

细菌环寡核苷酸介导的抗噬菌体信号系统研究进展

刘泽林, 黄丽萍, 甄向凯, 张丹丹*

福建师范大学 生命科学学院, 福建 福州

刘泽林, 黄丽萍, 甄向凯, 张丹丹. 细菌环寡核苷酸介导的抗噬菌体信号系统研究进展[J]. 微生物学报, 2025, 65(11): 4721-4735.
LIU Zelin, HUANG Liping, ZHEN Xiangkai, ZHANG Dandan. Advances in the study of bacterial cyclic oligonucleotide-mediated anti-phage signaling systems[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(11): 4721-4735.

摘要: 基于细菌环寡核苷酸 (cyclic oligonucleotide, CO) 的抗噬菌体信号系统 (cyclic oligonucleotide-based anti-phage signaling system, CBASS) 是一种广泛分布于细菌中的先天免疫系统。该系统由寡核苷酸环化酶 cGAS/DncV 样核苷酸转移酶 (cGAS/DncV-like nucleotidyltransferases, CD-NTases)、CD-NTase 相关蛋白 (CD-NTase-associated protein, Cap) 和辅助蛋白 (accessory proteins) 组成。寡核苷酸环化酶在细菌受到噬菌体感染时会产生信号环寡核苷酸以放大信号, 随后效应蛋白被环寡核苷酸激活, 通过损伤细胞膜、降解 DNA 和耗竭必需代谢物等多种机制诱导细胞死亡。辅助蛋白则负责对 CBASS 系统进行调控, 最终抑制噬菌体感染。本文介绍了 CBASS 系统的组成和分类, 并进一步阐述了 CD-NTase 识别结合噬菌体 RNA 并激活合成第二信使 CO 的过程; Cap 效应基因编码的效应蛋白通过结合第二信使介导细胞杀伤, 而 Cap 的辅助基因编码的辅助蛋白则参与调控 CBASS 系统的活性。同时, 本文还介绍了噬菌体对 CBASS 系统的免疫逃逸。本文有助于从 CBASS 系统的角度深入理解噬菌体与其宿主菌互作详细机制及其生物学意义。

关键词: CBASS; cGAS; 抗噬菌体; 抗 CBASS

Advances in the study of bacterial cyclic oligonucleotide-mediated anti-phage signaling systems

LIU Zelin, HUANG Liping, ZHEN Xiangkai, ZHANG Dandan*

College of Life Science, Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian, China

Abstract: The cyclic oligonucleotide (CO)-based anti-phage signaling system (CBASS), an innate

资助项目: 国家自然科学基金(82225028, 82172287); 福建省中青年教育科研项目(JAT220048)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82225028, 82172287) and the Education and Scientific Research Project for Young and Middle-aged Teachers in Fujian Province (JAT220048).

*Corresponding author. E-mail: zhangdandan@fjnu.edu.cn

Received: 2025-03-31; Accepted: 2025-06-26; Published online: 2025-07-22

immune system widely distributed in bacteria, is composed of oligonucleotide cyclases cGAS/DncV-like nucleotidyltransferases (CD-NTases), CD-NTase-associated protein (Cap), and accessory proteins. When bacteria are infected by phages, CD-NTases generate COs to amplify signals. Subsequently, effectors are activated by COs, inducing cell death through multiple mechanisms such as damaging cell membranes, degrading DNA, and depleting essential metabolites. Accessory proteins are responsible for regulating the CBASS, ultimately inhibiting phage infection. This review introduces the composition and classification of CBASS and further discusses the process by which CD-NTases recognize and bind to phage RNA to activate the synthesis of the second messenger CO. Effectors encoded by Cap effector genes mediate cell killing by binding to COs, while accessory proteins encoded by Cap auxiliary genes are involved in regulating the activity of CBASS. In addition, the immune evasion of phages from CBASS is also discussed. This review helps to understand the detailed mechanisms and biological significance of the interactions between phages and their host bacteria from the perspective of CBASS.

Keywords: CBASS; cGAS; phage resistance; anti-CBASS

自然界中所有生物的生存均依赖于细胞对内部状态及外部环境变化的感知能力，除环境压力外细菌还面临着病毒(噬菌体)的侵袭，在与噬菌体的长期较量中细菌逐渐进化出复杂的防御机制来对抗噬菌体，其中包括限制性修饰系统(restriction-modification system)和规律成簇的间隔短回文重复序列系统及相关蛋白(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR-associated, CRISPR-Cas)系统，这些防御系统通过特异性识别并破坏外源 DNA，从而有效阻止噬菌体的复制^[1]。

越来越多的证据表明哺乳动物先天免疫系统的多个组分在细菌中存在功能同源物，例如参与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)代谢的含 Toll 样受体(Toll/interleukin-1 receptor, TIR)结构域的蛋白^[2-5]、核苷酸结合寡聚化结构域(nucleotide binding oligomerization domain containing, NOD)样受体(Nod-like receptor, NLR)家族蛋白^[6]，以及环鸟苷酸-腺苷酸合成酶-干扰素基因刺激因子(cyclic GMP-AMP synthase-stimulator of interferon genes, cGAS-STING)信号通路^[7-8]。这些保守元件发挥着与哺乳动物中相似的作用，通过执行抗菌效应功能在噬菌体防御机制中扮

演着关键角色。哺乳动物细胞中的环 GMP-AMP 合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)-STING 免疫通路在感知病毒感染过程中发挥重要功能，现已证实这一通路源自一种细菌防御系统——基于环寡核苷酸(cyclic oligonucleotide, CO)的抗噬菌体免疫系统(cyclic oligonucleotide-based anti-phage signaling system, CBASS)^[7-9]。该系统在细菌中分布广泛，且具有功能多样性。在动物细胞中 cGAS 作为关键的 DNA 感受器能够识别并结合入侵的双链病毒 DNA；cGAS 在结合 DNA 后会催化合成第二信使环状鸟苷酸-腺苷酸(2',3'-cyclic GMP-AMP, 2'3'-cGAMP)，进而通过 STING 通路激活干扰素应答^[10]。此外，cGAS 活性的精准调控对于维持免疫反应的平衡至关重要。cGAS 通过催化三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)和 GTP 合成 2'3'-cGAMP，启动 cGAS-STING 信号通路；紧接着，2'3'-cGAMP 作为第二信使与内质网膜上的干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)蛋白特异性结合，导致 STING 构象发生变化，进而激活下游的信号传导级联^[11]。该信号通路最终通过激活干扰素调节因子 3(interferon regulatory factor 3, IRF3)和核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)，诱导 I 型干扰素

及促炎细胞因子的表达, 从而启动宿主抗病毒免疫应答^[10-11]。

细菌中的 cGAS/DncV 样核苷酸转移酶 (cGAS/DncV-like nucleotidyltransferases, CD-NTases) 能感知病毒感染, 并合成环状二核苷酸 (cyclic dinucleotides, CDNs) 作为第二信使, 激活下游效应蛋白网络, 进而构建起一种与哺乳动物 cGAS-STING 通路相类似的抗菌防御体系^[12]。与 cGAS-STING 通路不同的是 CBASS 系统的 CO 所结合并激活的是同源的 CD-NTase 相关蛋白 (CD-NTase-associated protein, Cap) 效应蛋白, 这些效应蛋白被激活后通常具有磷脂酶、核酸酶、蛋白酶、ATP 核苷酶等活性, 可启动细胞程序性死亡, 阻止噬菌体在宿主体内的复制, 从而抑制噬菌体侵染附近的细胞, 这一过程被称为顿挫感染 (abortive infection, Abi)^[8,13-22]。本文对近期原核生物中发现的 CBASS 抗噬菌体系统进行综述。

1 CBASS 的组成

研究人员通过生物信息学和功能分析发现, CBASS 广泛存在于细菌和古细菌基因组中, 形成了一个庞大且高度多样化的抗噬菌体防御家族^[21-22]。CBASS 至少由 2 种蛋白质构成: 一种是感知噬菌体入侵信号的酶 (CD-NTases), 负责生成信号分子 CO; 另一种则作为效应杀伤因子, 能够识别这些 CO, 并触发细胞杀伤机制。相比之下, 更为复杂的 CBASS 除了具有这 2 种基本元件外还编码 CBASS 辅助基因。Millman 等^[22]通过基因组同源分析, 在古菌和细菌中鉴定出 5 756 个寡核苷酸环化酶基因, 并对这些微生物基因组中的 CBASS 进行系统性分析。根据 CBASS 组成、寡核苷酸环化酶产生的信号分子以及效应蛋白的功能将 CBASS 分为 4 种主要类型。如表 1 所示, 其中 I 型 CBASS 是最普遍也最简单的一类, 是仅由寡核苷酸环化酶基因和效应基因组成的双基因系统; II 型

CBASS 在 I 型 CBASS 的基础上还编码含泛素相关结构域的辅助基因; III 型操纵在辅助基因方面与 II 型不同, 其辅助基因编码的蛋白通常含有 HORMA 和 TRIP13 结构域; IV 型 CBASS 是一种罕见的 CBASS, 除了有基本的 2 个核心元件外还编码 Cap9、Cap10 和 Cap11 3 个辅助基因, 这些辅助基因编码的效应蛋白被推测参与核苷酸修饰。

2 细菌 CBASS 抗噬菌体策略

2.1 细菌 CBASS 感知噬菌体入侵

尽管细菌的 CBASS 在抵御噬菌体感染中发挥着关键作用, 但其抗噬菌体机制的细节一直不为人知, 如 CBASS 中的核心组分 CD-NTase 被噬菌体激活的机制尚不清楚。对于真核细胞来说, cGAS 可与细胞中的病毒双链 DNA 直接结合并被激活^[10,21-22,36], 此外还存在其他同源 cGAS 可通过结合病毒 RNA 来感知病毒入侵^[37-38]。直到 2023 年, Banh 等^[39]发现葡萄球菌噬菌体会产生一种由末端酶亚基基因转录而成的结构化 RNA, 这种 RNA 被称为 CBASS-activating bacteriophage RNA (cabRNA), 并被证实是 CBASS 免疫反应的触发器; cabRNA 通过与施氏葡萄球菌-CBASS (*Staphylococcus schleiferi*-CBASS, Ssc-CBASS) 的 CdnE03 环化酶结合启动 CO 的合成, 进而激活 Cap15 的活性导致膜损伤, 从而保护葡萄球菌群体免受 $\Phi 80\alpha$ 噬菌体的侵染。为了探究 cabRNA 与 CdnE03 相互作用机制, 研究人员解析了 cabRNA 与 CdnE03 结构后发现, 当噬菌体侵染宿主后病毒会从编码终止酶小亚基 (terS) 和大亚基 (terL) 的基因中转录出约 400 nT 的 cabRNA; cabRNA 与 CdnE03 环化酶结合促进 cGAMP 合成, 进而激活 CBASS 免疫反应; 随后 CdnE03 环化酶上带有保守赖氨酸和精氨酸残基的正电荷表面结合 39 nT 和 49 nT 的 cabRNA, 激活 cGMP 合成, 启动抗噬菌体免疫^[39]。

表1 CBASS全类型及编码蛋白总结表

Table 1 Summary of CBASS all-type manipulation systems and encoded proteins

CBASS types	Composition	Protein name	Protein type	Signaling molecules	References
Type I	CD-NTase+effector	CapV	The membrane-destructive effector protein CapV is activated and has phospholipase activity, leading to membrane damage	3'3'-cGAMP	[14]
		CapE	The membrane-destructive effector protein CapE, when activated, has phospholipase activity, leading to membrane disruption	cUA	[23]
		Cap15	After the membrane-perforating effector protein Cap15 is activated, oligomerization of the TM domain leads to membrane perforation	2'3'-cGAMP	[24]
		Cap14	After the membrane-perforating effector protein Cap14 is activated, oligomerization of the TM domain leads to membrane perforation	2'3'-cGAMP	[25]
		Cap16	After the membrane-perforating effector protein Cap16 is activated, the oligomerization of the TM domain leads to membrane perforation	2'3'-cGAMP	[24]
		Cap4	The endonuclease-type effector protein Cap4, when activated, leads to DNA degradation	2'3'3'-cAAA, 3'3'3'-cAAG	[15-16]
		Cap5	The endonuclease-type effector protein Cap4, when activated, leads to DNA degradation	3'2'-cGAMP, c-diAMP	[26]
Type II	CD-NTase+effector+ accessory proteins (Cap2/Cap3)	Cap2	After the ubiquitination-regulated accessory protein Cap2 is activated, it can achieve the complete activation of CD-NTase	–	[27-28]
		Cap3	The deubiquitination-regulated accessory protein Cap3 inhibits the full activation of CD-NTase after activation	–	[27]
Type II (short)	CD-NTase+effector+ accessory proteins (E2)	E2	The deubiquitination-regulated accessory protein Cap3 inhibits the full activation of CD-NTase after activation	–	[29]
Type III	CD-NTase+effector+ accessory proteins (Cap6/Cap7)	NucC	After the endonuclease-type effector protein NucC is activated, it leads to nucleic acid degradation	3'3'3'-cAAA	[15,30]
		Cap17	The activation of the metabolic exhaustion-type effector protein Cap17 leads to the degradation of ATP	–	[18]
		TIR- SAVED	The activation of the metabolic exhaustion-type effector protein TIR- SAVED leads to the degradation of NAD ⁺	3'3'3'-cAAA	[31-32]
		Cap6	The regulatory accessory protein Cap6 inhibits the activities of Cap7 and CD-NTase	–	[33-34]
		Cap7	The regulatory accessory protein Cap7, when activated by the phage protein, leads to the complete activation of CD-NTase	–	[33-34]
		CapH	The transcriptional regulatory co-protein CapH inhibits the expression of CBASS	–	[34]
		CapP	After the transcription regulatory accessory protein CapP is activated, it cleaves CapH and promotes the expression of CBASS	ssDNA	[34]
		CapW	The activation of the transcriptional regulatory accessory protein CapW promotes the expression of CBASS	ssDNA	[35]
Type IV	CD-NTase+effector+ accessory proteins (Cap9/Cap10/Cap11)	Cap9-11	Nucleotide-modified accessory protein	–	[22]

– means no literature report.

在细菌防御系统中, 与真核生物 cGAS 通过识别特定长度双链 RNA (double strand RNA, dsRNA) 而非序列特异性激活的机制不同, 细菌中的 cabRNA 是一种高度免疫原性的病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMP), 它能够结合到环化酶的正电表面, 促进环状二核苷酸 cGAMP 的合成, 激活 CBASS 免疫反应; 然而, 逃逸 CBASS 免疫反应的噬菌体突变会导致产生一种更长形式的 cabRNA, 这种 cabRNA 无法激活 CdnE03; 这类分子在细胞质中的异常积累通常作为 RNA 病毒感染的特征性信号; 鉴于细菌中细胞核与细胞质并未明确分隔, Banh 等^[39]的研究揭示原核生物中的 CBASS 环化酶通过检测一种独特的噬菌体源性 RNA 来激活免疫反应, 这种 RNA 与宿主转录组特性相异, 从而避免了自身免疫反应的发生; 今后的研究将集中在 cabRNA 具有的特性上, 如其生物发生、结构、功能和与 CBASS 环化酶的分子相互作用, 使其能够启动环核苷酸第二信使的合成。

近期研究发现, 噬菌体编码衣壳(capsid)蛋白的基因若发生突变将促使噬菌体成功实现对 I 型 CBASS 的免疫逃逸, 然而 CBASS 如何识别衣壳蛋白并触发免疫应答的具体机制目前仍是一个待解之谜^[40-41]。

2.2 效应蛋白破坏细胞膜结构

CBASS 的效应蛋白主要由 2 个结构域组成, 即环状寡核苷酸感应结构域和细胞杀伤结构域。作为效应蛋白的关键组件, 细胞杀伤结构域凭借多样的催化活性触发宿主防御机制(图 1); 目前, 在 CBASS 中已鉴定的效应杀伤功能包括磷脂酶活性(水解细胞膜磷脂双分子层)、核酸酶活性(降解噬菌体遗传物质)、蛋白酶活性(破坏关键宿主因子)以及 ATP 酶活性(耗竭能量储备)^[14,16,18,22]。Cap 效应蛋白通过执行这些效应杀伤功能来介导细胞自杀和阻止噬菌体复制; 其中, CBASS 针对细胞膜结构的破坏并诱导细胞程序性死亡的方式是一种普遍

存在的抗噬菌体途径; 2018 年, Severin 等^[14]在霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)中发现 CapV 受 DncV 合成的 cGAMP 激活后具有磷脂酶活性, 而磷脂酶结构域的作用是通过降解细胞膜内的磷脂导致细胞形态改变, 最终使细胞裂解; 当宿主细胞受到病毒入侵时 CapV 被 cGAMP 激活, 并快速降解胞内磷脂酰乙醇胺和磷脂酰甘油破坏细胞膜完整性, 以抵御噬菌体的入侵^[14,23]。相比之下, 同样具有磷脂酶活性的 CapE 在静息状态时会以二聚体的形式存在, 此时其底物通道处于封闭状态, 环腺苷尿苷酸(3',3'-cyclic UMP-AMP, cUA)则是触发 CapE 构象变化的关键因素^[42]。在激活过程中, CapE 二聚体以“头尾相接”的方式进行线性堆叠, 进而自组装形成纤维状超分子复合物。这种独特的纤维状复合物结构具有重要意义, 它使通往酶活中心的底物通道得以开放, 原本隐藏在内部的催化位点也随之暴露出来这一系列变化驱动 CapE 效应蛋白由静息态向活化态转变, 此时 CapE 磷脂酶类效应蛋白展现出卓越的功能, 能够迅速裂解细胞膜; 随着细胞膜被逐步破坏, 最终会导致细胞裂解和死亡^[14,23,42]。

效应蛋白家族不仅具有磷脂酶催化活性, 而且其 C 端常含有一个跨膜螺旋, 即 TM 结构域(transmembrane domain, TMD)。当第二信使激活该结构域时会引发其构象重排, 随后发生寡聚化, 最终在细胞膜上打孔。膜穿孔的形成会导致胞内外离子梯度被破坏、ATP 泄漏及膜电位丧失, 最终通过渗透裂解机制引发细胞死亡。如上述提到的 Cap15, 在 2021 年 Duncan-Lowey 等^[24]发现 Cap15 的组成包括 N 端 TM 螺旋融合到一个 C 端的 β 桶结构域, 未激活时在细胞内以寡聚形式存在; 当 C 端的 β 桶结构域结合环状寡核苷酸时 Cap15 会在膜内形成高阶复合物, TM 结构域激活, 效应蛋白寡聚并嵌入膜内形成一个穿孔, 损伤细胞膜; 除 Cap15 外该团队还发现了几个含 TM 结构域的 CBASS 效应蛋白家族, 例如 Cap14 (TM-SAVED) 和 Cap16 (TM-

NUDIX), 这些蛋白上的 TM 结构域同样会通过寡聚化在内膜形成穿孔发挥细胞毒性, 并且根据所融合的结构域的不同具有不同的功能^[24]。例如 2023 年 Tak 等^[25]发现 Cap14 蛋白的跨膜结构域(TM)与 SAVED (SAM and HD domain-containing)结构域融合后能够在细菌细胞质膜上组装形成新型核苷离子通道; 该通道具有双重功能特性: 一方面, Cap14 (TM-SAVED)可特异性识别并结合由 CdnB 环化酶合成的 2'3'-cGAMP; 另一方面, Cap14 依赖 TM-SAVED 形成孔道结构介导阳离子跨膜运输; 2'3'-cGAMP 与 Cap14 的结合可促使 Cap14 形成四聚体, 随后插入细菌细胞膜, 将氯离子泵出至细胞外, 从而扰乱细胞的酸碱平衡和渗透压, 引起细菌顿挫感染。Cap16 的 TM 结构域则融合了 NUDIX 水解酶; 现已知该结构域可切割与其他片段相连的核苷二磷酸分子, 然而在对 NUDIX 进行突变实验后发现 Cap16 依然具有细胞毒性^[24,43], 尽管部分效应蛋白的 TM 结构域融合了其他多种功能结构域, 但 TM 结构域的寡聚化可能导致的内膜破坏仍是诱导快速细胞死亡、抑制噬菌体复制的关键因素。

2.3 效应蛋白降解噬菌体与宿主 DNA

具有核酸酶活性的效应蛋白可通过降解宿主自身 DNA 及噬菌体基因组阻断噬菌体复制周期并诱导细胞感染。2020 年, Lowey 等^[16]通过体外研究揭示 Cap4 效应蛋白借助 SAVED 结构域与核苷酸第二信使结合, 进而激活其双链 DNA (double-stranded DNA, dsDNA)内切酶活性, 激活后的 Cap4 能将质粒 DNA 彻底降解, 生成小于 45 bp 的 DNA 片段。研究人员利用蛋白质晶体结构分析技术揭示了 Cap4 蛋白的 2 种功能亚型: AbCap4 通过其 SAVED 结构域中心的保守口袋特异性结合 2',3',3'-环三腺苷酸(2',3',3'-cyclic AMP-AMP-AMP, 2'3'3'-cAAA)分子, 而 EcCap4 则通过 SAVED 结构域 N 端的碱性氨基酸簇识别 3',3',3'-环腺苷酸腺苷酸鸟苷酸(3',3',3'-cyclic AMP-AMP-GMP, 3'3'3'-cAAG)分子;

第二信使结合诱导 Cap4 发生构象变化并寡聚化, 形成以二聚体为主的高阶复合物; 结构分析显示, Cap4 二聚体凭借疏水相互作用紧密堆叠, 确保活性位点精确对齐, 避免结构域重排; 进一步研究显示, Cap4 的 DNA 结合能力源自其 N 端延伸的特定氨基酸序列, 这些序列与 α -螺旋-环- α 螺旋(helix-loop-helix, HLH)结构域相似, 可通过静电相互作用实现对 DNA 的特异性识别和特异性降解过程^[16]。

Cap5 效应蛋白由 SAVED 结构域和一个 HNH 核酸内切酶结构域组成, 其在细胞内形成处于非活性状态的同型二聚体; Cap5 的非活性同源二聚体以交叉方式排列, 其中的一个 SAVED 结构域特异性地识别并结合 3',2'-环状鸟苷酸-腺苷酸(3',2'-cyclic GMP-AMP, 3'2'-cGAMP)或环二腺苷酸(3',2'-cyclic diadenosine monophosphate, 3'2'-c-diAMP)后完成由开放向半开放构型的转换^[26], 第二信使在与 SAVED 结构域结合后可为 Cap5 四聚体的组装提供了一个表面, 其中的第二信使能有效地充当黏合剂, 促进 2 个表面接触并组装; 随后每个二聚体的 SAVED 又形成以交叉排列的形式四聚体, 结合第二信使的 SAVED 结构域相较于未结合的状态发生显著的旋转差异, 这种旋转的不对称性导致相互作用的非对称性; SAVED 结构域的这种构型变化致使 HNH 内切酶结构域也发生变化, 将 4 个相邻的 HNH 内切酶中处于对角位置的 2 个结构域活化并与其他二聚 HNH 内切酶的 $\beta\alpha$ 亚结构中的 α 螺旋一起形成一个月形的二聚体活性位点, 因此 Cap5 只有受到激活形成四聚体的形式才具有核酸内切酶活性, 并执行 DNA 降解^[26]。

同样具有核酸内切酶活性的 NucC 核酸内切酶并不具备其他效应蛋白那种专门感知第二信使的结构域, 而是依靠自身组装成中心对称的三聚体结构, 进而形成一个变构口袋, 这个口袋的底部利用胺基与主链羰基间的氢键以及 π 堆叠作用精准地识别并结合 3',3',3'-环三腺苷酸

(3',3',3'-cyclic AMP-AMP-AMP, 3'3'3'-cAAA) 分子中的每个腺嘌呤碱基, 同时伴随构象变化完成 NucC 三聚体由非活性向活性形式的转变; 只有 3'3'3'-cAAA 分子通过对称界面处的疏水簇与 NucC 三聚体实现面对面交互后才能诱导形成同型六聚体, 激活核酸内切酶活性^[15]。

Cap18 则与上文提到的几种具有核酸酶活性的效应蛋白不同, 它本身即具备 3'-5' 核酸外切酶活性, 无须依赖第二信使的活化, 其活性可能受到 CapW、CapH 以及 CapP 转录因子之间的协同调控作用, 从而调节 CBASS 的转录以响应 DNA 损伤, 并且 Liang 等^[19]发现 Cap18 在 CBASS 中主要扮演辅助调控角色, 而非直接介入核心防御机制。近期研究揭示, 细菌中广泛存在一种抗噬菌体措施, 即通过结合 CO 后激活自身核酸酶活性; 这种机制不仅存在于 CBASS 中, 还被发现于 III 型 CRISPR-Cas 系统; 例如唾液链球菌嗜热亚种(*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*) 的 Csm6 在被 Cas10 合成环寡腺苷酸激活后, 可以不加区分地降解宿主和噬菌体的 RNA, 以防止噬菌体感染和增殖^[30,44]。此外在 30 多种 III 型 CRISPR/Cas 系统中也发现 NucC 同源物, 它们可能作为辅助核酸酶被这些系统效应复合物合成的环寡腺苷酸第二信使激活^[15]。Lowey 等^[16]对 CBASS 中广泛存在的效应模块 SEVED 结构域进行了深入的生物信息学分析, 结果揭示 SAVED 为 CARF 蛋白家族的一个独特成员, 其结构域由 2 个独立的、具有 CARF 样特征的亚基构成; 这些研究成果不仅阐明了 SAVED 结构域识别不同非对称配体的机制, 还进一步揭示了 CBASS 与 CRISPR 抗病毒系统之间的共同进化历程。

2.4 效应蛋白耗竭细胞必需代谢物

细菌通过耗竭自身所必需的代谢分子实现对噬菌体免疫的调控并不罕见, 典型的代谢调控机制包括: Toll/interleukin-1 受体(TIR)结构域蛋白^[7,31]和 sirtuin (SIR2)族蛋白协同催化烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)降解^[4-5,45-46], 以及 dCTP

脱氨酶(Dcd)和 dGTP 水解酶(Dgt)介导的脱氧核苷酸池耗竭^[47]等。在 CBASS 系统中, TIR-SAVED 蛋白也是通过耗竭 NAD⁺来实现细菌免疫; 它由 SAVED 结构域和一个 TIR 核酸内切酶结构域组成, 通常以单体形式存在, 且不具备 NAD 酶活性, 一旦 SAVED 结构域与 3'3'3'-cAAA 信号分子结合便能促使 TIR-SAVED 蛋白发生寡聚化, 进而形成一种右手超螺旋螺线管结构; 该结构的特征为直径 22 nm, 间距 14 nm, 且每一圈包含 17 个 TIR-SAVED 蛋白分子; 这种复合物形似灯丝, 并具有激活并降解 NAD⁺的活性, 最终导致细胞死亡; 此外, CO 还能作为一种黏合剂; 每个结合了 3'3'3'-cAAA 信号分子的 TIR-SAVED 蛋白以头对头、尾对尾的方式排列; 为了防止意外激活, 二聚体的 TIR-SAVED 蛋白并不具有活性, 因此只有组装成更大的复合物才能稳定活跃构象的 TIR 结构域^[32]。同样是通过耗竭 NAD⁺来实现细菌免疫的 Thoreris 抗噬菌体防御操纵子, 一般由 *thsA* 和 *thsB* 2 个基因构成; λ 噬菌体感染时 *ThsB* 作为传感器蛋白被激活, 可将细胞代谢物 NAD⁺转化为环状和线性 ADP-核糖异构体; 在 I 型 Thoreris 系统中 *ThsB* 产生 1''-3' gcADPR; 在 II 型系统中生成 His-ADPR; 这些核苷酸免疫信号与 *ThsA* 效应蛋白结合, 通过消耗 NAD⁺或破坏细菌细胞膜来抑制病毒复制^[48]。相比之下, Pycsar 系统是由 *PycC* 酶和 cNMP 响应效应蛋白组成; λ 噬菌体感染后, *PycC* 被激活, 合成环嘧啶单核苷酸信号, 如 3'5'-cCMP 和 3'5'-cUMP; 这些信号与相关效应蛋白结合, 通过消耗 NAD⁺或破坏细菌膜来引发细胞死亡^[48]。

Cap17 是 III 型 CBASS 中的一种 ATP 核苷酶, Rousset 等^[18]利用 Alphafold2 进行预测分析, 揭示出 Cap17 结构由 N 端的 TPALS 结构域与 C 端的嘌呤核苷磷酸化酶(purine nucleoside phosphorylase, PNP)结构域构成, 其中 TPALS 结构域负责感知 CO, 而 C 端的 PNP 结构域则具有特异性切割(d)ATP 的 N-糖苷键的能力, 从而

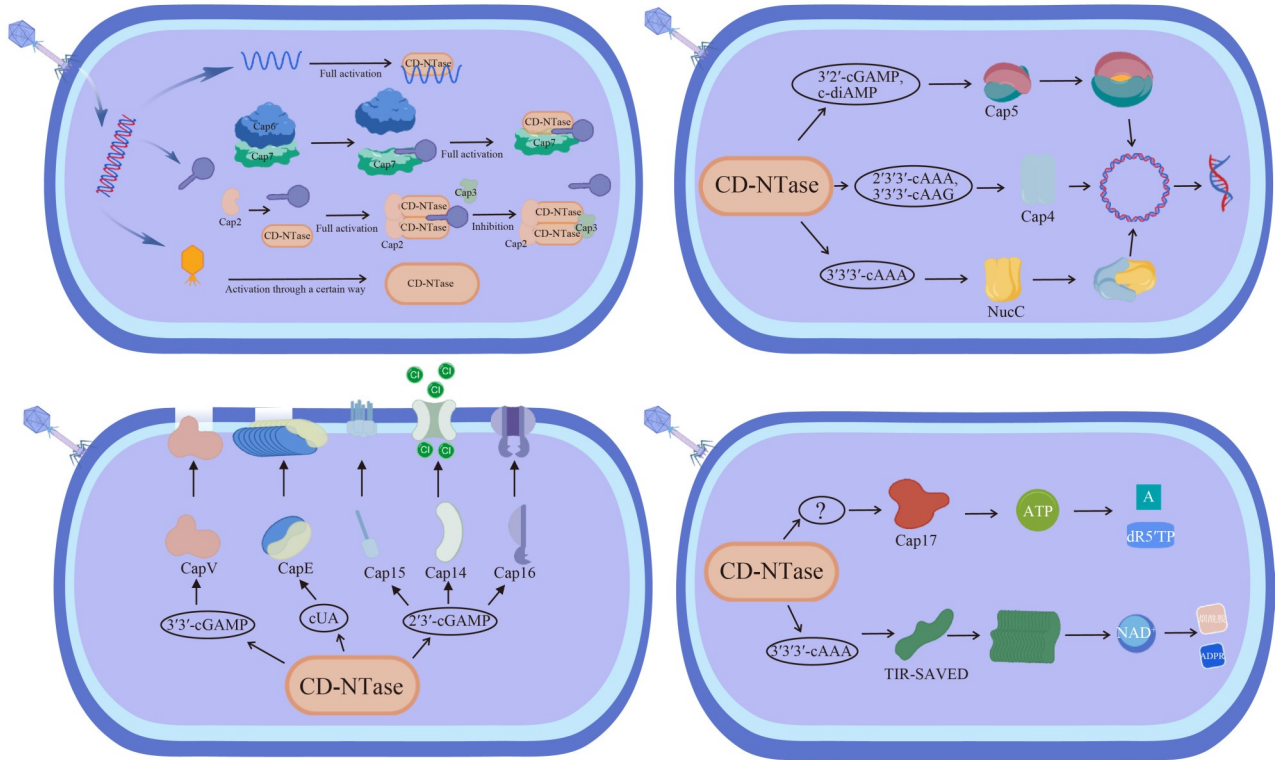


图1 CBASS抗噬菌体机制模式图。CBASS是一种细菌免疫系统，它通过多种机制诱导细胞自杀以阻止噬菌体的复制。当噬菌体侵入细菌细胞时，噬菌体的基因或表达产物可以激活CD-NTase（辅助蛋白Cap2与CD-NTase结合，而Cap3则分解CD-NTase与靶蛋白之间的相互作用；辅助蛋白Cap6抑制Cap7与CD-NTase的结合，而靶蛋白则可与Cap7结合并促进Cap7与CD-NTase的结合），从而产生CO；Cap2作为泛素酶发挥作用，催化CD-NTase作为底物与靶标结合，以实现CD-NTase的完全激活。这些CO被效应蛋白感应结构域识别，效应蛋白通过DNA切割(NucC、Cap4和Cap5)、膜破坏(磷脂酶CapV和CapE，含有TM结构域的Cap14-16)以及代谢耗竭(Cap17和TIR-*SAVED*)等方式激活。大多数效应蛋白需要形成寡聚体才能发挥其功能。

Figure 1 Schematic diagram of the anti-phage mechanism of CBASS. CBASS is a bacterial immune system that induces cell suicide through various mechanisms to prevent phage replication. When a phage invades a bacterial cell, the phage's genes or expression products can activate CD-NTase, (The accessory protein Cap2 binds to CD-NTase, while Cap3 breaks down the interaction between CD-NTase and the target protein. The accessory protein Cap6 inhibits the binding of Cap7 to CD-NTase, and the target protein can bind to Cap7 and promote the binding of Cap7 to CD-NTase), thereby producing CO. Cap2 functions as a ubiquitin-enzyme, catalyzing the binding of CD-NTase as a substrate to the target to achieve the complete activation of CD-NTase. These COs are recognized by the effector-sensing domain, and the effectors are activated through ways such as DNA cleavage (NucC, Cap4, and Cap5), membrane disruption (phospholipases CapV and CapE; Cap14-16 containing the TM domain), and metabolic depletion (Cap17 and TIR-*SAVED*). Most effector proteins need to form oligomers to function.

释放游离腺嘌呤，并生成游离腺嘌呤和(脱氧)核糖 5' 三磷酸^[18]。值得注意的是，这种分子并非大肠杆菌合成 ATP 的底物；紧接着该团队通过

噬菌体侵染实验发现，携带该 CBASS 基因的大肠杆菌比未携带的大肠杆菌能更好抵御噬菌体感染；随后分析被噬菌体感染的细胞裂解物中

代谢物含量,发现表达 CBASS 的细胞内 ATP 与去氧腺苷三磷酸 (deoxyadenosine triphosphate, dATP) 含量明显降低;此外,在未感染的细胞中过表达 Cap17 的 PNP 结构域只会产生抑菌作用,并不会引起细胞裂解;因此在病毒感染期间的能量消耗可能不仅可以剥夺噬菌体繁殖所需的能量,还可以促使噬菌体的裂解机制失调,诱导细菌钝挫感染^[18]。

2.5 辅助蛋白参与 CBASS 的调控

CBASS 研究中第二信使合成与效应蛋白激活机制备受瞩目,而其辅助基因编码的辅助蛋白在抗噬菌体免疫调控中的作用也日益受到关注。研究人员在超过 10% 的已知基因组序列的细菌中鉴定了 5 000 多种不同的 CBASS,约一半的 CBASS 编码能产生响应噬菌体感染信号分子的 CD-NTase 以及被 CO 激活并诱导程序性细胞死亡的效应蛋白,另一半则编码辅助基因^[29]。相比之下,在这些预测的 CBASS 中有 2 199 个编码泛素系统的同源物;研究人员将这些与真核生物泛素机制相关且编码辅助基因的 CBASS 划分为 2 大类:第 1 类为 II 型 CBASS,含有 E1-E2 融合蛋白和 JAB 去泛素化肽酶,但缺乏 E3 连接酶,因此又称 E1E2/JAB-CBASS;第 2 类为短 II 型 CBASS,该类型仅含有 E2 蛋白,因此简称为 E2-CBASS^[29]。

在 II 型 CBASS 中 Cap2 和 Cap3 分别负责泛素化与去泛素化修饰,通过可逆蛋白质翻译后修饰动态调控 CD-NTase 活性。研究人员发现, Cap2 对于大肠杆菌和霍乱弧菌抗噬菌体免疫具有重要意义^[27]。Cap2 具有类似 E1 和 E2 的结构域,其二聚体上的 2 个 E1 结构域经腺苷酸化后能分别与 2 个 CdnV 结合,形成具有 2 个 CD-NTase C 末端的同型二聚体,这一过程与参与硫代谢的细菌 E1 蛋白 MoeB 和 ThiF 的作用机制类似^[27,49-50], Cap2 会与 CdnV 结合形成复合物, λ 噬菌体感染后 Cap2 蛋白通过类似泛素转移酶的机制促进 CD-NTase 与噬菌体蛋白或其他靶标的赖氨酸形成异肽键,从而增强细菌 cGAMP 合

成酶 CdnV 的活性^[51]。Cap3 通过生物信息学分析预测与真核 JAB/jam-家族泛素蛋白酶同源^[28]。在 CBASS 中 Cap3 能够精确切割,从而解除 CD-NTase 与底物的偶联,但值得注意的是,过表达 Cap3 反而无法发挥噬菌体免疫功能;在 II 型 CBASS 中 Cap2 与 Cap3 总是同时表达,且 CBASS 中缺乏 E3 蛋白,此外 Cap2 介导的偶联过程具有较低的特异性,因此 Cap3 可能具备 2 大功能:一是限制 CD-NTase 与非特异性底物的偶联,防止意外激活;二是分解已偶联的非特异性底物与 CD-NTase,确保特异性底物能够正确激活 CD-NTase^[33,51]。

在短 II 型 CBASS 中, cGAS 的 C 末端会插入 E2 催化口袋,进而形成硫酯键和异肽键^[29]。E2 蛋白在此过程中扮演多重角色,类似于蛋白酶、E1、E2 及 E3 等,它不仅负责加工 cGAS 的 C 末端,还催化 cGAS 与半胱氨酸、赖氨酸残基的连接反应,并参与异肽键的裂解以及聚 cGASylation 等复杂过程;这一过程与真核生物的泛素化级联反应相似,经过这些复杂的修饰步骤,最终形成了稳定的共价连接,从而使 cGAS 从无活性状态转变为有活性状态;使其产生 cGAMP,激活下游信号通路引发细胞死亡,以此限制噬菌体在细菌内的复制与传播^[29]。

III 型 CBASS 编码的 Cap7 和 Cap6 辅助基因负责调控 CD-NTase,在缺乏外部威胁时细菌中的 Cap6 的 Trip13 结构域会分解 Cap7 的 HORMA 结构域,并且 Cap6 与 Cap7 会形成复合物;使 CD-NTase 和 Cap7 保持在非活性状态,从而抑制 CD-NTase 的激活和第二信使合成;在噬菌体入侵时 Cap7 的 HORMA 结构域蛋白会与特定噬菌体蛋白结合,转变为“封闭”状态,并结合 CD-NTase,由于 HORMA 结构域蛋白构象发生改变,因此 Cap6 将无法阻止 Cap7 的 HORMA 结构域蛋白与 CD-NTase 复合物的形成;随后激活的 CD-NTase 开始合成 3'3'3'-cAAA,最终激活 NucC,破坏入侵噬菌体基因组和细菌宿主基因组,导致细胞死亡和感染

流产^[15,34]。

辅助蛋白 CapP 和 CapH 还可以在转录水平上参与 CBASS 的调控,如图 2 所示, CapH 作为螺旋-转角-螺旋(HTH)转录抑制因子,通过 N 端 HTH 结构域识别 CBASS 启动子的保守位点,并通过 C 端寡聚化结构域形成四聚体,协同结合 DNA 形成抑制复合物,维持 CBASS 低水平表达; CapP 是含半胱氨酸开关的锌金属肽酶,噬菌体感染后引发 DNA 损伤,产生单链 DNA (single-stranded DNA, ssDNA)刺激 CapP 活化,切割 CapH 的 R83 位点,永久解除抑制并激活 CBASS 表达。CapP 和 CapH 是首次揭示

CBASS 通过转录调控模块响应 DNA 损伤的机制,而非单纯依赖噬菌体直接激活,由于 CapP/CapH 对 CBASS 的调控是不可逆的,因此 CapH/CapP 是基于蛋白切割的“不可逆开关”;同样是辅助基因编码的 CapW 在针对 CBASS 的调控则是基于构象变化的“可逆开关”;在无外部威胁的情况下, CapW 二聚体结合 CBASS 启动子的回文序列,直接阻碍 RNA 聚合酶结合,结合区域覆盖双向启动子,同时抑制自身 (capW)和核心 CBASS 基因(如 *cdnC*、效应蛋白)的表达,避免未感染时的毒性积累;噬菌体感染后, DNA 损伤产生的 ssDNA 结合 CapW 的

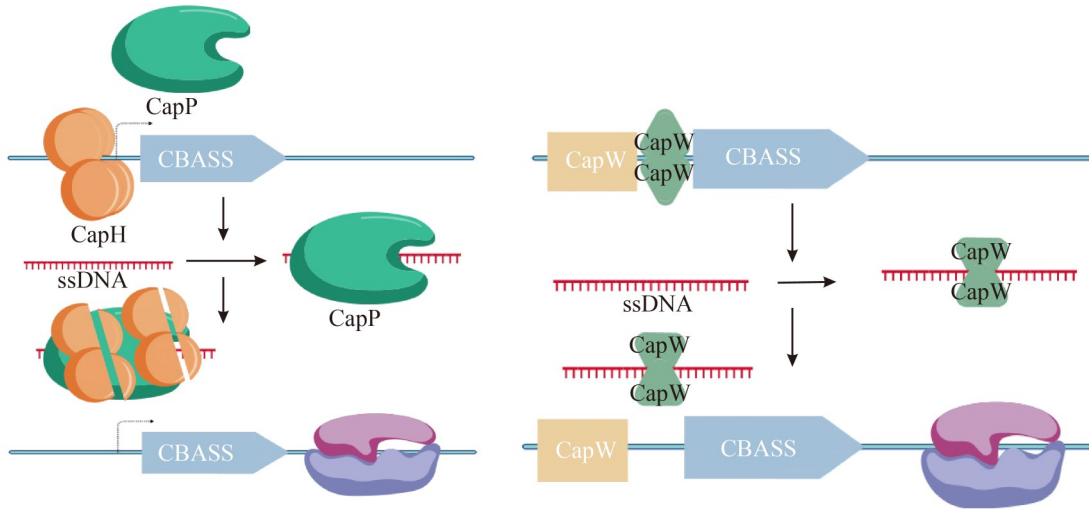


图2 CBASS的调控机制。 CapH能够结合到CBASS上游启动子区域,从而抑制其表达,在噬菌体入侵并产生ssDNA的情况下, CapP会与ssDNA结合,并激活其酶活性,活性增强的CapP随后切割CapH,释放对下游基因表达的抑制; CapW能够结合在CBASS和CapW基因上游的启动子区域,抑制CapW和CBASS的表达,当系统检测到威胁(如ssDNA)时CapW会与ssDNA结合并经历构象变化,从而解除对基因表达的抑制。

Figure 2 Regulatory mechanism of CBASS. CapH binds to the promoter region upstream of the CBASS locus, constitutively repressing its expression. Upon phage invasion and the subsequent production of ssDNA, CapP specifically recognizes and binds to ssDNA, triggering the activation of its enzymatic activity. Activated CapP then cleaves CapH, thereby alleviating the repression of downstream gene expression. Meanwhile, CapW binds to the promoter regions upstream of both the CBASS locus and its own gene, repressing the expression of both CBASS and CapW. When the bacterial cell detects phage-derived threats (e. g., ssDNA), CapW undergoes a conformational change upon binding to ssDNA. This structural shift derepresses gene expression, enabling the coordinated activation of CBASS and CapW.

WYL 域, 触发构象变化, 释放启动子, 使 CBASS 表达上调 10 倍以上; 然而 CapW 可通过 ssDNA 构象变化, 动态调节 CBASS 的基础表达, 适应轻度感染或复制压力; 值得注意的是 CapP/CapH 和 CapW 都广泛存在于 I-III 型 CBASS 中; 然而同样主要参与 III 型 CBASS 的调控^[35,52]。

3 噬菌体对细菌 CBASS 的免疫逃逸

3.1 噬菌体蛋白阻断信号分子的传递

在噬菌体与宿主的进化博弈中, 噬菌体也逐渐进化出对抗 CBASS 的 CBASS 逃逸策略, 例如噬菌体基因组编码的抗 CBASS (anti-

CBASS, Acb) 蛋白^[53]。如图 3 所示, T4 噬菌体编码的抗 CBASS 蛋白 Acb1 具有磷酸二酯酶活性, 可选择性水解 3',3'-cGAMP、cUA 及 cAAA 等 I 型 CBASS 信号分子, 但对 2'-5' 磷酸二酯键的 3',2'-cGAMP 无活性; 通过对 273 种噬菌体的系统性分析发现, Acb1 同源蛋白广泛存在于不同进化分支的噬菌体中, 这表明该免疫逃逸策略在噬菌体与宿主相互作用中展现出高度的进化保守性; 晶体结构研究显示, Acb1 采用紧凑的 2H 磷酸酯酶折叠结构, 6 个中央 β 链形成 U 形配体结合口袋, 仅能容纳环二或三核苷酸; 在底物识别过程中, 柔性羧基末端(残基 145-152)会形成一个动态盖子结构, 覆盖在 3'3'-cGAMP 配体上方, 从而构建一个稳定的催

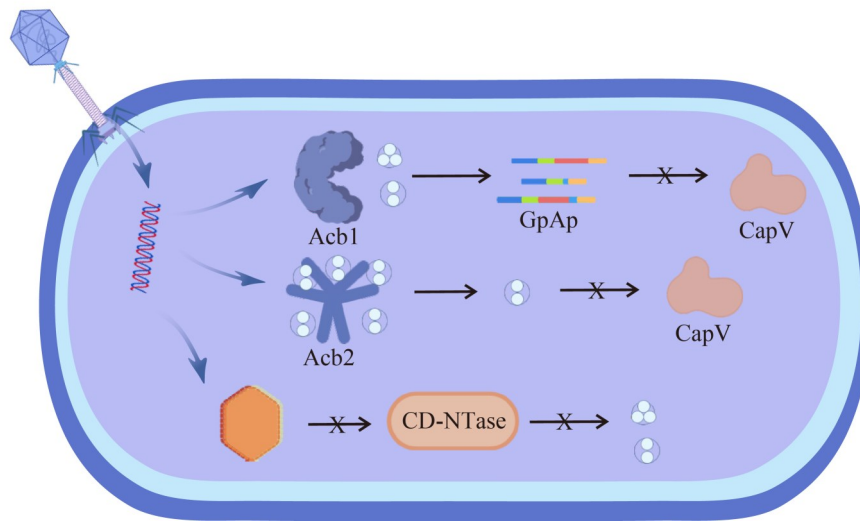


图3 噬菌体的抗CBASS模式图。当噬菌体侵入宿主细胞时, 特定基因编码的抗噬菌体蛋白Acb1和Acb2发挥作用, Acb1通过水解第二信使阻止效应蛋白的激活; 而Acb2则通过高效吸附结合第二信使CO, 阻止信号分子的传递; 此外, 噬菌体衣壳蛋白的突变也可抑制CBASS对噬菌体的特异性识别, 导致无法激活CD-NTase产生信号分子。

Figure 3 Schematic diagram of phage anti-CBASS mechanisms. Upon infection of host cells, phages deploy anti-CBASS proteins Acb1 and Acb2 encoded by specific viral genes. Acb1 disrupts CBASS signaling by hydrolyzing the second messenger, cyclic oligonucleotides (COs), thereby blocking effector protein activation. Concurrently, Acb2 neutralizes CO-mediated signaling through high-affinity adsorption and binding to these cyclic molecules. Furthermore, mutations in phage capsid proteins can abrogate CBASS recognition of phage-associated molecular patterns, rendering CD-NTase unable to be activated and thus inhibiting the production of signaling COs.

化环境；Acb1 蛋白通过 4 个保守的芳香族残基 (Y12、W74、F107、W147) 与 3'3'-cGAMP 的核碱基表面形成堆叠作用，同时 E141 残基特异性识别并结合 3'3'-cGAMP 的腺苷 N6 位置；这种相互作用促使腺苷碱基旋转 65°，进而使 2' 位的羟基重新定位，以攻击相邻的 3',5' 磷酸二酯键；通过活性位点的 HxT/HxT (H44、T46、H113、T115) 的酸碱催化完成水解反应，最终生成线性产物 GpAp，终止了宿主防御中的信号传导，实现免疫逃逸^[53]。

除了通过特异性降解环状寡核苷酸信号分子外，噬菌体还能通过阻止信号分子与 Cap 效应蛋白的结合，从而实现对宿主免疫应答的有效调控；例如 dsDNA 噬菌体 PaMx41 编码的 Acb2 蛋白，这是一种紧凑的六筒体结构，其结构由一个短的 N 端螺旋和 2 个带有 C 端扭结的长反平行螺旋组成；Acb2 蛋白通过高效结合 3 个 3',3' 环状鸟苷酸-腺苷酸(3',3'-cyclic GMP-AMP, 3'3'-cGAMP) 分子形成稳定的六聚体结构，并通过吸附并隔离这些分子有效地破坏了 CBASS 的免疫作用；2 个原聚体由高度保守的 N 端和 C 端螺旋/环以头对头方式相互作用形成的口袋，因此每个 Acb2 六聚体可结合 3 个 3'3'-cGAMP，该口袋通过氢键、原聚体和 3'3'-cGAMP 磷酸基团之间的盐桥以及疏水相互作用^[41,54]。

3.2 噬菌体衣壳蛋白的突变

研究人员发现，部分噬菌体通过主要衣壳基因的突变来逃避 CBASS 的免疫作用；在筛选对 I 型 CBASS 免疫具有抗性的噬菌体过程中，他们注意到部分噬菌体的主要衣壳蛋白基因发生了特定突变，如 PaMx41 噬菌体的 orf11 基因 (该基因负责编码主要衣壳蛋白) 发生了 I121T、S330P 等变异，这些变异使得噬菌体能够逃避 CBASS 的识别和攻击；JBD67 和 JBD18 噬菌体的主要衣壳蛋白基因也会发生突变，且这些突变集中在蛋白-蛋白界面；这进一步证实了衣壳蛋白的突变通过改变其结构干扰了 CBASS 对噬

菌体的识别机制，成为噬菌体逃避 CBASS 的关键途径之一；在针对 I 型 CBASS 的研究中发现噬菌体的前头部蛋白酶基因发生突变，如 Bas11 的 E114K 和 Bas13 的 T361P 突变；前头部蛋白酶在噬菌体的病毒组装流程中扮演着核心角色，它直接参与了衣壳的组装和成熟过程；这些突变均发生在蛋白酶的关键功能区域，其中 E114K 突变紧邻酶活性位点，而 T361P 突变则位于 scaffold domain 的末端；突变改变了前头部蛋白酶的功能和结构，进而干扰了病毒组装的正常进程；由于 CBASS 可能通过识别病毒组装过程中的特定结构来激活免疫反应，前头部蛋白酶的突变导致 CBASS 难以有效识别噬菌体，进而降低了免疫激活的概率，使得噬菌体能够成功实现免疫逃逸^[40-41]。

4 总结与展望

细菌为抵御噬菌体入侵已进化出多种依赖环核苷酸信号分子的抗噬菌体系统，如 Thoeris、Pycsar 及 III 型 CRISPR-Cas 等。这些系统在效应杀伤机制上与 CBASS 存在显著相似性，但在系统组成和作用特点上各具差异。与 CBASS 不同，CRISPR-Cas 和 Thoeris 仅含有单一效应蛋白：前者依赖核酸酶降解噬菌体 DNA，后者通过 NADase 消耗细胞内 NAD⁺ 引发代谢崩溃。这种单一效应机制可能导致噬菌体通过突变逃逸 (如 III 型 CRISPR 的抗 CRISPR 蛋白抑制环核苷酸生成)，存在感染复发风险。CBASS 的独特优势在于其复杂的多组件协同机制：单个效应蛋白、第二信使 (如 cGAMP、cAAA) 与辅助蛋白 (如 Cap2/Cap3、Cap6/Cap7) 可组合成多种不同类型 (I-IV 型)，通过膜损伤、核酸降解、代谢耗竭等多样化途径执行细胞死亡程序。这种操纵子结构的多样性使噬菌体难以通过单一突变抑制所有 CBASS 通路。一旦被激活，CBASS 通过快速诱导感染细胞自杀，从根本上阻断噬菌体复制和传播，相较于依赖单一效应蛋白的 CRISPR 或 Thoeris 系统具有更强的广谱防御能

力。这种基于多组件的防御策略体现出细菌在与噬菌体的长期博弈中演化出的高效免疫适应机制。

CBASS 在原有的模式生物中并不存在, 甚至许多组分的结构域原先仅发现于真核细胞中, 直到最近通过研究非模式生物的基因组才发现^[55-56]。细菌中的 CBASS 和动物的 cGAS-STING 途径均是宿主先天免疫系统抵御病毒侵袭的关键机制, 两者在核心组成上显示出显著的保守性。例如, CBASS 中的 CD-Ntase (如 CdnA) 与真核生物中的 cGAS 在催化结构域上具有高度的同源性, 它们均能通过识别异常的核酸来产生环状寡核苷酸(如 cGAMP、cAAA)。此外, 它们在效应蛋白的功能趋同性方面也有所体现, 例如 CBASS 中的含有跨膜效应结构域的蛋白(如 Cap14 和 Cap15)与真核生物中的 Gasdermin 家族可能通过类似的机制诱导细胞焦亡, 即通过膜穿孔导致细胞死亡。在调控模块方面, CBASS 的 Cap6 (TRIP13 同源物)与真核生物中的 TRIP13 都参与 HORMA 结构域的动态调控, 这暗示两者在信号关闭机制上可能存在进化上的连续性。CBASS 与 cGAS-STING 通路可能源自共同的原核祖先, 那么细菌是否存在类似真核生物的其他机制呢? 截至目前, 尽管已经鉴定出多种 Cap 效应蛋白, 并揭示了它们的激活机制与杀伤作用, CBASS 的整体免疫机制却仍存在多种问题。例如, 在噬菌体感染细菌细胞的过程中 CBASS 如何参与外来抗原的识别? I 型 CBASS 如何特异性地识别噬菌体衣壳蛋白, 并触发 CBASS 的免疫应答? 鉴于过度激活 CBASS 可能导致宿主细胞死亡, 随之而来的问题是, 为何在自然菌株中仍然存在高毒性效应蛋白(如 Cap17)? 编码 CBASS 的细菌如何平衡免疫激活与细胞毒性? 宿主如何避免被自身的 DNA/RNA 激活 CBASS? 四类 CBASS 是否可以同时发挥抗噬菌体活性, 以及它们如何协同调节细菌抗噬菌体免疫? 此外, 仍需开展进一步研究以探究在噬菌体裂解宿主过程中

Acb2 蛋白的降解是否对噬菌体释放具有促进作用? 这些问题同样迫切需要发现与解答。以上问题的解决可为 CBASS 抗噬菌体的作用机制提供关键见解, 在医学、生物技术等多领域的潜在应用挖掘重要价值。

作者贡献声明

刘泽林: 撰写与编辑(起草文章的初稿、进行修改和完善, 以及进行最终的文字润色和校对), 文献检索与分析(负责收集、筛选和分析相关文献资料), 图表制作(设计并制作文章中使用的图表、图像等视觉元素); 黄丽萍: 数据整理与解读(对文献中的数据进行整理、统计和分析); 甄向凯: 概念构思与设计(提出综述的主题、框架和研究问题)、文章审阅; 张丹丹: 项目管理与协调、文章审阅。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] MAKAROVA KS, WOLF YI, KOONIN EV. Comparative genomics of defense systems in archaea and bacteria[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(8): 4360-4377.
- [2] MAXWELL KL. Bacterial twist to an antiviral defence[J]. *Nature*, 2019, 574(7780): 638-639.
- [3] DORON S, MELAMED S, OFIR G, LEAVITT A, LOPATINA A, MAI KR, AMITAI G, SOREK R. Systematic discovery of anti-phage defense systems in the microbial pangenome[J]. *Science*, 2018, 359(6379): eaar4120.
- [4] ZHEN XK, ZHOU B, LIU ZH, WANG XR, ZHAO HY, WU SX, LI ZK, LIANG JM, ZHANG WY, ZHU QJ, HE J, XIONG XL, OUYANG SY. Mechanistic basis for the allosteric activation of NADase activity in the Sir2-HerA anti-phage defense system[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 9269.
- [5] ZHEN XK, XU XL, YE L, XIE S, HUANG ZJ, YANG S, WANG YH, LI JY, LONG F, OUYANG SY. Structural basis of anti-phage immunity generated by a prokaryotic Argonaute-associated SPARSA system[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 450.
- [6] KIBBY EM, CONTE AN, BURROUGHS AM, NAGY TA, VARGAS JA, WHALEN LA, ARAVIND L, WHITELEY AT. Bacterial NLR-related proteins protect against phage[J]. *Cell*, 2023, 186(11): 2410-2424.e18.

- [7] MOREHOUSE BR, GOVANDE AA, MILLMAN A, KESZEI AFA, LOWEY B, OFIR G, SHAO SC, SOREK R, KRANZUSCH PJ. STING cyclic dinucleotide sensing originated in bacteria[J]. *Nature*, 2020, 586(7829): 429-433.
- [8] WHITELEY AT, EAGLESHAM JB, de OLIVEIRA MANN CC, MOREHOUSE BR, LOWEY B, NIEMINEN EA, DANILCHANKA O, KING DS, LEE ASY, MEKALANOS JJ, KRANZUSCH PJ. Bacterial cGAS-like enzymes synthesize diverse nucleotide signals[J]. *Nature*, 2019, 567(7747): 194-199.
- [9] MARINHO FV, BENMERZOUG S, OLIVEIRA SC, RYFFEL B, QUESNIAUX VFJ. The emerging roles of STING in bacterial infections[J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(11): 906-918.
- [10] ABLASSER A, CHEN ZJ. cGAS in action: expanding roles in immunity and inflammation[J]. *Science*, 2019, 363(6431): eaat8657.
- [11] HOPFNER KP, HORNING V. Molecular mechanisms and cellular functions of cGAS-STING signalling[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, 21(9): 501-521.
- [12] KATO K, OMURA H, ISHITANI R, NUREKI O. Cyclic GMP-AMP as an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2017, 86: 541-566.
- [13] COHEN D, MELAMED S, MILLMAN A, SHULMAN G, OPPENHEIMER-SHAANAN Y, KACEN A, DORON S, AMITAI G, SOREK R. Cyclic GMP-AMP signalling protects bacteria against viral infection[J]. *Nature*, 2019, 574(7780): 691-695.
- [14] SEVERIN GB, RAMLIDEN MS, HAWVER LA, WANG K, PELL ME, KIENINGER AK, KHATAOKAR A, O'HARA BJ, BEHRMANN LV, NEIDITCH MB, BENNING C, WATERS CM, NG WL. Direct activation of a phospholipase by cyclic GMP-AMP in *El Tor Vibrio cholerae*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(26): E6048-E6055.
- [15] LAU RK, YE QZ, BIRKHOLZ EA, BERG KR, PATEL L, MATHEWS IT, WATROUS JD, EGO K, WHITELEY AT, LOWEY B, MEKALANOS JJ, KRANZUSCH PJ, JAIN M, POGLIANO J, CORBETT KD. Structure and mechanism of a cyclic trinucleotide-activated bacterial endonuclease mediating bacteriophage immunity[J]. *Molecular Cell*, 2020, 77(4): 723-733.e6.
- [16] LOWEY B, WHITELEY AT, KESZEI AFA, MOREHOUSE BR, MATHEWS IT, ANTINE SP, CABRERA VJ, KASHIN D, NIEMANN P, JAIN M, SCHWEDE F, MEKALANOS JJ, SHAO SC, LEE ASY, KRANZUSCH PJ. CBASS immunity uses CARF-related effectors to sense 3'-5'-and 2'-5'-linked cyclic oligonucleotide signals and protect bacteria from phage infection[J]. *Cell*, 2020, 182(1): 38-49.e17.
- [17] DUNCAN-LOWEY B, KRANZUSCH PJ. CBASS phage defense and evolution of antiviral nucleotide signaling[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2022, 74: 156-163.
- [18] ROUSSET F, YIRMIYA E, NESHER S, BRANDIS A, MEHLMAN T, ITKIN M, MALITSKY S, MILLMAN A, MELAMED S, SOREK R. A conserved family of immune effectors cleaves cellular ATP upon viral infection[J]. *Cell*, 2023, 186(17): 3619-3631.e13.
- [19] LIANG QS, RICHEY ST, UR SN, YE QZ, LAU RK, CORBETT KD. Structure and activity of a bacterial defense-associated 3'-5' exonuclease[J]. *Protein Science*, 2022, 31(7): e4374.
- [20] LOPATINA A, TAL N, SOREK R. Abortive infection: bacterial suicide as an antiviral immune strategy[J]. *Annual Review of Virology*, 2020, 7(1): 371-384.
- [21] DAVIES BW, BOGARD RW, YOUNG TS, MEKALANOS JJ. Coordinated regulation of accessory genetic elements produces cyclic di-nucleotides for *V. cholerae* virulence[J]. *Cell*, 2012, 149(2): 358-370.
- [22] MILLMAN A, MELAMED S, AMITAI G, SOREK R. Diversity and classification of cyclic-oligonucleotide-based anti-phage signalling systems[J]. *Nature Microbiology*, 2020, 5(12): 1608-1615.
- [23] WANG JG, LI Z, LANG H, FU WF, GAO YN, YIN S, SUN PP, LI ZL, HUANG JF, LIU SQ, ZHU Y, SUN F, LI D, GAO P, GAO A. Cyclic-dinucleotide-induced filamentous assembly of phospholipases governs broad CBASS immunity[J]. *Cell*, 2025, 188(14): 3744-3756.e16.
- [24] DUNCAN-LOWEY B, MCNAMARA-BORDEWICK NK, TAL N, SOREK R, KRANZUSCH PJ. Effector-mediated membrane disruption controls cell death in CBASS antiphage defense[J]. *Molecular Cell*, 2021, 81(24): 5039-5051.e5.
- [25] TAK U, WALTH P, WHITELEY AT. Bacterial cGAS-like enzymes produce 2',3'-cGAMP to activate an ion channel that restricts phage replication[J]. *bioRxiv*, 2023: 2023.07.24.550367.
- [26] RECHKOBLIT O, SCIAKY D, KREITLER DF, BUKU A, KOTTUR J, AGGARWAL AK. Activation of CBASS Cap5 endonuclease immune effector by cyclic nucleotides[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2024, 31(5): 767-776.
- [27] LEHMANN C, BEGLEY TP, EALICK SE. Structure of the *Escherichia coli* ThiS-ThiF complex, a key component of the sulfur transfer system in thiamin biosynthesis[J]. *Biochemistry*, 2006, 45(1): 11-19.
- [28] BURROUGHS AM, ZHANG DP, SCHÄFFER DE, IYER LM, ARAVIND L. Comparative genomic analyses reveal a vast, novel network of nucleotide-centric systems in biological conflicts, immunity and signaling[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(22): 10633-10654.
- [29] YAN Y, XIAO J, HUANG FT, XIAN W, YU BB, CHENG R, WU H, LU XL, WANG XL, HUANG WJ, LI J, OYEJOBI GK, ROBINSON CV, WU H, WU D, LIU XY, WANG LF, ZHU B. Phage defence system CBASS is regulated by a prokaryotic E2 enzyme that imitates the ubiquitin pathway[J]. *Nature Microbiology*, 2024, 9(6): 1566-1578.
- [30] KAZLAUSKIENE M, KOSTIUK G, VENCLOVAS Č, TAMULAITIS G, SIKSNYS V. A cyclic oligonucleotide signaling pathway in type III CRISPR-Cas systems[J]. *Science*, 2017, 357(6351): 605-609.
- [31] MOREHOUSE BR, YIP MCJ, KESZEI AFA, MCNAMARA-BORDEWICK NK, SHAO SC, KRANZUSCH PJ. Cryo-EM structure of an active bacterial TIR-STING filament complex[J]. *Nature*, 2022, 608(7924): 803-807.

- [32] HOGREL G, GUILD A, GRAHAM S, RICKMAN H, GRÜSCHOW S, BERTRAND Q, SPAGNOLO L, WHITE MF. Cyclic nucleotide-induced helical structure activates a TIR immune effector[J]. *Nature*, 2022, 608(7924): 808-812.
- [33] JENSON JM, LI T, DU FH, EA CK, CHEN ZJ. Ubiquitin-like conjugation by bacterial cGAS enhances anti-phage defence[J]. *Nature*, 2023, 616(7956): 326-331.
- [34] YE QZ, LAU RK, MATHEWS IT, BIRKHOLZ EA, WATROUS JD, AZIMI CS, POGLIANO J, JAIN M, CORBETT KD. HORMA domain proteins and a Trip13-like ATPase regulate bacterial cGAS-like enzymes to mediate bacteriophage immunity[J]. *Molecular Cell*, 2020, 77(4): 709-722.e7.
- [35] LAU RK, ENUSTUN E, GU YJ, NGUYEN JV, CORBETT KD. A conserved signaling pathway activates bacterial CBASS immune signaling in response to DNA damage[J]. *EMBO Journal*, 2022, 41(22): e111540.
- [36] ABLASSER A, GOLDECK M, CAVLAR T, DEIMLING T, WITTE G, RÖHL I, HOPFNER KP, LUDWIG J, HORNUNG V. cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING[J]. *Nature*, 2013, 498(7454): 380-384.
- [37] WU JX, CHEN ZJ. Innate immune sensing and signaling of cytosolic nucleic acids[J]. *Annual Review of Immunology*, 2014, 32: 461-488.
- [38] HOLLEUFER A, WINTHER KG, GAD HH, AI XL, CHEN YQ, LI LH, WEI ZM, DENG HM, LIU JY, FREDERIKSEN NA, SIMONSEN B, ANDERSEN LL, KLEIGREWE K, DALSKOV L, PICHLMAIR A, CAI H, IMLER JL, HARTMANN R. Two cGAS-like receptors induce antiviral immunity in *Drosophila*[J]. *Nature*, 2021, 597(7874): 114-118.
- [39] BANH DV, ROBERTS CG, MORALES-AMADOR A, BERRYHILL BA, CHAUDHRY W, LEVIN BR, BRADY SF, MARRAFFINI LA. Bacterial cGAS senses a viral RNA to initiate immunity[J]. *Nature*, 2023, 623(7989): 1001-1008.
- [40] RICHMOND-BUCCOLA D, HOBBS SJ, GARCIA JM, TOYODA H, GAO JJ, SHAO SC, LEE ASY, KRANZUSCH PJ. A large-scale type I CBASS antiphage screen identifies the phage prohead protease as a key determinant of immune activation and evasion[J]. *Cell Host & Microbe*, 2024, 32(7): 1074-1088.e5.
- [41] HUITING E, CAO XL, REN J, ATHUKORALAGE JS, LUO ZR, SILAS S, AN N, CARION H, ZHOU Y, FRASER JS, FENG Y, BONDY-DENOMY J. Bacteriophages inhibit and evade cGAS-like immune function in bacteria[J]. *Cell*, 2023, 186(4): 864-876.e21.
- [42] SEVERIN GB, RAMLIDEN MS, FORD KC, van ALST AJ, SANATH-KUMAR R, DECKER KA, HSUEH BY, CHEN G, YOON SH, DEMEY LM, O' HARA BJ, RHOADES CR, DiRITA VJ, NG WL, WATERS CM. Activation of a *Vibrio cholerae* CBASS anti-phage system by quorum sensing and folate depletion[J]. *mBio*, 2023, 14(5): e0087523.
- [43] McLENNAN AG. The nudix hydrolase superfamily[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 2006, 63(2): 123-143.
- [44] NIEWOEHNER O, GARCIA-DOVAL C, ROSTØL JT, BERK C, SCHWEDE F, BIGLER L, HALL J, MARRAFFINI LA, JINEK M. Type III CRISPR-Cas systems produce cyclic oligoadenylate second messengers[J]. *Nature*, 2017, 548(7669): 543-548.
- [45] OFIR G, HERBST E, BAROZ M, COHEN D, MILLMAN A, DORON S, TAL N, MALHEIRO DBA, MALITSKY S, AMITAI G, SOREK R. Antiviral activity of bacterial TIR domains *via* immune signalling molecules[J]. *Nature*, 2021, 600(7887): 116-120.
- [46] ZAREMBA M, DAKINEVICIENE D, GOLOVINAS E, ZAGORSKAITĖ E, STANKUNAS E, LOPATINA A, SOREK R, MANAKOVA E, RUKSENAITE A, SILANSKAS A, ASMONTAS S, GRYBAUSKAS A, TYLENYTE U, JURGELAITIS E, GRIGAITIS R, TIMINSKAS K, VENCLOVAS Č, SIKSNYS V. Short prokaryotic Argonautes provide defence against incoming mobile genetic elements through NAD⁺ depletion[J]. *Nature Microbiology*, 2022, 7(11): 1857-1869.
- [47] TAL N, MILLMAN A, STOKAR-AVIHAIL A, FEDORENKO T, LEAVITT A, MELAMED S, YIRMIYA E, AVRAHAM C, BRANDIS A, MEHLMAN T, AMITAI G, SOREK R. Bacteria deplete deoxynucleotides to defend against bacteriophage infection[J]. *Nature Microbiology*, 2022, 7(8): 1200-1209.
- [48] HOBBS SJ, KRANZUSCH PJ. Nucleotide immune signaling in CBASS, pycsar, thoeris, and CRISPR antiphage defense[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2024, 78(1): 255-276.
- [49] CAPPADOCIA L, LIMA CD. Ubiquitin-like protein conjugation: structures, chemistry, and mechanism[J]. *Chemical Reviews*, 2018, 118(3): 889-918.
- [50] LAKE MW, WUEBBENS MM, RAJAGOPALAN KV, SCHINDELIN H. Mechanism of ubiquitin activation revealed by the structure of a bacterial MoeB-MoaD complex[J]. *Nature*, 2001, 414(6861): 325-329.
- [51] LEDVINA HE, YE QZ, GU YJ, SULLIVAN AE, QUAN Y, LAU RK, ZHOU HL, CORBETT KD, WHITELEY AT. An E1-E2 fusion protein primes antiviral immune signalling in bacteria[J]. *Nature*, 2023, 616(7956): 319-325.
- [52] BLANKENCHIP CL, NGUYEN JV, LAU RK, YE QZ, GU YJ, CORBETT KD. Control of bacterial immune signaling by a WYL domain transcription factor[J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(9): 5239-5250.
- [53] HOBBS SJ, WEIN T, LU A, MOREHOUSE BR, SCHNABEL J, LEAVITT A, YIRMIYA E, SOREK R, KRANZUSCH PJ. Phage anti-CBASS and anti-Pycsar nucleases subvert bacterial immunity[J]. *Nature*, 2022, 605(7910): 522-526.
- [54] WANG L, ZHANG LL. The arms race between bacteria CBASS and bacteriophages[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1224341.
- [55] GOLDFARB T, SBERRO H, WEINSTOCK E, COHEN O, DORON S, CHARPAK-AMIKAM Y, AFIK S, OFIR G, SOREK R. BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes[J]. *EMBO Journal*, 2015, 34(2): 169-183.
- [56] OFIR G, SOREK R. Contemporary phage biology: from classic models to new insights[J]. *Cell*, 2018, 172(6): 1260-1270.