2023; 10:1121376.

<https://doi.org/10.3389/fmlob.2023.1121376>

16. Shvyreva U.S., Tutukina M.N., Ozoline O.N., «Promoter islands» of the *E. coli* genome as targets for sorption of the RNA processing enzymes, *Sorbtionnye i Khromatograficheskie protsessy*, 2015; 15(4): 586-594. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2015.15/310>

17. Ullers R.S., Luirink J., Harms N., Schwager F., Georgopoulos C., Genevaux P., SecB is a bona fide generalized chaperone in *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2004; 101(20): 7583-7588. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402398101>

18. Seoh H.K., Tai P.C., Carbon source-dependent synthesis of SecB, a cytosolic chaperone involved in protein translocation across *Escherichia coli* membrane, *J. Bacteriol.* 1997; 179(4): 1077-1081. <https://doi.org/10.1128/jb.179.4.1077-1081.1997>

Информация об авторах / Information about the authors

А.И. Дахновец – аспирант Центра Молекулярной и Клеточной Биологии, Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

Т.А. Бессонова – к.б.н., младший научный сотрудник Института биофизики клетки РАН – обособленного подразделения ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия; младший научный сотрудник Института проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

О.Н. Озолинь – д.б.н., профессор, заведующая лабораторией функциональной геномики прокариот Института биофизики клетки РАН – обособленного подразделения ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

М.Н. Тутукина – к.б.н., старший научный сотрудник Центра Молекулярной и Клеточной Биологии, Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия; ведущий научный сотрудник Института проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

A.I. Dakhnovets – PhD student of Centre of Molecular and Cellular Biology, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russian Federation, e-mail: artemii.dahnovets@mail.ru

T.A. Bessonova – PhD, junior research scientist, Institute of Cell Biophysics RAS, Pushchino, Russian Federation; junior research scientist, Institute for Information Transmission Problems RAS, Moscow, Russian Federation, e-mail: tatianabessonova66@gmail.com

O.N. Ozoline – Dr. Sci., professor, head of the laboratory of functional genomics of prokaryotes, Institute of Cell Biophysics RAS, Pushchino, Russian Federation, e-mail: ozoline@rambler.ru

M.N. Tutukina – PhD, senior research scientist of Centre of Molecular and Cellular Biology, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russian Federation; leading research scientist, Institute for Information Transmission Problems RAS, Moscow, Russian Federation, e-mail: tutukina@iitp.ru

Статья поступила в редакцию 02.09.2024; одобрена после рецензирования 27.11.2024; принята к публикации 04.12.2024.

The article was submitted 02.09.2024; approved after reviewing 27.11.2024; accepted for publication 04.12.2024.