

El gran mundo de los RNAs pequeños

Juan Miranda Ríos*

Vol. 48, No. 2
Abril - Junio. 2006
pp. 73 - 78

RESUMEN. En la última década se han descubierto en muchos organismos una gran cantidad de RNAs cuya función es la de servir como elementos regulatorios de la expresión genética y no codifican para una proteína. A estos RNAs se les denomina ncRNAs o sRNAs (*non coding* o *small RNAs*, RNAs no codificantes o pequeños, por sus siglas en inglés). De los más de 70 sRNAs que se han documentado en *Escherichia coli*, algunos regulan la traducción o estabilidad de los mRNAs, otros poseen actividades catalíticas y unos más modifican la actividad de una proteína. En esta revisión se discutirán los mecanismos de acción de algunos de ellos, así como los esfuerzos para encontrar nuevos sRNAs por medio de búsquedas sistemáticas.

Palabras clave: RNAs regulatorios, *E. Coli*.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han identificado cientos de RNAs que no codifican para una proteína y que funcionan como reguladores de la expresión genética. A estos RNAs se les ha llamado ncRNA y sRNA (por las siglas en inglés *non coding* y *small* debido a que su tamaño es de entre 30 a 300 bases de longitud), en el caso de RNAs de origen eucariótico o bacteriano, respectivamente. Los sRNAs de *Escherichia coli* estudiados hasta el momento se pueden clasificar en cuatro categorías: los RNAs que funcionan en *cis* se encuentran en la región 5' no traducida de los mRNAs y afectan ya sea la eficiencia de la traducción o bien provocan la terminación prematura de la transcripción, los que poseen una actividad catalítica intrínseca o forman parte de complejos ribonucleoproteicos, los que afectan la actividad de alguna proteína por mimetizar estructuralmente a otros ácidos nucleicos y los que actúan en *trans*, regulando de manera post-transcripcional la actividad de los mRNAs por medio de interacciones por apareamiento de bases.

RNAs que funcionan en *cis*

Por la propia naturaleza química del RNA, esta molécula es capaz de interactuar intramolecularmente para formar

ABSTRACT. In the last ten years a great number of RNAs have been discovered that function by regulating gene expression and do not code for a protein. These RNAs are named ncRNAs or sRNAs (non coding RNAs or small RNAs). More than 70 sRNAs have been documented in *Escherichia coli* and function by inhibiting/promoting translation or degradation, some have intrinsic catalytic properties and others modify the activity of a protein. The mechanisms of action of some of them will be reviewed as well as the efforts to find new sRNAs by systematic oriented searches.

Key words: Regulatory RNAs, *E. coli*

estructuras secundarias de tallo y asa, las cuales pueden cambiar su conformación en respuesta a señales físicas o químicas.

Los termómetros de RNA responden a la temperatura intracelular, utilizando el conocido hecho de que las hélices que forman los ácidos nucleicos se desnaturalizan conforme aumenta la temperatura. Uno de los ejemplos más llamativos que usan esta propiedad se observa en la expresión de algunos genes de virulencia. En *Listeria monocytogenes*, una bacteria patógena que se encuentra en alimentos contaminados, no se produce la proteína PrfA que es un activador de genes de virulencia, even cuando su mRNA si es sintetizado. La explicación a este fenómeno es que a bajas temperaturas se forma una estructura secundaria en el mRNA que impide que los ribosomas se unan a él. Cuando la bacteria es ingerida por un mamífero, se produce un cambio de temperatura que desdobra la estructura de tallo y asa, lo cual permite la unión de los ribosomas con la consecuente producción de PrfA y de todos los genes de virulencia regulados por esta proteína.¹³

Los riboswitches son otro tipo de RNAs que son capaces de cambiar su conformación al interactuar con moléculas pequeñas con una alta afinidad y especificidad y de esta manera monitorean el estado metabólico de la célula. Generalmente se les encuentra en la región 5' no traducida de mRNAs de genes biosintéticos, de transporte o degradación de metabolitos como vitaminas, aminoácidos y otros, proporcionando un mecanismo de control por retroalimentación.⁴³ Están formados por dos dominios, un dominio sensor o aptámero involucrado en el pegado de los metabolitos y una región

* Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, Apartado Postal 510-3, Cuernavaca, Mor., 62250, México.

llamada plataforma de expresión. Básicamente, cuando unen a su metabolito, los riboswitches provocan uno de dos eventos, ya sea la terminación prematura de la transcripción o impiden la traducción del mensajero del cual forman parte. En nuestro grupo, al estudiar el defecto genético de una mutante respiratoria de *Rhizobium etli*, bacteria que fija nitrógeno en simbiosis con las plantas de frijol, descubrimos uno de los primeros ejemplos de riboswitches.²² El transposón Tn5 responsable del fenotipo de la mutante se insertó en una secuencia altamente conservada en la región 5' de genes biosintéticos de tiamina a la cual se le denominó *thi box*. Esta secuencia se encuentra presente en bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, en arqueobacterias y en eucariontes.^{22,23,33} Aunque las diferentes *thi box* no son exactamente iguales, son capaces de formar una estructura secundaria similar.²³ Debido a que esta secuencia es transcrita pero no traducida y sabiendo que las moléculas de RNA son capaces de interactuar con otras moléculas, se lanzó la hipótesis de que la *thi box* pudiera unir al pirofosfato de tiamina, que es la molécula biológicamente activa y que participa como cofactor de enzimas importantes en la utilización de carbohidratos, sin la intervención de ninguna otra molécula.³² Posteriormente se demostró que la *thi box* es capaz de unir *in vitro* al pirofosfato de tiamina en el rango nM, con una alta especificidad y en ausencia de proteína alguna.⁴¹

Algo realmente fascinante de este riboswitch es que la *thi box* es capaz de regular la expresión de genes biosintéticos de tiamina bajo diferentes contextos regulatorios, en bacterias y arqueobacterias participando en el bloqueo de la traducción o la terminación prematura de la transcripción, mientras que en hongos la *thi box* se encuentra alojada en un intrón y se ha demostrado que afecta el “splicing” del mRNA que lo contiene.¹⁵ En el caso de las plantas, la *thi box* está presente en la región 3' no traducida y se cree que pudiera afectar la estabilidad o la eficiencia de traducción de los mRNAs.³³ Actualmente en nuestro laboratorio estamos trabajando en la identificación de las bases de la *thi box* que interactúan con el pirofosfato de tiamina por medio de experimentos genéticos y químicos. Además de este riboswitch, se han encontrado otros que unen a la coenzima B₁₂ o cianocobalamina, al mononucleótido de flavina, al aminoácido lisina y al metal divalente magnesio.^{6,9,25,34}

Mención especial se merecen varios riboswitches por las capacidades moleculares que demuestran estos RNAs. Existe un riboswitch que reconoce purinas, cuya especificidad depende de un apareamiento tipo Watson-Crick entre una base específica del riboswitch y la purina, de tal manera que si la base en el riboswitch es una citosina, el riboswitch unirá a la guanina, y si es una uridina unirá a la

adenina.³ El riboswitch que reconoce al aminoácido glicina presenta dos sitios de pegado a este aminoácido, cuya unión se da de manera cooperativa.¹⁹ El riboswitch que une glucosamina es una ribozima cuya actividad catalítica es revelada cuando une a su ligando.⁴² En el caso del riboswitch que une S-adenosil metionina, se han encontrado dos variedades que no tienen semejanza entre sí y que unen al mismo metabolito.^{7,11}

Probablemente en el futuro se descubran riboswitches que unan a otros metabolitos en bacterias y eucariontes, abriendo más la gama de actividades que puede presentar el RNA como son la unión específica y de alta afinidad de otras moléculas, fenómenos de cooperatividad y actividad enzimática, todas estas características que se creía antes exclusivas de las proteínas.

RNAs con actividad catalítica o que forman parte de complejos ribonucleoproteicos

Los dos únicos sRNAs que a la fecha se conocen como esenciales en *E. coli* son el RNA 10 S que representa la parte catalítica de la RNasa P, la enzima que procesa a los tRNAs y los rRNAs y el RNA 4.5S, el cual forma parte de la maquinaria de reconocimiento de señales para la secreción de proteínas.^{10,12}

RNAs que afectan la actividad de alguna proteína

Existen dos ejemplos de RNAs que modifican la actividad de una proteína, son el RNA 6S y los RNAs de la familia CsrB.

El RNA 6S se había identificado como un RNA abundante y estable. Posteriormente se observó que se une a la RNA polimerasa cargada con el factor σ⁷⁰ cuando las células entran a la fase estacionaria de crecimiento.³⁷ Debido a que este RNA adopta una estructura de doble hélice con una burbuja en el centro, se piensa que podría mimetizar una región promotora y de esta forma inhibir la actividad de la RNA polimerasa, permitiendo a la RNA polimerasa cargada con el factor σ de estado estacionario la transcripción de los genes que se requieren en esta fase metabólica.

La proteína CsrA actúa a nivel postranscripcional regulando la actividad de genes involucrados en el metabolismo del carbono al unirse a secuencias específicas en la región 5' no traducida. La purificación de CsrA llevó a la caracterización de los sRNAs CsrB y CsrC, de 360 y 245 nucleótidos de longitud, respectivamente. Aunque estos RNAs poseen poca homología entre sí, la secuencia que se encuentra localizada en las asas está muy conservada y es la misma que es reconocida por CsrA en los mRNAs regulados por él, por lo que se cree que inhiben su actividad regulatoria.^{28,39}

RNAs que funcionan trans

Alrededor de una veintena de sRNAs de *E. coli* se aparean por complementariedad de bases a los mRNAs que regulan. La mayoría de las veces este apareamiento afecta negativamente la actividad del mRNA inhibiendo su traducción o provocando su degradación, algo similar a los efectos producidos por los miRNAs en los eucariotes. En algunos casos la interacción del sRNA con su respectivo mRNA activa su traducción al hacer accesible el sitio de unión a ribosomas del mismo.

La proteína Hfq tiene un papel en la función de algunos sRNAs. Hfq, también llamada HF-1 (factor del hospedero 1) fue identificada por estimular *in vitro* la replicación del fago de RNA Q β y pertenece a la familia de proteínas Sm/Lsm que unen RNA, las cuales funcionan en el "splicing" y están presentes en eucariotes. Forma un anillo de 6 subunidades, a diferencia de las eucarióticas formadas por 7 subunidades.^{29,30} Por medio de estudios estructurales y genéticos se conoce que posee dos sitios para unir el RNA, uno localizado en la parte interna del anillo y otro localizado en otra parte del oligómero.^{21,30} El sitio de unión en los sRNAs ha sido caracterizado como una región de cadena sencilla, rica en residuos de adenina y uridina y cercano a una estructura de tallo y asa.⁸ A continuación se describirán algunos ejemplos en los que diferentes sRNAs afectan de manera negativa o positiva la expresión de los mRNAs.

Se han involucrado dos sRNAs en la regulación negativa de la expresión de dos de las porinas más importantes de la célula. MicF impide la traducción del mRNA de OmpF.²⁴ A su vez, MicC, que fue encontrado en una búsqueda bioinformática, impide, *in vitro*, la unión de ribosomas al mRNA de *ompC*.⁵ Se ha observado que la expresión de MicF y MicC es recíproca y se piensa que esto pueda favorecer que en condiciones de limitación de nutrientes se exprese OmpF, que forma un poro más grande y que OmpC, que forma un poro más pequeño, tenga por función la exclusión de compuestos tóxicos en condiciones de suficiencia de nutrientes.⁵

Algunos sRNAs que se han descubierto dan una explicación a enigmas regulatorios encontrados en algunos sistemas. Por ejemplo, se sabe que la proteína Fur reprime, bajo condiciones de suficiencia de hierro, a una gran cantidad de genes cuya función es la de capturar y transportar hierro al interior de la célula. Sin embargo, para los genes *sodB* y *sdh*, que codifican para la superóxido dismutasa y la succinato deshidrogenasa, respectivamente, y que son proteínas que contienen hierro, Fur tiene un efecto positivo en su expresión. Ahora se sabe que existe un sRNA llamado RyhB, que está muy conservado en *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Vibrio* y *Yersinia*, el cual es regu-

lado negativamente por Fur, pero que en condiciones de escasez de hierro se produce y aparea con los mRNAs de *sodB* y *sdh*, provocando la degradación de los mismos reduciendo de este modo los requerimientos de hierro de la célula.^{20,38} En este ejemplo se observa como un mismo sRNA puede aparearse con diferentes mRNAs de modo de concertar la expresión de los mismos bajo diferentes condiciones metabólicas. En *P. aeruginosa* se han encontrado otros dos sRNAs llamados Prr1 y Prr2 que funcionan de manera similar, aunque no presentan homología alguna con RyhB.⁴⁰

En el caso de la expresión del factor σ de estado estacionario, llamado σ^s , que es necesario para la transcripción de genes en esta fase del crecimiento y algunos genes inducidos por diversos tipos de estrés, se ha encontrado que son tres los sRNAs que regulan su expresión. DsrA y RprA estimulan la traducción de σ^s en condiciones de baja temperatura y de estrés de superficie, respectivamente.^{17,18,31} La unión de estos sRNAs al mRNA de σ^s impide la formación de una estructura de tallo y asa que bloquea el sitio de unión a ribosomas.^{16,18} Por otro lado, OxyS, que es inducido en condiciones de estrés oxidativo por la proteína regulatoria OxyR, regula de manera negativa la expresión de σ^s , pero en este caso se desconoce el mecanismo de acción involucrado.^{1,44}

Búsquedas sistemáticas de sRNAs en *E. coli*

Utilizando la información con que se cuenta de los sRNAs previamente caracterizados, se han realizado búsquedas bioinformáticas de nuevos sRNAs en las regiones intergénicas de *E. coli*. En dos casos se usó el criterio de conservación de secuencia en organismos cercanamente emparentados.^{2,38} Otro trabajo se basó en la detección de características estructurales del RNA.²⁷ En otro caso se identificaron sitios de unión a DNA específicos o bien secuencias promotoras con una cercanía de máximo 400 bases a secuencias de tipo terminador.^{2,4}

Otro enfoque usado para la identificación de nuevos sRNAs ha sido la detección directa de los mismos. En un trabajo se usó el RNA total como sonda para probar microarreglos conteniendo las regiones intergénicas.³⁵ En otro trabajo, se identificaron algunos sRNAs que fueron aislados por medio de una co-inmunoprecipitación con anticuerpos dirigidos contra la proteína Hfq.⁴⁵

Debido a que los anteriores esfuerzos estaban dirigidos al análisis de las regiones intergénicas, dejando fuera los posibles sRNAs que se encuentren en regiones codificadoras, se utilizó un tercer enfoque el cual está basado en la clonación directa de los sRNAs, el cual consiste en purificar el RNA total de la bacteria crecida bajo diferentes condiciones experimentales. El RNA así obtenido se fraccio-

na en un gel de poliacrilamida y se purifican RNAs de tamaño pequeño. A estos sRNAs se les añaden adaptadores en los extremos 5' y 3', lo que permite llevar a cabo una transcripción reversa seguida de un PCR (RT-PCR). Posteriormente se clonian los amplicones y se obtiene la secuencia nucleotídica de los mismos para identificar la región genética de la cual provienen y se analiza su expresión por medio de experimentos tipo Northern. A este tipo de análisis se le denomina RNómica experimental.

A la fecha se han publicado dos trabajos de este tipo en *E. coli*. En el primero de ellos, en donde se purificaron RNAs de entre 50 a 500 nucleótidos, se encontraron varios RNAs provenientes de genes independientes, como es el caso de RyeA y RyeB, los cuales se demostró que se aparean entre sí, aunque se desconoce su función.³⁶ Además, se descubrieron otros sRNAs que provienen de las regiones 5' o 3' de mRNAs, indicando probablemente una transcripción paralela de sRNAs co-expresados con los mRNAs. Dos de ellos consisten de las regiones aptaméricas de los riboswitches *thi*-box y del mononucleótido de flavina.³⁶

Para el segundo trabajo se purificaron RNAs de entre 30 a 65 nucleótidos de longitud para la creación de la biblioteca de cDNAs.¹⁴ En particular, se obtuvieron clonas de sRNAs pertenecientes a tres diferentes categorías: los sRNAs antisentido codificados en *cis*, los que provienen de regiones intergénicas y los que son fragmentos de regiones no traducidas de mRNAs.

En la primera categoría se encontraron RNAs de secuencias repetidas como los conocidos como LDR y hok/sok. La mayoría de estos elementos contienen genes que codifican para un péptido tóxico (*ldr* y *hok*) y un RNA antisentido (*rdl* y *sok*) que regula la expresión del péptido tóxico a nivel postranscripcional. Se encontraron a los cuatro *rdl* que regulan a las cuatro secuencias LDR presentes en *E. coli*. Se clonaron genes Sok con homología a cuatro de las seis regiones Hok. También se encontró un gen antisentido al gene que codifica a la proteína *yjiW* y que regula la expresión de ésta, pero se desconoce la función de ambos. Por último, se encontró un gene antisentido al regulador de la respuesta a ácido *GadX* al cual se le denominó *GadY* y cuya expresión estabiliza al mRNA de *GadX*.²⁶

De las regiones intergénicas se clonaron tres sRNAs. Dos de ellos se encuentran localizados en la región intergénica situada entre los genes *yfhL* y *acpS*. Al analizar los transcriptos de esta región, se encontraron dos sRNAs, uno de 63 nt y otro de 300 nt, llamados RyfC y RyfD, respectivamente. Presentan una región de complementariedad de 19 bases, la cual, aunque la secuencia no es conservada en los genomas de otras *E. coli* patógenas, conserva la complementariedad entre ellas. El tercero sobrelapa los primeros siete codones de la proteasa codificada por el gene

clpB y su región 5' no traducida y recibió el nombre de RyfD. RyfD puede formar una estructura de tallo y asa intramolecular, pero también podría aparearse con el mRNA de *clpB* y regular su expresión.

De los sRNAs derivados de fragmentos de regiones no traducidas de mRNAs se encontraron 5 de regiones 5'. Los ejemplos más notables del 5' son los de *lysC* y *mgtA*, que contienen al aptámero de los riboswitches de lisina y magnesio. Del 3' se identificaron 4, de los cuales el más interesante es el sRNA que se encuentra localizado en la región intergénica entre los genes *glnA* y *glnL*, que codifican para la enzima glutamina sintetasa y el regulador NtrB involucrados en el metabolismo de nitrógeno. Este sRNA es de alrededor de 200 bases. En esta región se encuentra localizada una secuencia REP, pero se demostró que la existencia del sRNA es independiente de la secuencia REP debido a que en el caso de *Salmonella typhimurium* no existe tal elemento y se expresa un sRNA de menor tamaño.

Con los sRNAs descritos en este último trabajo, el número de sRNAs conocidos en *E. coli* llega a 79. Algunos de ellos no se detectaron en otros tamizajes debido a que se encuentran en una región intergénica pequeña como en la que se encuentra RyfD que es de sólo 129 nucleótidos, a su falta de conservación (como RyfC) y su proximidad a genes que codifican para una proteína (como RyjC que está codificado en antisentido a la proteína *yjiW*).

CONCLUSIONES

En los últimos años se ha descubierto que la regulación genética es mucho más compleja de lo antes previsto. En esta nueva visión, las moléculas de RNA juegan un papel central como reguladores de la expresión genética. El estudio de los mecanismos de acción de los sRNAs ha revelado nuevas y sorprendentes actividades asociadas al RNA. Dada la versatilidad mostrada por el RNA, existen investigadores que piensan que antes de que existiera la vida basada en el DNA, el RNA y las proteínas como la conocemos, existió un mundo del RNA en el cual esta molécula era la depositaria de la información genética y poseía actividad catalítica, aunque es muy difícil saberlo a ciencia cierta. Lo que sí es seguro es que dado el número creciente de estudios que se llevan a cabo acerca de esta fascinante molécula, estamos viviendo actualmente un nuevo mundo del RNA.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo acerca del riboswitch de tiamina ha sido apoyado por el proyecto 39920-Q de CONACYT, México.

REFERENCIAS

1. Altuvia, S., D. Weinstein-Fischer, A. Zhang, L. Postow & G. Storz. 1997. A small stable RNA induced by oxidative stress: Role as a pleiotropic regulator and antimutator. *Cell* 90:43-53.
2. Argaman, L., R. Hershberg, J. Vogel, G. Bejerano, E.G.H. Wagner, H. Margalit & S. Altuvia. 2001. Novel small RNA-encoding genes in the intergenic region of *Escherichia coli*. *Curr. Biol.* 11:941-950.
3. Batey, RT, S.D. Gilbert, & R.K. Montange. 2004. Structure of a natural guanine-responsive riboswitch complexed with the metabolite hypoxanthine. *Nature* 432: 411-415.
4. Chen S, E.A. Lesnik, T.A. Hall, R. Sampath, R.H. Griffey, D.J. Ecker & L.B. Blyn. 2002. A bioinformatics based approach to discover small RNA genes in the *Escherichia coli* genome. *Bio-systems* 65:157-177.
5. Chen S., A. Zhang, L.B. Blyn & G. Storz. 2004. MicC, a second small-RNA regulator of Omp protein expression in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 186:6689-6697.
6. Cromie, M.J., Y. Shi, T. Latifi & E.A. Groisman. An RNA sensor for intracellular Mg²⁺. 2006. *Cell* 125:71-84.
7. Fuchs R.T., F.J. Grundy & T.N. Henkin. 2006. The SMK box is a new SAM-binding RNA for translational regulation of SAM synthetase. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 13:226-233.
8. Geissman T.A. & D. Touati. 2004. Hfq, a new chaperoning role: Binding to messenger RNA determines access for small RNA regulator. *EMBO J.* 23:396-405.
9. Gelfand, M.S., A.A. Mironov, J. Jomantas, Y.I. Kozlov & D.A. Perumov. 1999. A conserved RNA structure element involved in the regulation of bacterial riboflavin synthesis genes. *Trends Genet.* 15:439-442.
10. Gopalan V., A. Vioque & S. Altman. 2002. RNase P: variations and uses. *J. Biol. Chem.* 277:6759-6762.
11. Grundy F.J. & T.M. Henkin. 1998. The S box regulon: a new global transcription termination control system for methionine and cysteine biosynthesis genes in gram-positive bacteria. *Mol. Microbiol.* 30:737-749.
12. Herskovits A.A., E.S. Bochkareva & E. Bibi. 2000. New prospects in studying the bacterial signal recognition particle pathway. *Mol. Microbiol.* 38:927-939.
13. Johansson, J., P. Mandin, A. Renzoni, C. Chiaruttini, M. Springer & P. Cossart. 2002. An RNA thermosensor controls expression of virulence genes in *Listeria monocytogenes*. *Cell* 110:551-556.
14. Kawano M., A.A. Reynolds, J. Miranda-Ríos & G. Storz. 2005. Detection of 5'- and 3' UTR-derived small RNAs and cis-encoded antisense RNAs in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res.* 33: 1040-1050.
15. Kubodera T., M. Watanabe, K. Yoshiuchi, N. Yamashita, A. Nishimura, S. Nakai, K. Gomi & H. Hanamoto. 2003. Thiamine-regulated gene expression of *Aspergillus oryzae thiA* requires splicing of the intron containing a riboswitch-like domain in the 5'-UTR. *FEBS Lett.* 555:516-520.
16. Majdalani N., C. Cunning, D. Sledjejski, T. Elliot & S. Gottesman. 1998. 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.* 95:12462-12467.
17. Majdalani N., S. Chen, J. Murrow, K. St. John & S. Gottesman. 2001. Regulation of RpoS by a novel small RNA: the characterization of RprA. *Mol. Microbiol.* 39:1382-1394.
18. Majdalani N., D. Hernandez & S. Gottesman. 2002. Regulation and mode of action of the second small RNA activator of RpoS translation, RprA. *Mol. Microbiol.* 46:813-826.
19. Mandal, M., M. Lee, J.E. Barrick, Z. Weinberg, G.M. Emulsion, W.L. Ruzzo & R.R. Breaker. 2004. A glycine-dependent riboswitch that uses cooperative binding to control gene expression. *Science* 306:275-279.
20. Masse E. & S. Gottesman. 2002. A small RNA regulates the expression of genes involved in iron metabolism in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99:4620-4625.
21. Mikulecki P.J., M.K. Kaw, C.C. Brescia, J.C. Takach, D.D. Sledjejski & A.L. Feig. 2004. *Escherichia coli* Hfq has distinct interaction surfaces for DsrA, rpoS and poly(A) RNAs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11:1206-1214.
22. Miranda-Ríos J., C. Morera, H. Taboada, A. Dávalos, S. Encarnación, J. Mora & M. Soberón. 1997. Expression of thiamin biosynthetic genes (*thiCOGE*) and production of symbiotic terminal oxidase cbb₃ in *Rhizobium etli*. *J. Bacteriol.* 179:6887-6893.
23. Miranda-Ríos, J., M. Navarro & M. Soberón. 2001. A conserved RNA structure (*thi box*) is involved in regulation of thiamin biosynthetic gene expression in bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:9736-9741.
24. Mizuno T., M.-Y. Chou & M. Inouye. 1984. A unique mechanism regulating gene expression: translational inhibition by a complementary RNA transcript (micRNA). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:1966-1970.
25. Nahvi, A., N. Sudarsan, M.S. Ebert, X. Zou, K.L. Brown & R.R. Breaker. 2002. Genetic control by a metabolite binding mRNA. *Chem. Biol.* 9:1043-1049.
26. Opdyke J.A., J.-G. Kang & G. Storz. 2004. GadY, a small-RNA regulator of acid response genes in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 186:6698-6705.
27. Rivas E., R.J. Klein, T.A. Jones & S.R. Eddy. 2001. Computational identification of non-coding RNAs in *E. coli* by comparative genomics. *Curr. Biol.* 11:1369-1373.
28. Romeo T. 1998. Global regulation by the small RNA-binding protein CsrA and the non-coding RNA molecule CsrB. *Mol. Microbiol.* 29:1321-1330.
29. Sauter C., J. Basquin & D. Suck. 2003. Sm-like proteins in eubacteria: the crystal structure of the Hfq protein from *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res.* 31:4091-4098.
30. Schumacher M.A., R.F. Pearson, T. Moller, P. Valentin-Hansen & R.G. Brennan. 2002. Structures of a pleiotropic translational regulator Hfq and an Hfq-RNA complex: a bacterial Sm-like protein. *EMBO J.* 21:3546-3556.
31. Sledjejski D.D., A. Gupta & S. Gottesman. 1996. The small RNA, DsrA, is essential for the low temperature expression of RpoS during exponential growth in *Escherichia coli*. *EMBO J.* 15:3993-4000.
32. Stormo, G.D. & Y. Ji. 2001. Do mRNAs act as direct sensors of small molecules to control their expression? *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:9465-9467.
33. Sudarsan, N., J.E. Barrick & R.R. Breaker. 2003. Metabolite-binding RNA domains are present in the genes of eukaryotes. *RNA* 9:644-647.
34. Sudarsan, N., J.K. Wickiser, S. Nakamura, M.S. Ebert, & R.R. Breaker. 2003. An mRNA structure in bacteria that controls gene expression by binding lysine. *Genes Dev.* 17:2688-2697.
35. Tjaden B., R.M. Saxena, S. Stolyar, D.R. Haynor, E. Kolker & C. Rosenow. 2002. Transcriptome analysis of *Escherichia coli* using high density oligonucleotide probe arrays. *Nucleic Acids Res.* 30:3732-3738.
36. Vogel J., V. Bartels, T.H. Tang, G. Churakov, J.G. Slagter-Jager, A. Huttenhofer & E.G.H. Wagner. 2003. RNomics in *Escherichia coli* detects new sRNA species and indicates parallel transcriptional output in bacteria. *Nucleic Acids Res.* 31:6435-6443.

37. Wasserman K.M. & G. Storz. 2000. 6S RNA regulates *E. coli* RNA polymerase activity. *Cell* 101:613-623.
38. Wasserman K.M., F. Repoila, C. Rosenow, G. Storz & S. Gottesman. 2001. Identification of novel small RNAs using comparative genomics and microarrays. *Genes Dev.* 15:1637-1651.
39. Weilbacher, T., K. Suzuki, A.K. Dubey, X. Wang, S. Gudapatay, I. Morozov I, C.S. Baker, D. Georgellis, P. Babitzke & T. Romeo. 2002. A novel sRNA component of the carbon storage regulatory system of *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 48:657-670.
40. Wilderman P.J., N.A. Sowa, P.C. Fitzgerald, S. Gottesman, U.A. Ochsner & M.L. Vasil. 2004. Identification of tandem duplicate regulatory small RNAs in *Pseudomonas aeruginosa* involved in iron homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101:9792-9797.
41. Winkler, W., A. Nahvi, & R.R. Breaker. 2002. Thiamine derivatives bind messenger RNAs directly to regulate bacterial gene expression. *Nature* 419:952-956.
42. Winkler, W., A. Nahvi, A. Roth, J.A. Collins y R.R. Breaker. 2004. Control of gene expression by a natural metabolite-responsive ribozyme. *Nature* 428:281-286.
43. Winkler, W.C. & R.R. Breaker. 2005. Regulation of bacterial gene expression by riboswitches. *Annu. Rev. Microbiol.* 59:487-517.
44. Zhang A, S. Altuvia, A. Tiwari, L. Argaman, R. Hengge-Aronis & G. Storz. 1998. The *oxyS* regulatory RNA represses *rpoS* translation by binding Hfq (HF-1) protein. *EMBO J.* 17:6061-6068.
45. Zhang, A., K.M. Wasserman, C. Rosenow, B.C. Tjaden, G. Storz & S. Gottesman. 2003. Global analysis of small RNA and mRNA targets of Hfq. *Mol. Microbiol.* 50:1111-1124.

Correspondencia:

Juan Miranda Ríos

Departamento de Microbiología Molecular
Instituto de Biotecnología, UNAM
Av. Universidad Núm. 2001,
Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos,
62210, México
juanm@ibt.unam.mx