# 原核生物Sir2 NADase介导的抗噬菌体机制研究进展

张婉月 黄诗晴 李国伦 甄向凯 张丹丹\* (福建师范大学生命科学学院,福州 350117)

摘要 Sir2(silent information regulator 2)结构域蛋白作为沉默信息调节因子Sirtuins家族的一员,存在于从细菌到人类的各种生物体中。在真核生物中,Sir2结构域蛋白是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>)依赖性脱乙酰酶,作为蛋白质去乙酰化酶或ADP核糖基转移酶发挥作用,参与调节转录抑制、基因重组、DNA修复和细胞周期过程。最近研究发现,在原核生物中,含有Sir2结构域的蛋白广泛分布于多种微生物免疫系统中,并作为NAD水解酶即NADase,在细菌被噬菌体感染时,能够快速水解细菌体内的NAD<sup>+</sup>,从而引起被感染的细菌的死亡。研究表明,Thoeris、SPARSA、Sir2-HerA、DSR2和Kongming等防御系统均通过Sir2结构域依赖的NAD水解酶发挥作用。该综述主要介绍了这五种抗噬菌体防御系统,并讨论了Sir2结构域在噬菌体防御中发挥的重要作用,为深入了解原核生物Sir2 NADase介导的抗噬菌体机制提供了理论支撑。

关键词 Sir2; Thoeris系统; SPARSA系统; Sir2-HerA系统; DSR2系统; Kongming系统; 抗噬菌体

# Research Progress on the Sir2 NADase-Mediated Anti-Phage Mechanism in Prokaryotes

ZHANG Wanyue, HUANG Shiqing, LI Guolun, ZHEN Xiangkai, ZHANG Dandan\* (College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China)

**Abstract** Sir2 (silent information regulator 2) domain proteins, as a member of the Sirtuins family of silencing information regulators, exists in various organisms ranging from bacteria to humans. In eukaryotes, the Sir2 domain proteins are NAD<sup>+</sup> (nicotinamide adenine dinucleotide)-dependent deacetylases. Functioning as protein deacetylases or ADP ribonucleotide transferases, they are involved in regulating transcriptional repression, gene recombination, DNA repair, and the cell cycle process. Recent research has revealed that proteins containing the Sir2 domain are extensively distributed in multiple microbial immune systems in prokaryotes and act as NAD hydrolases, namely NADases. When bacteria are infected by phages, they can rapidly hydrolyze NAD<sup>+</sup> within the bacteria, thereby causing the death of the infected bacteria. Studies have shown that defense systems such as Thoeris, SPARSA, Sir2-HerA, DSR2, and Kongming all function through the Sir2-dependent NADases. This review mainly introduces these five anti-phage defense systems and discusses the crucial role of the Sir2 domain in phage defense, providing theoretical support for an in-depth understanding of the prokaryotic Sir2 NADase-mediated anti-phage mechanism.

**Keywords** Sir2; Thoeris system; SPARSA system; Sir2-HerA system; DSR2 system; Kongming system; anti-phage

收稿日期: 2024-12-17 接受日期: 2025-04-17

福建省中青年教师教育科研项目(批准号: JAT220048)资助的课题

<sup>\*</sup>通信作者。Tel: 0591-22868072, E-mail: zhangdandan@fjnu.edu.cn

Received: December 17, 2024 Accepted: April 17, 2025

This work was supported by the Educational Research Project for Middle-Aged and Young Teachers in Fujian Province (Grant No.JAT220048)

<sup>\*</sup>Corresponding author. Tel: +86-591-22868072, E-mail: zhangdandan@fjnu.edu.cn

面对病毒的频繁攻击,细菌和古细菌已经进化 出数百种不同的抗噬菌体防御系统,经典策略如限 制性修饰(restriction-modification, RM)系统与CRIS-PR-Cas系统通过特异性识别并降解外源核酸实现免 疫防御[1-2]。此外,宿主可通过启动程序性死亡途径 [即顿挫感染(abortive infection, Abi)]清除被感染细胞, 从而保护群体免受噬菌体扩散的威胁,此类机制依 赖于对病毒入侵信号的精确感知及效应蛋白的级联 激活<sup>[3-4]</sup>。抗噬菌体系统通常通过Abi方式发挥功能, 如CBASS、Pycsar和Thoeris<sup>[5-7]</sup>,一旦它们识别噬菌体 感染,就会产生一种信号分子,随后激活杀伤细胞的 效应器。另一种Abi常见模型为毒素-抗毒素(toxinantitoxin, TA)系统, 主要编码一对稳定的毒素蛋白和 不稳定的抗毒素蛋白或RNA,噬菌体感染可诱导抗 毒素蛋白的降解,释放游离毒素分子,从而触发顿挫 感染[8-10]。在细菌免疫系统中,细菌或古细菌编码不 同的防御系统来抵抗感染,这些免疫机制相互协调, 共同维持细菌中的稳态[11-12]。除了上述防御系统外, 本篇综述主要介绍了五种含Sir2结构域的蛋白所介 导的新型抗噬菌体防御系统,通过发挥NADase活性 导致NAD<sup>+</sup>耗竭,在抵御外源噬菌体入侵时发挥重要 作用[13]。

#### 1 Sir2结构域的发现

Sir2(silent information regulator 2)是Sirtuin蛋 白家族的成员,是一种NAD<sup>+</sup>依赖的组蛋白/非组蛋 白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC), 最早发 现于酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)中,其通过 催化组蛋白及非组蛋白的赖氨酸残基去乙酰化,调 控染色质沉默与基因组稳定性[14-17]。几十年来研究 多局限在真核生物的Sir2同源蛋白,这些蛋白在酵 母和哺乳动物中已被广泛研究,包含SIRT1~SIRT7 七个成员,参与调节多种生理活动,包括转录抑制、 基因重组、DNA修复和细胞周期等过程<sup>[15,18]</sup>,其 亚细胞定位与功能呈现显著分化。(1) 核质调控: SIRT1通过去乙酰化组蛋白H3K9及p53等转录因子, 协调代谢稳态与氧化应激响应<sup>[19]</sup>; SIRT2则通过微 管蛋白去乙酰化维持基因组稳定性,并调控细胞周 期进程<sup>[20]</sup>。(2) 线粒体功能: SIRT3作为线粒体特异 性脱乙酰酶,调控丙酮酸脱氢酶复合体活性,影响 心肌细胞能量代谢<sup>[21]</sup>; SIRT4通过 ADP-核糖基化抑 制谷氨酸脱氢酶,调节线粒体ATP合成<sup>[22]</sup>;SIRT5通

过细胞色素 c的去乙酰化, 平衡氧化代谢与凋亡信号<sup>[23]</sup>。(3)核内调控: SIRT6通过染色质重塑调控端粒稳定性及炎症反应, 而 SIRT7通过 RNA聚合酶 I的去乙酰化影响核糖体生物合成, 二者共同参与衰老与自噬调控<sup>[24-25]</sup>。

近年来研究表明,含Sir2结构域的蛋白质在 原核生物中演化出独特的NADase活性,其活性的 发挥依赖系统级联调控,作为催化核心直接介导 NAD<sup>+</sup>水解,成为细菌抗噬菌体防御系统的核心效 应模块<sup>[13,26]</sup>。这类系统通过快速消耗NAD<sup>+</sup>诱发代 谢崩溃,实现感染细胞的程序性清除。目前已鉴定 的Sir2 NADase介导的抗噬菌体系统主要包括Thoeris系统<sup>[27]</sup>、SPARSA系统<sup>[28]</sup>、Sir2-HerA系统<sup>[29]</sup>、 DSR2(defense-associated Sirtuin 2)系统<sup>[30]</sup>以及 Kongming系统(孔明系统)<sup>[31]</sup>(表1)。这些发现不仅揭示了 Sir2结构域的NADase活性,也表明了Sir2结构域在 细菌对抗噬菌体免疫中发挥重要作用。

## 2 原核生物Sir2 NADase介导的抗噬菌体 系统

#### 2.1 Thoeris系统

2.1.1 Thoeris系统的分子组成与功能特性 Thoeris系统作为一类广泛分布于细菌与古菌中的抗 噬菌体防御系统,其分子机制已在枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis)中被解析<sup>[32-33]</sup>,该系统由两个功 能模块构成: (1) TIR(Toll/interleukin-1 receptor) 结构域蛋白ThsB,负责识别噬菌体相关分子模式; (2) 效应蛋白 ThsA, 通过 NAD<sup>+</sup>水解导致感染细胞 的程序性死亡(图1A)<sup>[1,33-37]</sup>。ThsB的TIR结构域可 催化NAD+及 ENAD+转化为1"-3' gcADPR或1"-3' gcEADPR信号分子<sup>[38]</sup>, ThsA的N-端Sir2结构域具 有NADase活性, C-端SLOG(Smf/DprA-LOG)结构 域能特异性识别信号分子<sup>[35,39-40]</sup>。Thoeris系统通 过ThsB的多样性实现广谱抗病毒防御:同一基因 位点内多个ThsB变体可识别TSPO1、SBSphiJ等 不同噬菌体, Thoeris系统中ThsB蛋白识别噬菌体 的方式,在功能机理上与真核生物(如动物、植物) 免疫系统中TIR蛋白识别病原体相关分子模式的 方式是非常相似的,这种相似性在进化上是保守 的<sup>[32]</sup>。

2.1.2 Thoeris系统的结构组成与构象调控 冷冻 电镜与分子动力学研究表明, ThsA蛋白在静息状态

| 系统        | 宿主来源                      | 核心组成  | Sir2结构域功能  | 参考文献       |
|-----------|---------------------------|---|--|------------|
| System    | Host origin               | Core composition  | Sir2 domain functions  | References |
| Thoeris   | Bacillus subtilis         | ThsA (Sir2-SLOG), ThsB (TIR)  | The Sir2 domain of ThsA acts as NADase, caus-<br>ing metabolic collapse by hydrolyzing NAD <sup>+</sup>  | [27,33,35] |
| SPARSA    | Pseudomonas<br>aeruginosa | pAgo (MID-PIWI), Sir2-APAZ  | The NADase activity of Sir2 is induced by<br>nucleic acid binding, catalyzing the hydrolysis of<br>NAD <sup>+</sup> into ADPR and NAM  | [28,52]    |
| Sir2-HerA | Staphylococcus<br>aureus  | Sir2, HerA (RecA-like ATPase)   | The NADase activity of Sir2 works in synergy<br>with the ATPase activity of HerA to clear the<br>phage genome through NAD <sup>+</sup> depletion and ATP-<br>dependent DNA unwinding | [29,56]    |
| DSR2      | Bacillus subtilis         | DSR2 (Sir2-MID-CTD)   | The Sir2 domain senses the activation of phage<br>TTP (tail tube protein) through CTD and catalyz-<br>es the hydrolysis of NAD <sup>+</sup> to cause miscarriage<br>infection        | [30,64]    |
| Kongming  | Escherichia coli          | KomA (adenosine deaminase), KomB<br>(a HAM1-like noncanonical purine NTP<br>pyrophosphatase), KomC (Sir2) | The Sir2 domain of KomC is activated by dITP signaling, mediating NAD <sup>+</sup> hydrolysis to block phage replication   | [31,68]    |

|         | 表1  | 原核生物Sir2 NADase介导的抗噬菌体系统                          |
|---------|-----|---|
| Table 1 | Pro | okarvotic Sir2 NADase-mediated anti-phage systems |

下以四聚体形式存在,其Sir2结构域通过Rossmann 折叠形成催化核心,而SLOG结构域呈外向构象。 当1"-3′gcADPR分子与SLOG结构域的疏水口袋特 异性结合时, ThsA四聚体发生构象重排, 组装为长 螺旋纤维结构。尽管SLOG整体构象未显著改变, 但其与配体结合后,可诱导Sir2活性中心产生5 Å位 移,解除NAD+结合位点的空间位阻<sup>[27]</sup>。进一步分 析揭示, NAD+在Sir2活性位点的结合模式具有高度 保守性,其烟酰胺基团与保守残基H186形成氢键网 络, 而腺嘌呤部分通过疏水相互作用稳定于Rossmann折叠的 $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$ 拓扑结构中。激活后的ThsA四聚 体在螺旋纤维中呈现显著构象变化, Sir2结构域相 对于SLOG结构域发生12.3°的刚性旋转,形成连续 的NAD+水解通道。同时,静息状态下由残基34~39 组成的柔性环覆盖于Sir2活性位点入口,在激活过 程中该环向外位移,暴露出NAD+结合腔<sup>[27,33]</sup>。这种 构象开关机制不仅解释了ThsA的严格底物特异性, 也为设计靶向Sir2结构域的小分子抑制剂提供了结 构基础。

2.1.3 Thoeris系统的抗噬菌体机制与动态调控 Thoeris系统抗噬菌体防御机制分为三个阶段(图 1B)。(1)信号感知:ThsB通过一种未知的机制感 知噬菌体入侵,产生信号分子1"-3′gcADPR;(2)效 应激活:ThsA的SLOG结构域与1"-3′gcADPR结合 组装成长螺旋纤维,激活Sir2 NADase活性;(3)代 谢崩溃: NAD<sup>+</sup>的急剧耗竭导致细胞代谢崩溃,实现感染个体的清除<sup>[27]</sup>。Thoeris系统通过效应蛋白的寡聚状态动态调控免疫响应:在低浓度信号分子下,ThsA以四聚体形式维持基础活性;而高浓度信号分子驱动其形成具有细胞毒性的高阶寡聚体,快速启动防御程序<sup>[41-42]</sup>。这种剂量依赖的活化模式在真核免疫信号通路(如cGAS-STING)中同样存在,揭示了原核与真核生物在抗病毒策略上存在深层进化关联。尽管Thoeris系统通过环核苷酸信号间接感知噬菌体入侵,但其效应蛋白ThsA的寡聚化激活机制为后续研究其他类型Sir2 NADase介导的抗噬菌体系统的调控提供了重要范式,如一类直接依赖核酸识别的新型防御系统——SPARSA系统,其通过Argonaute蛋白的引导功能实现精准靶向防御。

#### 2.2 SPARSA系统

2.2.1 Argonaute蛋白家族的功能与分类 Argonaute蛋白广泛存在于真核与原核生物中,真核 Argonaute(eukaryotic Argonaute, eAgo)作为RNA诱 导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)核心组分,在RNA干扰(RNA interference, RNAi)和基因沉默中发挥核心作用<sup>[43-46]</sup>。相比之 下,原核Argonaute(prokaryotic Argonaute, pAgo)具 有更显著的多样性,帮助细菌抵抗外源核酸和噬 菌体的入侵<sup>[47]</sup>。研究发现细菌Ago多为一种短Ago



A: Thoeris的结构域组成; B: Thoeris系统中ThsB通过一种未知的机制感知噬菌体感染, 被激活后产生信号转导分子1"-3' gcADPR, ThsA SLOG 结构域结合1"-3'gcADPR,导致Sir2的NADase活性被激活,通过耗尽NAD\*导致细胞死亡。

A: the domain organization of Thoeris; B: ThsB in the Thoeris system senses phage infection through an unknown mechanism and produces the signaling molecule 1''-3' gcADPR upon activation. The ThsA SLOG domain binds to 1''-3' gcADPR, which leads to the activation of NADase activity of Sir2 and cell death through depletion of NAD<sup>+</sup>.



蛋白,只含有MID和PIWI结构域,通常与含有Sir2、 Mrr或TIR结构域的蛋白质相关<sup>[48-49]</sup>,保守的Sir2和 TIR结构域具有NADase活性<sup>[33,50-51]</sup>,它们共同组成 短pAgo系统,协同发挥对外源核酸和噬菌体的防御 作用<sup>[52]</sup>。目前已经鉴定的短pAgo系统主要有三类: (1) SPARSA系统(short prokaryotic Argonaute Sir2-APAZ system); (2) SPARTA系统(short prokaryotic Argonaute TIR-APAZ system); (3) SiAgo系统<sup>[53]</sup>。 这些系统通过消耗NAD<sup>+</sup>,或引起膜去极化,引发顿 挫感染,实现群体免疫保护。

2.2.2 SPARSA系统的分子组成与结构基础 SPAR-SA系统广泛分布于革兰氏阴性菌[如大肠杆菌 (Escherichia coli)和铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)],可特异性识别λ噬菌体、SECphi27等 病原体<sup>[52]</sup>。该系统由短pAgo蛋白与N-端融合Sir2-APAZ效应蛋白组成异源二聚体(图2A),其中pAgo 的PIWI结构域负责核酸引导,而Sir2-APAZ通过 NADase活性执行效应功能<sup>[52]</sup>。冷冻电镜结构解析 表明,Sir2-APAZ的疏水环(残基Leu213-Phe225)与 pAgo PIWI结构域表面的疏水凹槽形成稳定结合, 共同构成容纳引导RNA(guide RNA, gRNA)和靶 DNA(target DNA, tDNA)的复合腔<sup>[28]</sup>。值得注意的 是,静息状态下Sir2催化位点H186与NAD<sup>+</sup>烟酰胺 基团的距离为8.2 Å,其糖苷键因空间位阻无法水 解,导致SPARSA处于自抑制状态<sup>[28]</sup>。当SPARSA 系统与gRNA和tDNA结合后,会形成具有NAD<sup>+</sup>降 解活性的四聚体,引起催化位点H186所在loop向 NAD<sup>+</sup>方向发生一个5 Å的位移,使水分子进入催化 口袋,发挥亲核攻击作用,导致NAD<sup>+</sup>水解,从而激 活Sir2 NADase<sup>[54]</sup>。

2.2.3 SPARSA系统的激活机制与抗噬菌体功能 SPARSA系统抗噬菌体防御机制分为三个阶段(图 2B)。(1)识别阶段:Sir2-APAZ和pAgo亚基组装成 一个SPARSA复合物,通过互补配对识别入侵核酸; (2)激活阶段:tDNA结合触发Sir2-APAZ构象变化, 诱导复合体四聚化,激活NADase活性;(3)效应阶 段:SPARSA系统发挥NADase活性,通过耗竭内源 性NAD<sup>+</sup>引发细胞死亡<sup>[28,54]</sup>。在这个过程中,Sir2结 构域的四聚化界面形成连续的底物通道,其催化残 基(His186/Glu220)的重新定向是NADase活化的关 键<sup>[54]</sup>。这种"核酸感应—构象重排—效应激活"的级 联机制不仅阐明了SPARSA的分子机制,更为基于 Sir2 NADase的基因编辑工具开发提供了新思路。 SPARSA系统虽可通过直接识别噬菌体基因组实现



A: SPARSA的结构域组成; B: SPARSA系统与gRNA和tDNA结合后, Sir2亚基被激活, 作为NADase将NAD<sup>+</sup>水解为ADPR, 导致细胞死亡。 A: the domain organization of SPARSA; B: after the SPARSA system binds to the guide RNA-target DNA, the Sir2 is activated and acts as NADase to hydrolyze NAD<sup>+</sup> to ADPR, resulting in cell death.



高特异性,但可能因噬菌体基因组突变导致免疫逃逸。因此,细菌进化出更为复杂的协同防御策略:如 Sir2-HerA系统协同发挥多种酶活性,不仅实现代谢崩溃,还可以清除噬菌体 DNA,从而抑制噬菌体增殖,展现了多维度防御的进化优势。

#### 2.3 Sir2-HerA系统

2.3.1 Sir2-HerA系统的分子组成与功能特性 Sir2-HerA是一类广泛分布于古菌及极端环境细菌[如 嗜热菌(*Thermus thermophilus*)和嗜盐菌(*Halobac-terium salinarum*)]的抗噬菌体防御系统,由RecA 样 ATP酶 HerA与NAD<sup>+</sup>水解酶 Sir2组成(图3A)。该系统可特异性抵抗T4、T5及T7噬菌体侵染,其功能依赖于Sir2介导的NAD<sup>+</sup>耗竭及HerA驱动的ATP酶活性<sup>[13,55-56]</sup>。遗传学分析表明,HerA作为ASCE(additional strand conserved E)超家族成员,常与NurA核酸酶及Sir2共定位形成操纵子,提示其在DNA修复与抗病毒防御中的双重作用<sup>[57-60]</sup>。

2.3.2 Sir2-HerA复合物的组装与酶活调控 对金 黄色葡萄球菌源Sir2-HerA(SaSir2-HerA)的结构解 析表明,Sir2与HerA可组装为1 MDa的超分子十八 聚体<sup>[61-62]</sup>。单独存在的Sir2仅表现出非特异性核酸 酶活性,而与HerA结合后,其活性位点发生构象重 排,转化为NADase。值得注意的是,ATP浓度对该 复合物的功能具有双向调控作用:当ATP浓度高于 0.5 mmol/L时,其通过竞争性结合抑制Sir2的NA-Dase活性;而HerA对ATP的水解(Km=0.2 mmol/L)不 仅可解除抑制,还可激活解旋酶,实现噬菌体基因 组的定向解链与切割<sup>[29]</sup>。这种多种酶(ATP酶、NA-Dase、解旋酶及核酸酶)协同作用使Sir2-HerA系统 能够高效清除入侵核酸,其机制类似于真核生物中 cGAS-STING通路的级联放大效应。

2.3.3 Sir2-HerA系统的激活机制与动态调控 SPAR-SA系统抗噬菌体防御机制分为三级阶段(图3B)。 (1) 感应阶段: 噬菌体基因组的复制活动触发宿主 ATP库的急剧消耗, 解除ATP对Sir2的抑制作用; (2) 效应阶段:HerA的ATP酶活性驱动DNA解旋,同时 Sir2通过NAD+水解诱导代谢崩溃,协同清除病毒基 因组; (3) 终止阶段: 随着感染威胁消除, 细胞内ATP 水平恢复,浓度回升的ATP(>0.5 mmol/L)重新抑制 Sir2的NADase活性并使Sir2-HerA超分子复合体解 离,确保宿主恢复正常生理状态[29,56,61]。这一动态平 衡机制通过"能量感知--效应激活--稳态重建"的闭环 调控,实现了防御效率与细胞存活的精准协调。与 Sir2-HerA系统依赖宿主能量状态不同, DSR2系统 演化出更直接的病原识别模式:其C-端传感器结构 域(C-terminal domain, CTD)可直接结合噬菌体尾管



A: Sir2-HerA的结构域组成; B: Sir2具有核酸酶活性, HerA具有解旋酶活性, Sir2-HerA复合物具有四种酶活性,包括ATP酶活性、NAD酶活性、解旋酶活性和核酸酶活性,构成了一种复杂而高效的防御机制,有效地抵抗噬菌体的攻击。

A: the domain organization of Sir2-HerA; B: Sir2 has nuclease activity, HerA has helicase activity, and formation of the Sir2-HerA complex have four enzymatic activities, including ATPase activity, NADase activity, helicase activity and nuclease activity, which constitute a complex and efficient defense mechanism against phage attack.

#### 图3 Sir2-HerA系统抗噬菌体模式图(根据参考文献[56]修改) Fig.3 Mechanism of Sir2-HerA system in phage resistance (modified from the reference [56])

蛋白(tail tube protein, TTP), 实现"病原--效应"的物理偶联, 这种结构导向的识别机制为细菌提供了快速响应的防御途径。

#### 2.4 DSR2系统

2.4.1 DSR2系统的分子组成与功能特性 DSR2 系统是一类分布于革兰氏阳性菌[如枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)]的顿挫感染免疫机制,可以保护 枯草芽孢杆菌细胞免受 SPR的侵害,其核心效应蛋 白DSR2通过NADase活性介导宿主细胞的代谢崩 溃,从而抑制噬菌体增殖<sup>[30]</sup>。DSR2蛋白包含三个 功能域:(1)N-端Sir2结构域,负责催化NAD<sup>+</sup>水解; (2)中间连接域MID,传递构象信号;(3)C-端传感器 结构域CTD,特异性识别噬菌体TTP(图4A)<sup>[63]</sup>。当 SPR噬菌体入侵时,TTP与DSR2的CTD结合,触发 Sir2结构域的构象激活,导致NAD<sup>+</sup>耗竭及感染细 胞死亡。针对细菌的这种防御,SPβ噬菌体编码的 DSAD1(DSR anti-defense 1)可通过竞争性结合抑制 DSR2活性,实现免疫逃逸<sup>[30]</sup>。

2.4.2 DSR2复合物的结构解析与构象调控 冷冻 电镜研究表明,静息状态下DSR2以"头对头"四聚体 形式组装,其Sir2结构域形成催化核心,而CTD处于 闭合构象<sup>[75]</sup>。TTP单体通过疏水相互作用优先结合 CTD的闭合构象,诱导MID发生12.7°的α-螺旋旋转, 最终解除Sir2活性位点(残基H158-E192)的空间位阻, 激活NADase功能。相反,DSAD1与CTD的开放构 象结合,通过稳定MID的抑制性构象阻断信号传递。 这种"构象开关"机制揭示了DSR2活性调控的分子基础,CTD-MID-Sir2的结构偶联实现了从病原识别到 效应激活的信号转导。

2.4.3 DSR2系统的抗噬菌体与免疫逃逸动态平 衡 DSR2系统抗噬菌体防御机制分为三个阶段(图 4B)。(1) 静息状态: DSR2四聚体的CTD处于闭合构象, Sir2活性中心被柔性环覆盖; (2) 激活状态: 噬菌体TTP 与CTD结合后, MID的构象变化传递至Sir2, 激活Sir2 NADase活性, 通过消耗细胞NAD<sup>+</sup>来抑制噬菌体繁殖; (3) 抑制状态: DSAD1与TTP竞争与DSR2的结合,有 效地抑制DSR2的NADase活性,从而使细菌存活<sup>[63-65]</sup>。 这种"识别--激活--抑制"的动态平衡不仅诠释了细菌 与噬菌体间的分子博弈,为深入理解细菌免疫中Sir2 依赖的NAD<sup>+</sup>耗竭机制奠定了坚实的基础,也为针对 细菌和噬菌体之间的"军备竞赛"寻找新的突破口提 供了重要依据。尽管DSR2系统通过直接识别噬菌体 结构蛋白实现高效防御,但其特异性可能限制抗病毒 谱的广度。最新发现的Kongming系统开创了非经典 核苷酸信号转导的新范式:通过劫持入侵噬菌体编码 的代谢酶(如脱氧核苷酸激酶)生成了dITP信号,将外 源病原体的酶资源转化为了内源免疫激活触发器,揭 示了代谢干扰在抗病毒防御中的独特价值。

#### 2.5 Kongming系统

2.5.1 Kongming系统的分子组成与信号识别机



A: DSR2的结构域组成; B: 噬菌体感染是通过识别噬菌体尾管蛋白直接与DSR2结合来感知的, 激活Sir2结构域的NADase活性, 耗尽细胞中的 NAD<sup>+</sup>, 从而导致顿挫感染。噬菌体抗蛋白DSAD1通过与TTP竞争性结合抑制DSR2活性。

A: the domain organization of DSR2; B: phage infection is sensed by the recognition of the phage tail tube protein through direct binding to DSR2. This triggers the NADase activity of the Sir2 domain to deplete NAD<sup>+</sup> in the cell thereby causing abortive infection. The phage anti-protein DSAD1 inhibits the activity of DSR2 by competitively binding to TTP.

#### 图4 DSR2系统的激活和抑制机制模式图(根据参考文献[30]修改) Fig.4 Activation and inhibition model of DSR2 system (modified from the reference [30])

制 Kongming系统是近期鉴定的细菌抗噬菌体 免疫通路,其独特之处在于利用非经典核苷酸脱 氧肌苷三磷酸(deoxyinosine triphosphate, dITP)作 为第二信使。该系统由三个核心组分构成(图5A): (1) KomA, 一种腺苷脱氨酶,催化脱氧腺苷一磷酸 (deoxyadenosine monophosphate, dAMP)脱氨基生 成脱氧肌苷单磷酸(deoxyinosine monophosphate, dIMP)<sup>[66]</sup>; (2) KomB, HAM1家族非典型嘌呤NTP焦 磷酸酶,将dITP水解为dIMP<sup>[67-68]</sup>; (3) KomC, 含Sir2 结构域,具有NADase活性,受KomB-dITP复合物调 控<sup>[31]</sup>。

2.5.2 Kongming系统的级联激活与免疫逃逸策 略 Kongming系统的抗噬菌体防御机制分为三个 阶段(图5B)。(1) 信号感知:噬菌体编码的脱氧核 苷酸激酶(deoxynucleotide kinase, DNK, 如T5噬菌 体 gp233)催化宿主dAMP磷酸化生成dADP, KomA 进一步将其脱氨基为脱氧肌苷二磷酸(deoxyinosine diphosphate, dIDP); (2)信号放大:宿主核苷二磷酸 激酶(nucleoside diphosphate kinase, NDK)将dIDP磷 酸化为dITP; (3)效应激活:dITP与KomB结合,诱导 KomC的Sir2结构域发生构象重排,激活其NADase 活性,通过NAD<sup>+</sup>耗竭阻断噬菌体复制<sup>[31]</sup>。该系统 对噬菌体DNK具有高度选择性,如T5、XZ21等噬 菌体的DNK可触发级联反应,而vB\_BsuM-Goe24 的DNK因底物结合腔突变丧失激活能力。T5噬 菌体通过编码脱氧腺苷酸磷酸酶(deoxyadenylate phosphatase, Dmp)实现免疫逃逸, Dmp在感染早期 表达,特异性水解dAMP为脱氧腺苷,截断dITP合成 路径<sup>[69]</sup>,这种代谢劫持策略揭示了宿主–噬菌体在 核苷酸稳态层面的分子博弈。

与传统环核苷酸(如cGAMP)信号通路不同, Kongming系统通过"外源酶劫持-内源代谢重塑"策



A: KomABC的结构域组成; B: 噬菌体DNK和KomA相互作用产生dIDP, 经宿主NDK生成dITP, 随后激活KomBC复合物的Sir2 NADase, 通过消 耗NAD<sup>+</sup>导致被感染细胞死亡。噬菌体编码的Dmp将dAMP降解为dA, 从而抑制dITP合成, 进而抵抗Kongming系统。 A: the domain organization of KomABC; B: phage DNK and KomA interact to produce dIDP, generate dITP via host NDK, and subsequently activate

Sir2 NADase of the KomBC complex, leading to the death of infected cells by consuming NAD<sup>+</sup>. Phage-encoded Dmp degrades dAMP to dA, thereby inhibiting dITP synthesis and thus resisting the Kongming system.

图5 Kongming系统的激活和抑制机制模式图(根据参考文献[31]修改) Fig.5 Activation and inhibition model of Kongming system (modified from the reference [31])

略,将噬菌体DNK转化为免疫激活的触发器,开创 了非经典核苷酸信号转导的新范式。其中,KomC的 Sir2结构域通过构象偶联机制实现了NADase活性的 精准调控,进一步拓展了Sir2蛋白在抗病毒防御中 的功能多样性。该系统的发现不仅为细菌免疫信号 网络研究提供了新方向,也为开发基于代谢干扰的 抗菌疗法奠定了理论基础。

### 3 总结与展望

在原核生物Sir2 NADase介导的抗噬菌体防御 系统中,Sir2结构域在静息状态下呈现自抑制构象, 其催化活性严格依赖于NAD+结合口袋的变构调 控。当系统感知噬菌体入侵信号时,通过特异性蛋 白互作或配体结合触发空间构象重排,促使Sir2转 化为活性状态并发挥NADase功能,通过催化NAD+ 分子的不可逆水解导致胞内辅酶库耗竭,最终引发 程序性细胞死亡以抑制噬菌体增殖<sup>[70]</sup>。这五种防 御系统虽均以Sir2 NADase作为核心效应模块,但 其信号感知与激活机制的多样性凸显了原核免疫 网络的复杂性与适应性, Thoeris系统通过间接信 号分子激活NADase, SPARSA系统则通过直接识 别核酸激活该酶, Sir2-HerA系统依赖能量状态感 知实现激活, DSR2系统则通过病原结构结合实现 激活,Kongming系统进一步将防御边界扩展至代 谢层面,揭示了细菌利用宿主-噬菌体互作界面的 代谢酶重塑免疫信号的创新策略。原核生物Sir2 NADase介导的抗噬菌体系统通过多样化的分子机 制实现免疫防御,其功能异质性反映了细菌与噬菌 体在进化压力下的动态博弈。在细菌与噬菌体持 续协同进化过程中,后者已进化出多种免疫逃逸 策略。Thoeris系统中,噬菌体编码的Tad1/Tad2蛋 白通过双配体结合腔高效吸附ThsA蛋白产生的环 状核苷酸信号分子,阻断下游级联反应,抑制Sir2 NADase激活<sup>[71-72]</sup>。类似地, SPbeta噬菌体家族通 过表达DSAD1抑制蛋白特异性干扰DSR2依赖性 的免疫信号转导网络<sup>[13]</sup>。最近报道的Kongming系 统中T5噬菌体通过分泌Dmp磷酸酶降解关键信号 前体物质dAMP,有效阻断宿主的防御信号转导通

路<sup>[31]</sup>, 这揭示了噬菌体通过精准调控核苷酸代谢网络实现免疫逃逸的新型分子机制。

尽管近年来原核生物Sir2 NADase介导的抗噬 菌体防御系统的研究取得了显著进展,但若干关键 科学问题仍有待阐明,如防御元件对噬菌体特异性 识别的结构基础尚未被完全解析,效应蛋白变构激 活过程中的动态构象变化规律缺乏实时观测数据, 以及宿主-噬菌体互作界面的协同进化规律及其对 免疫逃逸策略的具体机制仍需深入探索。未来研 究可通过结合冷冻电镜技术、单分子荧光示踪及 定向进化实验等多学科手段,系统解析防御网络的 时空动态调控规律,为开发基于宿主防御机制的新 型抗菌疗法提供理论框架。

#### 参考文献 (References)

- LOPATINA A, TAL N, SOREK R. Abortive infection: bacterial suicide as an antiviral immune strategy [J]. Annu Rev Virol, 2020, 7(1): 371-84.
- [2] ATHUKORALAGE J S, WHITE M F. Cyclic nucleotide signaling in phage defense and counter-defense [J]. Annu Rev Virol, 2022, 9(1): 451-68.
- [3] 黄志杰,欧阳松应,甄向凯. 原核生物HipBST毒素-抗毒素系统[J]. 中国生物化学与分子生物学报(HUANG Z J, OUYANG S Y, ZHEN X K. HipBST toxin-antitoxin system of prokaryotes
  [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology), 2023, 39(9): 1247-56.
- [4] MAYO-MUÑOZ D, SMITH L M, GARCIA-DOVAL C, et al. Type III CRISPR-Cas provides resistance against nucleusforming jumbo phages via abortive infection [J]. Mol Cell, 2022, 82(23): 4471-86.
- [5] HOBBS S J, WEIN T, LU A, et al. Phage anti-CBASS and anti-Pycsar nucleases subvert bacterial immunity [J]. Nature, 2022, 605(7910): 522-6.
- [6] TAL N, MOREHOUSE B R, MILLMAN A, et al. Cyclic CMP and cyclic UMP mediate bacterial immunity against phages [J]. Cell, 2021, 184(23): 5728-39.
- [7] DUNCAN-LOWEY B, KRANZUSCH P J. CBASS phage defense and evolution of antiviral nucleotide signaling [J]. Curr Opin Immunol, 2022, 74: 156-63.
- [8] BOBONIS J, MITOSCH K, MATEUS A, et al. Bacterial retrons encode phage-defending tripartite toxin-antitoxin systems [J]. Nature, 2022, 609(7925): 144-50.
- [9] JURĖNAS D, FRAIKIN N, GOORMAGHTIGH F, et al. Biology and evolution of bacterial toxin-antitoxin systems [J]. Nat Rev Microbiol, 2022, 20(6): 335-50.
- [10] 李明,程飞跃,龚路遥,等.微生物新型防御系统的系统性发现与展望[J].遗传(LI M, CHENG F Y, GONG L Y, et al. Systematic discovery of novel prokaryotic defense systems: progress and prospects [J]. Hereditas), 2018, 40(4): 259-65.
- [11] KOONIN E V, MAKAROVA K S, WOLF Y I. Evolutionary genomics of defense systems in archaea and bacteria [J]. Annu Rev

Microbiol, 2017, 71: 233-61.

- [12] MAKAROVA K S, WOLF Y I, SNIR S, et al. Defense islands in bacterial and archaeal genomes and prediction of novel defense systems [J]. J Bacteriol, 2011, 193(21): 6039-56.
- [13] GARB J, LOPATINA A, BERNHEIM A, et al. Multiple phage resistance systems inhibit infection via SIR2-dependent NAD<sup>+</sup> depletion [J]. Nat Microbiol, 2022, 7(11): 1849-56.
- [14] KLAR A J, FOGEL S, MACLEOD K. MAR1-a regulator of the HMa and HMalpha loci in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Genetics, 1979, 93(1): 37-50.
- [15] 龙莹. 细菌新型抗噬菌体防御蛋白DSR2的作用机制研究[D]. 北京:北京化工大学, 2023.
- [16] KENNEDY B K, AUSTRIACO N R Jr, ZHANG J, et al. Mutation in the silencing gene SIR4 can delay aging in *S. cerevisiae* [J]. Cell, 1995, 80(3): 485-96.
- [17] IMAI S, ARMSTRONG C M, KAEBERLEIN M, et al. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NADdependent histone deacetylase [J]. Nature, 2000, 403(6771): 795-800.
- [18] MIN J, LANDRY J, STERNGLANZ R, et al. Crystal structure of a SIR2 homolog-NAD complex [J]. Cell, 2001, 105(2): 269-79.
- [19] SINGH V, UBAID S. Role of silent information regulator 1 (SIRT1) in regulating oxidative stress and inflammation [J]. Inflammation, 2020, 43(5): 1589-98.
- [20] ZHOU Y L, YAN Y M, LI S Y, et al. 6-O-angeloylplenolin exerts neuroprotection against lipopolysaccharide-induced neuroinflammation *in vitro* and *in vivo* [J]. Acta Pharmacol Sin, 2020, 41(1): 10-21.
- [21] YANG W, NAGASAWA K, MÜNCH C, et al. Mitochondrial sirtuin network reveals dynamic SIRT3-dependent deacetylation in response to membrane depolarization [J]. Cell, 2016, 167(4): 985-1000.
- [22] WANG C H, WEI Y H. Roles of mitochondrial sirtuins in mitochondrial function, redox homeostasis, insulin resistance and type 2 diabetes [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15): 5266.
- [23] SCHLICKER C, GERTZ M, PAPATHEODOROU P, et al. Substrates and regulation mechanisms for the human mitochondrial sirtuins Sirt3 and Sirt5 [J]. J Mol Biol, 2008, 382(3): 790-801.
- [24] LI X, LIU L, LI T, et al. SIRT6 in senescence and aging-related cardiovascular diseases [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 641315.
- [25] LI X T, ZHANG Y P, ZHANG M W, et al. Sirtuin 7 serves as a promising therapeutic target for cardiorenal diseases [J]. Eur J Pharmacol, 2022, 925: 174977.
- [26] SANDERS B D, JACKSON B, MARMORSTEIN R. Structural basis for sirtuin function: what we know and what we don't [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1804(8): 1604-16.
- [27] TAMULAITIENE G, SABONIS D, SASNAUSKAS G, et al. Activation of Thoeris antiviral system via SIR2 effector filament assembly [J]. Nature, 2024, 627(8003): 431-6.
- [28] ZHEN X, XU X, YE L, et al. Structural basis of antiphage immunity generated by a prokaryotic Argonaute-associated SPARSA system [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 450.
- [29] LIAO F, YU G, ZHANG C, et al. Structural basis for the concerted antiphage activity in the SIR2-HerA system [J]. Nucleic Acids Res, 2024, 52(18): 11336-48.
- [30] WANG R, XU Q, WU Z, et al. The structural basis of the activa-

tion and inhibition of DSR2 NADase by phage proteins [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 6185.

- [31] ZENG Z, HU Z, ZHAO R, et al. Base-modified nucleotides mediate immune signaling in bacteria [J]. Science, 2025, 388(6745): 350-5.
- [32] DORON S, MELAMED S, OFIR G, et al. Systematic discovery of antiphage defense systems in the microbial pangenome [J]. Science, 2018, 359(6379): 4120.
- [33] OFIR G, HERBST E, BAROZ M, et al. Antiviral activity of bacterial TIR domains via immune signalling molecules [J]. Nature, 2021, 600(7887): 116-20.
- [34] DUXBURY Z, WANG S, MACKENZIE C I, et al. Induced proximity of a TIR signaling domain on a plant-mammalian NLR chimera activates defense in plants [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(31): 18832-9.
- [35] KA D, OH H, PARK E, et al. Structural and functional evidence of bacterial antiphage protection by Thoeris defense system via NAD<sup>+</sup> degradation [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 2816.
- [36] MOREHOUSE B R, GOVANDE A A, MILLMAN A, et al. STING cyclic dinucleotide sensing originated in bacteria [J]. Nature, 2020, 586(7829): 429-33.
- [37] TZIPILEVICH E, POLLAK-FIYAKSEL O, SHRAITEH B, et al. Bacteria elicit a phage tolerance response subsequent to infection of their neighbors [J]. EMBO J, 2022, 41(3): e109247.
- [38] HUANG Y, FLIEGERT R, GUSE A H, et al. A structural overview of the ion channels of the TRPM family [J]. Cell Calcium, 2020, 85: 102111.
- [39] BURROUGHS A M, ARAVIND L. Identification of uncharacterized components of prokaryotic immune systems and their diverse eukaryotic reformulations [J]. J Bacteriol, 2020, 202(24): e202300454.
- [40] BURROUGHS A M, ZHANG D, SCHÄFFER D E, et al. Comparative genomic analyses reveal a vast, novel network of nucleotide-centric systems in biological conflicts, immunity and signaling [J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(22): 10633-54.
- [41] KAGAN J C, MAGUPALLI V G, WU H. SMOCs: supramolecular organizing centres that control innate immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2014, 14(12): 821-6.
- [42] ZHANG Q, BHATTACHARYA S, ANDERSEN M E. Ultrasensitive response motifs: basic amplifiers in molecular signalling networks [J]. Open Biol, 2013, 3(4): 130031.
- [43] FAEHNLE C R, JOSHUA-TOR L. Argonaute MID domain takes centre stage [J]. EMBO Rep, 2010, 11(8): 564-5.
- [44] MA J B, YUAN Y R, MEISTER G, et al. Structural basis for 5'-end-specific recognition of guide RNA by the *A. fulgidus* Piwi protein [J]. Nature, 2005, 434(7033): 666-70.
- [45] MIYOSHI T, ITO K, MURAKAMI R, et al. Structural basis for the recognition of guide RNA and target DNA heteroduplex by Argonaute [J]. Nat Commun, 2016, 7: 11846.
- [46] OLOVNIKOV I, CHAN K, SACHIDANANDAM R, et al. Bacterial argonaute samples the transcriptome to identify foreign DNA [J]. Mol Cell, 2013, 51(5): 594-605.
- [47] SONG J J, SMITH S K, HANNON G J, et al. Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity [J]. Science, 2004, 305(5689): 1434-7.
- [48] RYAZANSKY S, KULBACHINSKIY A, ARAVIN A. The expanded universe of prokaryotic Argonaute proteins [J]. mBio,

2018, doi: 10.1128/mBio.01935-18.

- [49] MAKAROVA K S, WOLF Y I, VAN DER OOST J, et al. Prokaryotic homologs of Argonaute proteins are predicted to function as key components of a novel system of defense against mobile genetic elements [J]. Biol Direct, 2009, 4: 29.
- [50] HORSEFIELD S, BURDETT H, ZHANG X, et al. NAD<sup>+</sup> cleavage activity by animal and plant TIR domains in cell death pathways [J]. Science, 2019, 365(6455): 793-9.
- [51] WAN L, ESSUMAN K, ANDERSON R G, et al. TIR domains of plant immune receptors are NAD<sup>+</sup>-cleaving enzymes that promote cell death [J]. Science, 2019, 365(6455): 799-803.
- [52] ZAREMBA M, DAKINEVICIENE D, GOLOVINAS E, et al. Short prokaryotic Argonautes provide defence against incoming mobile genetic elements through NAD<sup>+</sup> depletion [J]. Nat Microbiol, 2022, 7(11): 1857-69.
- [53] KOOPAL B, MUTTE S K, SWARTS D C. A long look at short prokaryotic Argonautes [J]. Trends Cell Biol, 2023, 33(7): 605-18.
- [54] CUI N, ZHANG J T, LI Z, et al. Tetramerization-dependent activation of the Sir2-associated short prokaryotic Argonaute immune system [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 8610.
- [55] GAO L, ALTAE-TRAN H, BÖHNING F, et al. Diverse enzymatic activities mediate antiviral immunity in prokaryotes [J]. Science, 2020, 369(6507): 1077-84.
- [56] TANG D, CHEN Y, CHEN H, et al. Multiple enzymatic activities of a Sir2-HerA system cooperate for anti-phage defense [J]. Mol Cell, 2023, 83(24): 4600-13.
- [57] LEIPE D D, WOLF Y I, KOONIN E V, et al. Classification and evolution of P-loop GTPases and related ATPases [J]. J Mol Biol, 2002, 317(1): 41-72.
- [58] RZECHORZEK N J, BLACKWOOD J K, BRAY S M, et al. Structure of the hexameric HerA ATPase reveals a mechanism of translocation-coupled DNA-end processing in archaea [J]. Nat Commun, 2014, 5: 5506.
- [59] YANG J, SUN Y, WANG Y, et al. Structural and DNA end resection study of the bacterial NurA-HerA complex [J]. BMC Biol, 2023, 21(1): 42.
- [60] WHITE M F, ALLERS T. DNA repair in the archaea-an emerging picture [J]. FEMS Microbiol Rev, 2018, 42(4): 514-26.
- [61] SHEN Z, LIN Q, YANG X Y, et al. Assembly-mediated activation of the SIR2-HerA supramolecular complex for anti-phage defense [J]. Mol Cell, 2023, 83(24): 4586-99.
- [62] ZHEN X, ZHOU B, LIU Z, et al. Mechanistic basis for the allosteric activation of NADase activity in the Sir2-HerA antiphage defense system [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 9269.
- [63] ZHANG H, LI Y, LI L, et al. Structural insights into activation mechanisms on NADase of the bacterial DSR2 anti-phage defense system [J]. Sci Adv, 2024, 10(31): 5691.
- [64] YIN H, LI X, WANG X, et al. Insights into the modulation of bacterial NADase activity by phage proteins [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 2692.
- [65] HUANG J, ZHU K, GAO Y, et al. Molecular basis of bacterial DSR2 anti-phage defense and viral immune evasion [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 3954.
- [66] CRISTALLI G, COSTANZI S, LAMBERTUCCI C, et al. Adenosine deaminase: functional implications and different classes of inhibitors [J]. Med Res Rev, 2001, 21(2): 105-28.
- [67] SAVCHENKO A, PROUDFOOT M, SKARINA T, et al. Mo-

lecular basis of the antimutagenic activity of the house-cleaning inosine triphosphate pyrophosphatase RdgB from *Escherichia coli* [J]. J Mol Biol, 2007, 374(4): 1091-103.

- [68] NOSKOV V N, STAAK K, SHCHERBAKOVA P V, et al. HAM1, the gene controlling 6-N-hydroxylaminopurine sensitivity and mutagenesis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Yeast, 1996, 12(1): 17-29.
- [69] DAVISON J. Pre-early functions of bacteriophage T5 and its relatives [J]. Bacteriophage, 2015, 5(4): e1086500.
- [70] GEORJON H, BERNHEIM A. The highly diverse antiphage defence systems of bacteria [J]. Nat Rev Microbiol, 2023, 21(10): 686-700.
- [71] LEAVITT A, YIRMIYA E, AMITAI G, et al. Viruses inhibit TIR gcADPR signalling to overcome bacterial defence [J]. Nature, 2022, 611(7935): 326-31.
- [72] LI D, XIAO Y, FEDOROVA I, et al. Single phage proteins sequester signals from TIR and cGAS-like enzymes [J]. Nature, 2024, 635(8039): 719-27.