



新型抗噬菌体防御系统RADAR的组装、催化和调控机制研究

高艺娜

中国科学院生物物理研究所, 北京 100101

E-mail: gaoyina@ibp.ac.cn

Molecular basis of assembly, operation and regulation of a novel anti-phage defense system-RADAR

Yina Gao

Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

E-mail: gaoyina@ibp.ac.cn

doi: [10.1360/TB-2023-0543](https://doi.org/10.1360/TB-2023-0543)

宿主细胞依赖多种免疫应答机制来对抗病毒感染。其中, 针对核酸分子的免疫识别和操作, 是极为核心的抗病毒免疫策略, 广泛存在于从细菌到哺乳动物等几乎所有宿主系统中^[1-7]。相较于哺乳动物细胞稍显复杂的信号转导和调控^[1], 细菌往往更为简单高效, 其编码的多种抗病毒免疫系统可直接对核酸分子进行切割或修饰^[2,8-14]。这种特点也使得细菌免疫系统被广泛用于多种生物学工具的开发(如 R-M 和 CRISPR-Cas 等), 极大促进了整个生命医学领域的发展。

2020 年, Zhang 等人^[15]以“防御岛”为切入点, 通过抗病毒基因预测和重组 DNA 技术, 在原核生物中发现了 29 种新型抗病毒基因簇, 这些新鉴定的系统介导了针对特定噬菌体的防护。新型抗噬菌体防御系统 RADAR (phage restriction by an adenosine deaminase acting on RNA) 是其中之一, 主要由分子量较大的三磷酸腺苷酶 (RdrA, 约 900 个氨基酸残基) 和具有 RNA 编辑活性的腺苷脱氨酶 (RdrB, 约 900 个氨基酸残基) 组成。RADAR 可通过多亚基协同作用, 催化 stem-loop RNA 的腺嘌呤发生脱氨反应, 进而导致宿主细胞死亡来阻断噬菌体侵染(如噬菌体 T2、T3、T4 和 T5)。RADAR 系统是目前已知唯一可通过催化 RNA 的 A-to-I (adenosine-to-inosine) 脱氨来执行抗病毒功能的细菌防御系统, 其两种核心组分 RdrA 和 RdrB 对 RADAR 执行功能是必需的。病毒感染后, RADAR 被激活并广泛催化宿主及病毒的转录组 RNA 脱氨, 造成被感染细胞的死亡, 进而阻断病毒传播^[15]。RADAR 在抗病毒免疫和 RNA 修饰方面展现出多种新颖特点, 具有被开发为新型生物学工

具的潜力, 因此受到领域内的广泛关注。

为了更好地理解 RADAR 如何行使功能, 中国科学院生物物理研究所高璞团队系统性解析了 RdrA、RdrB、RdrA-RNA 复合物和不同组装形式的 RdrA-RdrB 复合物的冷冻电子显微镜结构, 并结合一系列突变体功能实验, 揭示了 RADAR 抗噬菌体防御系统的工作模型, 相关成果发表于 *Cell*^[16]。结构分析和功能实验表明, RdrB 组装成一个直径约为 250 Å 的十二聚体笼状结构, 其在进化上属于 ADA 超家族。12 个 RdrB 亚基催化口袋均朝外, 使其便于容纳底物分子进而具有高效率的脱氨活性, 这种独特的组装形式对 RADAR 系统的抗噬菌体功能是至关重要的。RdrA 的组装方式更为有趣: 一种是酶活抑制状态的双层漏斗形七聚体(十四聚体), 另一种则是酶活激发状态的单漏斗形。其中, 每个七聚体环绕形成了一个独特的 RNA 运输通道, 两个七聚体环以“头对头”形式对接组装。同时, 研究还发现, RNA 的装载与 ATP 的结合存在联动关系, 提示 RdrA 可通过控制 ATP 分子水解来发挥其底物的装载和运输功能。当组装成 RADAR 复合物时, 多达 12 个 RdrA 七聚体环通过其稳定的头部结构与一个 RdrB 笼进行对接, 形成直径约为 40 nm、分子量高达 10.1 MDa 的超大复合物。值得注意的是, 每个 RdrA 环的底物运输通道恰好与 RdrB 的活性中心完美对齐, 实现了底物装载、运输和修饰的巧妙偶联。

基于这些发现, 研究人员提出了 RADAR 抗噬菌体防御系统的工作模型。未组装成复合物之前, RdrA 单独可组装成两层七聚体环和一层七聚体环, 而 RdrB 是一个十二聚体笼状结构。被噬菌体感染后, 一个笼状 RdrB 十二聚体和多个单层

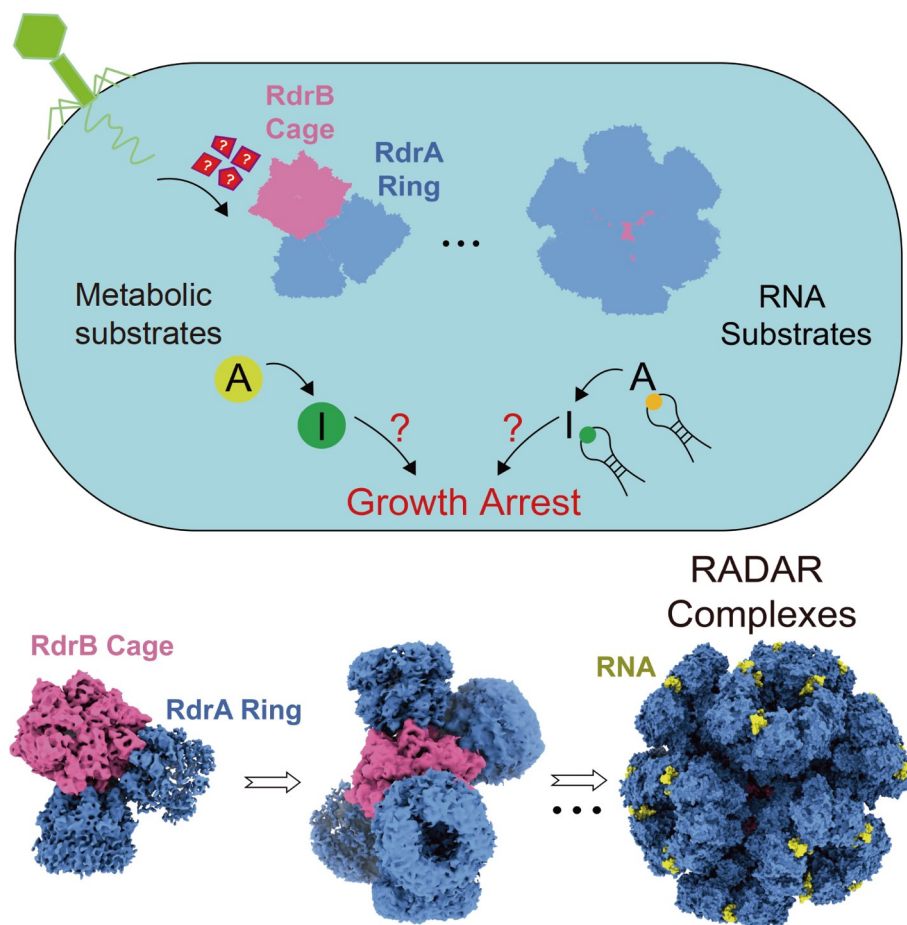


图1 (网络版彩色)RADAR超分子复合体的组装和工作机制

Figure 1 (Color online) RADAR anti-phage supramolecular assemblies and working model

RdrA七聚体环逐步组装成一个RADAR超分子机器, 通过对RNA底物进行脱氨反应, 导致宿主细胞的生长停滞, 阻止噬菌体复制。其中, 底物RNA首先是被识别和结合在RdrA底部结构域, 然后通过ATP的结合和水解把底物RNA沿底物运输通道传送到RdrB的活性中心, 最后由RdrB催化底物RNA的脱氨修饰(图1)。这一机制较好地解释了抗病毒防御中对RdrA ATP酶活性的需求, 符合Gao等人^[15]最初提出的RADAR系统工作模型。

除了RNA类底物, 高璞团队还发现RdrB及RdrA-RdrB复合物也可以催化多种小分子代谢类底物(ATP/dATP/ADP/dADP/AMP/dAMP/adenosine)的脱氨反应。值得一提的是, 哈佛医学院Philip J. Kranzusch团队和以色列魏茨曼科学研究所Rotem Sorek团队也在同一时期发表了RADAR研究结果, 同样报道了RADAR在感受到噬菌体侵染后可以诱导大肠杆菌

细胞体内ITP和dITP(分别是ATP和dATP的脱氨基产物)的大量积累, 并最终导致宿主细胞感染和细胞死亡^[17]。

新型抗噬菌体防御系统——RADAR系统, 是近期被鉴定的一种拥有全新核酸修饰活性的细菌抗病毒免疫系统, 表明RNA脱氨酶既可以参与细菌与噬菌体的博弈, 也有潜力被开发为强大的基因编辑工具。然而, 目前的研究探索仅仅是冰山一角, 两个研究团队的工作都表明还有很多核心科学问题亟待回答。特别是噬菌体感染过程中诱发RADAR系统激活的噬菌体或宿主因子将是需要进一步探索的关键科学问题之一。总而言之, 研究者们发现了RADAR不同组分间的互作关系, 揭示了其通过形成新型超分子复合体来实现RNA装载、运输和脱氨修饰的精妙偶联机制, 拓展了我们对细菌-病毒博弈复杂性的理解, 并为开发基于RADAR的多种生物学工具提供了思路。

推荐阅读文献

- 1 Tan X J, Sun L J, Chen J Q, et al. Detection of microbial infections through innate immune sensing of nucleic acids. *Annu Rev Microbiol*, 2018, 72:

447–478

- 2 Bernheim A, Sorek R. The pan-immune system of bacteria: Antiviral defence as a community resource. [Nat Rev Microbiol](#), 2020, 18: 113–119
- 3 Chibani-Chennoufi S, Bruttin A, Dillmann M L, et al. Phage-host interaction: An ecological perspective. [J Bacteriol](#), 2004, 186: 3677–3686
- 4 Labrie S J, Samson J E, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. [Nat Rev Microbiol](#), 2010, 8: 317–327
- 5 Stern A, Sorek R. The phage-host arms race: Shaping the evolution of microbes. [BioEssays](#), 2011, 33: 43–51
- 6 Dy R L, Richter C, Salmond G P C, et al. Remarkable mechanisms in microbes to resist phage infections. [Annu Rev Virol](#), 2014, 1: 307–331
- 7 Kimberley D S. Battling phages: How bacteria defend against viral attack. [PLoS Pathog](#), 2015, 11: e1004847
- 8 Loenen W A M, Dryden D T F, Raleigh E A, et al. Type I restriction enzymes and their relatives. [Nucleic Acids Res](#), 2014, 42: 20–44
- 9 Bondy-Denomy J, Pawluk A, Maxwell K L, et al. Bacteriophage genes that inactivate the CRISPR/Cas bacterial immune system. [Nature](#), 2013, 493: 429–432
- 10 Gerdes K, Christensen S K, Løbner-Olesen A. Prokaryotic toxin–antitoxin stress response loci. [Nat Rev Microbiol](#), 2005, 3: 371–382
- 11 Dupuis M È, Villion M, Magadán A H, et al. CRISPR–Cas and restriction–modification systems are compatible and increase phage resistance. [Nat Commun](#), 2013, 4: 2087
- 12 Wright A V, Nuñez J K, Doudna J A. Biology and applications of CRISPR systems: Harnessing nature’s toolbox for genome engineering. [Cell](#), 2016, 164: 29–44
- 13 Fineran P C, Blower T R, Foulds I J, et al. The phage abortive infection system, ToxIN, functions as a protein–RNA toxin–antitoxin pair. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2009, 106: 894–899
- 14 Gordeeva J, Morozova N, Sierro N, et al. BREX system of *Escherichia coli* distinguishes self from non-self by methylation of a specific DNA site. [Nucleic Acids Res](#), 2019, 47: 253–265
- 15 Gao L, Altae-Tran H, Böhning F, et al. Diverse enzymatic activities mediate antiviral immunity in prokaryotes. [Science](#), 2020, 369: 1077–1084
- 16 Gao Y, Luo X, Li P, et al. Molecular basis of RADAR anti-phage supramolecular assemblies. [Cell](#), 2023, 186: 999–1012.e20
- 17 Duncan-Lowey B, Tal N, Johnson A G, et al. Cryo-EM structure of the RADAR supramolecular anti-phage defense complex. [Cell](#), 2023, 186: 987–998.e15