Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů

Tereza Portychová

Interakce struktur polyomavirů se složkami buněčné vrozené imunity

Interactions of polyomavirus structures with components of cell innate immunity

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Jitka Forstová, CSc.

Praha, 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 4. 8. 2022 Tereza Portychová

……..

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. RNDr. Jitce Forstové, CSc. za vedení, cenné rady a trpělivost při zpracovávání bakalářské práce.

Obsah

Seznam zkratek

Abstrakt

1. Úvod 1

2. Polyomaviry 2

2.1. Lidské polyomaviry (HPyV) 2

2.2. Struktura virionu a organizace genomu 3

2.3. Časné genové produkty polyomavirů 4

2.3.1. Velké T antigeny (LT) 5

2.3.2. Střední antigeny (MT) 6

2.3.3. Malé antigeny (st) 6

2.4. Replikační cyklus 7

3. Vrozená imunita 9

3.1. Buněčná vrozená imunita 9

3.1.1. Receptory 9

3.1.2. Obranné molekuly 11

3.1.3. Imunitní dráhy vedoucí k tvorbě interferonů a dalších cytokinů důležité pro obranu proti PyV 12

3.1.4. Restrikční faktory namířené proti PyV 15

4. Vliv struktur polyomavirů na vrozenou buněčnou imunitu 17

4.1. SV40 17

4.2. BKPyV 19

4.3. JCPyV 24

4.4. MPyV 26

4.5. MCPyV 27

5. Závěr 29

6. Seznam literatury 31

Seznam zkratek

A	adenosine	adenosin
A3A	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like A3	katalytický polypeptid A3 podobný enzymu upravujícího mRNA pro apolipoprotein B
AID	activation-induced cytidine deaminase	aktivací indukovaná cytidindeamináza
ALRs	absent in melanoma 2 (AIM2)-like receptors	receptory podobné receptorům chybějícím v melanomu 2
ALTO	alternative to Large T Open reading frame protein	alternativní protein k čtecímu rámci LT antigenu vzniklý alternativním sestřihem RNA
AMP	adenosine monophosphate	adenosinmonofosfát
APOBEC	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide	katalytické polypeptidy podobné enzymu upravujícího mRNA pro apolipoprotein B
ATM	ataxia-telangiectasia mutated, serine/threonine kinase	mutovaná v ataxia-telangiectasia; serin/threoninová kináza
ATP	adenosine triphosphate	adenosintrifosfát
ATR	ATM and Rad3-related kinase	ataxia-telangiectasia and Rad3-příbuzný protein, serin/threoninová kináza
BKPyV	BK polyomavirus	BK polyomavirus
bp	base pair	bazický pár
Brd4	bromodomain-containing protein 4	protein 4 obsahující bromodoménu
Bub1	serine/threonine kinase associated with signalization of mitotic spindle assembly	serin/threoninová kináza spojená se signalizací při tvorbě mitotického vřeténka
C	cytosine	cytosin
C/EBPβ	CCAAT-enhacer-binding proteins	proteiny vázající se k sekvenci CCAAT enhaceru
c-Rel	proto-oncogene protein encoded by the REL gene	protoonkogenový protein kódovaný genem REL

CARD	caspase recruitment domain	doména rekrutující kaspázu
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	cyklický adenosinmonofosfát
CBP	CREB binding protein	protein vázající CREB
CDK	cyclin dependent kinase	na cyklinu závislá kináza
cGAMP	cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate	cyklický guanosinmonofosfát-adenosinmonofosfát
cGAS	cyclic GMP-AMP synthase	cyklická GMP-AMP syntáza
CLRs	C-type lectin receptors	lektinové receptory typu C
cMyc	master regulator of cell cycle entry and proliferative metabolism protein c	regulátor c pro vstup do buněčné cyklu a proliferativní metabolismus
CREB	cAMP response element binding protein	protein vázající element reagující na cAMP
CRISPR	clustered regularly interspaced short palindromic repeats	nahromaděné pravidelně rozmístěné krátké palindromické repetice
CXCL10	C-X-C motif chemokin ligand 10	chemokinový ligand 10 patřící do rodiny chemokinů s C-X-C motivem
DAI	DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors I	na DNA závislý aktivátor interferonového regulačního faktoru I
DAMPs	damage-associated molecular patterns	molekulární vzory asociované s poškozením
Daxx	death-associated protein 6	protein 6 spojený se smrtí
DDR	DNA damage response	odpověď na poškození DNA
DNA	deoxyribonucleic acid	deoxyribonukleová kyselina
dsDNA	double-stranded DNA	dvouřetězcová DNA
ER	endoplasmatic reticulum	endoplazmatické retikulum
EVGR	early viral genomic region	časná oblast virového genomu
GAS	γ-IFN activation site	aktivační část IFN-γ
GMP	guanosine monophosphate	guanosinmonofosfát
GTP	guanosine triphosphate	guanosintrifosfát
H3	histone 3	histon 3

HPyV	human polyomaviruses	lidské polyomaviry
Hsc70	heat-shock cognate protein 70	protein příbuzný proteinu teplotního šoku 70
HPTE	human proximal epithelial cells	lidské proximální epiteliální buňky
CHK	checkpoint kinase	kináza ovlivňující kontrolní body buněčného cyklu
IFI16	interferon-gamma inducible protein 16	protein 16 indukovaný interferonem-gamma
IFN	interferon	interferon
IFNs	interferons	interferony
IFNAR	type I interferon receptor	receptor pro interferon typu I
IFNGR	interferon γ receptor	receptor pro interferon γ
IκB	inhibitor of nuclear factor κB	inhibitor jaderného faktoru κB
IKK	IκB kinase	kináza IκB
IL	interleukine	interleukin
IRF	interferons regulatory factor	faktor regulující interferony
ISGF3	interferon stimulated gene factor 3	interferonem stimulovaný genový faktor 3
ISGs	interferon-stimulated genes	geny stimulované interferony
ISRE	IFN-stimulated response element	sekvenční elementy před IFN genem stimulující IFN transkripci
JAK	Janus kinase	Janusova kináza
JCPyV	JC polyomavirus	Polyomavirus JC
KIPyV	Karolinska Institutet polyomavirus	Polyomavirus objevený v Karolinska institutu
LC3	1A/1B-light chain 3	1A/1B – lehký řetězec 3
LSD	large T antigen stabilization domain	stabilizační doména velkého T antigenu
LT antigen	large tumor antigen	velký tumorový antigen
LVGR	late viral genomic region	pozdní oblast virového genom
LXCXE	leucin, any amino acid, cystein, any amino acid, glutamic acid motif	motiv skládající se z leucinu, libovolné aminokyseliny, cysteinu, libovolné aminokyseliny a glutamové kyseliny

MAP	mitogen activated protein kinase	mitogenem aktivovaná protein kináza
MAVS	mitochondrial antiviral-signaling protein	mitochondriální antivirový signální protein
MCC	Merkel cell carcinoma	karcinom Merkelových buněk
MCPyV	Merkel cell polyomavirus	Polyomavirus Merkelových buněk
MDA5	melanoma differentiation-associated protein 5	protein 5 asociovaný s diferenciací melanomu
MEF	murine embryonic fibroblast	myší embryonální fibroblasty
mRNA	messenger RNA	mediátorová DNA
miRNA	micro RNA	mikro RNA
MPyV	Murine polyomavirus	Myší polyomavirus
MT antigen	middle tumor antigen	střední tumorový antigen
MyD88	myeloid differentiation primary response 88	protein primární odpovědi myeloidní diferenciace 88
ncNF-κB	non-canonical NF-κB pathway	nekanonická NF-κB dráha
NEMO	NF-κB essential modulator	nezbytný modulátor NF-κB
NF-κB	nuclear factor kappa B	jaderný faktor kappa B
NIK	NF-κB-inducing kinase	kináza indukující NF-κB
NK buňka	natural killer cell	přirozeně cytotoxické buňky
NLRs	nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors	receptory podobné oligomerizační doméně vázající nukleotid (NOD)
NLS	nuclear localization signal	jaderný lokalizační signál
NOD	nucleotide-binding oligomerization domain	oligomerizační doména vázající nukleotid
NCCR	non-conding control region	nekódující kontrolní oblast
OBD	Ori binding domain	doména vázající Ori
ORF	open reading frame	otevřený čtecí rámec
Ori	origin of replication	počátek replikace
P	phosphorylated	fosforylovaný
p53	protein 53	protein 53
Parp-1	poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase 1	poly (adenosindifosfát-ribóza) polymeráza 1

PAMPs	pathogen-asociated molecular patterns	molekulární vzory asociované s patogenem
PHFG	primary human fetal glial cells	primární lidské plodové gliové buňky
PI3	phosphatidylinositol-3	fosfatidylinositol-3
PML	progressive multifocal leukoencephalophathy	progresivní multifokální leukoencefalopatie
PML NB	promyelotic leukemia nuclear bodies	promyelocytární leukemická jaderná tělíska
PP2A	protein phosphatase 2A	protein fosfatáza 2A
PP4C	protein phosphatase 4 catalytic subunit	katalytická podjednotky protein fosfatázy 4
pRB	retinoblastoma protein	retinoblastomový protein
PR4P1	protein phosphatase 4 regulatory subunit 1	regulační podjednotka 1 protein fosfatázy 4
PRRs	pattern recognition receptors	receptory pro molekulární vzor
PVAN	polyomavirus-associated nephropathy	nefropatie asociovaná s polyomaviry
PyV	polyomavirus	polyomavirus
PyVs	polyomaviruses	polyomaviry
Rad51	product of RAD51 gene	produkt genu RAD51
RB rodina	retinoblastoma family	retinoblastomová rodina
RelB	RELB proto-oncogene product	produkt proto-onkogenu RELB
RIG-I	retinoic acid-inducible gene-I	gen 1 indukovaný kyselinou retinovou
RLRs	RIG-I-like receptors	receptory podobné RIG-I
RNA	ribonucleic acid	ribonukleová kyseliny
RPTE	renal proximal tubular epithelial cells	ledvinové proximální tubulární epitelové buňky
SASP	senescence-associated secretory phenotype	sekreční fenotyp spojený se stárnutím
Shc	adaptor protein encoded by SHC gene	adaptorový protein kódovaný genem SHC
siRNA	small interfering RNA	malé interferující RNA

Sp100	speckled 100	protein 100 s tečkovaným rozmístěním v jádře (protein jaderných tělísek)
Src	tyrosine kinase encoded by SRC gene	tyrosin kináza kódovaná SRC genem
st antigen	small tumor antigen	malý nádorový antigen
STAT	signal transducer and activator of transcription	přenašeč signálu a aktivátor transkripce
STING	stimulator of interferon genes	stimulátor genů pro interferon
SUMO	small ubiquitin-like modifier	modifikátor podobný malému ubikvitinu
SV40	Simian virus 40	Opičí virus 40
T	thymine	thymin
TANK	TRAF family member-associated NF-κB aktivátor	aktivátor NF-κB asociovaný se členy rodiny TRAF
TBK1	TANK-binding kinase 1	TANK vazebná kináza 1
TEC	tubular epithelial cells	tubulární epitelové buňky
TLR	toll-like receptor	receptor podobný genu Toll
TLRs	toll-like receptors	receptory podobné genu Toll
TNF	tumor necrosis factor	faktor nádorové nekrózy
TRAF	TNF receptor associated factor	faktor asociovaný s receptorem TNF
TRIF	toll-interleukine 1 receptor (TIR)-domain containing adapter-inducing IFN-β	toll-interleukin 1 receptor (TIR)-doména obsahující adaptér indukující IFN-β
TRIM	tripartite motif-containing protein	proteinová rodina s tripartitním motivem
TSPyV	Trichodysplasia spinulosa polyomavirus	Polyomavirus způsobující onemocnění trichodysplasia spinulosa
TYK	tyrosine kinase	tyrozinová kináza
Ub	ubiquitinated	ubikvitinovaný
VP	viral protein	virový strukturní protein
WUPyV	Washington University polyomavirus	Polyomavirus objevený ve Washington University

Abstrakt

Tématem této práce jsou poznatky o interakcích struktur polyomavirů se složkami vrozené imunity v infikovaných buňkách. Práce je soustředěna na modelové polyomaviry SV40 a MPyV a lidské BKPyV, JCPyV a MCPyV. Studium vzájemného působení mechanismů vrozené buněčné imunity a polyomavirových struktur je v začátcích. Infekce všemi uvedenými viry indukuje prostřednictvím virového časného LT antigenu odpovědi na poškození DNA (DDR; DNA damage response) nutné pro účinnou virovou replikaci. Poškození DNA může však aktivovat jak kanonicku, tak nekanonicku dráhu indukce interferonové produkce, která vede k antivirovému stavu. Polyomaviry se zdají být rozpoznány imunitním systémem až během replikace jejich genomů v buněčném jádře. Prozatím bylo prokázáno, že indukce interferonu polyomaviry může být zahájena DNA sensorem cGAS a dále aktivací STING (kanonická dráha), ale také po rozpoznání virové RNA proteinem RIG-I. Časné virové LT a st antigeny a pozdní agnoprotein některých polyomavirů prokázaly potenciál regulovat odpovědi vrozené buněčné imunity a ovlivnit tak navození persistence polyomavirů.

Klíčová slova: polyomaviry, vrozená buněčná imunita, velký T antigen, malý t antigen, agnoprotein, geny stimulované interferonem

Abstract

The topic of this thesis are the interactions of polyomavirus structures with components of innate immunity in infected cells. This review is focused on model SV40 and MPyV polyomaviruses and human BKPyV, JCPyV and MCPyV. The research of the interplay of innate immunity response and polyomaviruses is in its infancy. Infection with all studied polyomaviruses induces, via their LT antigens, DNA damage response (DDR), necessary for their efficient replication. DDR can activate both the canonical and the non-canonical pathway of interferon induction leading to an antiviral state. Polyomaviruses are recognized by the immune system first during replication of their genomes. Interferon induction by polyomaviruses can be initiated by the DNA sensor, cGAS, followed by STING activation, but also by recognition of the viral RNA by the RIG-1 sensor. The virus early LT and st antigens and the late agnoprotein of some polyomaviruses have demonstrated the potential to regulate innate immune responses and thus contribute to the establishment of polyomavirus persistence.

Keywords: polyomaviruses, innate cell immunity, large T antigen, small t antigen, agnoprotein, interferon-stimulated genes

1. Úvod

Pří infekci buněk polyomaviry soupeří systém vrozené buněčné imunity se strukturami polyomavirů o to, zda se polyomavirus replikuje a rozšíří do dalších buněk nebo zda se imunitní systém hostitelské buňky dokáže úspěšně vypořádat s virovou infekcí a zlikvidovat ji.

Hostitelské organismy virů si vytvořily systém mechanismů obrany proti virovým a dalším infekcím, případně proti jinému poškození. Tento systém se nazývá imunitní a je rozdělen na dvě části: vrozený a adaptivní. Vrozený imunitní systém (innate immunity) se během evoluce vyvinul jako první. Zajišťuje úvodní reakci na přítomnost patogenu. Součástí je humorální složka, do které spadají cytokiny a komplement a buněčná složka, kam patří makrofágy, monocyty, dendritické buňky, granulocyty, mastocyty a NK buňky (natural killer cells). Podobně jako vrozený imunitní systém má i adaptivní imunitní systém (adaptive immunity) dvě složky. Do jeho humorální složky patří protilátky a buněčnou část představují B a T lymfocyty. Část vrozeného imunitního systému, vyskytujícího se ve většině infikovaných buněk, se skládá z receptorů, které jsou schopné detekovat patogen nebo poškození. Tyto receptory spouští signální kaskády, které vedou k produkci ochranných molekul, v případě virových infekcí se jedná hlavně o interferony (Liu et al., 2017)*. Ochranné molekuly mají za úkol modulaci imunitního systému, indukci produkce dalších ochranných proteinů a aktivaci adaptivního systému.

V průběhu evoluce si naopak viry vytvořily mechanismy, kterými obchází nebo ovlivňují imunitní systém hostitele ve svůj prospěch. Zároveň jako odpověď hostitelské buňky mohou vytvářet nové obranné mechanismy proti infekci. Čím větší je virový genom, tím větší kapacitu má virus k vyvinutí genů zapojených do překonávání obranných mechanismů hostitelských buněk. Ukazuje se ale, že i malé viry s omezenou kapacitou genomu jako např. polyomaviry mohou kódovat multifunkční proteiny, které mají schopnost působit na složky, které jsou součástí vrozené imunity buněk (Griffiths et al., 2013; Manzetti et al., 2020; Reus et al., 2020) a modulovat imunitní systém tak, aby se nespustily signální kaskády vedoucí k syntéze interferonů a dalších cytokinů. Úspěšná infekce polyomavirem závisí také na typu infikovaných buněk (Abend et al., 2010; An et al., 2019; de Kort et al., 2017). Znalost mechanismů, kterými působí viry na vrozený imunitní systém, může přinést nové léčebné postupy v antivirových terapiích.

Cílem této bakalářské práce je shrnutí dosud známých informací o interakcích mezi strukturami polyomavirů a složkami vrozené buněčné imunity. Jedná se především o interakce časných nestrukturních proteinů a agnoproteinu lidských a modelových polyomavirů.

2. Polyomaviry

Polyomaviry (čeleď *Polyomaviridae)* patří do skupiny malých neobalených virů, která se řadí do 1. třídy Baltimorova členění. Jsou to široce rozšířené viry, které infikují savce, ptáky, ryby nebo plazy. První polyomavirus objevil v roce 1953 Ludwik Gross při zkoumání viru myší leukémie (Gross, 1953). K srpnu roku 2021 bylo podle aminokyselinové sekvence LT antigenu identifikováno 117 druhů polyomavirů, z nichž 112 bylo přiděleno do 6 rodů: *Alphapolyomaviry, Betapolyomaviry, Gamapolyomaviry, Deltapolyomaviry, Epsilonpolyomaviry a Zetapolyomaviry* (Moens et al., 2017)*. Mezi modelové polyomaviry (PyVs) se řadí Simian virus 40 (SV40), Myší polyomavirus (MPyV) a také nejvíce prostudované lidské polyomaviry – BK polyomavirus (BKPyV), JC polyomavirus (JCPyV) a Polyomavirus Merkelových buněk (MCPyV).

2.1. Lidské polyomaviry (HPyV)

Dosud bylo popsáno 14 lidských polyomavirů (Gheit et al., 2017). Mezi první objevené HPyV patří BKPyV, který byl izolován z moči pacienta po transplantaci ledvin a JCPyV, který byl izolován z pacienta s progresivní multifokální leukoencefalopatií (PML) (Gardner et al., 1971; Padgett et al., 1971). Mnohem později byly objeveny další lidské polyomaviry jako jsou Karolinski Institutet polyomavirus (KIPyV), Washington University polyomavirus (WUPyV), MCPyV, Trichodysplasia spinulosa polyomavirus (TSPyV), Human polyomavirus 6 (HPyV6), Human polyomavirus 7 (HPyV7) a další (Allander et al., 2007; Gaynor et al., 2007; Feng et al., 2008; van der Meijden et al., 2010; Schowalter et al., 2010). Polyomaviry obvykle infikují člověka již v dětství a nevyvolávají u zdravých jedinců žádné symptomy. Viry jsou pak schopné persistovat v infikovaných jedincích. Polyomaviry ale mohou vyvolat těžká až fatální onemocnění u lidí s imunodeficiencí nebo u imunosupresovaných jedinců. Séroprevalence většiny HPyV dosahuje v populaci nejméně 60% (Kamminga et al., 2018).

HPyV způsobují onemocnění ledvin, nervové soustavy, kůže a u jedinců se zhoršeným imunitním systémem mohou spustit autoimunitní onemocnění. JCPyV je u lidí se sníženou imunitou spojován s onemocněním nervové soustavy označovaném jako PML, které má za následek demyelizační proces v bílé hmotě mozku. BKPyV způsobuje hemoragický zánět ledvin, může se také nacházet v ledvinovém štěpu a může vyvolat komplikace po transplantaci ledvin (Purighalla et al., 1995). V důsledku navozené imunosuprese jedince může dojít k reaktivaci BKPyV, která vede k nefropatii a odmítnutí ledvinového štěpu (Hirsch et al., 2002). Přítomnost BKPyV může vyvolávat i komplikace při transplantaci kostní dřeně, při kterých může způsobit hemoragickou cystitidu (Arthur et al., 1986). Genomové sekvence některých polyomavirů integrované do

buněčné DNA byly prokázány v některých typech lidských nádorových buněk. Například genomová sekvence MCPyV byla prokázána v DNA karcinomu Merkelových buněk (MCC), což může být jednou z hlavních příčin vzniku tohoto nádoru (Feng et al., 2008).

TSPyV je spojený s kožním onemocněním označovaném jako trichodysplasia spinulosa (van der Meijden et al., 2010). HPyV6 a HPyV7 byly společně s MCPyV detekovány v kůži, kde jsou asociovány s vzácnou dermatózou (Schowalter et al., 2010; Nguyen et al., 2017). Dále byly HPyV6 i HPyV7 zjištěny v moči imunodeficientních jedinců, ale k prokázání propojení HPyV6 a 7 s onemocněním ledvin zatím nedošlo (Prezioso et al., 2021).

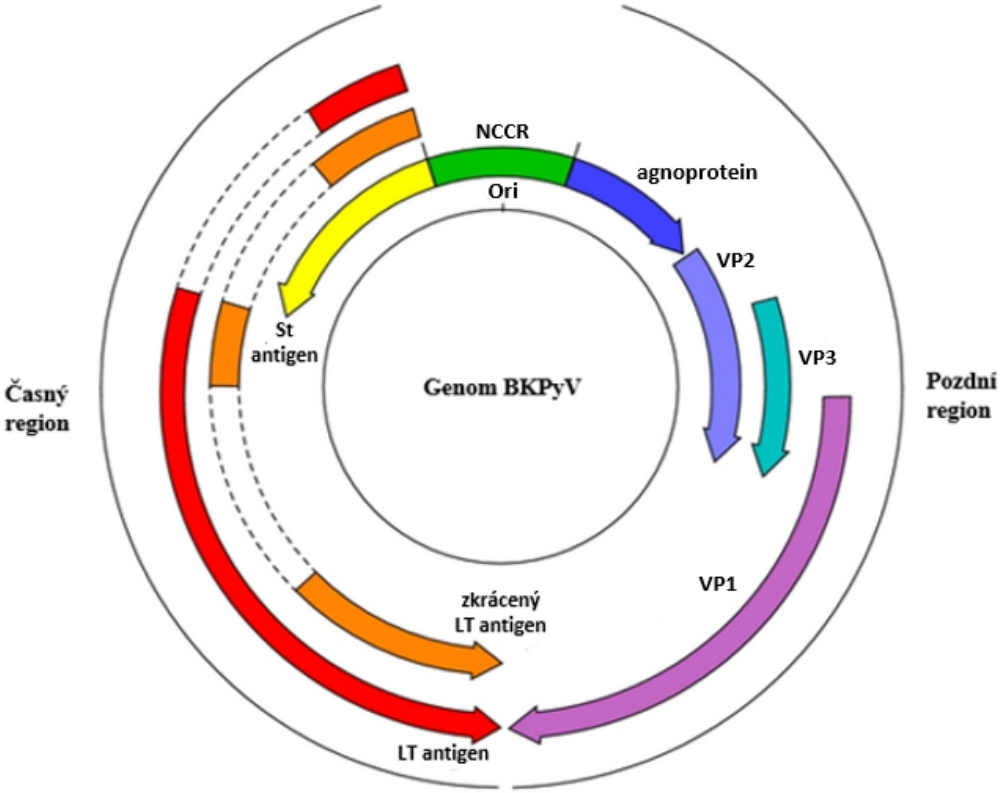
2.2. Struktura virionu a organizace genomu

Virion polyomavirů je tvořen proteinovou kapsidou skládající se ze 72 pentametrů hlavního kapsidového proteinu (VP) VP1 a minoritních VP2 a VP3. Uvnitř isometrické kapsidy se nachází genom polyomavirů v komplexu s buněčnými histony. Genom polyomavirů je malý, tvořený kruhovou dsDNA (double-stranded DNA) o délce asi 5,2 kbp. V infikovaných buňkách se genom nachází v podobě minichromozomu, kde je virová DNA obmotána okolo buněčných histonů (Germond et al., 1975). Genom lze rozdělit na 3 části: časnou, pozdní a nekódující část (Obr. 1). V časné oblasti jsou kódovány časné proteiny s regulačními funkcemi. Pozdní část obsahuje geny pro tvorbu strukturních proteinů a u některých polyomavirů také geny s přidanou funkcí.

První část, která se označuje jako časná (early) oblast, je transkribována do jednoho časného primárního transkriptu, z něhož vznikají alternativním sestřihem mRNA pro malý t antigen (st), velký T antigen (LT) (Obr. 1) a u některých polyomavirů pro střední T antigen (MT). Časné antigeny jsou označovány jako nádorové (tumorové). MT antigen byl nalezen zatím jen u hlodavčích polyomavirů a nedávno také u TSPyV (van der Meijden et al., 2015). U jiných polyomavirů mohou vznikat alternativním sestřihem další časné produkty. Carter a jeho skupina objevili u MCPyV protein označovaný jako Alternative to Large T Open reading frame (ALTO), který je evolučně příbuzný s MT antigenem hlodavčích polyomavirů (Carter et al., 2013). U MCPyV se vyskytuje další alternativně střižená mRNA, jež dává vznik genovému produktu označovanému jako 57kT antigen (Shuda et al., 2009). SV40 produkuje alternativně sestřiženou časnou mRNA, která kóduje protein označovaný jako 17kT (Zerrahn et al., 1993).

V pozdní oblasti se nacházejí geny pro virové strukturní proteiny VP1, VP2 a VP3 (Obr. 1). Dále se v této části u některých PyVs (například u BKPyV, JCPyV nebo SV40) vyskytuje gen pro regulační agnoprotein, který se uplatňuje v řadě procesů virového replikačního cyklu, např. v transkripci a replikaci DNA nebo v morfogenezi virionů (Rinaldo et al., 1998).

Nekódující kontrolní oblast (non-coding control region; NCCR) rozděluje genomy polyomavirů na dvě části. Vyskytuje se v ní počátek replikace (Ori) (Obr. 1). Ori je zároveň součástí vysoce konzervovaného části NCCR (Frisque et al., 1984). V NCCR se také nachází transkripční promotory a další regulační sekvence. Replikace probíhá úplně stejně jako replikace hostitelských buněk, pouze s výjimkou toho, že časný LT antigen, který se váže do Ori polyomavirů, přitáhne hostitelský replikační komplex k virové DNA. Časná a pozdní oblast se přepisují protisměrně, z opačných vláken DNA. Některé PyVs kódují mikro RNA (miRNA), které se akumulují v pozdních fázích infekce a regulují produkci časných genů (Sullivan et al., 2005).



Obrázek 1: Schematicky prezentovaný genom lidského polyomaviru BKPyV. V časné oblasti červená šipka označuje LT antigen, oranžová označuje zkrácený LT antigen a žlutá označuje st antigen. Zeleně je označená nekódující kontrolní oblast (NCCR) s Ori. V pozdní oblasti je sytě modrou šipkou vyznačen agnoprotein, dále jsou zde šipkami vyznačeny strukturní proteiny VP1, VP2 a VP3 (převzato od (De Gascun and Carr, 2013)* a upraveno).

2.3. Časné genové produkty polyomavirů

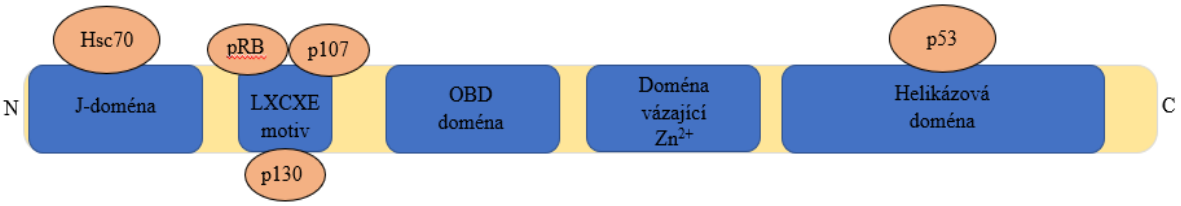
Časné genové produkty jsou syntetizovány hned po vstupu genetické informace viru do jádra. T antigeny deregulují buněčný cyklus a ženou buňku do S-fáze, ve které jsou aktivní dráhy nutné k pomnožení viru. Jsou nezbytné pro virovou replikaci a regulaci transkripce. Zároveň jsou schopné ovlivnit imunitní reakce buňky.

2.3.1. Velké T antigeny (LT)

LT antigen hraje důležitou roli v replikaci virové DNA, je to jediný polyomavirový protein důležitý k započetí replikace polyomavirového genomu. Působí jako DNA a RNA helikáza, má místně-specifickou DNA vazebnou aktivitu, při které je nutná přítomnost ATP. Helikázová doména LT antigenu často slouží jako cíl antivirotik, které inhibují replikaci PyVs (Seguin et al., 2012). Reguluje expresi časných i pozdních genů. Má chaperonovou aktivitu (Campbell et al., 1997). Je zodpovědný za deregulaci buněčného cyklu. Váže tumorsupresorové proteiny rodiny pRb a u některých polyomavirů i p53, čímž obchází kontrolní body v buněčném cyklu, indukuje dělení buňky a vyhnutí se apoptóze hostitelské buňky (Lane and Crawford, 1979; DeCaprio et al., 1988). Inaktivace p53 a pRb pomocí LT antigenu může vést ke vzniku nádorů v přítomnosti některých PyVs v buňkách.

Je rozdělen na několik domén (Obr. 2). Obsahuje N-terminální J-doménu, na kterou se specificky váže buněčný chaperon Hsc70 (heat shock congate 70) za současného rozpadu ATP (Sullivan et al., 2001). Tato doména je důležitá pro replikaci virové DNA. Dále tato část LT antigenu inaktivuje proteiny tumorsupresorvé retinoblastomové rodiny (RB rodiny) (Campbell et al., 1997). Za J-doménou směrem k C-konci LT antigenu se vyskytuje LXCXE motiv, jehož název je dovozený z aminokyselin, které jsou jeho součástí (L-leucin, X-jakákoliv aminokyselina, C-cystein, X-jakákoliv aminokyselina, E – kyselina glutamová) (Obr 2.). Na LXCXE motiv se váží proteiny retinoblastomové (RB) rodiny (pRB, p107, p130), které může LT antigen inaktivovat (Stubdal et al., 1997). S RB rodinou interagují také proteiny, které vznikají z alternativně střižených mRNA velkého T antigenu u JCPyV (Bollag et al., 2000). Velký T antigen MCPyV preferenčně váže pRb, který inaktivuje a je tak nezbytný pro podporu růstu karcinomu Merkelových buněk. Ale pravděpodobně funkčně neinhibuje p107 a p130. Interakce LT antigenu MCPyV s p107 a p130 může být omezená pouze na určité buněčné typy, které nejsou transformovatelné MCPyV (Hesbacher et al., 2016). LXCXE motiv jsou společně s J-doménou důležité pro inhibici apoptózy buňky, což může mít za následek transformaci buněk (Slinskey et al., 1999). Dále má LT antigen doménu vázající Ori (OBD) a doménu, která váže dvojmocné zinečnaté kationty (Obr. 2) (An et al., 2012). Na C-konci je doména označovaná jako helikázová, která váže p53. Vazba p53 je nutná pro imortalizaci buněk. Z Chengovy studie vyplývá, že LT antigen MCPyV není schopen na rozdíl od jiných modelových polyomavirů např. SV40, JCPyV nebo BKPyV navázat p53 a tím inhibovat jeho funkce (Cheng et al., 2013). Také o MPyV bylo publikováno, že ani LT antigen ani žádný jiný z jeho časných antigenů neinteraguje s p53 (Mor et

al., 1997; Qian and Wiman, 2000), i když bylo také demonstrováno, že LT antigen MPyV interaguje s fosforylovanou formou p53 (Dey et al., 2002).



Obrázek 2: Schematicky znázorněná struktura LT antigenu spolu s jeho doménami a proteiny, které se na dané domény váží. Na N-konci se nachází J-doména vázající Hsc70, dále pak směrem k C-konci LT antigenu je LXCXE motiv vázající pRB, p107 a p130. Následuje doména vázající Ori (OBD), doména vázající zinečnaté kationy a helikázová doména s navázaným p53 (zdroj: vlastní tvorba).

2.3.2. Střední antigeny (MT)

Střední T antigen je důležitý pro replikaci těch polyomavirů, které ho mají schopnost kódovat. MT antigen je nutný pro proliferaci viru i k indukci nádorů v myších modelech (Freund et al., 1992). Nejvíce studovaný je MT antigen MPyV, ale vyskytuje se i u dalších hlodavčích polyomavirů a TSPyV (Courtneidge et al., 1991; van der Meijden et al., 2015). Je nezbytný pro přechod z časné fáze transkripce do pozdní fáze transkripce (Chen et al., 2006). MT antigen je v infikovaných buňkách asociován s membránami (Ballmer-Hofer and Benjamin, 1985). MT antigen váže PP2A a tato interakce je nutná pro tvorbu dalších komplexů mezi MT antigenem a proteiny hostitelské buňky. MT antigen nemá samostatně enzymatickou funkci, ale je schopný tvorby protein-proteinových interakcí, které zprostředkovávají interakce s proteiny hostitelských buněk. Váže Src kinázu, kterou v závislosti na předchozím navázání PP2A aktivuje a je následně sám Src kinázou fosforylován (Dunant et al., 1996; Ogris et al., 1999). Fosforylovaný MT antigen je následně schopný interagovat s dalšími proteiny a aktivovat další dráhy prostřednictvím interakcí s 14-3-3 proteinem, PI3 (fosfatidylinositol-3) kinázou a Shc proteinem (Campbell et al., 1994; Courtneidge et al., 1991; Culleré et al., 1998).

MT antigen sdílí s LT i st antigenem J-doménu na N-konci, kterou je schopný interagovat s Hsc70 (Srinivasan et al., 1997). MT antigen by mohl být evolučně příbuzný s ALTO proteinem, se kterým částečně sdílí nukleotidovou sekvenci (Carter et al., 2013).

2.3.3. Malé antigeny (st)

Malý t antigen polyomavirů má důležitou funkci v replikaci polyomavirů (Cicala et al., 1994). Je nezbytný pro navození G1 a S-fáze buněčného cyklu a při proliferaci buněk, protože zvyšuje úroveň fosforylace cyklin-dependeptní kinázy 2 (CDK2) (Sotillo et al., 2008). Také se spolupodílí na transformaci buněk při abortivní infekci. U MCPyV spouští st antigen destabilizaci

mikrotubulů tím, že ovlivňuje síť regulačních proteinů mikrotubulů. (Knight et al., 2014). Malý t antigen SV40 indukuje deregulaci F-aktinu a deregulaci intracelulární adheze prostřednictvím interakcí s PP2A (Nunbhakdi-Craig et al., 2003). Kvůli těmto defektům v cytoskeletu ztrácí infikované buňky schopnost polarizace a získávají schopnost migrovat.

Podobně jako LT antigen obsahuje st antigen N-terminální J-doménu vázající Hsc70 (Obr. 3). Dále má st antigen vazebné místo pro protein fosfatázy 4C (PP4C) a pro PP2A (Obr. 3) (Griffiths et al., 2013). PP2A je důležitou složkou několika transdukčních drah, zároveň má důležitou roli v buněčné proliferaci. Malý antigen také interaguje s proteiny Rb rodiny (Bollag et al., 2010).

Obrázek 3: Schematicky znázorněná struktura st antigenu s jeho J-doménou a vazebnými partnery Hsc 70, PP4C a PP2A (zdroj: vlastní tvorba).

2.4. Replikační cyklus

Polyomavirové částice vstupují do buňky receptorem zprostředkovanou endocytózou (Obr. 4). Většina lidský polyomavirů se dostává do buňky přes gangliosidy, které jsou rozeznány kapsidovým proteinem VP1. Při vstupu rozeznává VP1 koncovou sialovou kyselinu gangliosidu, a to buď její (α2,3-) napojení nebo (α2,6-) napojení na galaktózu na povrchu cytoplazmatické membrány, případně další typy gangliosidů (Low et al., 2006; Dugan et al., 2008). Navázání virové částice na receptor vede k internalizaci virionů endocytickým váčkem a cestě virionů uzavřených v endozomech k buněčnému jádru (Dangoria et al., 1996).

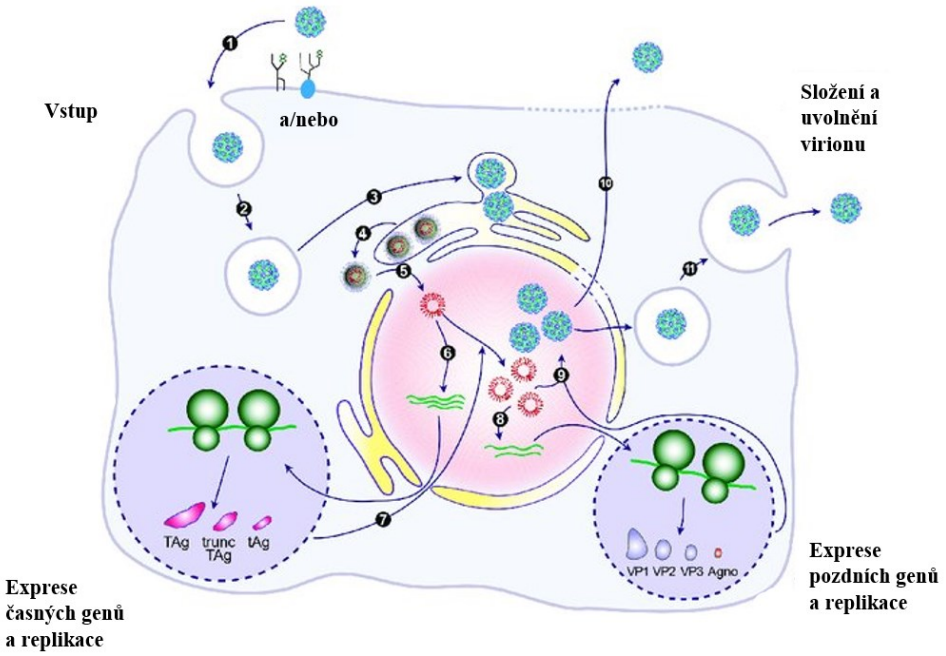
Klatrinovou endocytózu využívá JCPyV (Pho et al., 2000). Většina z ostatních studovaných polyomavirů zřejmě používá ke vstupu hladké váčky, často obsahující kaveolin, odvozené z membránových raftů. (Anderson et al., 1996; Becker et al., 2019; Moriyama et al., 2007; Richterová et al., 2001). Virová částice se endozomy dostane až do endoplazmatického retikula (ER) a následně pokračuje do jádra.

V endoplazmatickém retikulu dojde ke konformačním změnám virionu, částečnému rozvolnění a odhalení minoritních kapsidových proteinů VP2 a VP3, které umožní translokaci virové částice do cytosolu, následovanou jejím vstupem do jádra (Daniels et al., 2006; Schelhaas et al., 2007). Translokace polyomavirů do jádra nebyla ještě zcela objasněna, ale bylo ukázáno, že jaderné lokalizační signály (NLS) strukturních proteinů polyomavirů rozpoznávané importiny hrají

důležitou roli v transportu viru do jádra přes jaderné póry (Nakanishi et al., 2002; Bennett et al., 2015; Soldatova et al., 2018) .

Po vstupu do jádra nastává transkripce časné oblasti (Obr. 4). Zprostředkovávají ji hostitelské transkripční faktory a RNA polymeráza II. Pomocí alternativního sestřihu vznikají mRNA pro jednotlivé časné proteiny, které mají podobně jako hostitelská mRNA na 3´ konci polyA a na 5´ konci čepičku. Hlavní dva časné proteiny jsou st antigen a LT antigen. Po vzniku časných produktů může dojít za pomoci LT antigenu a hostitelského replikačního aparátu k replikaci virového genomu (Obr. 4) (Moens et al., 2017b)*. Replikace je semikonzervativní a obousměrná. Po zahájení replikace dojde k velmi výraznému zvýšení transkripce pozdní oblasti a k syntéze kapsidových proteinů VP1, VP2 a VP3. Scholwalterova a Buckova studie ukázala, že u viru MCPyV není nasyntetizován VP3 (Schowalter and Buck, 2013).

Virová částice se skládá v jádře okolo nově replikovaných minichromozomů. Kapsidu stabilizují vápenaté kationty (Nilsson et al., 2005). Během morfogeneze virionů lze odlišit několik intermediátů. V pozdní fázi replikačního cyklu nově vznikající viriony jádro zcela vyplní. Virion je uvolněn pomocí lýze buňky a případně exocytózy do okolí postižené buňky. Skládání a produkce virionů některých polyomavirů se účastní i agnoprotein (Resnick and Shenk, 1986; Suzuki et al., 2012).



Obrázek 4: Replikační cyklus lidského BKPyV. 1 - Vstup do buňky zprostředkovaný vazbou na receptory. 2 – Endocytóza vironu. 3 – Vstup vironu do ER. 4 – Změna konformace virionu. 5 – Vstup do jádra. 6 – Transkripce a translace časné oblasti. 7 – Replikace genomu. 8 – Transkripce a translace pozdní oblasti. 9 – Skládání virionů. 10 – Lýze buňky a uvolnění virionů. 11 – Uvolnění virových částic exocytózou (převzato od (Helle et al., 2017)* a upraveno).

3. Vrozená imunita

Vrozená imunita zajišťuje první linii obrany proti patogenům. Je typická pro rostliny, bezobratlé i obratlovce. Odpověď na podnět je rychlá a je spouštěna bez selektivní události. Má širokou specifitu. Skládá se z fyzické a chemické bariéry. Je důležitá pro zachování homeostáze, k eliminaci velkého množství patogenů a k aktivaci adaptivního imunitního systému (Medzhitov et al., 1997). Zdá se, že vrozená imunita je schopná reagovat na opakovanou infekci stejným patogenem lépe a částečně se tak přizpůsobit (Pham et al., 2007).

Pomocí receptorů pro molekulární vzory (PRRs) rozeznává různé struktury typické pro mikroorganismy označované jako molekulární vzory asociované s patogeny (PAMs), jsou to polysacharidy, glykolipidy, lipoproteiny, nukleotidy, nukleové kyseliny a další. Dále PPRs rozpoznávají molekulární vzory asociované s poškozením (DAMPs), což jsou molekuly produkované buňkami v reakci na jejich poškození.

3.1. Buněčná vrozená imunita

Vrozená buněčné imunita je důležitá k detekci intracelulárních parazitů jako jsou viry a k následné aktivaci imunitního systému (Medzhitov et al., 1997). Antivirová obrana hostitelské buňky je zprostředkovaná rychlou produkcí interferonu typu I (IFN I) a prozánětlivých cytokinů, což následně vede k aktivaci adaptivního imunitního systému (Juang et al., 1998).

3.1.1. Receptory

Receptory vrozeného imunitního systému jsou evolučně konzervované a nemají velkou specifitu. Jsou kódované už v buňkách zárodečné linie. Vyskytují se jak v buňkách, které jsou součástí imunitního systému, tak i v neimunitních buňkách. Mohou být rozděleny na toll-like receptory (TLRs), NOD-like receptory (NLRs), RIG-like receptory (RLRs), lektinové receptory typu C (CLRs), AIM2-like receptory (ALRs) a další DNA senzory (Obr. 5). Nachází se na povrchu i uvnitř buněk. Tyto receptory umožňují detekovat virovou nukleovou kyselinu v různých fázích životního cyklu viru. Receptorové rodiny rozeznávající viry jsou především TLRs, RLRs, ALRs a receptory pro cytosolickou DNA (cGAS, IFI16). Rozeznání nukleových kyselin jednotlivými sensory spouští specifické dráhy, které vedou k produkci IFNs a jiných cytokinů (Takeuchi and Akira, 2010)*.

Skupina TLRs receptorů je zřejmě nejlépe charakterizovaná rodina PRRs. Dosud bylo identifikováno 10 lidských TLRs (Chuang and Ulevitch, 2001). TLR1, 2, 4, 5, 6, a 10 se vyskytují na buněčném povrchu a rozeznávají hlavně bakteriální nebo houbové PAMPs a některé

virové proteiny. TLR3, 7, 8 a 9 jsou uvnitř buňky, především v ER, kde detekují bakteriální a virovou DNA, případně RNA (Leifer et al., 2004; Nishiya et al., 2005; Itoh et al., 2011). Pouze **TLR9** je schopný rozeznat patogenní DNA, která se vyskytuje v endozomech (Leifer et al., 2004). Aktivace těchto TLRs vede k produkci IFNs typu I a prozánětlivých cytokinů. Rozpoznání ligandu vede k dimerizaci TLRs, což spouští signální kaskádu zprostředkovanou MyD88 (myeloid differentiation primary response 88) proteinem. To má za následek aktivaci NF-κB (nuclear factor kappa B) dráhy (Obr. 5) a následnou indukci interferonů (Medzhitov et al., 1998).

RLRs rozeznávají především cytosolickou RNA, která se liší od normálně vyskytující se hostitelské RNA. Detekují především RNA genomy virů a dsRNA. RLRs jsou exprimovány v mnoha buněčných typech. Mezi nejznámější RLRs patří receptory **RIG-I** (retinoic acid-inducible gene I) a **MDA5** (melanoma differentiation-associated protein 5). Rozeznání vede k oligomerizaci CARD (caspase recruitment domain) domén RLRs a následné interakci s MAVS proteinem (mitochondrial antiviral-signalling protein) (Obr. 5). Ke zprostředkování antivirové odpovědi spuštěné RIG-I receptorem je důležitá ubikvitin ligáza TRIM25 (Gack et al., 2007), která indukuje ubikvitinaci CARD domény, což vede k efektivní vazbě MAVS a následné aktivaci TBK1 (TANK-binding kinase I) a IKKε (IκB kinase ε), které aktivují IRF3 (interferon regulatory factor 3) a IRF7 (Rehwinkel and Gack, 2020)*. Data, které získal Yoneyama a jeho skupina také naznačují, že dochází i k aktivaci NF-κB signalizace. Aktivované IRF3/7 i NF-κB vedou k tvorbě IFNs I a aktivaci dalších antivirových genů (Yoneyama et al., 2004).

Rodina receptorů ALRs, do které spadá Absent in melonoma 2-like receptor (**AIM2),** Interferon-γ inducible protein 16 (**IFI16)** i myší protein **p204**, rozeznává DNA (Bürckstümmer et al., 2009; Unterholzner et al., 2010). Rozeznání DNA v cytosolu pomocí AIM2 vede k tvorbě inflamazómu a aktivaci kaspázy 1, což vede k produkci interlekinu 1β (IL-1β) (Obr. 5) (Hornung et al., 2009). Protein IFI16 se řadí k DNA receptorům vyskytujících se v cytoplazmě i v jádře. Pokud se virová sekvence vyskytne v určitých typech buněk například v monocytech, je rozpoznávána právě pomocí tohoto receptoru a prostřednictvím TBK1 a IRF3 indukuje IFI16 tvorbu IFN-β. K této indukci je potřebný i protein označovaný jako STING (stimulator of interferon genes). V myších buňkách má podobnou doménovou strukturu jako IFI16 jeho ortholog označovaný jako p204. Byla prokázána i schopnost interakce IFI16 s NF-κB i IRF3 v dráhách spojených s DNA detekcí (Unterholzner et al., 2010). V keranocytech spolupracuje IFI16 se senzorem cytosolické DNA označovaným jako cyklická GMP-AMP syntáza (cGAS) na aktivaci vrozeného imunitního systému. V přítomnosti cizí DNA spolu cGAS a IFI16 interagují a tvoří vazebnou platformu

právě pro tuto cizí DNA. Dohromady jsou nutné k aktivaci STING proteinu, jeho fosforylaci a následné indukci IFNs. Zároveň jsou IFI16 a cGAS nezbytné pro úplnou aktivaci imunitního systému. IFI16 samo o sobě není nutné k produkci cGAMP (cyklický guanosin monofosfát-adenosin monofosfát), ale je důležité pro aktivaci STING proteinu jako odpověď na exogenní cGAMP. Data ze studie Almine a spol. naznačují, že k aktivaci STING jsou potřebné dva nezávislé stimuly, a to od cGAMP a od IFI16 (Almine et al., 2017). IFI16 a cGAS patří v současnosti mezi nejlépe prostudované DNA senzory.

Senzor **cGAS** detekuje patogenní DNA v cytosolu (Obr. 5). Může se vyskytovat i v buněčném jádře, kam se translokuje při poškození tamní DNA. Senzor cGAS je inhibován tak, aby nerozeznával hostitelskou DNA tím, že hostitelská DNA se vyskytuje v podobě chromozomu v komplexu s histony (Kujirai et al., 2020). Navázání DNA na cGAS v cytosolu katalyzuje vznik cGAMP z ATP a GTP. Cyklické GAMP následně interaguje s proteinem STING. Dojde ke konformačním změnám na proteinu STING, které mají za následek aktivaci TBK1, IRF3 a NF-κB (Tanaka and Chen, 2012). Dráha spojená s cGAS tak aktivuje indukci interferonu typu I a indukci prozánětlivých cytokinů (Sun et al., 2013).

DAI (DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors) je další cytosolický DNA senzor, který aktivuje vrozenou imunitní odpověď. Pokud DAI naváže dsDNA, tak podobně jako další DNA receptory asociuje s TBK1, aktivuje tak IRF3 a pravděpodobně i IRF7 a reguluje tím indukci IFN I (Takaoka et al., 2007).

3.1.2. Obranné molekuly

Cytokiny jsou látky proteinové povahy, které zajišťují mezibuněčnou komunikaci a hrají důležitou roli v obraně proti patogenům u obratlovců. Do skupiny cytokinů spadají molekuly jako jsou chemokiny, interferony a interleukiny. Interferony slouží jako hlavní látková obrana vrozeného imunitního systému proti virům a jsou také důležité k aktivaci adaptivního imunitního systému. Interferony jsou rozděleny do 3 rodin: typ I, typ II a typ III. Na obranu proti virům jsou důležité zejména IFNs I (IFN-α, IFN-β a další) a IFN III (IFN-λ) (Lazear et al., 2019)*. IFNs I jsou produkovány autokrinně i parakrinně, můžou se tak vázat na interferonové receptory těch samých buněk, co je produkovaly. Produkované IFNs se váží na receptory okolních buněk a stimulují signální dráhy vedoucí k expresi interferonem stimulovaných genů (ISGs). IFNs aktivují především signální dráhu JAK-STAT (Janus kinase – Signal transducer and activators of transcription pathway) (Obr. 7), ale IFN III může aktivovat i MAP (mitogen-activated protein kinase) signalizaci (Zhou et al., 2007).

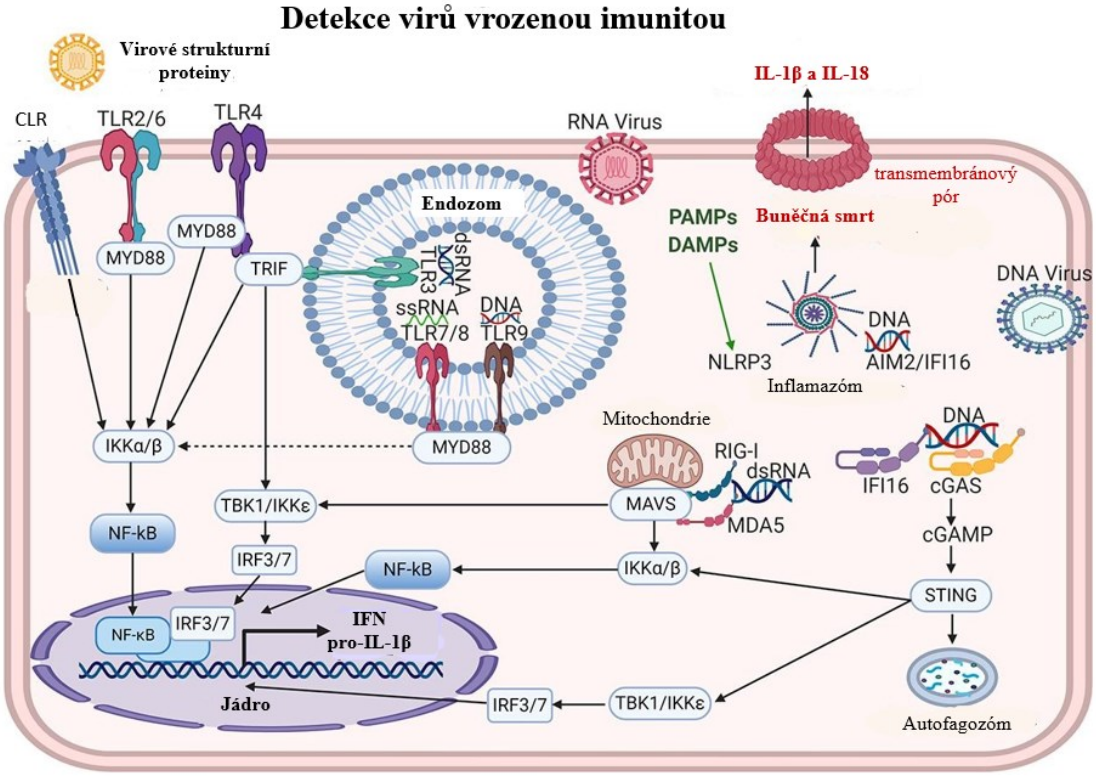
3.1.3. Imunitní dráhy vedoucí k tvorbě interferonů a dalších cytokinů důležitých pro obranu proti PyVs

Detekcí složek polyomavirů receptory (neboli sensory) jsou aktivovány další komponenty signální drah imunitního systému, což vede k produkci prozánětlivých molekul. Většinou jsou aktivovány hlavně dvě signální dráhy, konkrétně dráha vedoucí přes NF-κB a dráha, která vede k aktivaci TBK1 a IRF3/7.

Transkripční faktor NF-κB je schopný regulovat mechanismy jak vrozené, tak adaptivní imunity. Skládá se z pěti komponent: NF-κB1 (p50), NF-κB2 (p52), RelA (p65), RelB a c-Rel (Oeckinghaus and Ghosh, 2009)*. Aktivace NF-κB je charakteristická pro většinu virových infekcí a zároveň je NF-κB komplex vyžadován jako transkripční faktor k expresi virových genů. Dráhy vedoucí k aktivaci NF-κB mohou blokovat apoptózu, prodloužit život hostitelské buňky, zároveň spouští expresi mnoha prozánětlivých genů, mezi kterým jsou i ty, které kódují cytokiny. Rozeznání zánětlivých stimulů nebo rozeznání PAMPs pomocí PRRs zahajuje signalizační kaskádu, která vede k aktivaci kinázové komplexu IκB (IKK; inhibitor of nuclear factor-κB kinase). Kanonická dráha vede k degradaci IκB a translokaci NF-κB komplexů do jádra (Obr. 5). IKK komplex zahrnuje katalytické podjednotky IKKα, IKKβ a nekatalytickou regulační podjednotku NEMO (NF-κB essential modulator) označovanou také jako IKKγ. Aktivovaný IKK komplex fosforyluje IκB (inhibitor of nuclear factor-κB), což vede k jeho ubikvitinaci, následné degradaci a uvolnění dimeru NF-κB, který následně translokuje do jádra. V jádře indukuje NF-κB transkripci IFNs I a dalších cytokinů (Liu et al., 2017)*. Viry často tuto dráhu modulují a v některých případech ji inhibují, a to buď přes sekreci inhibitoru ligandů NF-κB dráhy, dále skrze inhibitory signalizace zprostředkované TLRs, inhibitory IKK komplexu nebo tak, že zabrání vstupu NF-κB do jádra (Griffiths et al., 2013; Shahzad et al., 2013). Nekanonická NF-κB dráha místo degradace IκB aktivuje NF-κB komplex RelB/p52 pomocí úpravy prekurzoru NF-κB2 (p100) a tvorby NF-κB2 (p52) z jeho prekurzoru p100. Tato dráha závisí na NIK (NF-κB-inducing kinase), která reguluje úpravou p100 (Xiao et al., 2001).

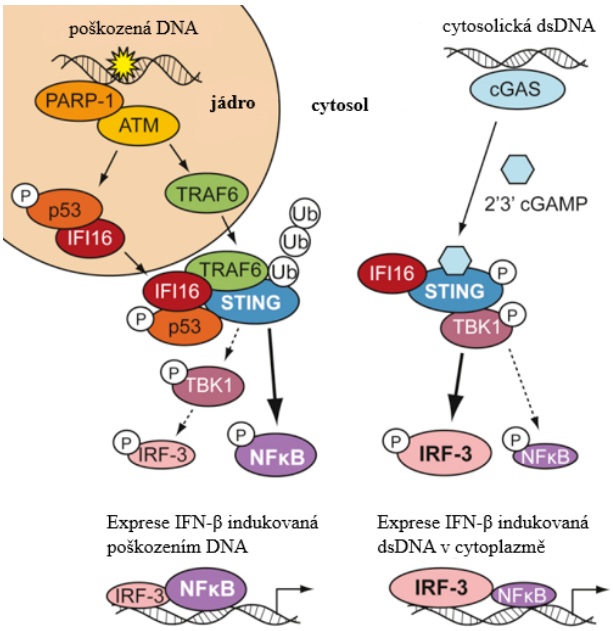
Imunitní dráhy zprostředkované proteinem STING vedou k aktivaci komplexu IKK (Obr. 5) (popsáno výše) a k aktivaci IRF3/7 (Obr. 5). Během virové infekce adaptorové proteiny MAVS, STING nebo TRIF (toll-interleukin 1 receptor (TIR)-doména obsahující adaptér indukující IFN-β) přenášejí signál z RIG-I, cGAS nebo TLR4 (Obr. 5). Všechny tyto proteiny obsahují stejný motiv, který je fosforylován pomocí IKK a/nebo TBK1. Fosforylované adaptorové proteiny se následně váží na IRF3 a rekrutují IRF3 pro fosforylaci a aktivaci pomocí TBK1. Fosforylované IRF3 se následně disociuje od adaptorových proteinů, dimerizuje a se přesouvá se do jádra, kde spouští

produkci IFNs a jiných cytokinů. Fosforylace adaptorových proteinů je nezbytný a konzervovaný mechanismus vrozeného imunitního systému (Liu et al., 2015).



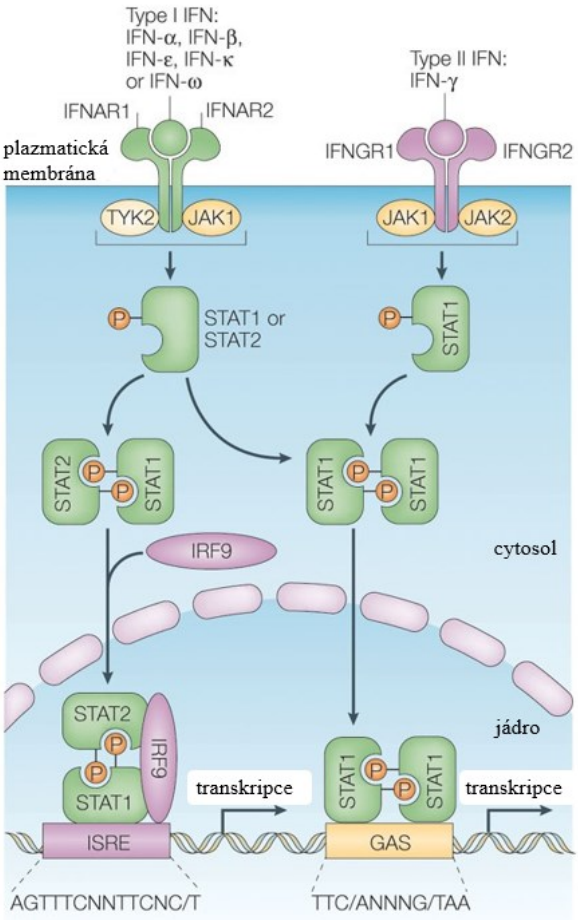
Obrázek 5: Schematicky zobrazená detekce virů vrozeným imunitním systém. Membránové CLRs a TLRs detekují virové strukturní proteiny. Tato detekce spouští NF-κB dráhu nebo dráhu zprostředkovanou přes IRF3/7. Obě dráhy vedou k produkci interferonů. Endozomální TLRs detekují virové nukleové kyseliny a detekce vede taktéž ke spuštění dráhy přes NF-κB nebo IRF3/7. V cytoplazmě detekuje PAMPs a DAMPs NLRs, což vede k tvorbě inflamazómu a buněčné smrti. RLRs receptory detekují dsRNA v cytoplazmě a vedou k produkci IFNs a cytokinů přes NF-κB nebo IRF3/7. Sensor cGAS detekuje DNA v cytoplazmě a přes adaptorový protein STING vede detekce opět k produkci IFNs a prekurzoru pro IL-1β, jenž v buňce projde maturací a je přenášen společně s IL-18 ven z buňky (převzato od (Carty et al., 2021)* a upraveno).

Nekanonická aktivace STING, která je nezávislá na cysolickém receptoru cGAS, je zprostředkovaná vazbou proteinu IFI16 spolu s faktory poškození DNA jako je kináza ATM (ataxia-telangiectasia mutated) (Obr. 6). To vede k tvorbě alternativního komplexu, jehož součástí je fosforylovaný p53, IFI16 a E3 ubikvitin ligáza TRAF6 (tumor necrosis factor receptor associated factor 6). Tento komplex je zodpovědný za ubikvitinaci proteinu STING a má za následek aktivaci NF-κB v závislosti na poškození DNA a indukci alternativní STING-dependetní expresi genů. STING tak funguje jako adaptorový protein, který aktivuje imunitní odpověď i při poškození jaderné DNA (Dunphy et al., 2018). V porovnání s kanonickou dráhou zprostředkovanou STING proteinem, kde je tento protein fosforylovaný (P), je STING v nekanonické dráze ubikvitinovaný (Ub).



Obrázek 6: Schematické zobrazení kanonické STING dráhy (vpravo) a nekanonické STING dráhy (vlevo). Nekanonická dráha je aktivována poškozením DNA, což aktivuje ATM a PARP-1 (poly (ADP-ribose) polymerase 1). ATM kináza fosforyluje (P) p53 a indukuje vznik komplexu, který se skládá z IFI16, p53, TRAF6 a ubikvitinovaného STING (Ub). Dojde k aktivaci TBK1, IRF3 a hlavně NF-κB a expresi IFN-β. Kanonická aktivace proteinu STING, která je spuštěna detekcí dsDNA v cytosolu a tvorby 2´3´cGAMP vede k tvorbě komplexu složeného z IFI16, fosforylovaného (P) proteinu STING s navázaným 2´3´cGAMP a fosforylované TBK1. TBK1 aktivuje zejména IRF3, méně pak NF-κB, což vede opět k expresi IFN-β (převzato od (Dunphy et al., 2018) a upraveno) .

Po tom, co dojde k indukci IFNs a prozánětlivých cytokinů se aktivují dráhy na nich závislé jako je JAK-STAT dráha, která se skládá z receptoru, kinázy a transkripčního faktoru (Obr. 7). S receptorem jsou asociované kinázy JAKs (Januse kinases). Po navázání IFNs na receptory, na kterých jsou přítomné TYK2 (tyrosin kináza 2) a JAK1, dojde k autoaktivaci JAKs (Feng et al., 1997). Aktivované JAKs následně fosforylují intracelulární části receptorů, které regulují fosforylaci a aktivaci STATs (Signal Transducer and Activators of Transcription). STAT, které jsou fosforylované pomocí JAKs, následně translokují do jádra, kde svojí vazbou na GAS (γ-IFN activation site) elementy aktivují transkripci ISGs (geny stimulované interferonem). Důležitý transkripční komplex se označuje jako ISGF3 (IFN-stimulated gene factor 3) (Schindler et al., 1992). Skládá se z aktivovaných forem STAT1 a STAT2 spolu s nefosforylovaným IRF9 (Platanitis et al., 2019). Tento komplex aktivuje specifické elementy známé jako ISREs (IFN-stimulated response element) (Obr. 7). ISREs jsou v promotorech určitých ISGs a iniciují jejich transkripci (Kessler et al., 1990). ISGs modulují integritu nukleové kyseliny, vstup viru do buňky, translaci proteinů a výstup viru. Většina jejich funkcí stále zůstává neznámá (Schneider et al., 2014)*.



Obrázek 7.: Schematicky prezentovaný mechanismus signalizace zprostředkované IFNs I a IFN II. Všechny typy IFNs I se váží na receptor IFNs I, který se skládá z podjednotek IFNAR1 (type I interferon receptor) a IFNAR2, které jsou asociované s JAK1 a TYK2. IFN II se také váže na svůj receptor skládající se také ze dvou podjednotek IFNGR1 (interferon γ receptor) a IFNGR2, které jsou asociované se JAK1 a JAK2. Aktivace JAK asociovaných s receptorem IFN I vede k fosforylaci (P) STAT2 a STAT1, to vede k tvorbě komplexu STAT1, STAT2 a IRF9, ten se translokuje do jádra, váže se na ISRE a spouští transkripci genů. IFN II indukuje tvorbu homodimeru STAT1, který se následně také translokuje do jádra, kde se váže na GAS elementy, které jsou součástí promotorů některých ISGs a tím zahajuje transkripci těchto genů (převzato od (Platanias et al., 2005)* a upraveno).

V závislosti na poškození DNA buňky je v buňce spuštěna signalizační kaskáda označovaná jako odpověď na poškození DNA (DDR). Tato dráha je kromě jiných mechanismů zprostředkovaná kinázami ATM a ATR (ATM and Rad3-related) (Falck et al., 2005). Kinázy ATM a ATR cílí na CHK1 (checkpoint kinase) a CHK2 a snižují tak aktivitu CDK (cylin dependent kinase) různými mechanismy včetně aktivace transkripčního faktoru p53 (Cheng and Chen, 2010; Liu et al., 2000; Matsuoka et al., 2000). Aktivace těchto kináz zlomy v DNA vede k indukci proteinů, které jsou součástí oprav DNA a udržování integrity genomu a přežití buňky. DDR dráha může působit antivirově, na druhou stranu řada virů tuto dráhu aktivuje a využívá ji ke své replikaci (Weitzman and Fradet-Turcotte, 2018)*.

3.1.4. Restrikční faktory namířené proti PyVs

Během napadení buněk patogenem hrají důležitou roli v úvodní odpovědi buňky na přítomnost patogenu složky vrozené (intrinsic) imunity. Součástí této složky imunity, která je součástí antivirové odpovědi, jsou i restrikční faktory, které v se buňkách vyskytují už před infekcí, ale jejich množství může být během infekce zvýšeno.

Skupina APOBEC (apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like) je rodina cytidin deaminnáz, které jsou závislé na zinku. Jejich aktivita vede k deaminaci cytosinu a vzniku uracilu. Editace může probíhat jak na ssDNA, tak na RNA. U lidí se tato rodina skládá z AID (activation induced deaminase), APOBEC1, APOBEC2, APOBEC3, APOBEC4. Skupina APOBEC3 (A3), která se skládá z proteinů A3A, A3B, A3C, A3D, A3F, A3G a A3H, působí především jako deaminázy ssDNA. Tyto enzymy jsou schopné bránit replikaci mnoha DNA virů a degradovat jejich DNA, uplatňují se tak ve vrozené imunitě, důležité jsou hlavně A3A, A3B, A3F a A3G. Zároveň jsou A3G, A3F a A3H, méně pak A3B a A3C schopné inhibovat infekci některými RNA viry a retroviry, ale jsou schopné i cílit na vlastní hostitelskou RNA i DNA. Aktivaci A3 proteinů zprostředkovávají zánětlivé procesy (Moris et al., 2014; Salter et al., 2016)*. Konkrétně, při infekcích mohou skupiny deaminnáz APOBEC1 a APOBEC3 způsobit mutace, které vedou ke vzniku nádorů (Harris et al., 2002). Zvýšená exprese některých proteinů ze skupiny APOBEC3 je stimulovaná IFN-α (Bonvin et al., 2006).

Další ze složek „intrinsic“ imunity jsou v jádře buněk se nacházející struktury bez membrány označované jako **jaderná tělíska PML (PML NBs**, promyelocytic leukemia nuclear bodies). Do této skupiny jaderných bezmembránových struktur spadají například Cajalova tělíska, jaderné „speckles“ nebo jadérko (Mao et al., 2011)*. PML NBs mají globulární strukturu. Skládají se z PML proteinu, který se v buňce vyskytují v několika izoformách. PML protein je součástí TRIM (tripartite motif) rodiny, je nutný k SUMOylaci PML NBs a díky tomu ovlivňuje i tvorbu a degradaci PML NBs. Dále se PML NBs skládají ze stále přítomných proteinu např. Daxx (death domain associated protein) nebo SP100 (speckled 100) a také proteinů, které jsou rekrutovány do PML NBs na základě stresových podmínek. Jejich množství a velikost je regulováno podle toho, o jaký buněčný typ se jedná, v jaké fázi buněčného cyklu se buňka nachází a jaké stresové podmínky na buňku působí. PML NBs jsou jednak stimulované IFNs, jednak ko-aktivují buněčné geny pro IFNs i další cytokiny a ISGs. Také se uplatňují při detekci virů a následné imunitní reakci. Inhibiční funkce PML NBs byla popsána pro mnoho virů, přičemž pro mnoho z nich byly zároveň identifikovány virové antagonistické proteiny kolokalizující s PML NBs a narušující jejich funkci. Dále jsou PML NBs důležité i v regulaci buněčné transkripce, udržování stability genomu, během buněčného dělení nebo apoptózy (Chang et al., 2018; Scherer and Stamminger, 2016)*. Zároveň mohou mít určité komponenty PML NBs na viry pozitivní vliv a tvořit prostředí pro jejich transkripci a replikaci. Řada proteinů PML NBs, včetně proteinu PML jsou indukovatelné IFNs (Hofmann et al., 2021).

TRIM proteiny jsou rodinou E3 ligáz a také součástí buněčných restrikčních faktorů. Jednotlivé TRIM proteiny jsou charakteristické pro jednotlivé buněčné kompartmenty (Reymond et al., 2001). Mají důležitou roli v signalizaci receptorů během detekce patogenů. Jsou schopné aktivovat zánětlivou a vrozenou imunitní signalizaci pomocí aktivace NF-κB (Uchil et al., 2013).

4. Vliv struktur polyomavirů na vrozenou buněčnou imunitu

4.1. SV40

Opičí polyomavirus SV40 je rozsáhle studovaný modelový polyomavirus patřící do rodu *Betapolyomavirů* podobně jako nejvíce studované lidské *Betapolyomaviry* BKPyV a JCPyV. Nicméně zatímco interakce a funkce časných T antigenů SV 40 ve virové replikaci a transkripci a v ovlivňování buněčné proliferace a transformace byly rozsáhle a intenzivně studovány, studium jejich interakcí se složkami vrozené imunity v infikovaných nebo transfekovaných buňkách je v začátcích.

V roce 2010 Rathi a spolupracovníci zjišťovali změny genové exprese indukované přítomností LT antigenu SV40 v myších embryonálních fibroblastech (MEFs). Vedle velkého množství genů se zvýšenou nebo sníženou transkripcí, zahrnující konkrétně geny, jejichž produkty ovlivňují buněčný cyklus, strukturu chromatinu, DNA replikaci, opravy (repair) a transkripci, identifikovali neočekávaně v buňkách produkujících samotný LT antigen SV40 zvýšenou expresi několika genů s funkcemi spojenými s odpovědí imunitního systému. Přítomnost LT antigenu SV40 zvyšovala hladinu mRNA řady genů stimulovaných interferonem (ISGs) a také např. hladiny mRNA pro STAT1 a STAT2. Mutační analýza ukázala, že pro tuto změnu regulace ISGs je nezbytná chaperonová J-doména LT antigenu. Exprese ISGs závisí na transkripčním faktoru STAT1 a na signalizační kaskádě s ním spojené. LT antigen je schopný indukovat fosforylaci STAT1, což může vést k aktivaci interferonové signální dráhy, která je nezávislá na produkci IFNs. Autoři zjistili, že k úspěšné aktivaci STAT1 LT antigenem je také nezbytný funkční pRB vázající motiv (LXCXE motiv). Je možné, že LXCXE motiv LT antigenu je schopný vázat další partnery mimo RB rodiny, které jsou nutné pro aktivaci STAT1 (Rathi et al., 2010). Mechanismus, kterým LT antigen zvyšuje hladinu ISGs není ve studii objasněný. STAT1 a ISGs mají nezbytnou roli ve zprostředkování antivirové odpovědi LT antigenem (Giacobbi et al., 2015).

Zároveň vznikala řada studií, které dohromady alespoň částečně osvětlily možný mechanismus indukce exprese ISGs LT antigenem. Především jde o studie uvádějící, že infekce SV40 (Boichuk et al., 2010; Hein et al., 2009; Shi et al., 2005; Sowd et al., 2013; Zhao et al., 2008), ale i dalších polyomavirů (Dahl et al., 2005; Jiang et al., 2012a; Orba et al., 2010) aktivují DDR

dráhu pro zajištění účinné replikace jejich genomů a také, že exprese LT antigenu samotného je postačující pro aktivaci ATM a ATR kináz. Také se hromadily poznatky o interakcích LT antigenů získané studiem role časných antigenů polyomavirů v buněčné transformaci. Transformační funkce LT antigenu SV40 je dána schopností vyvazovat onkosupresory p53 a proteiny retinoblastomové rodiny a inaktivovat jejich funkci. Pro funkci p53 je důležitá jeho interakce s proteinem CBP (CREB binding protien; {cAMP response element binding protein} binding protein) a koaktivátorem – histon acetylázou p300, což jsou dva jaderné fosfoproteiny, které jsou schopné interagovat s LT antigen a tato interakce zahrnuje LXCXE motiv LT antigenu (Eckner et al., 1996). Na LT antigenu navázaný p53 je posttranslačně modifikovaný acetylací vazbou k CBP/p300. Exprese LT antigenu SV40 navíc indukuje fosforylaci p53. V komplexu s LT antigenem SV40 je tedy p53 fosforylovaný a acetylovaný. Interakce p53 s LT antigenem SV40 vede k dramatické akumulaci p53 v tomto vysoce stabilním komplexu. Ačkoliv p53 je v komplexu s LT antigenem SV40 inaktivován, komplex může mít další funkce netýkající se buněčné transformace. Interakce p53 s LT antigenem je zprostředkována J-doménou LT antigenu. LT antigen SV40 může zvýšit fosforylační stav asociovaného p53 způsobem, který je závislý na kinázách ATM a/nebo ATR. Interakce LT antigenu s proteinem p53 se ukázala být nutnou pro interakci mezi LT antigenem a CBP/p300 (Borger and DeCaprio, 2006).

Cotsiki a spolupracovníci ukázali, že LT antigen je schopný vázat kontrolní protein mitotického vřeténka Bub1 (serin/threoniová kináza spojená se signalizací při tvorbě mitotického tělíska) (Cotsiki et al., 2004). Přítomnost LT antigenu v buňkách je příčinou genomové nestability i poškození DNA, hlavně vznik dvouřetězcových zlomů, což je částečně závislé i na vazbě proteinu Bub1. LT antigen ovlivňuje rozložení aktivované ATM kinázy, což může vést ke zhoršení ATM kinázové signalizace (Boichuk et al., 2010). Hein a spolupracovníci ukázali, že LT antigen je schopný aktivovat DDR i přes interakci s proteinem Bub1 a tato schopnost hraje významnou roli ve stabilizaci p53 zprostředkováním fosforylace p53 na serinu 15 (Hein et al., 2009).

Později A. Forero a spolupracovníci publikovali studii, ve které ukázali že, LT antigen SV40 indukuje v lidských fibroblastech produkci IFNs typu I a následně indukuje expresi ISGs aktivací DDR. Tato indukce je závislá na ATM a ATR kinázách. LT antigen iniciuje DDR a ATR kináza aktivuje IRF1. Inhibice ATR kinázy snížila stabilizaci IRF1 a ISGs expresi. Indukce DDR LT antigenem je nezbytná pro indukci exprese IRF1. Tato práce ukázala zjevnou souvislost indukce exprese genů pro IFNs a ISGs s LT antigenem indukovanou DDR (Forero et al., 2014).

V roce 2018 G. Dunphy a spol. ukázali, že poškození DNA může indukovat nekanonickou signální dráhu vedoucí přes ATM a aktivaci STING (nezávislé na cGAS proteinu) k produkci

interferonu a dalších cytokinů (Dunphy et al 2018; viz kapitola 3.1.3, str. 13-14). Zdali je tato dráha indukována v buňkách infikovaných SV40 dosud nebylo zkoumáno.

LT antigen SV40 má ale zřejmě schopnost inhibovat indukci IFNs zprostředkovanou přes kanonickou cGAS-STING dráhu. V experimentech transfekce často používané lidské buňky 293T, odvozené z embryonálních ledvin a obsahující SV40 LT antigen neprodukují STING a nejsou tedy schopné interferonové odpovědi (Reus et al., 2020). Bylo popsáno, že větší onkogenní viry vyvinuly strategie, jak produkci IFNs indukovanou cGAS – STING dráhu potlačovat. Adenovirový protein E1A nebo papilomavirový protein E7 vážou STING a brání tak indukci IFNs. Pro tuto interakci je důležitá sekvence (LxCxE motiv), kterou oba tyto proteiny vyvazují pRB. Vzhledem k tomu, že LT antigen také obsahuje tuto sekvenci a váže pRB, byla absence proteinu STING v buňkách 293T připisována přítomnosti LT antigenu (Lau et al., 2015). Reus a spol. ale zjistili, že LT antigen nemění expresi ani cGAS a ani proteinu STING a není zodpovědný za ztrátu exprese proteinu STING. Nedostatečná exprese proteinu STING v těchto buňkách je pravděpodobně způsobená chybou v regulaci buněčné transkripce. V této studii však bylo zjištěno, že LT antigen je schopný částečně inhibovat aktivity na sekvencích ISRE a vazebném místu pro NF-κB. Mechanismus této inhibice je neznámý, ale nezávislý na LXCXE motivu (Reus et al., 2020).

4.2. BKPyV

Mnoho virů cílí svými strukturami na receptory nebo signální molekuly, které jsou součástí odpovědi buňky na přítomnost patogenu, aby zablokovaly interferonovou odpověď vrozené imunity. Bylo publikováno, že při infekci endoteliálních buněk BKPyV nastává indukce dráhy vedoucí k produkci interferonu typu I (An et al 2019). BKPyV je schopný infikovat různé typy lidských buněk, a to jak endotelové buňky, tak buňky primárního epitelu a také fibroblasty izolované z dýchací a vylučovací soustavy. Různé typy buněk však vykazují rozdílné reakce na infekci BKPyV. Infikované ledvinové proximální tubulární epitelové buňky (RPTE), které jsou hojně využívány pro studium BKPyV in vitro, protože produktivní infekce v nich probíhá velmi účinně, nejsou schopné vyvolat podstatnou interferonovou signalizací v reakci na infekci BKPyV (de Kort et al., 2017; An et al., 2019). Studium transkriptomů infikovaných a neinfikovaných buněk neprokázalo žádné podstatné změny v genech zapojených do aktivace produkce IFNs nebo protizánětlivých cytokinů v infikovaných buňkách. Infikované mikrovaskulární endoteliální buňky z plic a močového měchýře jsou schopné produkovat IFN-β a produkovat chemokiny jako například CXCL10 (C-X-C motif chemokin ligand 10). V infikovaných endotelových buňkách dochází k aktivaci IRF3 a STAT1. Na rozdíl od RPTE buněk mohou endotelové buňky

poskytnout počáteční imunitní ochranu proti BKPyV infekci, když ve vaskulárních endotelových buňkách se během infekce BKPyV zvyšuje množství mRNA pro mnoho ISGs (An et al., 2019).

Také dřívější studie Abendovy skupiny ukazuje, že při úspěšné infekci lidských epitelových buněk proximálního tubulu ledvin (RPTE; v Abendově studii označeny jako HPTE) nedochází k virem zprostředkované regulaci genů, které jsou součástí imunitní odpovědi (Abend et al., 2010). Po úspěšném infikování primárních lidských renálních tubulárních epiteliálních buněk virem BKPyV, což dokazovala exprese LT antigenu v buňkách, došlo v buňkách pouze k slabé indukci CXCL10 a DAI až šestý den po infekci. Exprese ISGs, IFN-β a IL-6 zůstávala během infekce nezměněná. Tato zjištění naznačují, že BKPyV neindukuje v lidských renálních tubulárních epiteliálních buňkách antivirovou odpověď a zároveň aktivně neinhibuje antivirovou imunitní odpověď. V leukocytech měla BKPyV infekce za následek zvýšenou produkci genových produktů, které reagují na IFNs. Výsledky této studie naznačují, že v renálních tubulárních epiteliálních buňkách by mohly selhávat mechanismy zodpovědné za rozeznání virové částice nebo některá součást signální kaskády (de Kort et al., 2017). Nabízí se i možnost, že virus dosud neznámým mechanismem pomocí svých proteinů zabraňuje rozpoznání svých antigenů nebo blokuje složky signálních kaskád, které vedou k syntéze ISGs.

Na druhé straně výsledky Ribeirovy studie vzorků získaných biopsií ledvinových transplantátů a také kultury izolovaných lidských tubulárních epiteliálních buněk z pacientů s PVAN (polyomavirus-associated nephropathy) ukazují zvýšenou expresi TLR3, který rozpoznává dsRNA v tubulárních epiteliálních buňkách infikovaných BKPyV, což vede ke zvýšené tvorbě mRNA pro vznik prozánětlivých cytokinů jako je IL-6 a chemokinům jako CXCL10. Tyto výsledky naznačují indukci imunitních odpovědí zprostředkovanou TLR3. Vysvětlení mechanismu však ve studii není (Ribeiro et al., 2012).

Podle studie Giacobbiho a spol. (zmiňované v kapitole 4.1.) je LT antigen SV40 schopný aktivovat antivirový stav při infekci SV40. Tato práce uvádí, že u BKPyV má tuto funkci st antigen, který s LT antigenem sdílí J-doménu (Giacobbi et al., 2015). Naopak malý t antigen BKPyV může blokovat signalizaci a ubikvitinaci senzoru RIG-I. Poznatky o mechanismu tohoto účinku byly získány primárně při studiu infekce JCPyV a jsou popsány v následující kapitole (Chiang et al., 2021).

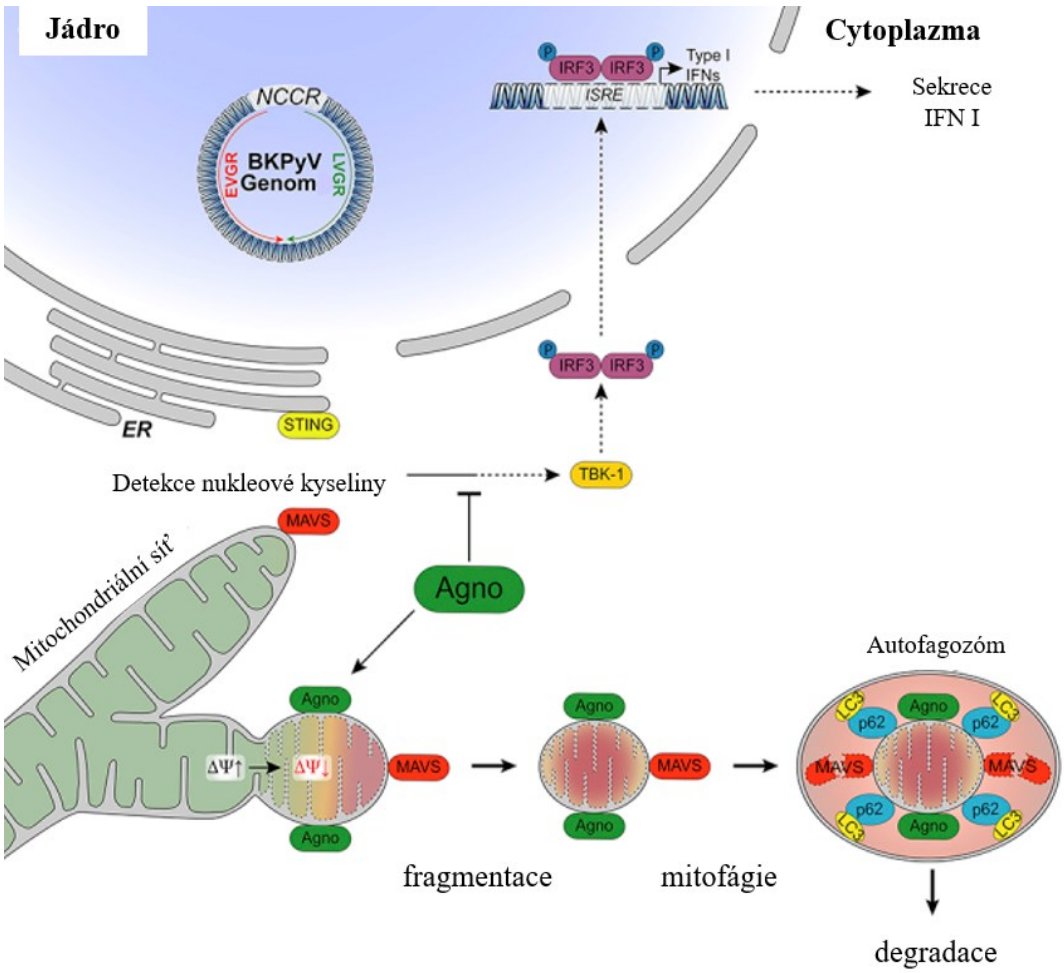
Aktivace DDR není specifická pouze pro infekci virem SV40, ale je zjevně charakteristickým znakem polyomavirových infekcí. Stejně jako je DDR aktivovaná v buňkách infikovaných SV40, tak je DDR, zprostředkovaná ATM a ATR kinázami, aktivovaná i v buňkách infikovaných

BKPyV. Jiang a spolupracovníci studovali funkce ATM a ATR v buňkách RPTE. Použili malé interferující RNA (siRNA) k potlačení produkce buď ATM nebo ATR nebo obou kináz („knockdown“ experimenty). Indukce DDR pomocí BKPyV je nutná pro produktivní infekci a DDR zřejmě minimalizuje poškození DNA během infekce. Potlačení produkce ATM neovlivnilo expresi virových genů, ale snížila se účinnost replikace virové DNA a také bylo sníženo množství virového potomstva. Potlačení exprese ATR má podobné účinky a také mění výrazněji posttranslační modifikace LT antigenu. Pokud je inhibována jedna nebo druhá kináza, dochází k vážnému poškození DNA (Jiang et al., 2012)

ATM kináza je nutná pro efektivní vstup infikovaných buněk do S-fáze buněčného cyklu a zabránění vstupu do mitotické G2-fáze buněčného cyklu. Synergická aktivace DDR pomocí kináz ATR a ATM spouští a udržuje BKPyV-zprostředkovanou S-fázi buněčného cyklu ke zvýšení produkce viru (Justice et al., 2019).

Je možné, že virové proteiny jsou samy o sobě schopné indukovat DDR. Tyto studie byly prováděny v RPTE buňkách, ve kterých není indukována IFNs a exprese ISGs (An et al., 2019; de Kort et al., 2017). Zdali virem navozená DDR aktivuje nekanonickou dráhu vedoucí přes STING k produkci interferonu, bude třeba studovat i v jiných buňkách, např. v endoteliálních buňkách, kde indukce tvorby IFNs byla při BKPyV infekci pozorována.

Agnoprotein BKPyV se v ledvinových tubulárních buňkách vyskytuje v hojném množství během pozdní fáze replikačního cyklu (Leuenberger et al., 2007). Agnoprotein se váže na mitochondrie stejně jako je na ně navázaný protein MAVS (Obr. 8). Agnoprotein je zodpovědný za rozpad mitochondrií a rozrušení jejich membránového potenciálu. Rozpadlé mitochondrie s navázaným agnoproteinem a MAVS jsou následně terčem mitofágie zprostředkované proteinem p62 a LC3 (1A/1B-light chain 3) (Obr. 8), který je využíván jako marker pro autofágii. LC3 řídí hlavní kroky během autofágie (Pankiv et al., 2010). Tím, že MAVS zůstávají navázané na fragmenty mitochondrií a jsou následně degradovány v lysozomu, se snižuje jejich množství v buňce. Agnoprotein také narušuje translokaci IRF3 do jádra blokací TBK1 a tím i signalizaci vrozeného imunitního systému a tvorbu IFNs I (Obr. 8). Replikace BKPyV je citlivá na IFN-β, který ji je schopný inhibovat. Agnoproteinem zprostředkovaný rozpad mitochondrií je spojený se snížením exprese IFN-β, která je indukovaná MAVS po rozpoznání virové RNA. Těmito mechanismy agnoprotein usnadňuje replikaci BKPyV. Agnoprotein snižuje schopnost detekce cytosolické DNA a RNA imunitní systémem. Podobně jsou schopné rozrušit mitochondriální síť i JCPyV a SV40 (Manzetti et al., 2020)



Obrázek 8: Vliv agnoproteinu na mitochondriální síť a na rozeznávání BKPyV vrozeným imunitním systémem. Agnoprotein (Agno) blokuje detekci nukleové kyseliny v cytoplazmě zprostředkovanou STING blokací aktivace TBK1, které by, pokud by bylo aktivované, dále fosforylovalo (P) IRF3. Fosforylované IRF3 by translokovalo do jádra, kde by se vázalo na ISRE a spouštělo produkci IFNs I. Dále se agnoprotein váže na mitochondrie při jejich fragmentaci a degradaci společně s MAVS. Degradace mitochondriálních fragmentů je zprostředkována p62 a LC3. EVGR (early viral genomic region) označuje časnou oblast genomu, LVRG (late viral genomic region) označuje pozdní oblast genomu (převzato od (Manzetti et al., 2020) a upraveno).

Pátrání po studiích interakcí PyVs struktur s restrikčními faktory přirozené (intrinsic) buněčné imunity nepřineslo mnoho informací. Restriktivní funkce cytosin deaminázy rodiny APOBEC3 byla pozorována u řady virů (Kanagaraj et al., 2019; Warren et al., 2014).

Během infekce BKPyV jsou enzymy ze skupiny APOBEC3 regulovány LT antigenem. K těm enzymům, jejichž hladina je specificky zvýšena patří zejména A3B a A3A. Pro zvýšení exprese A3B a jeho akumulaci v jaderných kompartmentech stačí LT antigen BKPyV, nutný je zejména jeho LXCXE motiv (Starrett et al., 2019). K podobnému zvýšení hladiny A3B dochází i u dalších lidských polyomavirů JCPyV a MCPyV. U zmíněných PyVs byla prokázána indukce mRNA pro A3B na podobné úrovni jako u BKPyV, ale množství na úrovni vzniklých proteinů bylo variabilnější. Nejvyšší úrovně indukce mRNA pro A3B dosáhl JCPyV. Toto zjištění naznačuje,

že LT antigeny různých polyomavirů mohou ovlivňovat množství A3B s různou účinností. Zdá se ale, že zvýšená hladina A3B buňkách infikovaných BKPyV není nutná k produktivní infekci. Genom BKPyV, který je pro A3B preferovaný cíl vykazuje stopy mutací, které způsobily proteiny rodiny APOBEC (Poulain et al., 2020; Verhalen et al., 2016).

Zvýšená aktivita A3B má zřejmý dlouhodobý evoluční význam na skladbu genomu PyVs. Mutace způsobené APOBEC v genech pro časné antigeny jsou pro BKPyV nejnebezpečnější, protože mutace v této genomové oblasti často vedou k zastavení replikačního cyklu viru. Časný regionu genomu PyVs je tak pod největším mutačním tlakem APOBEC (Shapiro et al., 2021). Aktivita A3A a A3B vede i k poškození buněčného genomu i díky tomu, že LT antigen inaktivuje p53 a pRb (Baker et al., 2022). Na druhé straně podle studie Perettiho a jeho spolupracovníků mohou mutace genomu BKPyV hostitelskými A3B umožnit viru skrýt se před neutralizačními protilátkami a také vstupovat do buněk pomocí jiných gangliosidů (Peretti et al., 2018). Je nutné dalších studií k prokázání interakcí mezi antigeny BKPyV a proteiny z rodiny APOBEC a k podrobnému objasnění mechanismů, kterými na sebe vzájemně působí.

Dalšími restrikčními faktory, které ovlivňuje infekce polyomaviry jsou PML NBs, které jsou dobře známy pro své antivirové restriktivní funkce a zprostředkování odpovědi vrozené imunity signalizací IFNs. Schopnost interagovat s PML NBs je mezi DNA viry replikujícími se v jádře známá a často vede k obejití mechanismu přirozené (instrinsic) imunity a zahájení virové transkripce a replikace (Berscheminski et al., 2013; Guion et al., 2019). PML NBs jsou spojeny s místy, kde probíhá syntéza virové DNA (Jul-Larsen et al., 2004). Zatímco větší viry, jako např. herpesviry PML NBs ničí, řada polyomavirů replikuje své genomy v bezprostřední blízkosti PML NBs. Jiang a jeho skupina demonstrovali, že infekce RPTE buněk BKPyV měla za následek dramatické změny v množství a velikosti PML NBs, konkrétně snížení množství a zvětšení PML NBs. Zároveň došlo k reorganizaci PML NBs, kdy se proteiny SP100 a Daxx, které jsou jinak stálými residenty PML NBs, separovaly od komplexu PML NBs. LT antigen se během časné fáze infekce vyskytoval u PML NBs, zatímco v pozdní fázi replikačního cyklu byly v blízkosti PML NBs lokalizovány genomy BKPyV. Dále bylo ukázáno, že přítomnost LT antigenu k reorganizaci PML NBs nestatačí, ale i aktivní replikace virové DNA je k reorganizaci PML NBs nezbytná. Snížená exprese PML NBs neměla vliv na replikaci BKPyV v kultuře. Avšak reorganizace PML NBs je považována za jeden z mechanismů, které využívá BKPyV k inaktivaci antivirové funkce v RPTE buňkách (Jiang et al., 2011).

4.3. JCPyV

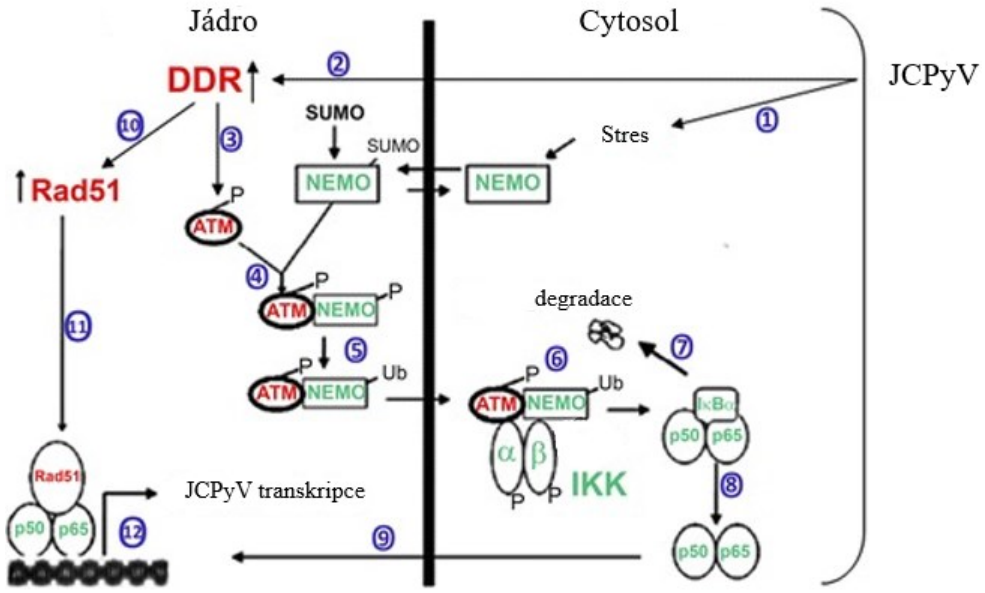
JCPyV podobně, jako BKPyV persistují v ledvinách. U imunosuprimovaných jedinců se však JCPyV může dostat do centrálního nervového systému, kde může způsobit destrukci oligodenocytů a PML. Nedávná práce Chianga a spol. přiznává, že „téměř nic není v současné době známo o tom, jak je infekce JCPyV kontrolována odpovědí vrozené imunity a dále zdali JCPyV vyvinul mechanismy jimiž by antagonizoval protivirovou imunitu“ (Chiang et al., 2021). Práce Chianga a spol. ukazuje, že v lidských astrocytech kontrolují replikaci JCPyV senzory RIG-I a cGAS, nikoliv však IFI16. Při zkoumání, které virové proteiny jsou odpovědné za ovlivnění a represi RIG-I se ukázalo, že největší inhibiční účinky má st antigen, slabé inhibiční účinky mají také VP1 a VP2. Malý t antigen blokuje indukci INF-β zprostředkovanou receptorem RIG-I. Interakčním partnerem st antigenu je ubikvitin ligáza TRIM25, která je nutná pro aktivaci RIG-I. Malý t antigen brání vazbě patogenní RNA na TRIM25 a tím inhibuje jím zprostředkovanou ubikvitinaci lysinu 63 na RIG-I receptoru. To má za následek neschopnost interakce CARD a MAVS a inhibici signální kaskády vedoucí k produkci IFNs. Autoři uvádí, že tento mechanismus potlačení odpovědi vrozené imunity st antigenem existuje i u příbuzného BKPyV. Bohužel zvoleným způsobem ověření pomocí RNA viru Sendai a ektopicky exprimovaných jednotlivých proteinů JCPyV nebylo možné ověřit, jaký virový protein inhibuje cGAS (Chiang et al., 2021).

Starší práce uvádějí, že v primárních lidských plodových gliových buňkách (PHFG) i v glioblastomové buněčné linii indukuje infekce JCPyV produkci různých ISGs, mimo jiné např. STAT1 podobně jako u buněk infikovaných SV40 a BKPyV (viz kapitoly 4.1. a 4.2.). V buňkách, ve kterých probíhá replikace JCPyV se dvojnásobně zvyšuje hladina IRF7, ale hladina IRF3 se nemění i když se zvyšuje produkce genů, které jsou pomocí IRF3 indukované. Zároveň se nemění množství exprese IFN-α a IFN-β po infekci buněk. Indukce ISGs v buňkách infikovaných JCPyV je tak proces, který je nezávislý na IFNs (Verma et al, 2006) podobně jako u SV40 (Rathi et al., 2010) (viz. kapitola 4.1.).

Práce Assetta a spol. porovnávala JCPyV a BKPyV infekci v lidských RPTE buňkách. V minulé kapitole je uvedeno pozorování, že RPTE infikované BKPyV nejsou schopné vyvolat podstatnou interferonovou signalizací v reakci na infekci BKPyV, který se v nich účinně replikuje (de Kort et al., 2017; An et al., 2019). Assetta a spol. tuto skutečnost potvrdili. Pozorovali, že BKPyV infekce zabíjí RPTE buňky během 15 dnů. Naopak JCPyV byl schopen ustavit v těchto buňkách persistentní infekci. Infekce jedním nebo druhým virem indukovala produkci IFNs, ale aktivace ISGs proběhla jen v buňkách infikovaných JCPyV. Indukci IFNs a ISGs v primárních lidských

ledvinových epitelových buňkách (HRPTE) infikovaných JCPyV potvrdila i přítomnost fosforylovaných STAT1 a IRF9 v jádrech infikovaných buněk. V infikovaných buňkách JCPyV se začíná indukovat IFN-β o 3 dny později než BKPyV, ale JCPyV je citlivější než BKPyV na fyziologické koncentrace IFNs I (Assetta et al., 2016).

Také infekce JCPyV poškozuje DNA buněk, a podobně jako u výše zmíněných polyomavirů aktivuje DDR. Infekce JCPyV indukuje zvýšení exprese faktoru Rad51, který je součástí oprav DNA (Obr. 9). Rad51 spolupracuje s transkripčním faktorem NF-κB (konkrétně s p65 a p50) na aktivaci transkripce genů z časné oblasti genomu JCPyV (White et al., 2014). DDR tedy stimuluje tzv. „aktivaci NF-κB dráhy z jádra do cytoplazmy" („inside-out" NF-κB signalling), která je iniciován ATM kinázou (Obr. 9). Pokud se v buňce objeví dsDNA zlomy je ATM kináza autofosforylována. JCPyV také souběžně způsobuje redistribuci proteinu NEMO do jádra. V jádře je na NEMO nejprve připojen protein SUMO nezávisle na ATM kináze, ale závisle na LT antigenu (White et al., 2017). ATM kináza následně NEMO fosforyluje, což vede k jeho ubikvitinaci (Huang et al., 2015). Ubikvitovaný NEMO je poté společně s aktivovanou ATM kinázou přenesen do cytoplazmy, kde aktivuje IKK, které fosforyluje IκB, což vede k jeho degradaci a uvolnění komplexu NF-κB do jádra (Obr. 9). Aktivace NF-κB je tak indukována infekcí JCPyV (White et al., 2017).



Obrázek 9: Schematický nákres aktivace „NF-κB dráhy z jádra do cytoplazmy" (tzv. „inside-out") během infekce JCPyV. Infekce buněk JCPyV (1.) vedoucí k buněčnému stresu a aktivace DDR (2.). Aktivace ATM (3.) fosforylací (P). Vazba aktivovaného ATM na NEMO a fosforylace NEMO (4.). Ubikvitinace NEMO (Ub) a jeho transport z jádra (5.). Aktivace komplexu IKK fosforylací (6.). Degradace IκB (7.), vyvázání a uvolnění komplexu NF-κB (8.) a jeho následná translokace do jádra (9.). Mezitím DRR indukuje Rad51 (10.), které interaguje s NF-κB, které je v jádře (11.) a aktivuje transkripci JCPyV genomu (12.) (převzato od (White et al., 2017) a upraveno).

Na rozdíl od BKPyV, při infekci RPTE buněk virem JCPyV nedochází k narušení PML NBs odstraněním proteinů SP100 a Daxx, ale významně se zvyšuje množství PML NBs v buňce, což je v souladu se skutečností, že JCPyV infekce indukuje v těchto buňkách tvorbu interferonu a exprese proteinu PML a dalších proteinů PML NBs jsou indukovatelné interferonem (Assetta et al., 2016). Autoři také ukázali, že redukce jaderného PML proteinu v buňkách infikovaných JCPyV zvyšuje virovou nálož, naopak navýšení hladiny PML proteinu v jádře redukuje infekci (Assetta et al., 2016). Potvrdili tak data, která již dříve získal Gasparovic a jeho skupina, která tvrdí, že hostitelská odpověď na přítomnost JCPyV pravděpodobně brání infekci polyomavirem zvýšením hladiny PML proteinu v jádře (Gasparovic et al., 2009).

4.4. MPyV

Myší polyomavirus sloužil jako modelový virus v minulosti hlavně ke studiu mechanismů nádorové transformace. Po objevu dalších lidských polyomavirů, může být prospěšný jako modelový virus lidských *Alfapolyomavirů* MCPyV, HPyV9 nebo TsPyV.

Ryabchenko a jeho spolupracovníci sledovali indukci interferonu tímto polyomavirem v myších buňkách. Produkce interferonu infikovanými buňkami byla detekovatelná až v pozdní fázi replikačního cyklu v době, kdy probíhá účinně replikace virové DNA v jádře. Autoři zjistili, že indukce IFNs závisí na DNA sensoru cGAS a proteinu STING, který byl aktivován fosforylací. STING a IRF3 byly fosforylovány přibližně ve stejném čase po infekci. Buňky s inaktivovaným proteinem STING neaktivovaly IRF3. Toto podporuje model kanonické dráhy IFNs indukce, ve kterém STING pomáhá IRF3 dostat se do aktivního místa kinázy TBK1. Senzor DNA p204 (ortholog lidského DNA sensoru IFI16), je rovněž důležitý k indukci IFN-β během MPyV infekce. Byl soustředěn v místech replikace virových genomů. Způsob, jakým je aktivován i jaká je přesně jeho role v MPyV infekci je prozatím nejasný. Sensor cGAS byl také nalezen z části v jádře, rovněž v replikačních centrech genomů MPyV a z části v cytoplazmě. V cytoplazmě cGAS kolokalizoval s DNA, která unikla z jádra do cytoplazmy (leaked DNA) a s mikrojádry, jejichž množství se zvětšovalo v průběhu infekce. Únik DNA z jádra do cytosolu i tvorba mikrojader jsou projevem genotoxického stresu buněk, v tomto případě způsobeného MPyV infekcí. Autoři rovněž zjistili, že přestože cGAS kolokalizuje v jádře s virovými genomy, je aktivován pouze v cytoplazmě. Cyklický dinukleotid cGAMP, který je aktivovaným senzorem cGAS syntetizován a následně aktivuje STING, byl nalezen pouze v cytoplazmě infikovaných buněk, kdežto v jádře nebyl detekován. Výsledky tedy ukazují, že cGAS indukuje produkci IFNs po rozpoznání DNA (jak virové, tak i buněčné), uvolněné z jádra do cytosolu i DNA mikrojader (Ryabchenko et al., 2021)

Podobně jako v buňkách infikovaných ostatními studovanými polyomaviry (viz kapitoly 4.1. až 4.3.), tak i v buňkách infikovaných MPyV dochází k aktivaci DDR. Výsledky, které získali Heiser a spol., ukazují na to, že MPyV využívá proteiny DDR dráhy podobně, jako výše zmíněné PyVs. Dále také autoři pomocí infekce buněk MCPyV s mutovanými st a MT antigeny demonstrovali, že v buňkách infikovaných MPyV nezávisí aktivace DDR na st ani MT antigenu, ale zřejmě na LT antigenu (Heiser et al., 2016). Aktivace ATM kinázy LT antigenem MPyV byla pozorována již v dřívější studii, kde autoři z výsledků vyvodili, že LT antigenem aktivovaná ATM dráha DNA oprav je virem využívána k prodlužení S-fáze buněčného cyklu pro účinné dokončení replikace virových genomů (Dahl et al., 2005)

4.5. MCPyV

Lidský polyomavirus Merkelových buněk, podobně jako myší polyomavirus patří do rodu *Alfapolyomaviry*. V mnohých ohledech se více podobá myšímu polyomaviru, něž lidským BKPyV a JCPyV. Poznání, že v lidských kožních fibroblastech může probíhat MCPyV infekce, umožnilo studium indukce IFNs I v různých fázích infekce (Krump et al., 2021). Tato studie odhalila, že replikace genomů MCPyV a exprese časných genů indukuje zánětlivou odpověď a indukci ISGs. Odpověď na infekci MCPyV je zprostředkovaná dráhou vedoucí přes DNA senzor cGAS, STING, IRF3 a NF-κB. Zabránění exprese genů (knockout) pro cGAS a NF-κB metodou CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) vedla ke zvýšení replikace MCPyV. Největší efekt na inhibici replikace MCPyV měla nepřítomnost cGAS. V buněčném jádře byl u virových center replikace lokalizován také protein IFI16. Jeho inaktivace však nevedla ke dramatickému snížení indukce ISGs. Místo toho IFI 16 zvyšoval produkci zánětlivých cytokinů v závislosti na přítomnosti MCPyV alternativním mechanismem (Krump et al., 2021). Vzhledem k tomu, že „knockout“ faktorů, které na dráze indukce IFNs následují za sensorem cGAS nelimituje replikaci MCPyV zdaleka tolik, jako absence cGAS, autoři studie spekulují, že MCPyV vyvinul nějakou strategii, jak tuto dráhu indukce IFNs a prozánětlivých odpovědí mařit. Studium interakcí struktur MCPyV s touto dráhu a případně dalšími zapojenými drahami buněčné odpovědi na přítomnost MCPyV plánují autoři do budoucna.

Nicméně starší práce popisují některé interakce časných antigenů MCPyV, které ovlivňují buněčnou imunitní odpověď. Griffiths a spol. ukázali, že st antigen MCPyV je schopný negativně ovlivňovat prozánětlivou signalizaci v buňkách tím, že inhibuje transkripční aktivaci zprostředkovanou NF-κB pomocí inhibice adaptorového proteinu NEMO. MCPyV st antigen nespouští degradaci NEMO, jak by se mohlo zdát, ale inhibuje fosforylaci IκB kinázy α, která je zprostředkovaná IKK komplexem. To, že nedojde k fosforylaci IκB kinázy, omezí translokaci

NF-κB komplexu do jádra. Tento proces je regulovaný interakcemi mezi st antigenem MCPyV s podjednotkami fosfatáz PP4C a PP2A. Malý t antigen tak snižuje hladinu fosforylovaného IκB. Inhibiční efekt st antigenu je specifický pro NF-κB dráhu. Malý t antigen pravděpodobně zesiluje interakce mezi buněčnými fosfatázami (PP2A a PP4C) a proteinem NEMO. Pro snížení transkripce, na kterou cílí NF-κB jsou nutné interakce mezi st antigenem MCPyV, NEMO a podjednotkami buněčných fosfatáz PP4C a/nebo PP2A (Griffiths et al., 2013).

Později Abdul-Sada se spolupracovníky ukázal, že st antigen neinteraguje s NEMO přímo, ale že interaguje nejprve s regulační podjednotkou 1 protein fosfatázy 4 (PR4P1). Tvorba komplexu PP4R1 s katalytickou podjednotkou PP4C je nutná ke zprostředkování vazby st antigenu na NEMO adaptorový protein. NEMO tak není přímým vazebným partnerem st antigenu. Tato interakce je omezená pouze na MCPyV (Abdul-Sada et al., 2017).

Malý t antigen MCPyV umí aktivovat nekanonickou NF-κB dráhu (ncNF-κB) tak, aby se infikované buňky vyhnuly stárnutí buněk a zároveň započala jejich proliferace. Aktivuje ji tím, že podněcuje metylaci histonu H3, zvýšenou transkripci NF-κB2 a RelB a také stabilizaci NF-κB2. V buňkách, které produkují st antigen polyomavirů HPyV6, HPyV7 nebo MCPyV byla i zaznamenána exprese SASP genů (senescence-associated secretory phenotype). Malý t antigen MCPyV je také schopný aktivovat a stabilizovat c-Myc (Zhao et al., 2020). Pro změnu exprese SASP a aktivaci ncNF-κB je nutná stabilizační doména LT antigenu (LSD doména), která se vyskytuje i na st antigenu MCPyV (Kwun et al., 2013). HPyV6 a 7 aktivují kanonickou NF-κB dráhu vedoucí k indukci aktivace prozánětlivých genů. Malé t antigeny HPyV6 a HPyV7 na rozdíl od st antigenu MCPyV indukují snížení exprese inhibitorů, které jsou zapojené do buněčného stárnutí, jako je například p53. HPyV6 a 7 tak indukují buněčné stárnutí, které je závislé na p53 (Zhao et al., 2020). Malý st antigen stabilizuje pomocí své LSD domény buněčné onkogeny jako je c-Myc a inhibuje jejich degradaci. Mutace LSD st antigenu MCPyV snižují hladinu LT antigenu. Malý t antigen MCPyV tak zřejmě inhibuje proteozomální degradaci LT antigenu, inhibuje tak obrat LT antigenu v buňkách (Kwun et al., 2013).

Brd4 (bromodomai-containig protein 4) interaguje s LT antigenem MCPyV a má důležitou roli i v replikaci virové DNA (Wang et al., 2012). Zároveň se zdá, že by tento protein mohl mít vliv na signální dráhu spojenou s NF-κB. V buňkách, které exprimují T antigeny MCPyV dochází k podobné aktivaci imunitního systému LT antigenem jako popsáno výše u SV40 (Richards et al., 2015). Bdr4 se specificky váže na acetylovaný transkripční faktor NF-κB p65 a koaktivuje transkripci. Bdr4 je součástí regulace aktivace JCPyV v gliových buňkách (Wollebo et al., 2016).

Skupinu Shahzada a jeho spolupracovníků zajímalo, zdali je aktivita endozomálního DNA receptoru TLR9, jehož aktivace je spojená s aktivací NF-κB a produkcí prozánětlivých cytokinů, potlačována působením komponent MCPyV. Zjistili, že v epiteliálních buňkách a také v buňkách Merkelova karcinomu vede přítomnost LT antigenu ke snížení exprese TLR9 (Shahzad et al., 2013). Zřejmě i st antigen částečně inhibuje produkci TLR9, protože inhibice produkce st antigenu MCPyV měla za následek zvýšení hladiny hladina mRNA pro TLR9. LT antigen během infekce cílí na snížení hladiny mRNA pro C/EBPβ (CCAAT-enhancer-binding proteins) transaktivátor, což je pozitivní regulátor promotoru TLR9 (Takeshita et al., 2004). Mutace ve vazebném místě pro C/EBPβ faktor v promotoru genu pro TLR9 zabránila snížení hladiny TLR9 časnými antigeny MCPyV. Snížená aktivita TLR9 promotoru je tedy efektivnější, pokud jsou exprimovány všechny časné geny MCPyV, a ne pouze LT antigen. K částečné inhibici exprese TLR9 v přítomnosti časných genových produktů polyomavirů dochází i u BKPyV, JCPyV, WUPyV, KIPyV a SV40. Účinnými inhibitory exprese TLR9 se ukázaly být jenom BKPyV a MCPyV, ve kterých byly hladiny mRNA pro TLR9 výrazně snížené (Shahzad et al., 2013). Exprese TLR2, 4, 5, 7 a 9 byla pozorována ve většině vzorků karcinomu Merkelových buněk. Avšak pouze snížená hladina TLR9 silně korelovala s pozitivitou těchto vzorků na časné proteiny MCPyV. TLRs receptory zřejmě hrají významnou roli v biologii nádorů (Jouhi et al., 2015).

Podobně jako u BKPyV (viz kapitola 4.2.) enzymy z rodiny APOBEC3, konkrétně A3A, A3B nebo A3G, které indukuje IFN-γ, způsobují mutace v genomu MCPyV (Que et al., 2022).

5. Závěr

Výzkum struktur polyomavirů a jejich interakcí se složkami buněčné vrozené imunity je poměrně nové téma, protože na rozdíl od RNA sensorů, řada DNA senzorů a dráhy jimi aktivované byly poznány později.

Během vstupu do buňky a cesty do buněčného jádra jsou PyVs ukryty před cytosolickými sensory v endozomech, ve kterých putují až do endoplazmatického retikula. Jedinou příležitostí pro rozpoznání polyomavirů vstupujících do buněk by mohla být doba, kdy se částečně rozvolněné viriony řady polyomavirů dostávají z ER do cytosolu před dopravou genomů do jádra. Avšak ani v té době nedochází k detekovatelné indukci IFNs. Ta nastává u studovaných PyVs až, když probíhá transkripce a replikace PyVs (Chiang at al., 2021; Krump et al., 2021, Ryabchenko et al., 2021). Endozomální senzory rozpoznávající DNA - TLR3 a TLR9 se tedy zjevně také neuplatňují významně v indukci interferonu v primárně infikovaných buněčných kulturách pravděpodobně proto, že v endozomech je virová DNA chráněna kapsidou a buněčnými histony. Nicméně,

schopnost časných antigenů MCPyV a také BKPyV inhibovat expresi TLR 9 (Shahzad et al., 2013) ukazuje na potřebu PyVs negativně regulovat prozánětlivé odpovědi vyvolané tímto receptorem.

Mnohé studie demonstrovaly, že společným znakem infekcí PyVs je aktivace ATM/ATR kináz a navození DDR LT antigenem. Jak ze studií vyplývá, PyVs tuto aktivaci potřebují k prodloužení S-fáze a k účinné a bezchybné replikaci virových genomů (Justice et al., 2019). Poškození DNA však může aktivovat v r. 2018 popsanou nekanonickou dráhu indukce IFNs a dalších cytokinů vedoucí přes ATM (nezávisle na sensoru cGAS) k aktivaci STING a NF-κB (Dunphy et al 2018). Je otázkou, zdali tato dráha vede k produkci IFNs a dalších cytokinů při infekci PyVs nebo je virem potlačena a jakými mechanismy se tak děje. I aktivace sensoru cGAS v kanonické dráze indukce IFNs, uplatňující se v infekci MPyV, MCPyV a JCPyV (Chiang et al.,2021; Krump et al., 2021, Ryabchenko et al., 2021), je zřejmě důsledkem DDR a genotoxickém stresu, jak ukázala práce (Ryabchenko et al., 2021). V indukci prozánětlivých cytokinů a IFNs infekcí polyomaviry se uplatňuje také dráha vedoucí přes RIG-I aktivovaná virovými RNA transkripty. Práce Manzettiho a spol. vysvětluje mechanismus, jakým tuto dráhu utlumuje agnoprotein u všech studovaných polyomavirů, které tento pozdní protein produkují (Manzetti et al., 2020). Také st antigen může zeslabovat prozánětlivé odpovědi buňky zacílením na protein NEMO, jak bylo ukázáno u infekce MCPyV (Griffiths et al., 2013; Abdul Sada et al., 2017).

Zajímavé jsou publikace (de Kort et al., 2017; An et al., 2019) ukazující na skutečnost, že vztahy polyomavirů a mechanismů vrozené imunity mohou být velmi odlišné v různých buňkách, jak ukazuje umlčení drah indukce IFNs odpovědi v RPTE buňkách, avšak nikoliv v endoteliálních buňkách při infekci BKPyV. Naopak, velmi příbuzný JCPyV indukci IFNs v RPTE buňkách odpověď imunitního systému interferonem neinhibuje, což se projevuje odlišnostmi v patogenicitě a navození persistence obou virů.

Z restrikčních faktorů byly studovány u polyomavirů vztahy s enzymy z rodiny APOBEC3. Mutace, které zavádějí tyto enzymy do genomů PyVs mohou mít pro virus, jak restrikční, tak i pozitivní účinky (Peretti et al., 2018; Shapiro et al., 2021; Baker et al., 2022; Que et al., 2022). Všechny studované polyomaviry replikují a transkribují své genomy v bezprostřední blízkosti jaderných tělísek PML NBs. Restrikční účinky PML NBs byly pozorovány u infekce BKPyV a JCPyV. První jmenovaný, BKPyV, je schopen narušit funkci PML NBs vyloučením dvou stálých složek, proteinů SP100 a Daxx v RPTE buňkách. Naopak při infekci virem JCPyV vzrůstá počet PML NBs, což může vzhledem k tomu, že produkce PML proteinu a dalších složek PML NBs jsou indukovatelné IFNs, souviset s neschopností JCPyV inhibovat produkci IFNs buňkami RPTE.

Ve studiu vztahů polyomavirů a mechanismů vrozené buněčné imunity je mnohem více otázek než odpovědí. Jejich zodpovězení vyžaduje další intenzivní výzkum, který by mohl vést k objevu cílených terapeutik proti těmto virům.

6. Seznam literatury

Abdul-Sada, H., Müller, M., Mehta, R., Toth, R., Arthur, J.S.C., Whitehouse, A., Macdonald, A., 2017. The PP4R1 sub-unit of protein phosphatase PP4 is essential for inhibition of NF-κB by merkel polyomavirus small tumour antigen. Oncotarget 8, 25418–25432. https://doi.org/10.18632/oncotarget.15836

Abend, J.R., Low, J.A., Imperiale, M.J., 2010. Global Effects of BKV Infection on Gene Expression in Human Primary Kidney Epithelial Cells. Virology 397, 73. https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.10.047

Allander, T., Andreasson, K., Gupta, S., Bjerkner, A., Bogdanovic, G., Persson, M.A.A., Dalianis, T., Ramqvist, T., Andersson, B., 2007. Identification of a Third Human Polyomavirus. Journal of Virology 81, 4130–4136. https://doi.org/10.1128/JVI.00028-07

Almine, J.F., O'Hare, C.A.J., Dunphy, G., Haga, I.R., Naik, R.J., Atrih, A., Connolly, D.J., Taylor, J., Kelsall, I.R., Bowie, A.G., Beard, P.M., Unterholzner, L., 2017. IFI16 and cGAS cooperate in the activation of STING during DNA sensing in human keratinocytes. Nat Commun 8, 14392. https://doi.org/10.1038/ncomms14392

An, P., Sáenz Robles, M.T., Duray, A.M., Cantalupo, P.G., Pipas, J.M., 2019. Human polyomavirus BKV infection of endothelial cells results in interferon pathway induction and persistence. PLoS Pathog 15, e1007505. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007505

An, P., Sáenz Robles, M.T., Pipas, J.M., 2012. Large T antigens of polyomaviruses: amazing molecular machines. Annu Rev Microbiol 66, 213–236. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092611-150154

Anderson, H.A., Chen, Y., Norkin, L.C., 1996. Bound simian virus 40 translocates to caveolin-enriched membrane domains, and its entry is inhibited by drugs that selectively disrupt caveolae. MBoC 7, 1825–1834. https://doi.org/10.1091/mbc.7.11.1825

Arthur, R.R., Shah, K.V., Baust, S.J., Santos, G.W., Saral, R., 1986. Association of BK viruria with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. N Engl J Med 315, 230–234. https://doi.org/10.1056/NEJM198607243150405

Assetta, B., De Cecco, M., O'Hara, B., Atwood, W.J., 2016. JC Polyomavirus Infection of Primary Human Renal Epithelial Cells Is Controlled by a Type I IFN-Induced Response. mBio 7, e00903-16. https://doi.org/10.1128/mBio.00903-16

Baker, S.C., Mason, A.S., Slip, R.G., Skinner, K.T., Macdonald, A., Masood, O., Harris, R.S., Fenton, T.R., Periyasamy, M., Ali, S., Southgate, J., 2022. Induction of APOBEC3-mediated genomic damage in urothelium implicates BK polyomavirus (BKPyV) as a hit-and-run driver for bladder cancer. Oncogene 41, 2139–2151. https://doi.org/10.1038/s41388-022-02235-8

Ballmer-Hofer, K., Benjamin, T.L., 1985. Phosphorylation of polyoma middle T antigen and cellular proteins in purified plasma membranes of polyoma virus-infected cells. EMBO J 4, 2321–2327.

Becker, M., Dominguez, M., Greune, L., Soria-Martinez, L., Pfleiderer, M.M., Schowalter, R., Buck, C.B., Blaum, B.S., Schmidt, M.A., Schelhaas, M., 2019. Infectious Entry of Merkel Cell Polyomavirus. J Virol 93, e02004-18. https://doi.org/10.1128/JVI.02004-18

Bennett, S.M., Zhao, L., Imperiale, M.J., 2015. Role of a Nuclear Localization Signal on the Minor Capsid Proteins VP2 and VP3 in BKPyV Nuclear Entry. Virology 474, 110–116. https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.10.013

Berscheminski, J., Groitl, P., Dobner, T., Wimmer, P., Schreiner, S., 2013. The Adenoviral Oncogene E1A-13S Interacts with a Specific Isoform of the Tumor Suppressor PML To Enhance Viral Transcription. J Virol 87, 965–977. https://doi.org/10.1128/JVI.02023-12

Boichuk, S., Hu, L., Hein, J., Gjoerup, O.V., 2010. Multiple DNA Damage Signaling and Repair Pathways Deregulated by Simian Virus 40 Large T Antigen. J Virol 84, 8007–8020. https://doi.org/10.1128/JVI.00334-10

Bollag, B., Hofstetter, C.A., Reviriego-Mendoza, M.M., Frisque, R.J., 2010. JC Virus Small t Antigen Binds Phosphatase PP2A and Rb Family Proteins and Is Required for Efficient Viral DNA Replication Activity. PLoS One 5, e10606. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010606

Bollag, B., Prins, C., Snyder, E.L., Frisque, R.J., 2000. Purified JC Virus T and T′ Proteins Differentially Interact with the Retinoblastoma Family of Tumor Suppressor Proteins. Virology 274, 165–178. https://doi.org/10.1006/viro.2000.0451

Bonvin, M., Achermann, F., Greeve, I., Stroka, D., Keogh, A., Inderbitzin, D., Candinas, D., Sommer, P., Wain-Hobson, S., Vartanian, J.-P., Greeve, J., 2006. Interferon-inducible expression of APOBEC3 editing enzymes in human hepatocytes and inhibition of hepatitis B virus replication. Hepatology 43, 1364–1374. https://doi.org/10.1002/hep.21187

Borger, D.R., DeCaprio, J.A., 2006. Targeting of p300/CREB Binding Protein Coactivators by Simian Virus 40 Is Mediated through p53. J Virol 80, 4292–4303. https://doi.org/10.1128/JVI.80.9.4292-4303.2006

Bürckstümmer, T., Baumann, C., Blüml, S., Dixit, E., Dürnberger, G., Jahn, H., Planyavsky, M., Bilban, M., Colinge, J., Bennett, K.L., Superti-Furga, G., 2009. An orthogonal proteomic-genomic screen identifies AIM2 as a cytoplasmic DNA sensor for the inflammasome. Nat Immunol 10, 266–272. https://doi.org/10.1038/ni.1702

Campbell, K.S., Mullane, K.P., Aksoy, I.A., Stubdal, H., Zalvide, J., Pipas, J.M., Silver, P.A., Roberts, T.M., Schaffhausen, B.S., DeCaprio, J.A., 1997. DnaJ/hsp40 chaperone domain of SV40 large T antigen promotes efficient viral DNA replication. Genes Dev 11, 1098–1110. https://doi.org/10.1101/gad.11.9.1098

Campbell, K.S., Ogris, E., Burke, B., Su, W., Auger, K.R., Druker, B.J., Schaffhausen, B.S., Roberts, T.M., Pallas, D.C., 1994. Polyoma middle tumor antigen interacts with SHC protein via the NPTY (Asn-Pro-Thr-Tyr) motif in middle tumor antigen. Proc Natl Acad Sci U S A 91, 6344–6348.

Carter, J.J., Daugherty, M.D., Qi, X., Bheda-Malge, A., Wipf, G.C., Robinson, K., Roman, A., Malik, H.S., Galloway, D.A., 2013. Identification of an overprinting gene in Merkel cell polyomavirus provides evolutionary insight into the birth of viral genes. Proceedings of the National Academy of Sciences 110, 12744–12749. https://doi.org/10.1073/pnas.1303526110

Carty, M., Guy, C., Bowie, A.G., 2021. Detection of Viral Infections by Innate Immunity. Biochem Pharmacol 183, 114316. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114316

Chang, H.R., Munkhjargal, A., Kim, M.-J., Park, S.Y., Jung, E., Ryu, J.-H., Yang, Y., Lim, J.-S., Kim, Y., 2018. The functional roles of PML nuclear bodies in genome maintenance. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 809, 99–107. https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2017.05.002

Chen, L., Wang, X., Fluck, M.M., 2006. Independent Contributions of Polyomavirus Middle T and Small T to the Regulation of Early and Late Gene Expression and DNA Replication. J Virol 80, 7295–7307. https://doi.org/10.1128/JVI.00679-06

Cheng, J., Rozenblatt-Rosen, O., Paulson, K.G., Nghiem, P., DeCaprio, J.A., 2013. Merkel Cell Polyomavirus Large T Antigen Has Growth-Promoting and Inhibitory Activities. J Virol 87, 6118–6126. https://doi.org/10.1128/JVI.00385-13

Cheng, Q., Chen, J., 2010. Mechanism of p53 stabilization by ATM after DNA damage. Cell Cycle 9, 472–478. https://doi.org/10.4161/cc.9.3.10556

Chiang, C., Dvorkin, S., Chiang, J.J., Potter, R.B., Gack, M.U., 2021. The Small t Antigen of JC Virus Antagonizes RIG-I-Mediated Innate Immunity by Inhibiting TRIM25's RNA Binding Ability. mBio 12, e00620-21. https://doi.org/10.1128/mBio.00620-21

Chuang, T.-H., Ulevitch, R.J., 2001. Identification of hTLR10: a novel human Toll-like receptor preferentially expressed in immune cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression 1518, 157–161. https://doi.org/10.1016/S0167-4781(00)00289-X

Cicala, C., Avantaggiati, M.L., Graessmann, A., Rundell, K., Levine, A.S., Carbone, M., 1994. Simian virus 40 small-t antigen stimulates viral DNA replication in permissive monkey cells. J Virol 68, 3138–3144.

Cotsiki, M., Lock, R.L., Cheng, Y., Williams, G.L., Zhao, J., Perera, D., Freire, R., Entwistle, A., Golemis, E.A., Roberts, T.M., Jat, P.S., Gjoerup, O.V., 2004. Simian virus 40 large T antigen targets the spindle assembly checkpoint protein Bub1. Proc Natl Acad Sci U S A 101, 947–952. https://doi.org/10.1073/pnas.0308006100

Courtneidge, S.A., Goutebroze, L., Cartwright, A., Heber, A., Scherneck, S., Feunteun, J., 1991. Identification and characterization of the hamster polyomavirus middle T antigen. J Virol 65, 3301–3308. https://doi.org/10.1128/JVI.65.6.3301-3308.1991

Culleré, X., Rose, P., Thathamangalam, U., Chatterjee, A., Mullane, K.P., Pallas, D.C., Benjamin, T.L., Roberts, T.M., Schaffhausen, B.S., 1998. Serine 257 Phosphorylation Regulates Association of Polyomavirus Middle T Antigen with 14-3-3 Proteins. J Virol 72, 558–563.

Dahl, J., You, J., Benjamin, T.L., 2005. Induction and Utilization of an ATM Signaling Pathway by Polyomavirus. J Virol 79, 13007–13017. https://doi.org/10.1128/JVI.79.20.13007-13017.2005

Dangoria, N.S., Breau, W.C., Anderson, H.A., Cishek, D.M., Norkin, L.C.Y. 1996, 1996. Extracellular Simian Virus 40 Induces an ERK/MAP Kinase-independent Signalling Pathway that Activates Primary Response Genes and Promotes Virus Entry. Journal of General Virology 77, 2173–2182. https://doi.org/10.1099/0022-1317-77-9-2173

Daniels, R., Rusan, N.M., Wadsworth, P., Hebert, D.N., 2006. SV40 VP2 and VP3 Insertion into ER Membranes Is Controlled by the Capsid Protein VP1: Implications for DNA Translocation out of the ER. Molecular Cell 24, 955–966. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.11.001

De Gascun, C.F., Carr, M.J., 2013. Human Polyomavirus Reactivation: Disease Pathogenesis and Treatment Approaches. Clinical and Developmental Immunology 2013, e373579. https://doi.org/10.1155/2013/373579

de Kort, H., Heutinck, K.M., Ruben, J.M., Ede V. Silva, A., Wolthers, K.C., Hamann, J., ten Berge, I.J.M., 2017. Primary Human Renal-Derived Tubular Epithelial Cells Fail to Recognize and Suppress BK Virus Infection. Transplantation 101, 1820–1829. https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001521

DeCaprio, J.A., Ludlow, J.W., Figge, J., Shew, J.-Y., Huang, C.-M., Lee, W.-H., Marsilio, E., Paucha, E., Livingston, D.M., 1988. SV40 large tumor antigen forms a specific complex with the product of the retinoblastoma susceptibility gene. Cell 54, 275–283. https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90559-4

Dey, D., Dahl, J., Cho, S., Benjamin, T.L., 2002. Induction and Bypass of p53 during Productive Infection by Polyomavirus. Journal of Virology 76, 9526–9532. https://doi.org/10.1128/JVI.76.18.9526-9532.2002

Dugan, A.S., Gasparovic, M.L., Atwood, W.J., 2008. Direct Correlation between Sialic Acid Binding and Infection of Cells by Two Human Polyomaviruses (JC Virus and BK Virus). J Virol 82, 2560–2564. https://doi.org/10.1128/JVI.02123-07

Dunant, N.M., Senften, M., Ballmer-Hofer, K., 1996. Polyomavirus middle-T antigen associates with the kinase domain of Src-related tyrosine kinases. J Virol 70, 1323–1330.

Dunphy, G., Flannery, S.M., Almine, J.F., Connolly, D.J., Paulus, C., Jønsson, K.L., Jakobsen, M.R., Nevels, M.M., Bowie, A.G., Unterholzner, L., 2018. Non-canonical Activation of the DNA Sensing Adaptor STING by ATM and IFI16 Mediates NF-κB Signaling after Nuclear DNA Damage. Mol Cell 71, 745-760.e5. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.07.034

Eckner, R., Ludlow, J.W., Lill, N.L., Oldread, E., Arany, Z., Modjtahedi, N., DeCaprio, J.A., Livingston, D.M., Morgan, J.A., 1996. Association of p300 and CBP with simian virus 40 large T antigen. Mol Cell Biol 16, 3454–3464.

Falck, J., Coates, J., Jackson, S.P., 2005. Conserved modes of recruitment of ATM, ATR and DNA-PKcs to sites of DNA damage. Nature 434, 605–611. https://doi.org/10.1038/nature03442

Feng, H., Shuda, M., Chang, Y., Moore, P.S., 2008. Clonal Integration of a Polyomavirus in Human Merkel Cell Carcinoma. Science 319, 1096–1100. https://doi.org/10.1126/science.1152586

Feng, J., Witthuhn, B.A., Matsuda, T., Kohlhuber, F., Kerr, I.M., Ihle, J.N., 1997. Activation of Jak2 catalytic activity requires phosphorylation of Y1007 in the kinase activation loop. Mol Cell Biol 17, 2497–2501.

Forero, A., Giacobbi, N.S., McCormick, K.D., Gjoerup, O.V., Bakkenist, C.J., Pipas, J.M., Sarkar, S.N., 2014. SV40 Large T antigen induces ISGs through ATR Kinase. J Immunol 192, 5933–5942. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303470

Freund, R., Sotnikov, A., Bronson, R.T., Benjamin, T.L., 1992. Polyoma virus middle T is essential for virus replication and persistence as well as for tumor induction in mice. Virology 191, 716–723. https://doi.org/10.1016/0042-6822(92)90247-m

Frisque, R.J., Bream, G.L., Cannella, M.T., 1984. Human polyomavirus JC virus genome. Journal of Virology 51, 458–469. https://doi.org/10.1128/jvi.51.2.458-469.1984

Gack, M.U., Shin, Y.C., Joo, C.-H., Urano, T., Liang, C., Sun, L., Takeuchi, O., Akira, S., Chen, Z., Inoue, S., Jung, J.U., 2007. TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity. Nature 446, 916–920. https://doi.org/10.1038/nature05732

Gardner, SylviaD., Field, AnneM., Coleman, DulcieV., Hulme, B., 1971. NEW HUMAN PAPOVAVIRUS (B.K.) ISOLATED FROM URINE AFTER RENAL TRANSPLANTATION. The Lancet, Originally published as Volume 1, Issue 7712 297, 1253–1257. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(71)91776-4

Gasparovic, M.L., Maginnis, M.S., O'Hara, B.A., Dugan, A.S., Atwood, W.J., 2009. Modulation of PML protein expression regulates JCV infection. Virology 390, 279–288. https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.05.017

Gaynor, A.M., Nissen, M.D., Whiley, D.M., Mackay, I.M., Lambert, S.B., Wu, G., Brennan, D.C., Storch, G.A., Sloots, T.P., Wang, D., 2007. Identification of a Novel Polyomavirus from Patients with Acute Respiratory Tract Infections. PLOS Pathogens 3, e64. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030064

Germond, J.E., Hirt, B., Oudet, P., Gross-Bellark, M., Chambon, P., 1975. Folding of the DNA double helix in chromatin-like structures from simian virus 40. Proc Natl Acad Sci U S A 72, 1843–1847.

Gheit, T., Dutta, S., Oliver, J., Robitaille, A., Hampras, S., Combes, J.-D., McKay-Chopin, S., Le Calvez-Kelm, F., Fenske, N., Cherpelis, B., Giuliano, A.R., Franceschi, S., McKay, J., Rollison, D.E., Tommasino, M., 2017. Isolation and characterization of a novel putative human polyomavirus. Virology 506, 45–54. https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.03.007

Giacobbi, N.S., Gupta, T., Coxon, A., Pipas, J.M., 2015. Polyomavirus T Antigens Activate an Antiviral State. Virology 476, 377–385. https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.12.032

Gillick, K., Pollpeter, D., Phalora, P., Kim, E.-Y., Wolinsky, S.M., Malim, M.H., 2013. Suppression of HIV-1 Infection by APOBEC3 Proteins in Primary Human CD4+ T Cells Is Associated with Inhibition of Processive Reverse Transcription as Well as Excessive Cytidine Deamination. J Virol 87, 1508–1517. https://doi.org/10.1128/JVI.02587-12

Gottlieb, K.A., Villarreal, L.P., 2001. Natural Biology of Polyomavirus Middle T Antigen. Microbiol Mol Biol Rev 65, 288–318. https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.288-318.2001

Griffiths, D.A., Abdul-Sada, H., Knight, L.M., Jackson, B.R., Richards, K., Prescott, E.L., Peach, A.H.S., Blair, G.E., Macdonald, A., Whitehouse, A., 2013. Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Targets the NEMO Adaptor Protein To Disrupt Inflammatory Signaling. J Virol 87, 13853–13867. https://doi.org/10.1128/JVI.02159-13

Gross, L., 1953. A Filterable Agent, Recovered from Ak Leukemic Extracts, Causing Salivary Gland Carcinomas in C3H Mice. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 83, 414–421. https://doi.org/10.3181/00379727-83-20376

Guion, L., Bienkowska-Haba, M., DiGiuseppe, S., Florin, L., Sapp, M., 2019. PML nuclear body-residing proteins sequentially associate with HPV genome after infectious nuclear delivery. PLoS Pathog 15, e1007590. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007590

Harris, R.S., Petersen-Mahrt, S.K., Neuberger, M.S., 2002. RNA Editing Enzyme APOBEC1 and Some of Its Homologs Can Act as DNA Mutators. Molecular Cell 10, 1247–1253. https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00742-6

Hein, J., Boichuk, S., Wu, J., Cheng, Y., Freire, R., Jat, P.S., Roberts, T.M., Gjoerup, O.V., 2009. Simian Virus 40 Large T Antigen Disrupts Genome Integrity and Activates a DNA Damage Response via Bub1 Binding. J Virol 83, 117–127. https://doi.org/10.1128/JVI.01515-08

Heiser, K., Nicholas, C., Garcea, R.L., 2016. Activation of DNA damage repair pathways by murine polyomavirus. Virology 497, 346–356. https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.07.028

Helle, F., Brochot, E., Handala, L., Martin, E., Castelain, S., François, C., Duverlie, G., 2017. Biology of the BKPyV: An Update. Viruses 9. https://doi.org/10.3390/v9110327

Hesbacher, S., Pfitzer, L., Wiedorfer, K., Angermeyer, S., Borst, A., Haferkamp, S., Scholz, C.-J., Wobser, M., Schrama, D., Houben, R., 2016. RB1 is the crucial target of the Merkel cell polyomavirus Large T antigen in Merkel cell carcinoma cells. Oncotarget 7, 32956–32968. https://doi.org/10.18632/oncotarget.8793

Hirsch, H.H., Knowles, W., Dickenmann, M., Passweg, J., Klimkait, T., Mihatsch, M.J., Steiger, J., 2002. Prospective Study of Polyomavirus Type BK Replication and Nephropathy in Renal-Transplant Recipients. N Engl J Med 347, 488–496. https://doi.org/10.1056/NEJMoa020439

Hofmann, S., Stubbe, M., Mai, J., Schreiner, S., 2021. Double-edged role of PML nuclear bodies during human adenovirus infection. Virus Research 295, 198280. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198280

Hornung, V., Ablasser, A., Charrel-Dennis, M., Bauernfeind, F., Horvath, G., Caffrey, D.R., Latz, E., Fitzgerald, K.A., 2009. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1 activating inflammasome with ASC. Nature 458, 514–518. https://doi.org/10.1038/nature07725

Huang, J.-L., Lin, C.-S., Chang, C.-C., Lu, Y.-N., Hsu, Y.-L., Wong, T.-Y., Wang, Y.-F., 2015. Human JC virus small tumour antigen inhibits nucleotide excision repair and sensitises cells to DNA-damaging agents. Mutagenesis 30, 475–485. https://doi.org/10.1093/mutage/gev004

Itoh, H., Tatematsu, M., Watanabe, A., Iwano, K., Funami, K., Seya, T., Matsumoto, M., 2011. UNC93B1 Physically Associates with Human TLR8 and Regulates TLR8-Mediated Signaling. PLoS One 6, e28500. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028500

Jiang, M., Entezami, P., Gamez, M., Stamminger, T., Imperiale, M.J., 2011. Functional Reorganization of Promyelocytic Leukemia Nuclear Bodies during BK Virus Infection. mBio 2, e00281-10. https://doi.org/10.1128/mBio.00281-10

Jiang, M., Zhao, L., Gamez, M., Imperiale, M.J., 2012a. Roles of ATM and ATR-Mediated DNA Damage Responses during Lytic BK Polyomavirus Infection. PLoS Pathog 8, e1002898. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002898

Jiang, M., Zhao, L., Gamez, M., Imperiale, M.J., 2012b. Roles of ATM and ATR-Mediated DNA Damage Responses during Lytic BK Polyomavirus Infection. PLoS Pathog 8, e1002898. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002898

Jouhi, L., Koljonen, V., Böhling, T., Haglund, C., Hagström, J., 2015. The Expression of Toll-like Receptors 2, 4, 5, 7 and 9 in Merkel Cell Carcinoma. Anticancer Research 35, 1843–1849.

Juang, Y.-T., Lowther, W., Kellum, M., Au, W.-C., Lin, R., Hiscott, J., Pitha, P.M., 1998. Primary activation of interferon A and interferon B gene transcription by interferon regulatory factor 3. Proc Natl Acad Sci U S A 95, 9837–9842.

Jul-Larsen, Å., Visted, T., Karlsen, B.O., Rinaldo, C.H., Bjerkvig, R., Lønning, P.E., Bøe, S.O., 2004. PML-nuclear bodies accumulate DNA in response to polyomavirus BK and simian virus 40 replication. Experimental Cell Research 298, 58–73. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2004.03.045

Justice, J.L., Needham, J.M., Thompson, S.R., 2019. BK Polyomavirus Activates the DNA Damage Response To Prolong S Phase. J Virol 93, e00130-19. https://doi.org/10.1128/JVI.00130-19

Kamminga, S., van der Meijden, E., Feltkamp, M.C.W., Zaaijer, H.L., 2018. Seroprevalence of fourteen human polyomaviruses determined in blood donors. PLoS One 13, e0206273. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206273

Kanagaraj, A., Sakamoto, N., Que, L., Li, Y., Mohiuddin, M., Koura, M., Wakae, K., Kurachi, M., Muramatsu, M., Kitamura, K., 2019. Different antiviral activities of natural APOBEC3C, APOBEC3G, and APOBEC3H variants against hepatitis B virus. Biochemical and Biophysical Research Communications 518, 26–31. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.003

Kessler, D.S., Veals, S.A., Fu, X.Y., Levy, D.E., 1990. Interferon-alpha regulates nuclear translocation and DNA-binding affinity of ISGF3, a multimeric transcriptional activator. Genes Dev. 4, 1753–1765. https://doi.org/10.1101/gad.4.10.1753

Kim, Y.-E., Lee, J.-H., Kim, E.T., Shin, H.J., Gu, S.Y., Seol, H.S., Ling, P.D., Lee, C.H., Ahn, J.-H., 2011. Human Cytomegalovirus Infection Causes Degradation of Sp100 Proteins That Suppress Viral Gene Expression ▿ . J Virol 85, 11928–11937. https://doi.org/10.1128/JVI.00758-11

Knight, L.M., Stakaityte, G., Wood, J., J., Abdul-Sada, H., Griffiths, D.A., Howell, G.J., Wheat, R., Blair, G.E., Steven, N.M., Macdonald, A., Blackbourn, D.J., Whitehouse, A., 2014. Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Mediates Microtubule Destabilization To Promote Cell Motility and Migration. J Virol 89, 35–47. https://doi.org/10.1128/JVI.02317-14

Krump, N.A., Wang, R., Liu, W., Yang, J.F., Ma, T., You, J., 2021. Merkel Cell Polyomavirus Infection Induces an Antiviral Innate Immune Response in Human Dermal Fibroblasts. J Virol 95, e02211-20. https://doi.org/10.1128/JVI.02211-20

Kujirai, T., Zierhut, C., Takizawa, Y., Kim, R., Negishi, L., Uruma, N., Hirai, S., Funabiki, H., Kurumizaka, H., 2020. Structural basis for the inhibition of cGAS by nucleosomes. Science 370, 455–458. https://doi.org/10.1126/science.abd0237

Kwun, H.J., Shuda, M., Feng, H., Camacho, C.J., Moore, P.S., Chang, Y., 2013. Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Controls Viral Replication and Oncoprotein Expression by Targeting the Cellular Ubiquitin Ligase SCFFbw7. Cell Host Microbe 14, 125–135. https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.06.008

Lane, D.P., Crawford, L.V., 1979. T antigen is bound to a host protein in SY40-transformed cells. Nature 278, 261–263. https://doi.org/10.1038/278261a0

Lau, L., Gray, E.E., Brunette, R.L., Stetson, D.B., 2015. DNA tumor virus oncogenes antagonize the cGAS-STING DNA-sensing pathway. Science 350, 568–571. https://doi.org/10.1126/science.aab3291

Lazear, H.M., Schoggins, J.W., Diamond, M.S., 2019. Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. Immunity 50, 907–923. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.025

Leifer, C.A., Kennedy, M.N., Mazzoni, A., Lee, C., Kruhlak, M.J., Segal, D.M., 2004. TLR9 Is Localized in the Endoplasmic Reticulum Prior to Stimulation. The Journal of Immunology 173, 1179–1183. https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.2.1179

Leuenberger, D., Andresen, P.A., Gosert, R., Binggeli, S., Ström, E.H., Bodaghi, S., Rinaldo, C.H., Hirsch, H.H., 2007. Human Polyomavirus Type 1 (BK Virus) Agnoprotein Is Abundantly Expressed but Immunologically Ignored. Clin Vaccine Immunol 14, 959–968. https://doi.org/10.1128/CVI.00123-07

Liu, Q., Guntuku, S., Cui, X.-S., Matsuoka, S., Cortez, D., Tamai, K., Luo, G., Carattini-Rivera, S., DeMayo, F., Bradley, A., Donehower, L.A., Elledge, S.J., 2000. Chk1 is an essential kinase that is regulated by Atr and required for the G2/M DNA damage checkpoint. Genes Dev. 14, 1448–1459. https://doi.org/10.1101/gad.14.12.1448

Liu, S., Cai, X., Wu, J., Cong, Q., Chen, X., Li, T., Du, F., Ren, J., Wu, Y.-T., Grishin, N.V., Chen, Z.J., 2015. Phosphorylation of innate immune adaptor proteins MAVS, STING, and TRIF induces IRF3 activation. Science 347, aaa2630. https://doi.org/10.1126/science.aaa2630

Liu, T., Zhang, L., Joo, D., Sun, S.-C., 2017. NF-κB signaling in inflammation. Sig Transduct Target Ther 2, 1–9. https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23

Low, J.A., Magnuson, B., Tsai, B., Imperiale, M.J., 2006. Identification of Gangliosides GD1b and GT1b as Receptors for BK Virus. J Virol 80, 1361–1366. https://doi.org/10.1128/JVI.80.3.1361-1366.2006

Manzetti, J., Weissbach, F.H., Graf, F.E., Unterstab, G., Wernli, M., Hopfer, H., Drachenberg, C.B., Rinaldo, C.H., Hirsch, H.H., 2020. BK Polyomavirus Evades Innate Immune Sensing by Disrupting the Mitochondrial Network and Promotes Mitophagy. iScience 23, 101257. https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101257

Mao, Y.S., Zhang, B., Spector, D.L., 2011. Biogenesis and Function of Nuclear Bodies. Trends Genet 27, 295–306. https://doi.org/10.1016/j.tig.2011.05.006

Matsuoka, S., Rotman, G., Ogawa, A., Shiloh, Y., Tamai, K., Elledge, S.J., 2000. Ataxia telangiectasia-mutated phosphorylates Chk2 in vivo and in vitro. Proceedings of the National Academy of Sciences 97, 10389–10394. https://doi.org/10.1073/pnas.190030497

Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, P., Janeway, C.A., 1997. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. Nature 388, 394–397. https://doi.org/10.1038/41131

Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, P., Kopp, E., Stadlen, A., Chen, C., Ghosh, S., Janeway, C.A., 1998. MyD88 Is an Adaptor Protein in the hToll/IL-1 Receptor Family Signaling Pathways. Molecular Cell 2, 253–258. https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80136-7

Moens, U., Calvignac-Spencer, S., Lauber, C., Ramqvist, T., Feltkamp, M.C.W., Daugherty, M.D., Ehlers, B., 2017a. Virus Taxonomy The ICTV Report on Virus Classification and Taxon Nomenclature Polyomaviridae Chapter 24.

Moens, U., Krumbholz, A., Ehlers, B., Zell, R., Johne, R., Calvignac-Spencer, S., Lauber, C., 2017b. Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: An update. Infection, Genetics and Evolution 54, 18–38. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.06.011

Mor, O., Read, M., Fried, M., 1997. p53 in polyoma virus transformed REF52 cells. Oncogene 15, 3113–3119. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1201549

Moris, A., Murray, S., Cardinaud, S., 2014. AID and APOBECs span the gap between innate and adaptive immunity. Front Microbiol 5, 534. https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00534

Moriyama, T., Marquez, J.P., Wakatsuki, T., Sorokin, A., 2007. Caveolar Endocytosis Is Critical for BK Virus Infection of Human Renal Proximal Tubular Epithelial Cells. J Virol 81, 8552–8562. https://doi.org/10.1128/JVI.00924-07

Nakanishi, A., Shum, D., Morioka, H., Otsuka, E., Kasamatsu, H., 2002. Interaction of the Vp3 Nuclear Localization Signal with the Importin α2/β Heterodimer Directs Nuclear Entry of Infecting Simian Virus 40. J Virol 76, 9368–9377. https://doi.org/10.1128/JVI.76.18.9368-9377.2002

Nguyen, K.D., Lee, E.E., Yue, Y., Stork, J., Pock, L., North, J.P., Vandergriff, T., Cockerell, C., Hosler, G.A., Pastrana, D.V., Buck, C.B., Wang, R.C., 2017. Human Polyomavirus 6 and 7 Are Associated with a Pruritic and Dyskeratotic Dermatosis. J Am Acad Dermatol 76, 932-940.e3. https://doi.org/10.1016/j.jaad.2016.11.035

Nilsson, J., Miyazaki, N., Xing, L., Wu, B., Hammar, L., Li, T.C., Takeda, N., Miyamura, T., Cheng, R.H., 2005. Structure and Assembly of a T=1 Virus-Like Particle in BK Polyomavirus. J Virol 79, 5337–5345. https://doi.org/10.1128/JVI.79.9.5337-5345.2005

Nishiya, T., Kajita, E., Miwa, S., DeFranco, A.L., 2005. TLR3 and TLR7 Are Targeted to the Same Intracellular Compartments by Distinct Regulatory Elements*♦. Journal of Biological Chemistry 280, 37107–37117. https://doi.org/10.1074/jbc.M504951200

Nunbhakdi-Craig, V., Craig, L., Machleidt, T., Sontag, E., 2003. Simian virus 40 small tumor antigen induces deregulation of the actin cytoskeleton and tight junctions in kidney epithelial cells. J Virol 77, 2807–2818. https://doi.org/10.1128/jvi.77.5.2807-2818.2003

Oeckinghaus, A., Ghosh, S., 2009. The NF-κB Family of Transcription Factors and Its Regulation. Cold Spring Harb Perspect Biol 1, a000034. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000034

Ogris, E., Mudrak, I., Mak, E., Gibson, D., Pallas, D.C., 1999. Catalytically Inactive Protein Phosphatase 2A Can Bind to Polyomavirus Middle Tumor Antigen and Support Complex Formation with pp60c-src. J Virol 73, 7390–7398.

Orba, Y., Suzuki, T., Makino, Y., Kubota, K., Tanaka, S., Kimura, T., Sawa, H., 2010. Large T Antigen Promotes JC Virus Replication in G2-arrested Cells by Inducing ATM- and ATR-mediated G2 Checkpoint Signaling. J Biol Chem 285, 1544–1554. https://doi.org/10.1074/jbc.M109.064311

Padgett, BillieL., Zurhein, GabrieleM., Walker, DuardL., Eckroade, RobertJ., Dessel, BertH., 1971. CULTIVATION OF PAPOVA-LIKE VIRUS FROM HUMAN BRAIN WITH PROGRESSIVE MULTIFOCAL LEUCOENCEPHALOPATHY. The Lancet, Originally published as Volume 1, Issue 7712 297, 1257–1260. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(71)91777-6

Pankiv, S., Alemu, E.A., Brech, A., Bruun, J.-A., Lamark, T., Øvervatn, A., Bjørkøy, G., Johansen, T., 2010. FYCO1 is a Rab7 effector that binds to LC3 and PI3P to mediate microtubule plus end–directed vesicle transport. Journal of Cell Biology 188, 253–269. https://doi.org/10.1083/jcb.200907015

Peretti, A., Geoghegan, E.M., Pastrana, D.V., Smola, S., Feld, P., Sauter, M., Lohse, S., Ramesh, M., Lim, E.S., Wang, D., Borgogna, C., FitzGerald, P.C., Bliskovsky, V., Starrett, G.J., Law, E.K., Harris, R.S., Killian, J.K., Zhu, J., Pineda, M., Meltzer, P.S., Boldorini, R., Gariglio, M., Buck, C.B., 2018. Characterization of BK polyomaviruses from kidney transplant recipients suggests a role for APOBEC3 in driving in-host virus evolution. Cell Host Microbe 23, 628-635.e7. https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.04.005

Pham, L.N., Dionne, M.S., Shirasu-Hiza, M., Schneider, D.S., 2007. A Specific Primed Immune Response in Drosophila Is Dependent on Phagocytes. PLoS Pathog 3, e26. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030026

Pho, M.T., Ashok, A., Atwood, W.J., 2000. JC Virus Enters Human Glial Cells by Clathrin-Dependent Receptor-Mediated Endocytosis. J Virol 74, 2288–2292.

Platanias, L.C., 2005. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. Nat Rev Immunol 5, 375–386. https://doi.org/10.1038/nri1604

Platanitis, E., Demiroz, D., Schneller, A., Fischer, K., Capelle, C., Hartl, M., Gossenreiter, T., Müller, M., Novatchkova, M., Decker, T., 2019. A molecular switch from STAT2-IRF9 to ISGF3 underlies interferon-induced gene transcription. Nat Commun 10, 2921. https://doi.org/10.1038/s41467-019-10970-y

Poulain, F., Lejeune, N., Willemart, K., Gillet, N.A., 2020. Footprint of the host restriction factors APOBEC3 on the genome of human viruses. PLoS Pathog 16, e1008718. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008718

Prezioso, C., Van Ghelue, M., Moens, U., Pietropaolo, V., 2021. HPyV6 and HPyV7 in urine from immunocompromised patients. Virol J 18, 24. https://doi.org/10.1186/s12985-021-01496-1

Purighalla, R., Shapiro, R., McCauley, J., Randhawa, P., 1995. BK virus infection in a kidney allograft diagnosed by needle biopsy. American Journal of Kidney Diseases 26, 671–673. https://doi.org/10.1016/0272-6386(95)90608-8

Qian, W., Wiman, K.G., 2000. Polyoma virus middle T and small t antigens cooperate to antagonize p53-induced cell cycle arrest and apoptosis. Cell Growth Differ 11, 31–39.

Que, L., Li, Y., Dainichi, T., Kukimoto, I., Nishiyama, T., Nakano, Y., Shima, K., Suzuki, T., Sato, Y., Horike, S., Aizaki, H., Watashi, K., Kato, T., Aly, H.H., Watanabe, N., Kabashima, K., Wakae, K., Muramatsu, M., 2022. IFN-γ–Induced APOBEC3B Contributes to Merkel Cell Polyomavirus Genome Mutagenesis in Merkel Cell Carcinoma. Journal of Investigative Dermatology 142, 1793-1803.e11. https://doi.org/10.1016/j.jid.2021.12.019

Rathi, A.V., Cantalupo, P.G., Sarkar, S.N., Pipas, J.M., 2010. Induction of Interferon-Stimulated Genes by Simian Virus 40 T Antigens. Virology 406, 202–211. https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.07.018

Rehwinkel, J., Gack, M.U., 2020. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing. Nat Rev Immunol 1–15. https://doi.org/10.1038/s41577-020-0288-3

Resnick, J., Shenk, T., 1986. Simian virus 40 agnoprotein facilitates normal nuclear location of the major capsid polypeptide and cell-to-cell spread of virus. J Virol 60, 1098–1106.

Reus, J.B., Trivino-Soto, G.S., Wu, L.I., Kokott, K., Lim, E.S., 2020. SV40 Large T Antigen Is Not Responsible for the Loss of STING in 293T Cells but Can Inhibit cGAS-STING Interferon Induction. Viruses 12, 137. https://doi.org/10.3390/v12020137

Reymond, A., Meroni, G., Fantozzi, A., Merla, G., Cairo, S., Luzi, L., Riganelli, D., Zanaria, E., Messali, S., Cainarca, S., Guffanti, A., Minucci, S., Pelicci, P.G., Ballabio, A., 2001. The tripartite motif family identifies cell compartments. EMBO J 20, 2140–2151. https://doi.org/10.1093/emboj/20.9.2140

Ribeiro, A., Wörmle, M., Motamedi, N., Anders, H.J., Gröne, E.F., Nitschko, H., Kurktschiev, P., Debiec, H., Kretzler, M., Cohen, C.D., Gröne, H.J., Schlöndorff, D., Schmid, H., 2012. Activation of innate immune defense mechanisms contributes to polyomavirus BK-associated nephropathy. Kidney International 81, 100–111. https://doi.org/10.1038/ki.2011.311

Richards, K.F., Guastafierro, A., Shuda, M., Toptan, T., Moore, P.S., Chang, Y., 2015. Merkel cell polyomavirus T antigens promote cell proliferation and inflammatory cytokine gene expression. J Gen Virol 96, 3532–3544. https://doi.org/10.1099/jgv.0.000287

Richterová, Z., Liebl, D., Horák, M., Palková, Z., Stokrová, J., Hozák, P., Korb, J., Forstová, J., 2001. Caveolae are involved in the trafficking of mouse polyomavirus virions and artificial VP1 pseudocapsids toward cell nuclei. J Virol 75, 10880–10891. https://doi.org/10.1128/JVI.75.22.10880-10891.2001

Rinaldo, C.H., Traavik, T., Hey, A., 1998. The Agnogene of the Human Polyomavirus BK Is Expressed. J Virol 72, 6233–6236.

Ryabchenko, B., Soldatova, I., Šroller, V., Forstová, J., Huérfano, S., 2021. Immune sensing of mouse polyomavirus DNA by p204 and cGAS DNA sensors. FEBS J 288, 5964–5985. https://doi.org/10.1111/febs.15962

Salter, J.D., Bennett, R.P., Smith, H.C., 2016. The APOBEC Protein Family: United by Structure, Divergent in Function. Trends Biochem Sci 41, 578–594. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.05.001

Schelhaas, M., Malmström, J., Pelkmans, L., Haugstetter, J., Ellgaard, L., Grünewald, K., Helenius, A., 2007. Simian Virus 40 Depends on ER Protein Folding and Quality Control Factors for Entry into Host Cells. Cell 131, 516–529. https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.09.038

Scherer, M., Stamminger, T., 2016. Emerging Role of PML Nuclear Bodies in Innate Immune Signaling. Journal of Virology 90, 5850–5854. https://doi.org/10.1128/JVI.01979-15

Schindler, C., Shuai, K., Prezioso, V.R., Darnell, J.E., 1992. Interferon-Dependent Tyrosine Phosphorylation of a Latent Cytoplasmic Transcription Factor. Science 257, 809–813. https://doi.org/10.1126/science.1496401

Schneider, W.M., Chevillotte, M.D., Rice, C.M., 2014. Interferon-Stimulated Genes: A Complex Web of Host Defenses. Annu Rev Immunol 32, 513–545. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120231

Schowalter, R.M., Buck, C.B., 2013. The Merkel Cell Polyomavirus Minor Capsid Protein. PLoS Pathog 9, e1003558. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003558

Schowalter, R.M., Pastrana, D.V., Pumphrey, K.A., Moyer, A.L., Buck, C.B., 2010. Merkel Cell Polyomavirus and Two Novel Polyomaviruses Are Chronically Shed from Human Skin. Cell Host Microbe 7, 509–515. https://doi.org/10.1016/j.chom.2010.05.006

Seguin, S.P., Ireland, A.W., Gupta, T., Wright, C.M., Miyata, Y., Wipf, P., Pipas, J.M., Gestwicki, J.E., Brodsky, J.L., 2012. A Screen for Modulators of Large T Antigen's ATPase Activity Uncovers Novel Inhibitors of Simian Virus 40 and BK Virus Replication. Antiviral Res 96, 70–81. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.07.012

Shahzad, N., Shuda, M., Gheit, T., Kwun, H.J., Cornet, I., Saidj, D., Zannetti, C., Hasan, U., Chang, Y., Moore, P.S., Accardi, R., Tommasino, M., 2013. The T Antigen Locus of Merkel Cell Polyomavirus Downregulates Human Toll-Like Receptor 9 Expression. J Virol 87, 13009–13019. https://doi.org/10.1128/JVI.01786-13

Shapiro, M., Krug, L.T., MacCarthy, T., 2021. Mutational pressure by host APOBEC3s more strongly affects genes expressed early in the lytic phase of herpes simplex virus-1 (HSV-1) and human polyomavirus (HPyV) infection. PLoS Pathog 17, e1009560. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009560

Shi, Y., Dodson, G.E., Shaikh, S., Rundell, K., Tibbetts, R.S., 2005. Ataxia-telangiectasia-mutated (ATM) Is a T-antigen Kinase That Controls SV40 Viral Replication in Vivo*. Journal of Biological Chemistry 280, 40195–40200. https://doi.org/10.1074/jbc.C500400200

Shuda, M., Arora, R., Kwun, H.J., Feng, H., Sarid, R., Fernández-Figueras, M.-T., Tolstov, Y., Gjoerup, O., Mansukhani, M.M., Swerdlow, S.H., Chaudhary, P.M., Kirkwood, J.M., Nalesnik, M.A., Kant, J.A., Weiss, L.M., Moore, P.S., Chang, Y., 2009. Human Merkel cell polyomavirus infection I. MCV T antigen expression in Merkel cell carcinoma, lymphoid tissues and lymphoid tumors. Int J Cancer 125, 1243–1249. https://doi.org/10.1002/ijc.24510

Slinskey, A., Barnes, D., Pipas, J.M., 1999. Simian Virus 40 Large T Antigen J Domain and Rb-Binding Motif Are Sufficient To Block Apoptosis Induced by Growth Factor Withdrawal in a Neural Stem Cell Line. J Virol 73, 6791–6799.

Soldatova, I., Prilepskaja, T., Abrahamyan, L., Forstová, J., Huérfano, S., 2018. Interaction of the Mouse Polyomavirus Capsid Proteins with Importins Is Required for Efficient Import of Viral DNA into the Cell Nucleus. Viruses 10, 165. https://doi.org/10.3390/v10040165

Sotillo, E., Garriga, J., Kurimchak, A., Graña, X., 2008. Cyclin E and SV40 Small t Antigen Cooperate to Bypass Quiescence and Contribute to Transformation by Activating CDK2 in Human Fibroblasts. J Biol Chem 283, 11280–11292. https://doi.org/10.1074/jbc.M709055200

Sowd, G.A., Li, N.Y., Fanning, E., 2013. ATM and ATR Activities Maintain Replication Fork Integrity during SV40 Chromatin Replication. PLoS Pathog 9, e1003283. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003283

Srinivasan, A., McClellan, A.J., Vartikar, J., Marks, I., Cantalupo, P., Li, Y., Whyte, P., Rundell, K., Brodsky, J.L., Pipas, J.M., 1997. The amino-terminal transforming region of simian virus 40 large T and small t antigens functions as a J domain. Mol Cell Biol 17, 4761–4773.

Starrett, G.J., Serebrenik, A.A., Roelofs, P.A., McCann, J.L., Verhalen, B., Jarvis, M.C., Stewart, T.A., Law, E.K., Krupp, A., Jiang, M., Martens, J.W.M., Cahir-McFarland, E., Span, P.N., Harris, R.S., 2019. Polyomavirus T Antigen Induces APOBEC3B Expression Using an LXCXE-Dependent and TP53-Independent Mechanism. mBio 10, e02690-18. https://doi.org/10.1128/mBio.02690-18

Stubdal, H., Zalvide, J., Campbell, K.S., Schweitzer, C., Roberts, T.M., DeCaprio, J.A., 1997. Inactivation of pRB-related proteins p130 and p107 mediated by the J domain of simian virus 40 large T antigen. Mol Cell Biol 17, 4979–4990.

Sullivan, C.S., Gilbert, S.P., Pipas, J.M., 2001. ATP-Dependent Simian Virus 40 T-Antigen–Hsc70 Complex Formation. J Virol 75, 1601–1610. https://doi.org/10.1128/JVI.75.4.1601-1610.2001

Sullivan, C.S., Grundhoff, A.T., Tevethia, S., Pipas, J.M., Ganem, D., 2005. SV40-encoded microRNAs regulate viral gene expression and reduce susceptibility to cytotoxic T cells. Nature 435, 682–686. https://doi.org/10.1038/nature03576

Sun, L., Wu, J., Du, F., Chen, X., Chen, Z.J., 2013. Cyclic GMP-AMP Synthase is a Cytosolic DNA Sensor that Activates the Type-I Interferon Pathway. Science 339, 10.1126/science.1232458. https://doi.org/10.1126/science.1232458

Suzuki, T., Semba, S., Sunden, Y., Orba, Y., Kobayashi, S., Nagashima, K., Kimura, T., Hasegawa, H., Sawa, H., 2012. Role of JC virus agnoprotein in virion formation. Microbiology and Immunology 56, 639–646. https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2012.00484.x

Takaoka, A., Wang, Z., Choi, M.K., Yanai, H., Negishi, H., Ban, T., Lu, Y., Miyagishi, M., Kodama, T., Honda, K., Ohba, Y., Taniguchi, T., 2007. DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response. Nature 448, 501–505. https://doi.org/10.1038/nature06013

Takeshita, F., Suzuki, K., Sasaki, S., Ishii, N., Klinman, D.M., Ishii, K.J., 2004. Transcriptional Regulation of the Human TLR9 Gene. The Journal of Immunology 173, 2552–2561. https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.4.2552

Takeuchi, O., Akira, S., 2010. Pattern recognition receptors and inflammation. Cell 140, 805–820. https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022

Tanaka, Y., Chen, Z.J., 2012. STING Specifies IRF3 phosphorylation by TBK1 in the Cytosolic DNA Signaling Pathway. Sci Signal 5, ra20. https://doi.org/10.1126/scisignal.2002521

Uchil, P.D., Hinz, A., Siegel, S., Coenen-Stass, A., Pertel, T., Luban, J., Mothes, W., 2013. TRIM Protein-Mediated Regulation of Inflammatory and Innate Immune Signaling and Its Association with Antiretroviral Activity. J Virol 87, 257–272. https://doi.org/10.1128/JVI.01804-12

Unterholzner, L., Keating, S.E., Baran, M., Horan, K.A., Jensen, S.B., Sharma, S., Sirois, C.M., Jin, T., Xiao, T., Fitzgerald, K.A., Paludan, S.R., Bowie, A.G., 2010. IFI16 is an innate immune sensor for intracellular DNA. Nat Immunol 11, 997–1004. https://doi.org/10.1038/ni.1932

van der Meer, J.W.M., Joosten, L.A.B., Riksen, N., Netea, M.G., 2015. Trained immunity: A smart way to enhance innate immune defence. Molecular Immunology, Festschrift for Moh Daha 68, 40–44. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.06.019

van der Meijden, E., Janssens, R.W.A., Lauber, C., Bouwes Bavinck, J.N., Gorbalenya, A.E., Feltkamp, M.C.W., 2010. Discovery of a New Human Polyomavirus Associated with Trichodysplasia Spinulosa in an Immunocompromized Patient. PLoS Pathog 6, e1001024. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001024

van der Meijden, E., Kazem, S., Dargel, C.A., van Vuren, N., Hensbergen, P.J., Feltkamp, M.C.W., 2015. Characterization of T Antigens, Including Middle T and Alternative T, Expressed by the Human Polyomavirus Associated with Trichodysplasia Spinulosa. J Virol 89, 9427–9439. https://doi.org/10.1128/JVI.00911-15

Verhalen, B., Starrett, G.J., Harris, R.S., Jiang, M., 2016. Functional Upregulation of the DNA Cytosine Deaminase APOBEC3B by Polyomaviruses. J Virol 90, 6379–6386. https://doi.org/10.1128/JVI.00771-16

Verma, S., Ziegler, K., Ananthula, P., Co, J.K.G., Frisque, R.J., Yanagihara, R., Nerurkar, V.R., 2006. JC virus induces altered patterns of cellular gene expression: Interferon-inducible genes as major transcriptional targets. Virology 345, 457–467. https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.10.012

Wang, X., Li, J., Schowalter, R.M., Jiao, J., Buck, C.B., You, J., 2012. Bromodomain Protein Brd4 Plays a Key Role in Merkel Cell Polyomavirus DNA Replication. PLoS Pathog 8, e1003021. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003021

Warren, C.J., Xu, T., Guo, K., Griffin, L.M., Westrich, J.A., Lee, D., Lambert, P.F., Santiago, M.L., Pyeon, D., 2014. APOBEC3A Functions as a Restriction Factor of Human Papillomavirus. J Virol 89, 688–702. https://doi.org/10.1128/JVI.02383-14

Weitzman, M.D., Fradet-Turcotte, A., 2018. Virus DNA Replication and the Host DNA Damage Response. Annu Rev Virol 5, 141–164. https://doi.org/10.1146/annurev-virology-092917-043534

White, M.K., Bellizzi, A., Ibba, G., Pietropaolo, V., Palamara, A.T., Wollebo, H.S., 2017. The DNA damage response promotes polyomavirus JC infection by nucleus to cytoplasm NF- kappaB activation. Virol J 14, 31. https://doi.org/10.1186/s12985-017-0707-7

White, M.K., Kaminski, R., Khalili, K., Wollebo, H.S., 2014. Rad51 Activates Polyomavirus JC Early Transcription. PLoS One 9, e110122. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110122

Wollebo, H.S., Bellizzi, A., Cossari, D.H., Salkind, J., Safak, M., White, M.K., 2016. The Brd4 acetyllysine-binding protein is involved in activation of polyomavirus JC. J Neurovirol 22, 615–625. https://doi.org/10.1007/s13365-016-0435-6

Xiao, G., Harhaj, E.W., Sun, S.-C., 2001. NF-κB-Inducing Kinase Regulates the Processing of NF-κB2 p100. Molecular Cell 7, 401–409. https://doi.org/10.1016/S1097-2765(01)00187-3

Yoneyama, M., Kikuchi, M., Natsukawa, T., Shinobu, N., Imaizumi, T., Miyagishi, M., Taira, K., Akira, S., Fujita, T., 2004. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. Nat Immunol 5, 730–737. https://doi.org/10.1038/ni1087

Zerrahn, J., Knippschild, U., Winkler, T., Deppert, W., 1993. Independent expression of the transforming amino-terminal domain of SV40 large I antigen from an alternatively spliced third SV40 early mRNA. EMBO J 12, 4739–4746.

Zhao, F., Hou, N.-B., Yang, X.-L., He, X., Liu, Y., Zhang, Y.-H., Wei, C.-W., Song, T., Li, L., Ma, Q.-J., Zhong, H., 2008. Ataxia telangiectasia-mutated-Rad3-related DNA damage checkpoint signaling pathway triggered by hepatitis B virus infection. World J Gastroenterol 14, 6163–6170. https://doi.org/10.3748/wjg.14.6163

Zhao, J., Jia, Y., Shen, S., Kim, J., Wang, X., Lee, E., Brownell, I., Cho-Vega, J.H., Lewis, C., Homsi, J., Sharma, R.R., Wang, R.C., 2020. Merkel Cell Polyomavirus Small T Antigen Activates Non-Canonical NF-κB Signaling to Promote Tumorigenesis. Mol Cancer Res 18, 1623–1637. https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-20-0587

Zhou, Z., Hamming, O.J., Ank, N., Paludan, S.R., Nielsen, A.L., Hartmann, R., 2007. Type III Interferon (IFN) Induces a Type I IFN-Like Response in a Restricted Subset of Cells through Signaling Pathways Involving both the Jak-STAT Pathway and the Mitogen-Activated Protein Kinases. J Virol 81, 7749–7758. https://doi.org/10.1128/JVI.02438-06