

细菌“天然免疫”细节揭晓

作者：writer 来源：爱科学

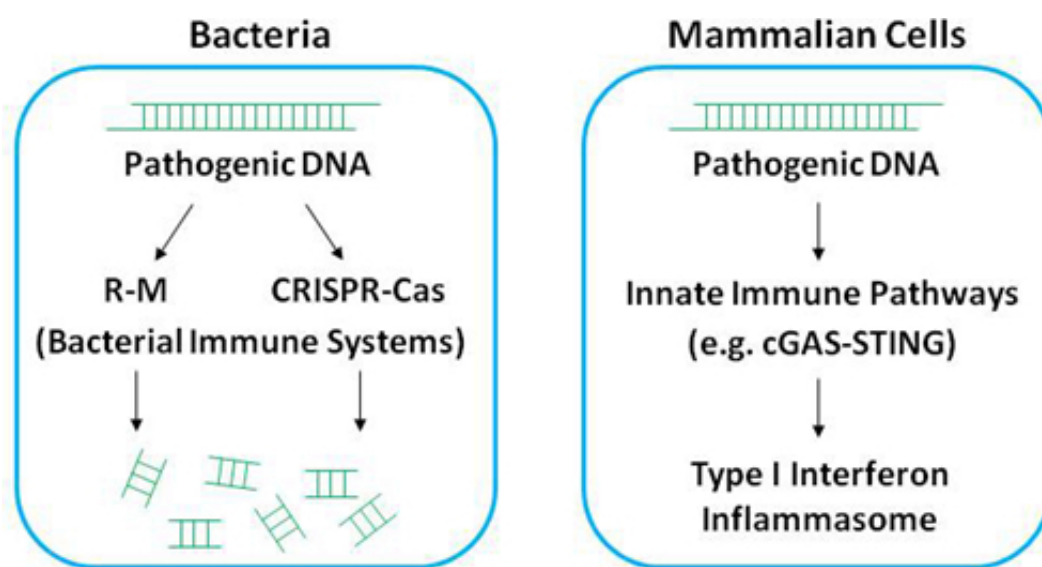
本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/9850.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

细菌“天然免疫”细节揭晓。

当病毒入侵哺乳动物细胞时，最初识别病原DNA收到这一情报的蛋白发出信号，向下一个蛋白传递，环环相扣，激活天然免疫反应。哺乳动物细胞正是利用这样的多条天然免疫通路，介导免疫应答。

那么，细菌等原核细胞又是如何对外源DNA进行天然免疫识别和应答呢？



宿主细胞对病原DNA的免疫识别和应答（高璞供图）

北京时间2020年6月1日晚23点，《自然-微生物学》（Nature Microbiology）在线发表了中国科学

院生物物理所高璞、章新政团队的最新研究成果。这项研究着眼一种细菌识别外源入侵DNA的免疫防御系统，即I型限制修饰（Type I R-M）系统。

研究人员利用冷冻电镜技术系统性解析了Type I R-M系统与靶标DNA及两种噬菌体抑制蛋白（Ocr和ArdA）的多种生理构象的三维结构，并配合突变及生化分析，揭示了该系统的组装、催化和调控机制。

6个步骤展开细节

Type I R-M系统广泛存在于原核生物中，可以对宿主自身DNA进行甲基化修饰，并对未经修饰的噬菌体DNA进行识别和切割，从而为宿主细胞提供强大的天然免疫保护。

高璞向《中国科学报》介绍，自1968年，这一系统被鉴定以来，许多研究人员利用微生物学、生物化学及分子生物学等手段对其开展了广泛研究。

例如，我们已经知道：该系统包括的亚基（蛋白）种类、不同Type I R-M系统特异识别的靶标DNA序列、Type I R-M系统存在的组装方式、以及噬菌体编码蛋白可抑制该系统的活性等等。

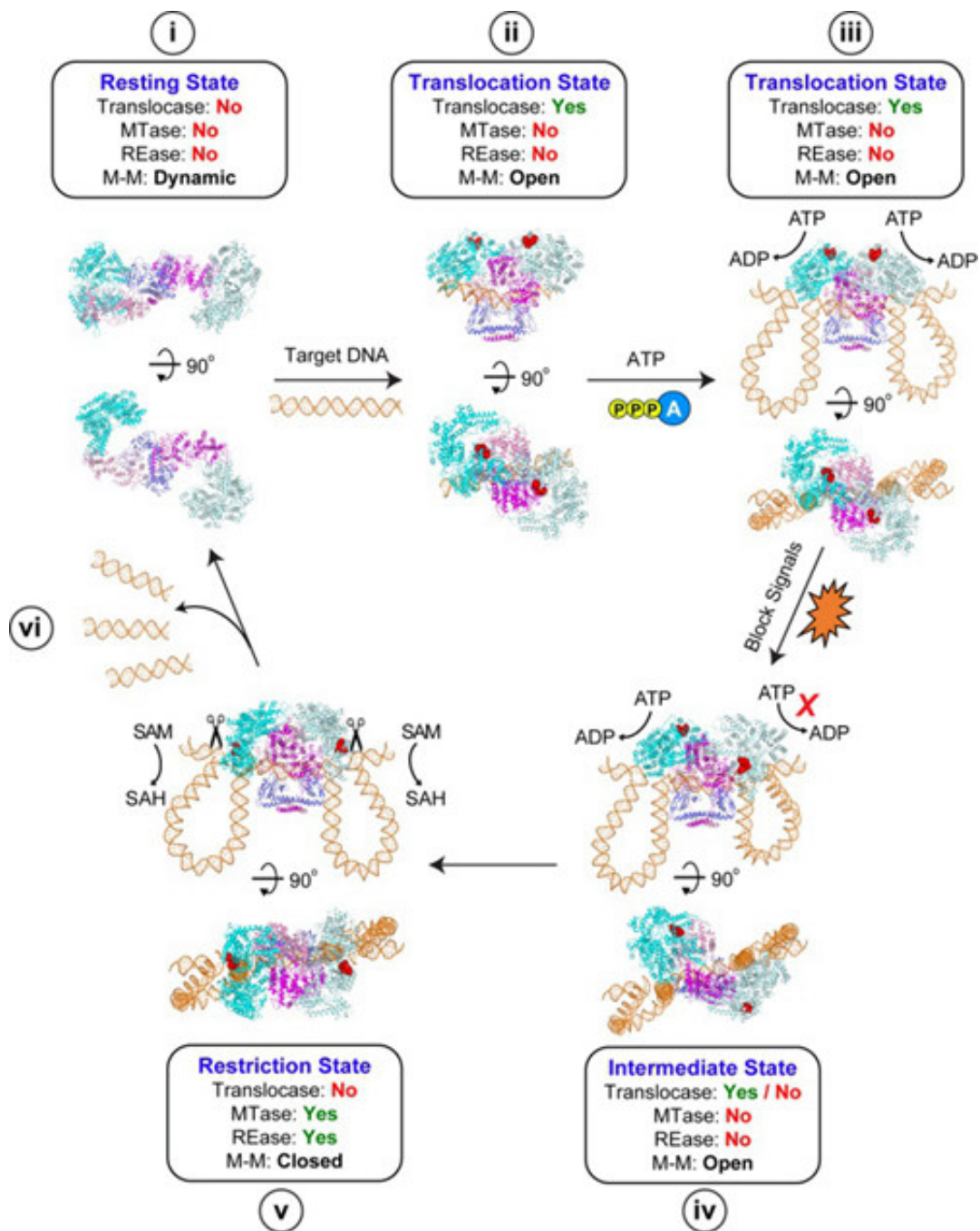
但是，在分子甚至原子水平上，仍然有很多问题未得到解答，包括：不同亚基之间如何相互作用并组装成有特定功能的复合物？Type I R-M系统是否以及如何通过构象变化来精确调控不同的酶活性？Type I R-M动态构象变化的结构基础是什么？噬菌体蛋白抑制Type I R-M系统酶活性的分子机制是什么？

为了回答这些问题，则必须了解Type I R-M系统在不同构象状态及组装方式下的结构信息。

多年来，高璞一直致力于揭示Type I R-M系统的组装、催化和调控机制。2011年，他在攻读博士期间，就解析了该系统DNA识别亚基的晶体结构。2017年，他与中科院生物物理所梁栋材院士课题组合作，解析了该系统甲基化酶复合物在不结合靶标DNA状态下的晶体结构。而此次的最新成果，则是他们团队与章新政课题组合作，解析了该系统多个生理状态下的冷冻电镜结构。

基于本项最新研究，研究人员将Type I R-M全酶的工作模型表述为以下6个步骤：

- 1、未结合靶DNA时，全酶复合物处于一种动态开放的Resting State；
- 2、结合靶DNA后，全酶复合物转变为紧凑的Translocation State，并将DNA定位于两个R亚基的Motor-1和Motor-2结构域之间；
- 3、通过水解ATP，两个R亚基开始催化DNA translocation，并将DNA从两端拉向Type I R-M复合物，进而形成特殊的DNA loop结构；
- 4、当DNA translocation受阻时，Type I R-M全酶转变为Intermediate State，此时仅有一个R亚基具有DNA translocase活性；
- 5、通过两个R亚基的协同作用，全酶复合物进入Restriction State，两个R亚基的Nuclease结构域和两个M亚基的Catalytic结构域均靠近DNA，发挥DNA切割和甲基化修饰功能；
- 6、切割和修饰结束后，全酶复合物与DNA相互分离并返回到初始的Resting State。



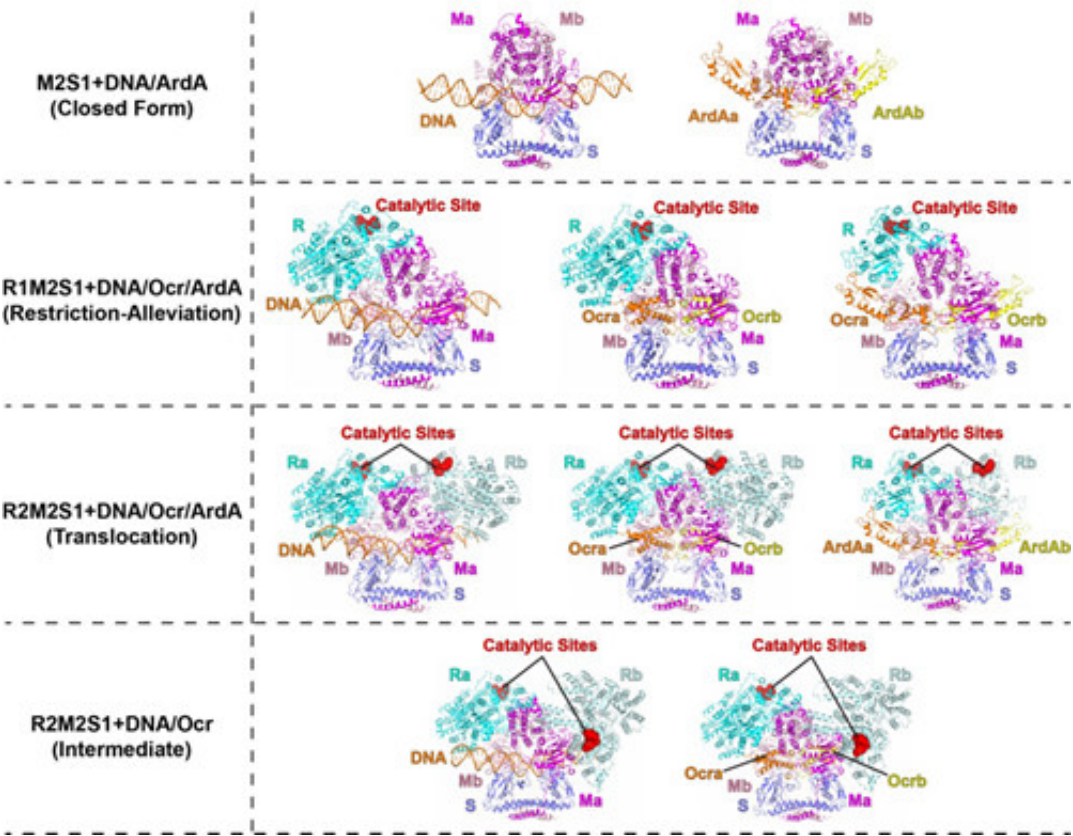
Type I R-M全酶复合物的工作模型图（高璞供图）

冷冻电镜助力凝固瞬间

为了更清楚的理解上述状态转变过程，研究人员在冷冻电镜的帮助下凝固了其中的多个瞬间。

首先实验的第一步是要获得高质量的复合物样品，我们采取细胞内共表达以及体外重组相结合的方式，以经典的Type I R-M系统EcoR124I为研究对象，制备了核心复合物M2S1以及全酶复合物R2M2S1。然后，进一步获得了它们与靶标DNA及两种噬菌体抑制蛋白（Ocr和ArdA）的复合物样品。高璞表示。

接下来，研究人员利用冷冻电镜单颗粒重构方法，摸索了上述多种复合物样品的制样及数据收集条件，并解析了不同分辨率的共10种状态的三维结构。



Type I R-M系统10种不同生理构象的冷冻电镜结构（高璞供图）

事实上，围绕Type I R-M系统为什么能够转位、切割、以及修饰DNA，前人的研究已经了解其不同阶段会显示出不同的酶活性，但是却不知道这个大的分子机器发生状态变化的根本原因。

冷冻电镜技术为了解这一过程的空间构象变化提供了利器。例如，在第一个阶段，Type I R-M系统只有转位酶的活性、不具有切割和甲基化活性，原因是其酶切活性中心在结构上被挤在中间，形成自我抑制的状态；而甲基化酶催化域也同时距离DNA较远，导致其不具备甲基化活性。

冷冻电镜结果上看，这是非常直观且显而易见的。高璞介绍。

中科院生物物理所成像中心平台为本研究冷冻电镜数据收集和样品分析等工作提供了支持。

工具性意义

有关这项研究的意义，除了有助于理解基础生物学问题，Type I R-M系统作为生物学工具开发的意义也应得到足够重视。在原核细胞中，R-M系统及CRISPR-Cas系统是细菌去除入侵的噬菌体DNA的两种防御系统，而这两种系统都已经被开发成强大的生物学工具，被广泛应用于当前的生物医学研究中。

高璞强调，由于R-M系统中的酶能识别特异的DNA序列并进行修饰和切割，因此，当下的分子克隆等实验中，都要广泛用到R-M系统。不过，Type I R-M系统虽然最早被发现，但其工具开发却一直相对滞后，正是由于大家对它的工作机制理解的不够透彻。

因此，对Type I R-M系统工作细节的了解，有助于将来对其进行生物学工具开发。

同时，在细菌对外源DNA的免疫识别方面，此项研究揭示了Type I R-M系统的组装、催化和调控的分子机制，而且大部分都是之前未报道的机制，这有助于深入理解该防御系统与噬菌体之间的相互博弈。

在结构生物学技术方面，Type I R-M系统多种生理构象的三维结构解析，是困扰本领域数十年的难题，本工作是首次系统性揭示了多种构象的结构基础。

此外，该研究还有望为抗病原菌感染的噬菌体疗法提供依据和思路。（来源：中国科学报甘晓）

相关论文信息：DOI：10.1038/s41564-020-0731-z

版权声明：凡本网注明来源：中国科学报、科学网、科学新闻杂志的所有作品，网站转载，请在正文上方注明来源和作者，且不得对内容作实质性改动；微信公众号、头条号等新媒体平台，转载请联系授权。邮箱：shouquan@stimes.cn。

作者：高璞等 来源：《自然—微生物学》

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发