

领域前沿·中国



王琛, 1998年毕业于中国科学院生物化学研究所, 获理学博士学位。1998~2002年先后在University of Connecticut Health Center和University of Texas Southwestern Medical Center进行博士后研究。2002年8月起获中科院“百人计划”资助, 在中科院上海生物化学与细胞生物学研究所从事固有免疫相关的细胞信号转导研究。已获得“上海市科技启明星计划”、“上海市优秀学科带头人计划”、“国家杰出青年科学基金”等资助; 主持科技部“863项目”、“973项目”、基金委“重点研究项目”, 并参与“国家重大科技专项”等课题多项。入选“新世纪百千万人才工程”国家级人选, 获得中科院上海分院“十大杰出青年科技创新人才”称号。实验室兴趣主要集中在解析宿主与病原微生物互作过程相关的细胞信号转导通路, 力图寻找调控固有免疫信号转导通路的新分子和新机制, 为筛选特异性抗感染药物提供新靶点和策略。已在Nature、Cell、Nature Immunology、Immunity、PLoS Pathogens、Journal of Cell Biology、Molecular and Cellular Biology以及Journal of Immunology等杂志发表50余篇研究论文。该实验室近期在Immunity发表的研究成果揭示了宿主细胞抗病毒信号通路关键枢纽分子STING如何招募TBK1并协同转移到核周小体的精细分子机制, 为研发新型免疫佐剂和治疗自身免疫疾病提供了新视角(Wang *et al.* Immunity 2014)。

宿主识别与应答胞质内DNA入侵的信号转导机制

崔 晔 李森林 王 强 王 琛*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

摘要 固有免疫是宿主防御病原微生物入侵的第一道防线。宿主通过胚系基因编码的模式识别受体(pathogen recognition receptor, PRR)监测微生物的病原相关分子模式(病毒核酸等), 迅速启动免疫应答反应。宿主自身的核酸如果错误地出现在细胞质中, 也会被模式识别受体识别, 引发自身免疫疾病。STING(stimulator of interferon genes)是最近鉴定出的内质网接头蛋白, 可以动态监控细胞内DNA以及环二核苷酸(cyclic dinucleotides, CDNs)的异常存在, 发挥承上启下的抗微生物感染的枢纽功能。该文概述STING介导的细胞信号通路前沿进展, 并对有待突破的科学问题作出展望。

关键词 STING; 核酸识别; 细胞信号转导; 固有免疫

Molecular Mechanisms of Sensing and Responding to Cytosolic Microbial DNAs

Cui Ye, Li Senlin, Wang Qiang, Wang Chen*

(Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences,
Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Innate immunity is the first line of host defenses against pathogens. The microbe-specific pathogen associated molecular patterns (PAMPs), including the microbial nucleic acids, are detected by germ-line encoded

*通讯作者。Tel: 021-54921285, E-mail: cwang01@sibcb.ac.cn

*Corresponding author. Tel: +86-21-54921285, E-mail: cwang01@sibcb.ac.cn

网络出版时间: 2015-01-30 14:52

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150130.1452.001.html>

pathogen recognition receptors (PRRs), and trigger immune responses. PRRs also sense the aberrant DNAs or RNAs released by host cells, inducing autoimmune diseases. Stimulator of interferon genes (STING) has recently been uncovered as a hub signaling protein on ER, mediating the cytosolic sensing of DNAs and CDNs in innate immunity. Here, we summarize the recent advances of the STING signaling, and highlight the important issues for future investigations.

Keywords STING; nucleic acids detection; signal transduction; innate immunity

固有免疫是宿主抵抗病原微生物入侵的快速响应机制, 主要包括宿主细胞识别病原微生物、诱导干扰素等细胞因子和趋化因子分泌, 建立细胞抗感染状态, 最终启动适应性免疫, 控制并消灭病原微生物。宿主通过胚系基因编码的模式识别受体 (pathogen recognition receptor, PRR) 识别病原微生物的保守组分, 即病原相关分子模式 (pathogen associated molecular pattern, PAMP)^[1], 如核酸分子、LPS 等。病原微生物来源的核酸组分可以被模式识别受体结合, 宿主自身核酸如果暴露在细胞质, 也可以被识别。因此, 固有免疫反应是一把双刃剑, 既可以帮助机体迅速清除危险, 也可能诱发自身免疫疾病, 如系统性红斑狼疮等^[2]。深入研究固有免疫系统识别核酸的分子机制具有重要的理论价值和临床实践意义。

模式识别受体包括 Toll 样受体 (Toll like receptor, TLR)、RIG-I 样受体 (RLR) 和 NOD 样受体等。已有报道, 病原微生物的 RNA 组分可被存在于膜上的 Toll 样受体和胞质中的 RIG-I 样受体识别^[3-5]。例如, TLR 家族的 TLR3 可以识别某些免疫细胞的内涵体中的病毒 RNA; RIG-I/MDA5 可以识别胞质中的病毒 RNA。RIG-I/MDA5 识别病毒 RNA 后, 诱导线粒体外膜上的 MAVS (也称 IPS-1) 形成多聚体, 激活 TBK1 和 IKK 激酶复合物, 后者分别磷酸化 IRF3 或 NF- κ B 转录因子, 诱导相关抗病毒蛋白质的表达。

近年来, 一系列潜在的 DNA 受体相继被报道^[6-11], 它们的生理功能需要进一步在体内确认。有趣的是, 所有这些受体均通过 STING (stimulator of interferon gene) 接头蛋白质向下游传递应急信号。STING 本身还可以作为受体, 直接结合细菌分泌的重要第二信使——环二核苷酸 (cyclic dinucleotides, CDNs), 诱导抗感染的固有免疫反应^[12-16]。因此, STING 是细胞内应答 DNA 入侵的关键节点分子, 它的生理与病理功能已经确立。STING 如何激活 TBK1-IRF3 并向下游传递信号, 是近期的研究热点。

1 STING的发现与组织分布

利用 cDNA 库互补筛选的手段, 4 家实验室先后报道了 STING 可以强烈激活 TBK1 和 IRF3 抗病毒细胞信号通路^[17-20]。科研人员利用 *STING* 基因敲除小鼠, 确立了 STING 是应答疱疹病毒 (HSV-1) 等 DNA 病毒感染的关键信号分子。

STING 又称为 TMEM173、MPYS、MITA 或 ERIS, 是一种存在于宿主细胞内质网膜 (也有报道称在线粒体膜和其他膜相关结构) 上的跨膜蛋白。人源与鼠源的 STING 有 81% 的相似性。在其他种群的细胞中, STING 也是高度保守的。

人源的 STING 由 379 个氨基酸组成, 其 N-端 (1~137 aa) 为 4 次跨膜结构域, C-端包含一个 CTD 结构域, 伸向胞质中, 可以结合胞质中的 CDNs 并招募下游信号蛋白。STING 高表达于一些免疫细胞来源的细胞系, 如 THP-1、Raw264.7 等, 但在 HEK293T、HeLa 和 Huh-7 细胞中表达极低。这种细胞表达特异性暗示 STING 可能在免疫系统中具有重要功能。

2 STING上游的DNA受体

在 pDC 细胞中, TLR9 可以识别 CpG-DNA, 通过 MyD88 向下游传递信号, 最终诱导 I 型干扰素和炎症因子的表达。TLR9 存在于内涵体上, 因此它无法识别细胞质内的 DNA。李斯特菌感染细胞后, 其 DNA 可以通过细菌分泌系统进入胞质。在 *TLR9* 敲除的免疫细胞中, 李斯特菌仍然可以激活 TBK1-IRF3 信号通路, 诱导产生 I 型干扰素^[21]。这暗示细胞质中存在新颖的受体蛋白质, 可识别病原微生物的 DNA。

近年来, 一系列潜在的 DNA 受体相继被报道。首先, DAI (ZBP1) 在多种细胞类型中与 dsDNA 共定位, 但是不包括 MEFs、BMDCs 和 BMDMs; 在 L929 细胞中敲低 *DAI*, 可显著抑制 dsDNA 诱导的 I 型干扰素的产生^[6]。然而, *DAI* 基因敲除的小鼠在 B 型 DNA 刺激下, 仍能大量表达 I 型干扰素^[22], 且较野生型小鼠表现出同等强度的免疫反应。这暗示 DAI 并非

dsDNA刺激下产生I型干扰素所必需。

RNA聚合酶III特异应答富含AT的双链DNA, 通过RIG-I介导的信号通路向下游传递信号。DDX41在BMDCs和单核细胞中识别胞质DNA, 通过其DEADc结构域结合poly(dA:dT)或HSV-1的病毒DNA, 然后与STING发生相互作用, 激活TBK1。IFI16属于PYHIN家族蛋白, 包含一个pyrin结构域和两个HIN结构域。它既可以结合单链DNA, 也可以结合双链DNA。IFI16可以激活STING信号通路, 诱导I型干扰素的生成, 也可通过ASC介导炎症反应。另一个PYHIN家族蛋白AIM2, 也被认为是胞内DNA的模式识别受体, 可激活炎症小体和caspase-1。但是, AIM2不能在dsDNA作用下诱导表达I型干扰素^[10]。

LSm14A是LSm家族的一员, 参与RNA的加工、成熟。LSm14A既结合poly(I:C)又结合poly(dA:dT)和病毒DNA。敲除*Lsm14A*后, 可显著降低SeV或诱导IFN- β 的表达, 这说明LSm14A既可以响应RNA病毒, 也可以响应DNA病毒^[23]。

以上这些DNA受体主要存在于某些特定的细胞类型中, 它们的抗病毒功能不具有普适性。

最近报道了一种新的DNA受体cGAS^[8,24]。鼠源的cGAS在Raw264.7和BMDM细胞中高表达, 在永生化的MEF细胞中含量较低。在原代MEF、BMDM和DC细胞中, cGAS是应答目前已知的胞内DNA(包括HT-DNA、大肠杆菌DNA、poly(dA:dT)、ISD、HAV-1和VACA)所必需的。此外, cGAS也是应答DNA病毒(如HSV-1、MHV68和牛痘病毒)的关键受体。

3 第二信使分子激活STING信号通路

环二核苷酸(CDNs)是由两个核苷酸通过5'→3'方向的磷酸二酯键环化形成的, 主要包括环二鸟苷酸(c-di-GMP)和环二腺苷酸(c-di-AMP)。CDNs是细菌合成的重要第二信使, 调节细菌的许多生物学过程, 例如细菌的毒性、鞭毛的运动能力以及生物膜的形成^[25-27]。Woodward实验室首先发现, 李斯特菌感染宿主细胞后, 它的CDNs可以进入细胞质, 诱导宿主细胞产生I型干扰素, 抵抗李斯特菌的感染^[28]。这表明宿主细胞内存在PRR, 特异识别并应答CDNs。通过正向遗传学途径, 另一研究筛选到Goldenticket小鼠。李斯特菌感染该小鼠时, 无法诱导I型干扰素。基因组分析发现, 该小鼠的STING的苏氨酸突

变为丙氨酸, STING不能响应CDNs^[29]。体外实验证明, STING可以直接结合c-di-AMP和c-di-GMP。因此, STING是CDNs的直接受体PRR。

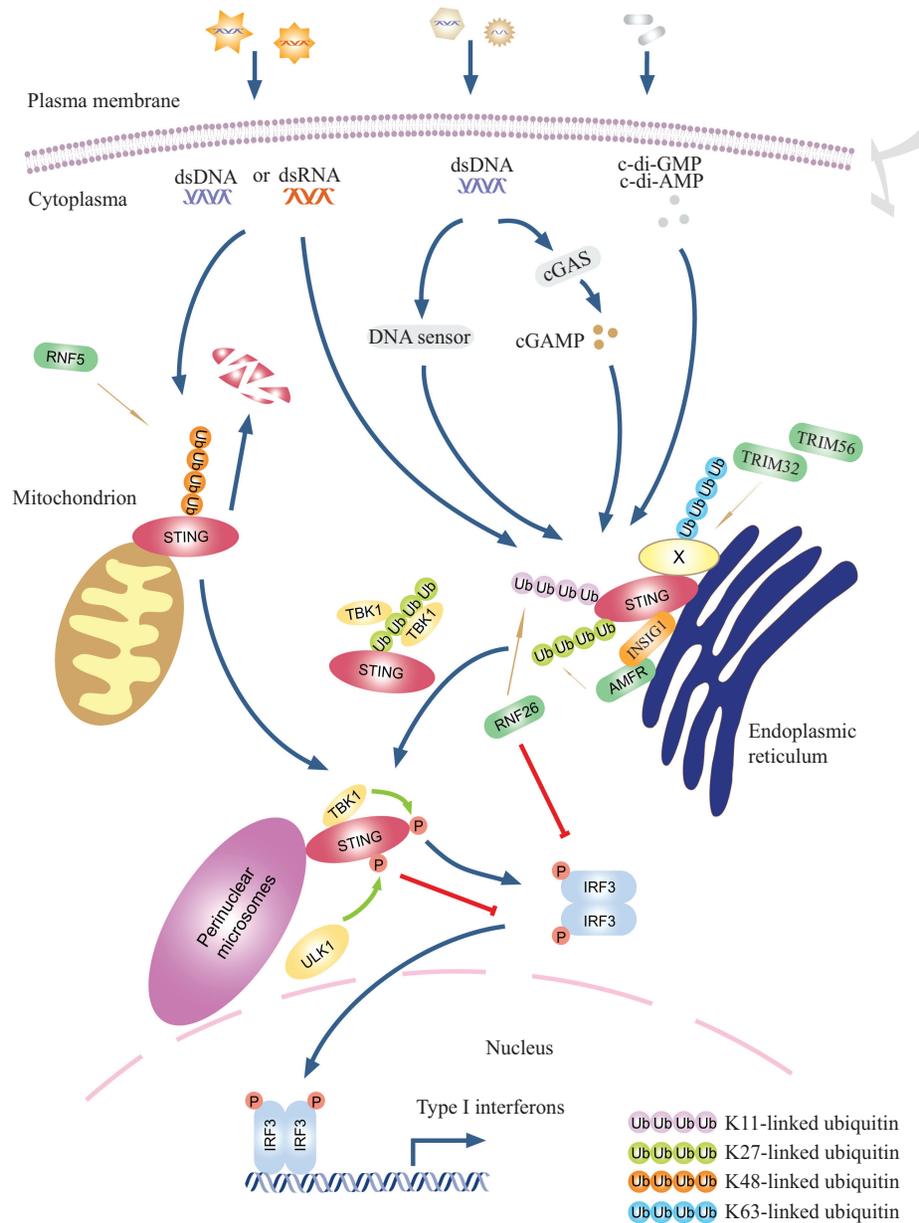
STING的C-端结构域以及C-端结构域共结晶CDNs的结构已被解析, 这有利于更好地理解STING与配体结合并激活的分子机理。STING以二聚体的形式存在, 其单体C-端末尾具有较高柔性, 易于敞开; 一旦结合CDNs后, 就形成一个“盖子”结构域, 并与其他部分形成更加稳定的“口袋”结构, 牢固地结合CDNs^[14,30-32]。一些可以诱导宿主细胞产生I型干扰素的化合物, 如DMXAA、CMA等, 也通过类似的方式直接激活STING^[13,33-34]。

最近的突破性进展阐明, cGAS可以识别胞质中的DNA, 催化GTP和ATP形成2'3'-cGAMP。与细菌产生的第二信使c-di-AMP和c-di-GMP类似, 胞内合成的2'3'-cGAMP可以强烈诱导干扰素表达, 并依赖于STING-TBK1-IRF3信号轴。因此, STING识别第二信使的分子机制将各种DNA刺激的应答模式统一了起来。

4 STING激活TBK1的信号转导机制

双链DNA或环二核苷酸通过直接或间接的方式, 解除STING的自抑制状态。STING随即转移到高尔基体或核周围小体(perinuclear microsome); 该过程伴随招募TBK1和磷酸化IRF3, 最终激活下游相关基因的转录。STING和TBK1发生转移的调控机制、TBK1的激活机制以及高尔基体或核周围小体的具体功能, 是本领域研究者非常关注的科学问题。我们最近的研究工作为解决这些疑惑提供了一些新视角。

我们通过免疫共沉淀和质谱鉴定的方法搜寻STING信号复合物的新调控蛋白质分子。ER应急反应相关的E3泛素连接酶AMFR(autocrine motility factor receptor)进入了我们的视野。AMFR和INSIG1(insulin induced gene 1)定位于内质网, 是调控糖和脂代谢的关键蛋白质。我们的系统分析表明, AMFR或者INSIG1缺失的细胞中, 由胞质DNA刺激引发的、STING介导的抗病毒基因的表达显著减少。与此一致的是, 髓样细胞中*INSIG1*特异性敲除的小鼠相比于野生型的小鼠更易受HSV-1病毒的感染。深入的分子机制研究表明, STING通过INSIG1招募AMFR, AMFR催化STING发生K27链型的多聚



病原微生物的DNA或RNA、环二核苷酸小分子被胞质中相应受体识别后,通过STING-TBK1-IRF3信号通路启动I型干扰素基因的表达。RNF5催化STING发生K48位泛素化(橙色)修饰,促进STING被蛋白酶体降解,抑制抗病毒反应。在胞质DNA刺激下,AMFR催化STING发生K27链型的泛素化(绿色)修饰,此泛素链招募TBK1,使其转移到核外周小体上;TRIM32和TRIM56催化STING复合物中的未知组分发生K63位泛素化(蓝色)修饰,促进STING向下游传递信号。在病毒感染初期,RNF26催化STING发生K11位泛素化(紫色)修饰,促进下游I型干扰素基因的表达。激活的TBK1磷酸化STING的多个丝氨酸位点,增强STING对IRF3的亲合性;游离的ULK1磷酸化STING,抑制下游IRF3的生物学功能。

Cytosolic DNA sensors bind to microbial DNAs, RNAs or cyclic di-GMP/AMP, which initiate the STING-TBK1-IRF3 signaling axis and ultimately induce the expression of type I interferons. RNF5 catalyzes the K48-linked poly-ubiquitination (orange colored) of STING and promotes its proteasome mediated degradation, thus attenuating innate antiviral responses. Cytosolic DNAs trigger the K27-linked poly-ubiquitination (green colored) of STING catalyzed by AMFR. This unique poly-ubiquitin chain serves as a platform to recruit TBK1, thus facilitating its translocation to perinuclear microsome. TRIM32 or TRIM56 catalyzes the K63-linked poly-ubiquitination (blue colored) of STING and potentiates the STING signaling. In the early phase of virus infection, RNF26 catalyzes the K11-linked poly-ubiquitination (purple colored) of STING and promotes the induction of type I interferons. Activated TBK1 could also phosphorylate STING and enhance the association between STING and IRF3. In contrast, the dissociated ULK1 phosphorylates STING and suppresses IRF3 activation.

图1 磷酸化和泛素化修饰调控STING介导的细胞信号通路

Fig.1 Phosphorylation and ubiquitination of the STING-mediated antimicrobial signaling pathway

泛素化修饰;此泛素链作为分子平台招募TBK1,将STING和TBK1转移到核外周小体上^[35]。STING与TBK1在核外周小体通过未知的机制激活TBK1。但在此过程中,STING和TBK1为何需要转移到核外周小体,目前仍然是个谜(图1)。

5 STING的其他翻译后修饰以及相关生物学效应

有报道认为,胞质dsDNA通过STING将TBK1激活,后者可以直接磷酸化STING的多个丝氨酸位点(Ser358、Ser353和Ser379),增强STING对IRF3的亲合性,促进TBK1磷酸化IRF3,最终诱导IRF3二聚化入核,激活下游基因的转录^[36]。另一报道认为,cGAS催化合成的cGAMP在激活STING的同时,还可以激活AMPK通路;ULK1与AMPK因此解离,游离的ULK1特异性地磷酸化STING(Ser366),抑制STING诱导下游IRF3的磷酸化,形成负反馈调节通路^[37]。

RNF5与STING一样,在线粒体和内质网都有分布。病毒感染时,RNF5和STING的定位发生改变。RNF5通过催化线粒体上STING的Lys150发生K48位多聚泛素化,促进STING被蛋白酶体降解,从而终止STING向下游传递信号,负调控固有免疫应答反应^[38]。

Tsuchida等^[39]发现,TRIM56是干扰素诱导表达的泛素连接酶,它能够促进STING信号转导通路的活力。TRIM56通过结合STING,催化后者Lys150发生K63位连接的多聚泛素化修饰。这种修饰可促进STING的二聚化,有利于招募TBK1。Zhang等^[40]报道,TRIM32催化STING的Lys20/150/224/236发生K63位连接的多聚泛素化修饰,这种修饰可促进STING与TBK1之间的相互作用。我们无法重复以上实验结论。我们在蛋白质变性的条件下进行免疫共沉淀,无法检测到二者催化STING发生泛素化修饰。我们推测,TRIM56和TRIM32可能催化STING信号复合物的其他蛋白质发生泛素化修饰,间接调控STING信号通路。

生化分析表明,STING的Lys150是一个重要的泛素化修饰位点,对于STING的二聚化以及招募TBK1具有重要的功能。结构生物学的证据却并不支持该观点:Lys150并不参与STING的二聚化以及活化。当把Lys突变为Ala、Leu、Arg时,STING仍然形成二聚体。而在STING缺失的MEF中回转K150R,在B型DNA的作用下,I型干扰素的诱导表达

没有明显变化^[40]。

Qin等^[41]报道,E3泛素连接酶RNF26定位在内质网上,催化STING发生K11链型的多聚泛素化修饰。有趣的是,在病毒感染早期,RNF26催化形成的K11多聚泛素链竞争STING的K48位泛素化修饰位点,可以阻止RNF5引起的STING的降解,促进I型干扰素的表达;但在病毒感染的晚期,RNF26通过促进IRF3的溶酶体降解,抑制I型干扰素的表达(图1)。

6 STING在自身免疫病中的潜在功能

虽然I型干扰素的表达可以有效抵御病原微生物的入侵,但是过量的I型干扰素会诱发严重的自身免疫疾病^[2,42]。正常情况下,真核细胞的DNA分子仅存在于细胞核和线粒体中,无法被胞质DNA受体识别。但是在一些严重的炎症和细胞坏死的情况下,这些DNA分子就会暴露在胞质内,通过STING信号通路激活宿主的固有免疫反应,造成机体损伤。DNases可以清除细胞内异常的DNA分子,避免细胞内积累自身的DNA。

实验表明,清除自身DNA的机制受损,就会激活I型干扰素的异常表达,最终诱发自身免疫疾病。例如,DNase I缺失或者突变的小鼠相比于野生型小鼠更容易患系统性红斑狼疮^[43]。DNase II缺失的小鼠,体内积累未完全降解的DNA,导致I型干扰素的异常表达,胚胎致死。如果将DNase II缺失的小鼠与I型干扰素受体缺失的小鼠杂交,能够获得存活的子代小鼠,证明过量的I型干扰素是DNase II缺失小鼠胚胎致死的关键原因。有趣的是,将STING缺失的小鼠与DNase II缺失的杂合子杂交,STING/DNase II双敲除的子代就不会患系统性红斑狼疮病症。这有力地证实,DNase II缺失导致的自身免疫疾病以及胚胎致死是依赖于STING信号通路的^[44]。

7 前景与展望

STING介导宿主细胞识别胞质异常DNA的生物学功能已经确立。一方面,STING可以直接作为模式识别受体,识别环二核苷酸c-di-GMP、c-di-AMP,诱导I型干扰素的表达;另一方面,STING作为关键支架蛋白,传递其他dsDNA受体的信号。被激活的STING发生磷酸化、泛素化等修饰,通过亚细胞器转位的方式,进一步向下游传递信号,激活下游的TBK1和IRF3,最终促进I型干扰素的表达。

目前,对STING信号转导通路的解析还处于萌芽阶段。许多关键的信号转导和调节分子有待发现及深入研究,相关的分子作用机制和结构解析需要进一步阐释。例如,PRRs如何将信号传递到STING,STING又是如何激活TBK1的以及STING和TBK1共聚集在核周围区域有什么生物学效应。病原微生物通过干扰STING逃逸天然免疫的研究才起步。对这些问题的阐释,将有利于解析抗病毒细胞信号通路的分子机制,理解病原微生物逃逸宿主天然免疫的机制,为有效控制和治疗感染相关的疾病提供新策略和新思路。

参考文献 (References)

- Janeway CA Jr. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1989; 54 Pt 1: 1-13.
- Ahn J, Gutman D, Saijo S, Barber GN. STING manifests self DNA-dependent inflammatory disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(47): 19386-91.
- Xu LG, Wang YY, Han KJ, Li LY, Zhai Z, Shu HB. VISA is an adaptor protein required for virus-triggered IFN-beta signaling. *Mol Cell* 2005; 19(6): 727-40.
- Meylan E, Curran J, Hofmann K, Moradpour D, Binder M, Bartenschlager R, *et al.* Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature* 2005; 437(7062): 1167-72.
- Kawai T, Takahashi K, Sato S, Coban C, Kumar H, Kato H, *et al.* IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat Immunol* 2005; 6(10): 981-8.
- Takaoka A, Wang Z, Choi MK, Yanai H, Negishi H, Ban T, *et al.* DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response. *Nature* 2007; 448(7152): 501-5.
- Zhang Z, Yuan B, Bao M, Lu N, Kim T, Liu YJ. The helicase DDX41 senses intracellular DNA mediated by the adaptor STING in dendritic cells. *Nat Immunol* 2011; 12(10): 959-65.
- Sun L, Wu J, Du F, Chen X, Chen ZJ. Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science* 2013; 339(6121): 786-91.
- Kondo T, Kobayashi J, Saitoh T, Maruyama K, Ishii KJ, Barber GN, *et al.* DNA damage sensor MRE11 recognizes cytosolic double-stranded DNA and induces type I interferon by regulating STING trafficking. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(8): 2969-74.
- Unterholzner L, Keating SE, Baran M, Horan KA, Jensen SB, Sharma S, *et al.* IFI16 is an innate immune sensor for intracellular DNA. *Nat Immunol* 2010; 11(11): 997-1004.
- Ferguson BJ, Mansur DS, Peters NE, Ren H, Smith GL. DNA-PK is a DNA sensor for IRF-3-dependent innate immunity. *Elife* 2012; 1: e00047.
- Burdette DL, Monroe KM, Sotelo-Troha K, Iwig JS, Eckert B, Hyodo M, *et al.* STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP. *Nature* 2011; 478(7370): 515-8.
- Gao P, Ascano M, Zillinger T, Wang W, Dai P, Serganov AA, *et al.* Structure-function analysis of STING activation by c[G(2',5')pA(3',5')p] and targeting by antiviral DMXAA. *Cell* 2013; 154(4): 748-62.
- Huang YH, Liu XY, Du XX, Jiang ZF, Su XD. The structural basis for the sensing and binding of cyclic di-GMP by STING. *Nat Struct Mol Biol* 2012; 19(7): 728-30.
- Yin Q, Tian Y, Kabaleeswaran V, Jiang X, Tu D, Eck MJ, *et al.* Cyclic di-GMP sensing via the innate immune signaling protein STING. *Mol Cell* 2012; 46(6): 735-45.
- Zhang X, Shi H, Wu J, Sun L, Chen C, Chen ZJ. Cyclic GMP-AMP containing mixed phosphodiester linkages is an endogenous high-affinity ligand for STING. *Mol Cell* 2013; 51(2): 226-35.
- Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature* 2008; 455(7213): 674-8.
- Zhong B, Yang Y, Li S, Wang YY, Li Y, Diao F, *et al.* The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation. *Immunity* 2008; 29(4): 538-50.
- Sun W, Li Y, Chen L, Chen H, You F, Zhou X, *et al.* ERIS, an endoplasmic reticulum IFN stimulator, activates innate immune signaling through dimerization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(21): 8653-8.
- Jin L, Hill KK, Filak H, Mogan J, Knowles H, Zhang B, *et al.* MPYS is required for IFN response factor 3 activation and type I IFN production in the response of cultured phagocytes to bacterial second messengers cyclic-di-AMP and cyclic-di-GMP. *J Immunol* 2011; 187(5): 2595-601.
- Ishii KJ, Coban C, Kato H, Takahashi K, Torii Y, Takeshita F, *et al.* A Toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. *Nat Immunol* 2006; 7(1): 40-8.
- Ishii KJ, Kawagoe T, Koyama S, Matsui K, Kumar H, Kawai T, *et al.* TANK-binding kinase-1 delineates innate and adaptive immune responses to DNA vaccines. *Nature* 2008; 451(7179): 725-9.
- Li Y, Chen R, Zhou Q, Xu Z, Li C, Wang S, *et al.* LSM14A is a processing body-associated sensor of viral nucleic acids that initiates cellular antiviral response in the early phase of viral infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(29): 11770-5.
- Diner EJ, Burdette DL, Wilson SC, Monroe KM, Kellenberger CA, Hyodo M, *et al.* The innate immune DNA sensor cGAS produces a noncanonical cyclic dinucleotide that activates human STING. *Cell Rep* 2013; 3(5): 1355-61.
- Davison RB, Hollenbeck JR, Barnes CM, Slesman DJ, Ilgen DR. Coordinated action in multiteam systems. *J Appl Psychol* 2012; 97(4): 808-24.
- Tamayo R, Pratt JT, Camilli A. Roles of cyclic diguanylate in the regulation of bacterial pathogenesis. *Annu Rev Microbiol* 2007; 61: 131-48.
- Witte G, Hartung S, Buttner K, Hopfner KP. Structural biochemistry of a bacterial checkpoint protein reveals diadenylate cyclase activity regulated by DNA recombination intermediates. *Mol Cell* 2008; 30(2): 167-78.
- Woodward JJ, Iavarone AT, Portnoy DA. c-di-AMP secreted by intracellular *Listeria monocytogenes* activates a host type I interferon response. *Science* 2010; 328(5986): 1703-5.
- Sauer JD, Sotelo-Troha K, von Moltke J, Monroe KM, Rae CS, Brubaker SW, *et al.* The N-ethyl-N-nitrosourea-induced Goldenticket mouse mutant reveals an essential function of Sting in the *in vivo* interferon response to *Listeria monocytogenes* and

- cyclic dinucleotides. *Infect Immun* 2011; 79(2): 688-94.
- 30 Ouyang S, Song X, Wang Y, Ru H, Shaw N, Jiang Y, *et al.* Structural analysis of the STING adaptor protein reveals a hydrophobic dimer interface and mode of cyclic di-GMP binding. *Immunity* 2012; 36(6): 1073-86.
- 31 Shang G, Zhu D, Li N, Zhang J, Zhu C, Lu D, *et al.* Crystal structures of STING protein reveal basis for recognition of cyclic di-GMP. *Nat Struct Mol Biol* 2012; 19(7): 725-7.
- 32 Shu C, Yi G, Watts T, Kao CC, Li P. Structure of STING bound to cyclic di-GMP reveals the mechanism of cyclic dinucleotide recognition by the immune system. *Nat Struct Mol Biol* 2012; 19(7): 722-4.
- 33 Cavlar T, Deimling T, Ablasser A, Hopfner KP, Hornung V. Species-specific detection of the antiviral small-molecule compound CMA by STING. *EMBO J* 2013; 32(10): 1440-50.
- 34 Conlon J, Burdette DL, Sharma S, Bhat N, Thompson M, Jiang Z, *et al.* Mouse, but not human STING, binds and signals in response to the vascular disrupting agent 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid. *J Immunol* 2013; 190(10): 5216-25.
- 35 Wang Q, Liu X, Cui Y, Tang Y, Chen W, Li S, *et al.* The E3 ubiquitin ligase AMFR and INSIG1 bridge the activation of TBK1 kinase by modifying the adaptor STING. *Immunity* 2014; 41(6): 919-33.
- 36 Tanaka Y, Chen ZJ. STING specifies IRF3 phosphorylation by TBK1 in the cytosolic DNA signaling pathway. *Sci Signal* 2012; 5(214): ra20.
- 37 Konno H, Konno K, Barber GN. Cyclic dinucleotides trigger ULK1 (ATG1) phosphorylation of STING to prevent sustained innate immune signaling. *Cell* 2013; 155(3): 688-98.
- 38 Zhong B, Zhang L, Lei C, Li Y, Mao AP, Yang Y, *et al.* The ubiquitin ligase RNF5 regulates antiviral responses by mediating degradation of the adaptor protein MITA. *Immunity* 2009; 30(3): 397-407.
- 39 Tsuchida T, Zou J, Saitoh T, Kumar H, Abe T, Matsuura Y, *et al.* The ubiquitin ligase TRIM56 regulates innate immune responses to intracellular double-stranded DNA. *Immunity* 2010; 33(5): 765-76.
- 40 Zhang J, Hu MM, Wang YY, Shu HB. TRIM32 protein modulates type I interferon induction and cellular antiviral response by targeting MITA/STING protein for K63-linked ubiquitination. *J Biol Chem* 2012; 287(34): 28646-55.
- 41 Qin Y, Zhou MT, Hu MM, Hu YH, Zhang J, Guo L, *et al.* RNF26 temporally regulates virus-triggered type I interferon induction by two distinct mechanisms. *PLoS Pathog* 2014; 10(9): e1004358.
- 42 Miyanishi M, Segawa K, Nagata S. Synergistic effect of Tim4 and MFG-E8 null mutations on the development of autoimmunity. *Int Immunol* 2012; 24(9): 551-9.
- 43 Yasutomo K, Horiuchi T, Kagami S, Tsukamoto H, Hashimura C, Urushihara M, *et al.* Mutation of DNASE1 in people with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* 2001; 28(4): 313-4.
- 44 Yoshida H, Okabe Y, Kawane K, Fukuyama H, Nagata S. Lethal anemia caused by interferon-beta produced in mouse embryos carrying undigested DNA. *Nat Immunol* 2005; 6(1): 49-56.