

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Martin Kubů

Vliv deaminasy adenosinu v RNA na virovou infekci eukaryotických buněk
Effect of adenosine deaminase acting on RNA on viral infection of eukaryotic cells

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Václav Vopálenský, Ph.D.

Praha, 2020

Poděkování

Rád bych poděkoval svému školiteli, Mgr. Václavu Vopálenskému, Ph.D., za pomoc a rady při psaní této práce, svým rodičům za poskytnutí prostředků umožňujících mou existenci a stvořiteli všehomíru za navrhnutí struktury kofeinu podobné té adenosinu.

Prohlášení

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

V Praze, 5. 6. 2020

Martin Kubů

Abstrakt:

Dvouvláknová RNA, molekula běžně se v buňkách nevyskytující, je typickým znakem virových infekcí. Tato molekula také slouží jako substrát enzymů skupiny ADAR, které způsobují konversi adenosinu na inosin, který je obvykle následně rozpoznáván buněčnou mašinerií jako guanosin. Kromě této editační aktivity interagují enzymy skupiny ADAR i s různými buněčnými proteiny, jako například s komplexem Dicer a s protein kinázou R, což spolu s editací dsRNA ovlivňuje replikaci virů. V této práci jsou zpracovány informace o antivirální aktivitě enzymů skupiny ADAR a jejich vlivu na infekci vybraných, zejména lidských, virů.

Klíčová slova: ADAR, virová infekce, dvouvláknová RNA, editace RNA, PKR

Abstract:

Double-stranded RNA is a molecule rarely found in a cell, but it is specific for viral infection. It is also a substrate of ADAR enzymes. These enzymes convert adenosin to inosine, which is recognized as guanosine by cellular machinery. Apart from editing activity, ADAR enzymes interact with cellular proteins, such as Dicer and protein kinase R, which together with editing affects viral replication. In this work, the information about antiviral activity of ADAR enzymes and their impact on infection of selected primarily human viruses is reviewed.

Key words: ADAR, viral infection, double-stranded RNA, RNA editing, PKR

Obsah

1. Úvod	1
2. Struktura a funkce enzymů skupiny ADAR	2
2.1 Struktura enzymů skupiny ADAR.....	2
2.2 Na editaci závislé mechanismy inhibice replikace virů enzymy skupiny ADAR.....	4
2.3 Na editaci nezávislé mechanismy inhibice replikace enzymy skupiny ADAR.....	5
3. Lidské viry a ADAR	6
3.1 Virus spalniček.....	6
3.2 Virus hepatitidy typu C	7
3.3 Virus chřipky typu A.....	8
3.4 Virus lidské imunodeficiency 1.....	9
3.5 Virus hepatitidy typu B	12
3.6 Virus lymfocytární choriomeningitidy	14
4. Další savčí viry a ADAR.....	16
4.1 Virus bovinní virové diarrhey	16
4.2 Myší polyomavirus	17
5. Další vztahy enzymů skupiny ADAR a virů.....	19
5.1 Antivirální efekt enzymů skupiny ADAR mimo skupinu obratlovců.....	19
5.2 Provirální efekt enzymů skupiny ADAR	19
6. Závěr	20
Seznam použité literatury	22

Seznam použitých zkratek

A	adenosin	adenosine
ADAR	deaminasa adenosinu účinkující na dsRNA	adenosine deaminase acting on dsRNA
BVDV	virus bovinní virové diarrhey	bovine viral diarrhea virus
cccDNA	kovalentně uzavřená kruhová DNA	covalently closed circular DNA
C	cytosin	cytosine
CRIPR/Cas9	bakteriální systém imunitní ochrany před cizorodou DNA, využíváný pro cílenou mutagenezi	clustered regularly interspaced short palindromic repeats
DNA	deoxyribonukleová kyselina	deoxyribonucleic acid
dsDNA	dvouvláknová DNA	double-stranded DNA
dsRNA	dvouvláknová RNA	double-stranded RNA
G	guanin	guanine
GP	glykoprotein	glycoprotein
HBV	virus hepatitidy typu B	hepatitis B virus
HCV	virus hepatitidy typu C	hepatitis C virus
HIV	virus lidské imunodeficiency	human immunodeficiency virus
I	inosin	inosine
IAV	virus chřipky A	influenza A virus
IFN-α	interferon α	interferon α
IRES	vnitřní místo pro vstup ribosomu	internal ribosome entry site
kb	kilobáze	kilobase
Mdm2	ubiquitin ligáza	mouse double minute 2 homolog
MEF	myší epiteliální fibroblasty	mouse epithelial fibroblast
miRNA	mikroRNA	microRNA
MPyV	myší polyomavirus	murine polyomavirus
MV	virus spalniček	measles virus
PACT	proteinový aktivátor RNA-dependentní protein kinasy	RNA-dependent protein kinase activator A

PKR	protein kinasa R	protein kinase R
RISC	RNA-indukovaný tlumící komplex	RNA-induced silencing complex
RNA	ribonukleová kyselina	ribonucleic acid
RRE	segment na virové mRNA genu Env interagující s proteinem Rev	rev response element
shRNA	krátká vlásenková RNA	short hairpin RNA
siRNA	krátká interferující RNA	short interfering RNA
ssDNA	jednovláknová DNA	single-stranded DNA
SSPE	subakutní sklerotizující panencefalitida	subacute sclerosing panencephalitis
ssRNA	jednovláknová RNA	single-stranded RNA
tRNA	transferová RNA	transfer RNA
U	uridin	uridine
UTR	nepřekládaná oblast	untranslated region
VAI RNA	RNA asociovaná s viry	viral associated RNA

1. Úvod

Deaminasy adenosinu účinkující na dsRNA (zkráceně ADAR) jsou skupinou buněčných, dsRNA vazebných proteinů způsobujících záměny adenosinu na inosin (A-na-I záměny) na molekulách dsRNA (Bass & Weintraub, 1988; Wagner et al., 1989). Tato skupina enzymů je nejspíše odvozena od enzymů skupiny ADAT, což jsou deaminasy adenosinu účinkující na molekulách tRNA (Gerber et al., 1998). Skupina enzymů ADAR je velmi konzervovaná, k jejímu vzniku došlo pravděpodobně u již společného předka všech živočichů, neboť enzymy skupiny ADAR lze najít téměř u všech tvorů napříč živočišnou říší, ale nikoli už mimo ni (Grice & Degnan, 2015).

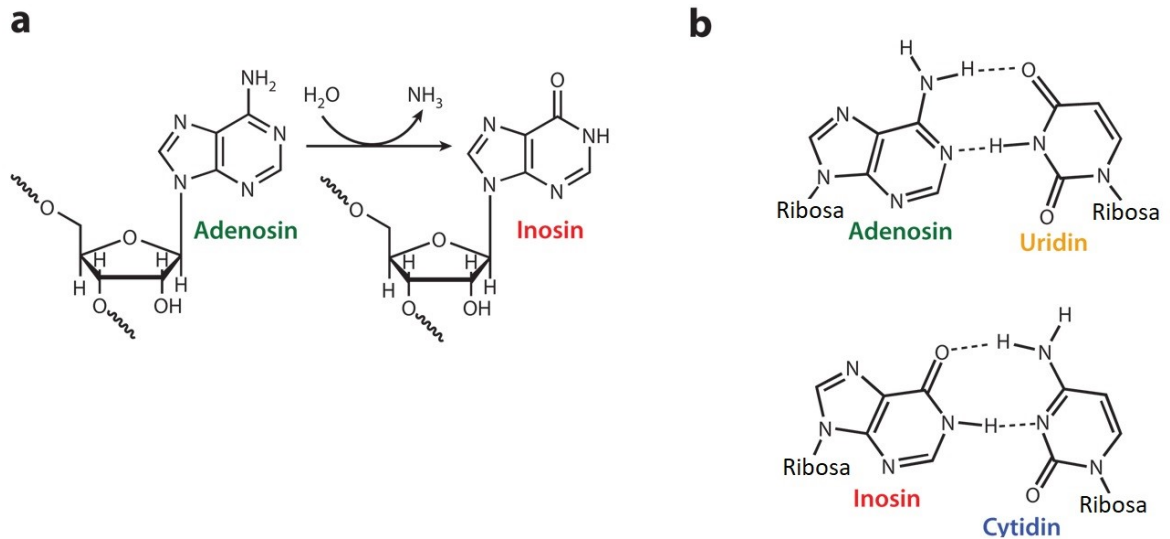
Enzymy skupiny ADAR zastávají v buňce více funkcí. Jsou například nezbytné pro vývoj embrya, kde zajišťují krvetvorbu v játrech a brání embryu před stresem indukovanou apoptosou (Q. Wang et al., 2004). Pomocí ovlivnění editace RNA způsobují diversifikaci sekvencí a funkcí iontových kanálů (Q. Wang et al., 2004). Fungují také jako supresory interferonové signalizace, čímž brání autoimunitním reakcím a chronickému zánětu (Hartner et al., 2009). Skrze editaci RNA, inhibici interferonové signalizace a také díky roli v na editaci nezávislé podpoře produkce miRNA mají enzymy skupiny ADAR pozitivní vliv i na přežití rakovinných buněk a diversitu jejich COPA proteinů (Chan et al., 2014; Gannon et al., 2018; Peng et al., 2018; Qi et al., 2017).

Vzhledem k tomu, že substrátem těchto enzymů jsou molekuly dsRNA, které jsou specifické pro virovou infekci, mají enzymy skupiny ADAR také vliv na virovou infekci, nicméně jejich efekt na replikaci různých virů se velmi liší (Samuel, 2011). Cílem této práce je shromáždit a zpracovat informace o procesech, kterými enzymy skupiny ADAR pomáhají lidským buňkám v obraně proti virové infekci a hrají tedy roli v obraně organismu proti virovým infekcím.

2. Struktura a funkce enzymů skupiny ADAR

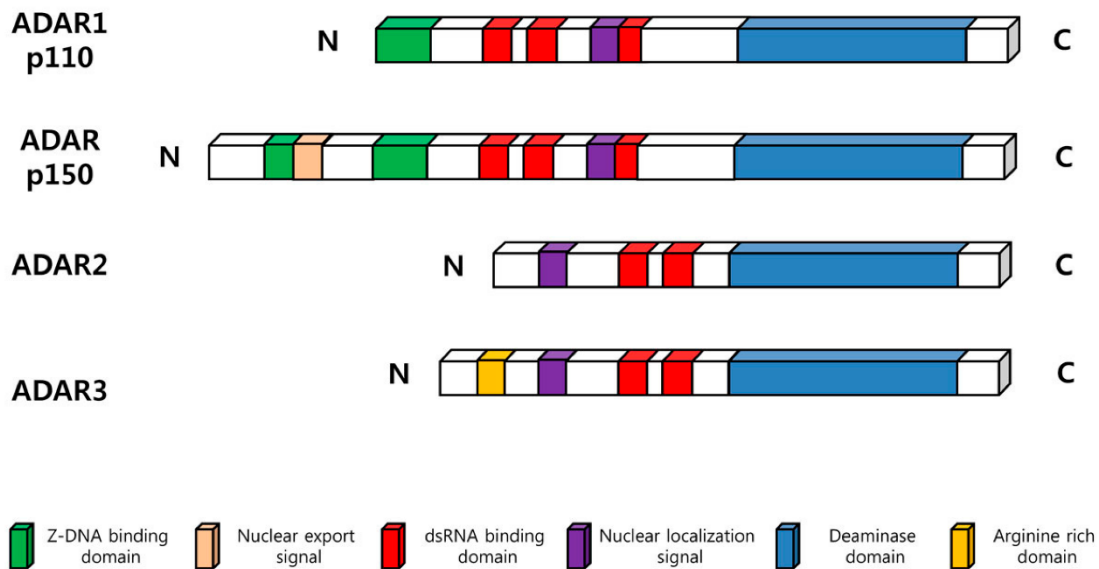
2.1 Struktura enzymů skupiny ADAR

Enzymy skupiny ADAR jsou schopny hydrolytickou deaminací konvertovat v molekulách dsRNA adenosin na inosin, který je následně rozpoznáván buněčnými systémy jako guanosin (viz **Obrázek 1**) (Savva et al., 2012; Walkley & Li, 2017), čímž tedy zavádí do molekul RNA bodovou mutaci.



Obrázek 1: a) hydrolytická deaminace adenosinu na inosin; b) adenosin páruje s uridinem, kdežto inosin s cytidinem upraveno dle (Nishikura, 2010)

V lidských buňkách jsou známy tři varianty enzymu ADAR; jaderný ADAR1 s konstitutivně exprimovanou isoformou ADAR1p110 a s v cytoplasmě se vyskytující, interferony indukovatelnou, isoformou ADAR1p150 (J B Patterson & Samuel, 1995; Savva et al., 2012). Další varianty enzymů ADAR jsou jaderně lokalizované varianty ADAR2 a ADAR3, které se vyskytující výhradně v mozkové tkáni, zejména v amygdale, thalamu a postmitotických neuronech (Chen et al., 2000; Savva et al., 2012).



Obrázek 2: Enzymy skupiny ADAR a jejich domény (Cho et al., 2017).

Enzymy ADAR1 a ADAR2, nikoliv však ADAR3, fungují jako dimery, což je nezbytné pro jejich katalytickou aktivitu (Cho et al., 2003). ADAR1 a ADAR2 však netvoří výhradně homodimery, byly pozorovány heterodimery tvořené enzymy ADAR1 a ADAR2 (Chilibeck et al., 2006) a heterodimery enzymu ADAR1 s enzymem Dicer (Ota et al., 2013). Dimery tvořící ADAR3 je katalyticky inaktivní, ale nejspíše hraje roli při regulaci editace RNA (Chen et al., 2000). Z hlediska struktury domén jsou si enzymy skupiny ADAR velice podobné (viz **Obrázek 2**). ADAR1p150 obsahuje na svém N-konci dvě Z-DNA domény (ADAR1p110 pouze jednu) a tři RNA vazebné domény, zatímco ADAR2 a ADAR3 obsahují na svém N-konci pouze dvě RNA vazebné domény. ADAR3 obsahuje na N-konci navíc oblast bohatou na arginin, která zprostředkovává vazbu molekul ssRNA (Chen et al., 2000).

Z-DNA vazebná doména $Z\alpha$ enzymu ADAR1p150 slouží pravděpodobně k nasměrování enzymu do místa transkripce za účelem editace nascentní mRNA před jejím sestřihem (Herbert et al., 1997). Alespoň jedna Z-DNA vazebná doména je též potřebná, spolu s dsRNA vazebnými doménami, k inhibici dsRNA aktivované protein kinasy PKR (Clerzius et al., 2009). Zároveň je tato doména schopná vázat RNA v Z konformaci (Brown et al., 2000). Biologická funkce $Z\beta$ domény není zatím zcela objasněna (Athanasiadis et al., 2005).

Vazba na dsRNA zprostředkovaná dsRNA vazebnými doménami je sekvenčně nespecifická (Lehmann & Bass, 2000), avšak ADAR1 edituje s preferencí $A = U > C > G$ pro bázi na 5' pozici vzhledem k editovanému adenosinu (Polson & Bass, 1994). ADAR2 má

pro bázi na 5' pozici vzhledem k editovanému adenosinu preferenci $A \approx U > C = G$ a na rozdíl od enzymu ADAR1 má i preferenci pro bázi na 3' pozici od editovaného adenosinu a to $U = G > C = A$ (Lehmann & Bass, 2000). Všechny tři enzymy obsahují na svém C-konci doménu s deaminasovou aktivitou (Savva et al., 2012). U enzymů skupiny ADAR rozlišujeme dva typy editace adenosinu na inosin; místně selektivní editování a hyper-editování (Walkley & Li, 2017). U selektivního editování dochází k mutaci ve specifickém místě, což může mít různé efekty na výsledný protein, sahající od tichých mutací až k změnám ve struktuře a funkci proteinu. V případě hyper-editování dochází k editaci většího množství bází ležících v blízkosti cílového místa editace, teda adenosinu, na stejné molekula dsRNA. Tento typ editování je běžný u dsRNA virů v infikovaných buňkách (Walkley & Li, 2017).

2.2 Na editaci závislé mechanismy inhibice replikace virů enzymy skupiny ADAR

Enzymy skupiny ADAR způsobují na dsRNA záměny adenosinu za inosin, který je buněčnou mašinerií rozpoznáván jako guanosin. Dochází tedy k zavedení bodové mutace na této nukleové kyselině. Substrátem enzymů skupiny ADAR je dsRNA, která se za běžných podmínek v buňce téměř nevyskytuje; její výskyt v buňce je však obvykle spojen s virovou infekcí a je obvykle induktorem hostitelské imunitní odpovědi (Field et al., 1972). Změny sekvence virové RNA mohou ovlivnit viry v různých ohledech.

Bodové mutace na virové RNA mohou mít efekt na translaci, respektive na vznikající protein, neboť díky jejich editační aktivitě dochází ke změně kodonů. To může vést k záměně aminokyseliny v proteinu a k následnému ovlivnění funkčnosti proteinu. Významnější jsou však záměny kodonů iniciujících a terminujících translaci (tzv. *start* a *stop* kodony). Kanonický *start* kodon (AUG) a také všechny *stop* kodony (UAA, UAG a UGA) obsahují ve své sekvenci adenosin, jehož mutací může dojít k záměně otevřeného čtecího rámce, čímž mohou vznikat aberantní proteiny (Cattaneo et al., 1988; Zahn et al., 2007). Některé viry však mohou tyto záměny využívat ve svůj prospěch. Například u viru hepatitidy typu D změna UAG *stop* kodonu na UIG kodon kódující tryptofan umožňuje vznik dlouhé formy virového antigenu, která je nezbytná pro zabalení virové RNA do virových částic viru hepatitidy typu B, jehož je virus hepatitidy typu D satelitem (Wong & Lazinski, 2002).

Další způsob, kterým může být inhibována replikace virů editační aktivitou enzymů skupiny ADAR, je specifické štěpení hyper-editovaných sekvencí. Podjednotka RNA-indukovaného tlumícího komplexu RISC, Tudor-SN, se váže na hyper-editovanou dsRNA obsahující I:U a U:I páry a podporuje následné štěpení těchto úseků endonukleasami

(Scadden, 2005). Případně mohou být hyper-editované sekvence obsahující inosin štěpeny i ribonukleasami specifickými pro inosin (Scadden & Smith, 1997, 2001).

Enzymy skupiny ADAR mohou svou editační aktivitou ovlivňovat i samotnou strukturální integritu dsRNA. Editací A:U párů vznikají I:U páry, které jsou méně stabilní a mají tudíž slabší patrové interakce se sousedními páry bází, a tím tedy snižují teplotu tání dsRNA (Serra et al., 2004; Strobel et al., 1994; Wright et al., 2007). Toto snižování teploty tání dsRNA může hrát roli v případech, kdy viry využívají ve svém životním cyklu specifické sekundární struktury RNA, jako tomu je případě sekvence vnitřního místo pro vstup ribosomu IRES u viru hepatitidy typu C, jejichž funkce by mohla být editací a následnou změnou struktury ovlivněna.

2.3 Na editaci nezávislé mechanismy inhibice replikace enzymy skupiny ADAR

Enzymy skupiny ADAR mohou inhibovat viry i mechanismy nezávislémi na jejich editační aktivitě. ADAR1 je schopný tvořit heterodimery s enzymem Dicer, což je endoribonuklesa, která je součástí komplexu RISC (Ota et al., 2013). ADAR1 zvyšuje rychlost štěpení pre-miRNA enzymem Dicer (Ota et al., 2013). Vzniká tedy více miRNA, která je schopna v rámci komplexu RISC tlumit pomocí RNA interference expresi virových genů nebo případně buněčných genů umožňujících replikaci viru (Liu et al., 2019; Ota et al., 2013).

Další mechanismus, kterým enzymy skupiny ADAR inhibují virovou replikaci, spočívá ve schopnosti enzymu ADAR1 inhibovat aktivitu protein kinasy PKR (Toth et al., 2009). Tento enzym, skrze fosforylaci eukaryotického iniciačního faktoru eIF-2 α , inhibuje na čepičce závislou iniciaci translace proteinů v buňce a může navodit i buněčnou smrt (Srivastava et al., 1998). Byť tedy PKR obecně funguje antivirálně, může paradoxně v jistých případech sloužit ve prospěch viru (Arnaud et al., 2010). Ne všechny viry však využívají na čepičce závislou iniciaci translace (viz kapitola 3.2 Virus hepatitidy typu C); v tomto případě tudíž aktivace PKR nepovede k inhibici translace virových proteinů, nýbrž k inhibici translace proteinů buněčných, a to včetně proteinů antivirálních (Arnaud et al., 2010; Garaigorta & Chisari, 2009). Inhibice PKR má tedy v takovémto případě antivirální efekt.

3. Lidské viry a ADAR

Efekt jednotlivých enzymů skupiny ADAR na různé viry je vcelku komplikovaný, neboť působení enzymů ADAR je závislé na konkrétním viru, přičemž se vliv enzymů skupiny ADAR může lišit i v rámci stejné čeledi virů (Tomaselli et al., 2015). Proto budou dále rozebrány vztahy mezi konkrétními viry a enzymy ADAR v kontextech konkrétních virů.

3.1 Virus spalniček

Virus spalniček (dále už jen MV) je obalený virus z čeledi *Paramyxoviridae*. Jeho genomem je jednovláknová nesegmentovaná „- RNA“ o velikosti přibližně 15,9 kb. Tento virus způsobuje závažné onemocnění, které je jedním z nejčastějších důvodů úmrtí dětí do 5 let v rozvojových zemích. Byť by bylo možné tento virus pomocí dostupného očkování vymýtit, stává se onemocnění kvůli společenským trendům v západním světě stále častějším (Angelo et al., 2019). Velice vzácně se zhruba 7-10 let po infekci virem u infikovaných jedinců může rozvinout onemocnění centrální nervové soustavy, zvané subakutní sklerotizující panencefalitida (Bellini et al., 2005).

Právě u tohoto onemocnění bylo zjištěno, že v RNA viru došlo k záměně zhruba poloviny uracilových bází za báze cytosinové (Cattaneo et al., 1988), což se původně připisovalo aktivitě enzymu ADAR1. Nejprve sice nebylo prokázáno, že se skutečně jedná o aktivitu enzymů ADAR (Horikami & Moyer, 1995), pozdější studie ovšem roli enzymu ADAR1 v modifikaci genomu MV prokázala (Suspène et al., 2008). U buněk infikovaných virem MV a zároveň deficitních na isoformu p150 ADAR1 byl pozorován cytopatický efekt, na rozdíl od infikovaných buněk divokého typu (Ward et al., 2011), z čehož byl původně vyvozován antivirální efekt enzymu ADAR1 v kontextu infekce MV (Ward et al., 2011). Později se však ukázalo, že hyper-editace genů kódujících virový protein M, což je protein podílející se na skládání virových částic a pučení MV (Bellini et al., 1986; Runkler et al., 2007), umožňuje vznik chronicity tohoto onemocnění (Patterson et al., 2001), což tedy znamená, že se ADAR1 v tomto případě chová provirálně. Což potvrdilo i další zjištění, že v MV virem napadených buňkách brání enzym ADAR1 aktivaci PKR (Toth et al., 2009), která by za normálního stavu fosforylovala eukaryotický iniciační translační faktor eIF-2 α , což by vedlo ke snížení hladiny translace proteinů a indukci apoptosy (Srivastava et al., 1998). Experimenty s buňkami se sníženou expresí ADAR1 pomocí shRNA demonstrovaly provirální a antiapoptotické vlastnosti enzymu v souvislosti s infekcí MV (Li et al., 2012; Toth et al., 2009).

3.2 Virus hepatitidy typu C

Virus hepatitidy typu C (dále jen HCV) je původcem stejnojmenného onemocnění. V současné době jsou po celém světě infikovány desítky milionů osob, přičemž proti němu neexistuje preventivní vakcína. Pokud se vyvine chronická fáze onemocnění, může dojít k cirhóze jater a ke vzniku jaterních karcinomů (Taylor et al., 2005). HCV se přenáší krevním kontaktem, pohlavním stykem a přenosem z matky na dítě.

Genom HCV je tvořen přibližně 9,7 kb dlouhou jednovláknovou molekulou „+ RNA“, která má na 5' a 3' konci nepřekládané oblasti (UTR). Virová RNA obsahuje na svém 5' konci tzv. IRES sekvenci, která umožňuje efektivní translaci virové RNA (Tsukiyama-Kohara et al., 1992). Po translaci vzniká jeden polypeptid, který je následně rozštěpen buněčnými a virovými proteasami na 10 jednotlivých proteinů (Hijikata et al., 1993).

Předpokládá se, že ADAR má v souvislosti s virem HCV antivirální účinky, neboť snížením exprese ADAR1 pomocí siRNA došlo k mnohonásobnému zvýšení replikace HCV (Pujantell et al., 2018; Taylor et al., 2005). Jedním ze dvou pravděpodobných způsobů inhibice replikace HCV enzymem ADAR1 je zavádění mutací deaminasovou aktivitou enzymu (Lindley & Steele, 2018; Taylor et al., 2005). Bylo zjištěno, že během infekce HCV dochází ke zvýšení exprese interferonem α (IFN- α) indukovatelné isoformy p150 enzymu ADAR1 (Alisi et al., 2011), zároveň byla pozorována vazba této isoformy na 5' oblast virové RNA (Y. Li et al., 2014). Na 5' konci virové RNA se nachází IRES sekvence viru, která je esenciální pro virovou replikaci (Tsukiyama-Kohara et al., 1992). Je tedy důvod domnívat se, že ADAR1 může způsobovat mutace i přímo na IRES sekvenci, a tím ji činit méně funkční či dokonce zcela nefunkční.

Kromě přímého antivirálního efektu skrze deaminaci může mít ADAR1 antivirální vliv na infekci HCV i nepřímo. Po infekci jaterních buněk HCV byla pozorována indukce IFN- β , která je však zhruba 12h po infekci utlumena aktivací kinasy PKR (Arnaud et al., 2010). PKR fosforylací eukaryotického iniciačního faktoru eIF-2 α brání v iniciaci translace závislé na čepičce (Arnaud et al., 2010; Garaigorta & Chisari, 2009). To vede k omezení translace buněčných proteinů, včetně interferony stimulovaných antivirálních genů, jejichž produkty jsou například proteiny viperin (Shanshan Wang et al., 2012) nebo ribonukleasa L (Malathi et al., 2010). Inhibicí iniciace na čepičce závislé translace není ovšem dotčena translace virového polyproteinu, neboť virus HCV k translaci využívá výše zmíněnou IRES sekvenci a jeho translace tak běží na čepičce nezávisle (Terenin et al., 2008; Tsukiyama-Kohara et al.,

1992). Aktivace PKR virovou RNA má tedy díky inhibici translace interferony stimulovaných genů paradoxně provirální efekt (Arnaud et al., 2010; Garaigorta & Chisari, 2009). To dokládá zjištění, že inhibicí aktivity PKR farmakologickými inhibitory C16 a PRI (Arnaud et al., 2010), nebo snížením exprese PKR pomocí shRNA (Garaigorta & Chisari, 2009) dojde k obnově exprese interferony stimulovaných genů a inhibici replikace HCV (Arnaud et al., 2010; Garaigorta & Chisari, 2009). Je známo, že ADAR1 je schopný inhibovat aktivitu PKR (Toth et al., 2009). Inhibicí PKR tedy ADAR1 zabraňuje fosforylaci eIF-2 α a inhibici iniciace translace závislé na čepičce (Toth et al., 2009) a tudíž může dojít k expresi buněčných proteinů, včetně INF- α indukovatelných proteinů. Je tedy pravděpodobné, že právě tímto mechanismem inhibuje.

3.3 Virus chřipky typu A

Virus chřipky A (dále jen IAV) patří do čeledi *Orthomyxoviridae* a způsobuje stejnojmennou nemoc, tedy chřipku. Chřipka se šíří v sezónních epidemiích, které se vyskytují nejčastěji v zimních měsících, a je příčinou smrti stovek tisíc lidí ročně. Ve dvacátém století způsobila několik vážných celosvětových pandemií, z nichž největší proběhla v letech 1918 -1920 a měla za následek několik desítek milionů obětí (tzv. Španělská chřipka).

Genom IAV je tvořen 12-14 kb dlouhou „-RNA“, která je rozdělena do osmi segmentů, z nichž RNA ze segmentů 3 až 5 je monocistronní, RNA ze segmentu 2 obsahuje alternativní čtecí rámeček a RNA ze segmentů 1, 6, 7 a 8 podstupují sestřih (Bouvier & Palese, 2008; Fabozzi et al., 2018; Inglis & Brown, 1981; Lamb & Choppin, 1979) .

Význam vztahu viru chřipky a enzymů skupiny ADAR není zatím zcela jasný. Bylo zjištěno, že v buňce při infekci IAV dochází ke zvýšené indukci exprese enzymu ADAR1 (Emmott et al., 2010; Ovsyannikova et al., 2016; TenOever et al., 2007). Dále byly pozorovány záměny adenosinu za inosin ve virové RNA (Ruszkowska et al., 2016; Suspene et al., 2011; TenOever et al., 2007). Tyto záměny díky strukturním změnám RNA navíc pravděpodobně způsobují lepší rozeznání virové RNA *toll-like* receptory skupiny TLR7 (Sarvestani et al., 2014). Při studiích s buňkami deficitními na isoformu p150 ADAR1 byl pozorován po infekci IAV cytopatický efekt, na rozdíl od IAV infikovaných buněk divokého typu (Ward et al., 2011). Díky tomuto zjištění je enzymu ADAR1 přisuzována antivirální role

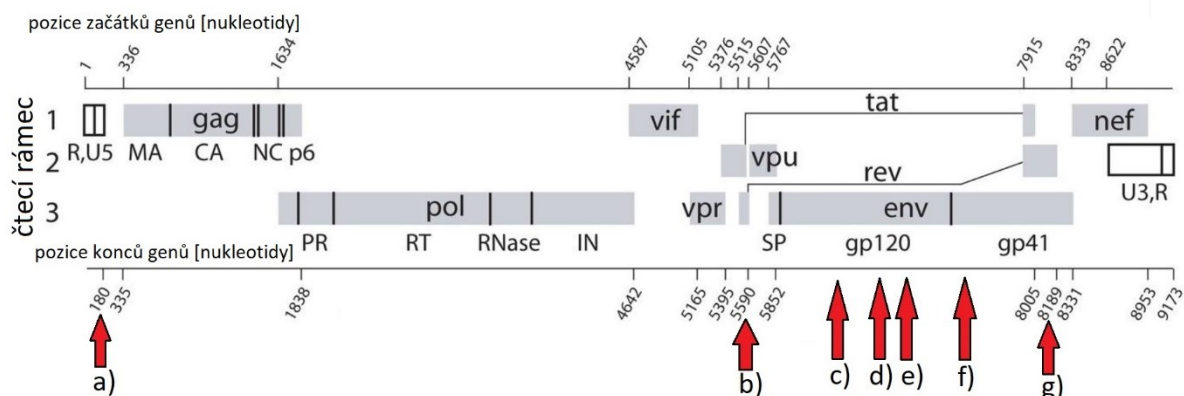
při infekci IAV, nicméně v tomto případě nebyla zjištěna korelace cytopatického efektu a zvýšenou hladinou replikace virové RNA (de Chassey et al., 2013).

I v tomto případě byl popsán provirální efekt enzymu ADAR1, který interaguje s virovým proteinem NS1 (de Chassey et al., 2013; Emmott et al., 2010; Ngamurulert et al., 2009). U proteinu NS1 byla popsána jeho schopnost tlumit antivirální odpověď imunitního systému hostitele (Ehrhardt et al., 2010) a zdá se, že ADAR1 tuto schopnost podporuje (de Chassey et al., 2013), díky své schopnosti tlumit interferonovou signalizaci (Hartner et al., 2009). Mimoto bylo v této studii prokázáno, že při umlčení exprese ADAR1 pomocí siRNA dochází ke snížení produkce virových proteinů (de Chassey et al., 2013).

3.4 Virus lidské imunodeficiency 1

Virus lidské imunodeficiency (dále HIV) je virus z čeledi *Retroviridae*, který způsobuje onemocnění AIDS (*acquired immune deficiency syndrome*). Virus HIV napadá CD⁺ T-lymfocyty a makrofágy, čímž oslabuje imunitní systém hostitele. K přenosu viru může dojít buď vertikálně, tedy z matky na dítě, nebo horizontálně, konkrétně nechráněným pohlavním stykem nebo přenosem krve. Existují dva typy HIV; HIV-1 a HIV-2, přičemž druhý typ se vyskytuje pouze v západní Africe (Clavel et al., 1986). V dnešní době je na celém světě přibližně 40 milionů nakažených, nejvíce pak v Jižní Africe, Nigérii a Indii, přičemž v České republice bylo podle Státního zdravotního ústavu k březnu 2020 3664 nakažených.

Genom HIV-1, který je tvořen dvěma jednovláknovými „+ RNA“ molekulami o délce přibližně 9,7 kb obsahuje devět otevřených čtecích rámců (viz **Obrázek 3**) kódujících polyproteiny Gag, Pol, Env a šest dalších regulačních proteinů. Proteolýzou polyproteinu Gag vznikají proteiny MA (*matrix*), CA (*capsid* nebo g24), NC (*nucleocapsid*) a p6, které spolu s proteiny SU (*surface* nebo p120) a TM (*transmembrane* nebo gp41), vzniklými proteolýzou Env polyproteinu, jsou strukturními proteiny virové částice. Proteolýzou polyproteinu Pol vznikají proteiny PR (*protease*), RT (*reverse transcriptase*) a IN (*integrase*), které zajišťují nezbytné enzymatické funkce viru a jsou také součástí virové částice. Ze zbylých šesti proteinů obsahuje virová částice ještě proteiny Vif, Vpr a Nef. Proteiny Tat a Rev mají funkci při regulaci genové exprese a protein Vpu hraje roli při skládání virových částic (Frankel & Young, 1998).



Obrázek 3: Místa editace genomu HIV-1 enzymem ADAR1; **a)** 5' UTR, **b)** C-konec proteinu *rev* a *tat*, **c)** V2 oblast proteinu *env*, **d)** V3 oblast proteinu *env*, **e)** V4 oblast proteinu *env*, **f)** RRE oblast proteinu *env*, **g)** N-konec proteinu *rev* upraveno dle (Watts et al., 2009)

V otázce role enzymů skupiny ADAR při infekci HIV existují značné nesrovnalosti. Existují studie naznačující jak antivirální, tak i provirální roli enzymů skupiny ADAR.

Jednou ze studií, podporujících antivirální efekt enzymů skupiny ADAR, byla pozorována inhibice syntézy virových proteinů v buněčných liniích 293T, HeLa, Jurkat a v CD4⁺ T-lymfocytech infikovaných HIV, s následným snížením infekivity virových částic (Biswas et al., 2012). Tento efekt byl důsledkem mutací způsobených enzymem ADAR1 v genech *rev* a v elementu RRE (*rev response element*), lokalizovaným v sekvenci genu *env*. Tyto mutace způsobují neefektivní vazbu proteinu Rev k RRE, a tím sníženou míru transportu virových mRNA z jádra infikované buňky do cytoplazmy, což vede následně k inhibici syntézy virových proteinů (Biswas et al., 2012). Zároveň byly detekovány mutace ve dvou úsecích (V2 a V4) genu *env*, kódujícího virový obalový glykoprotein gp120 (Biswas et al., 2012), přičemž v proteinu gp120 lokalizovaná oblast V2 je důležitá pro vstup HIV do hostitelské buňky (Kowalski et al., 2016), čímž by bylo možné vysvětlit sníženou infektivitu částic viru HIV obsahující tyto mutace (Biswas et al., 2012). Bylo také prokázáno, že při snížení exprese obou isoform ADAR1 pomocí siRNA interference v alveolárních a od monocytů odvozených makrofázích, došlo ke zvýšení replikace viru (Weiden et al., 2014). Zároveň bylo ale zjištěno, že změny exprese ADAR1 nemají vliv na syntézu virové RNA, což naznačuje, že ADAR1 reguluje HIV post-transkripčně (Weiden et al., 2014). Princip této regulace naznačuje zjištění, že ADAR1 způsobuje hyper-editace na RNA kódující V3 oblast virového obalového glykoproteinu gp120 (Weiden et al., 2014). Tyto mutované RNA však nebyly nalezeny ve virových částicích nalezených v supernatantu buněčné kultury, ale pouze v buňkách samotných (Weiden et al., 2014). Lze tudíž předpokládat, že hyper-editace činí tuto

RNA nevhodnou pro virovou replikaci a mutované RNA nemohou vytvořit funkční virové částice (Weiden et al., 2014). Dalším možným vysvětlením absence hyper-editovaných RNA ve virových částicích v supernatantu buněčné kultury je degradace ribonukleasami specificky rozpoznávajícími hyper-editovanou dsRNA (Scadden & Smith, 2001).

Větším množstvím studií bylo ovšem pozorováno provirální chování enzymu ADAR1 a ADAR2, přičemž ani v tomto případě není ovšem literatura zcela jednotná.

Bylo například ukázáno, že při zvýšení exprese enzymu ADAR1 dojde ke zvýšení exprese virového proteinu p24 a naopak, při utlumení exprese ADAR1 pomocí siRNA dojde ke snížení exprese proteinu p24 v buněčných liniích COS-7 a 293T (Phuphuakrat et al., 2008). Bylo také zjištěno, že záměny třech po sobě následujících adenosinových zbytků na pozicích 7710 až 87712 na virové RNA za zbytky guanosinové, vedou ke zvýšení exprese virového proteinu p24 (Phuphuakrat et al., 2008), což pravděpodobně ukazuje na editační aktivitu ADAR1 působící na virovou RNA. Mutace v místě výše zmíněné záměny vedla k nižší infektivitě virových partikulí, nicméně nebyla zjištěna korelace se změnou exprese enzymu ADAR1 (Phuphuakrat et al., 2008). Lze tudíž předpokládat, že *in vivo* jsou editovány i další úseky, nebo mají na zvýšení replikace HIV-1 vliv i needitační mechanismy (Phuphuakrat et al., 2008). Bylo také experimentálně ověřeno, že isoforma p150 enzymu ADAR1 podporuje export nesestřižené virové mRNA z jádra do cytoplasmy (Phuphuakrat et al., 2008), pravděpodobně pomocí CRM1/Exportinové dráhy využívané pro export z jádra jak mRNA kódující ADAR1 (Poulsen et al., 2001), tak pro export nesestřižených virových mRNA molekul (Neville et al., 1997).

Na editaci nezávislá regulace exprese virových proteinů byla potvrzena v pozdější studii, kdy došlo ke zvýšení exprese virových proteinů i v případě použití katalyticky neaktivního enzymu ADAR1 v buněčné linii 293T (Doria et al., 2009). To je dáno pravděpodobně schopností enzymu ADAR1 inhibovat PKR (Clerzius et al., 2009; Nie et al., 2007) tím, že při infekci HIV interaguje s jejím aktivátorem, enzymem PACT, a tím mu zabraňuje v jeho aktivační funkci (Clerzius et al., 2013). Bylo také zjištěno, že zvýšení exprese katalyticky aktivní formy enzymu ADAR1, transfekcí vektoru exprimujícího ADAR1, vede v buňkách 293T k uvolnění většího počtu virových částic vykazujících vyšší infektivitu, což je pravděpodobně dáno editační aktivitou ADAR1 (Doria et al., 2009). Několika experimenty, při kterých byly buňky linií 293T, Jurkat a CD4+ T-lymfocyty transfekovány různým definovaným množstvím vektorů exprimujících enzym ADAR1, bylo zjištěno, že efekt stimulující infektivitu byl závislý na dávce exprimovaného enzymu (Doria et

al., 2009). V této studii byly také popsány mutace v 5' UTR a v sekvencích genů kódujících proteiny Tat a Rev způsobené editační aktivitou enzymu ADAR1, přičemž u proteinu Tat jde o mutace nemající vliv na primární strukturu proteinu, u proteinu Rev ovšem ke změně v aminokyselinové sekvenci naopak došlo (Doria et al., 2009). Vliv zvýšené hladiny enzymu ADAR2 na replikaci HIV-1 je obdobný působení enzymu ADAR1 s tím rozdílem, že nedochází ke zvýšení infekivity virových částic (Doria et al., 2011). Dalšími studiemi byla potvrzena nezbytnost enzymu ADAR1 pro replikaci HIV-1 v CD4+ T-lymfocytech (Cuadrado et al., 2015) a primárních makrofázích (Pujantell et al., 2017). Bylo též zjištěno, že ADAR1 váže virový protein p55 protein a je spolu s ním inkorporován do virových částic (Orecchini et al., 2015), přičemž se předpokládá, že ADAR1 hraje při sbalování RNA do virových částic roli podobnou buněčnému dsRNA vazebnému proteinu Staufen1 (Chatel-Chaix et al., 2007; Mouland et al., 2000), avšak přesný mechanismus, kterým by se tak dělo u enzymu ADAR1, není zatím znám. Nesrovnalosti výše uvedených výsledků mohou být způsobeny použitím různých typů buněk. Studie se však obecně shodují na tom, že enzymy skupiny ADAR působí na HIV-1 post-transkripčně a neovlivňují vlastní syntézu virové mRNA (Biswas et al., 2012; Cuadrado et al., 2015; Phuphuakrat et al., 2008; Weiden et al., 2014).

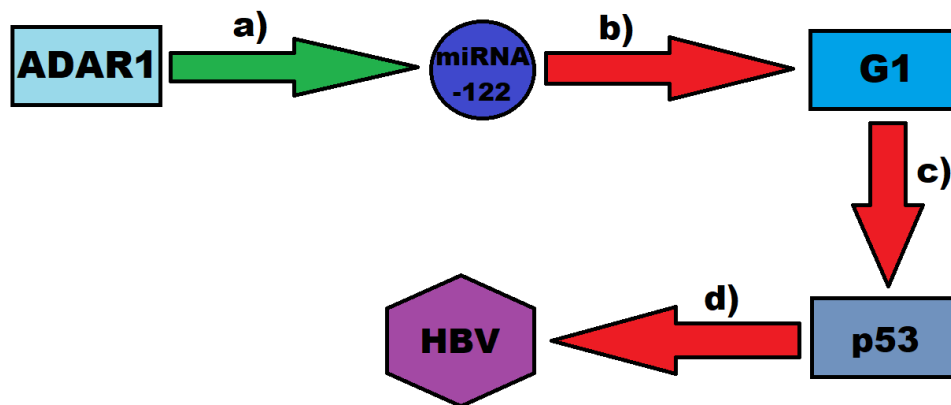
3.5 Virus hepatitidy typu B

Virus hepatitidy typu B (dále jen HBV) z čeledi *Hepadnaviridae* způsobuje stejnojmennou nemoc. Akutní infekce virem HBV způsobuje zánět jater a žloutenku, která může přejít do chronické infekce následované cirhózou jater a vznikem hepatocelulárního karcinomu. K přenosu nemoci dochází pohlavním stykem, krví nebo z matky na dítě během porodu. Nákazu hepatitidou typu B celosvětově prodělalo zhruba dvě miliardy lidí, přičemž více než 250 milionů z nich trpí chronickou formou onemocnění (Liaw & Chu, 2009; World Health Organization, 2020). Nejvyšší prevalence infekce HBV je v jihovýchodní Asii a v Africe (World Health Organization, 2020). V České republice bylo v letech 2006-2015 zaznamenáno 2 084 případů infekce HBV (Lexová et al., 2015). Proti HBV existuje vakcína, která využívá virového povrchového antigenu, produkovaného v geneticky modifikovaných kvasinkách *Saccharomyces cerevisiae*, k vyvolání imunitní odpovědi (Keating & Noble, 2003).

Genom HBV je tvořen kruhovou dsDNA s jednořetězcovými úseky a je přibližně 3,2 kb dlouhý (Robinson et al., 1974; Summers et al., 1975). Virová DNA je po infekci dopravena do jádra, kde jsou buněčnými enzymy doplněny jednovláknové úseky genomu a následně dochází ke vzniku cccDNA konformace, ze které jsou přepisovány virové RNA transkripty (Gao & Hu, 2007; Tuttleman et al., 1986). HBV virus se v buňce replikuje tvorbou RNA intermediátu a následnou reverzní transkripcí do molekuly DNA (Summers & Mason, 1982). Schopnost HBV tvořit v jádře hostitelských buněk mini-chromosomy přispívá k rozvoji chronické infekce, neboť tyto mini-chromosomy využívají hostitelské histony a mimikují tak hostitelské chromosomy (Bock et al., 2001; Werle-Lapostolle et al., 2004). Chronickou infekci HBV podporuje i virový protein HBx, který pomocí interakce s hostitelskou ubiquitin ligasou degraduje Smc5/6 komplex, který váže virovou DNA a inhibuje tak její transkripci (Decorsière et al., 2016; Niu et al., 2017).

Bylo zjištěno, že enzym ADAR1 hraje roli při léčbě HBV pomocí terapie IFN- α , což naznačuje antivirální roli tohoto enzymu (Wu et al., 2012, 2014). Antivirální funkce enzymu ADAR1 při infekci HBV byla potvrzena i recentní studií, v níž bylo zjištěno, že IFN- α zvýšenou expresí isoformy p150 enzymu ADAR1 dochází v buněčné linii Huh7 k inhibici replikace viru HBV (Liu et al., 2019). Pro ověření role enzymu ADAR1 v inhibici HBV byla snížena exprese ADAR1 pomocí siRNA interference v buňkách ošetřených i neošetřených IFN- α . Snížení exprese enzymu ADAR1 vedlo ke zvýšení replikace HBV v obou sadách buněk (Liu et al., 2019), v případě IFN- α neošetřených kontrolních buněk exprimujících enzym ADAR1, byla zaznamenána nižší replikace HBV než u kontrolních buněk s utlumenou expresí ADAR1 (Liu et al., 2019). Snížení replikace HBV v kontrolních buňkách za nepřítomnosti IFN- α naznačuje zapojení konstitutivně exprimované isoformy p110 ADAR1 do inhibice replikace (Liu et al., 2019). Stejné výsledky byly získány při delecí ADAR1 pomocí CRISPR/Cas9 systému (Liu et al., 2019). Jelikož v genomu viru HBV nebyly nalezeny mutace specifické pro působení enzymu ADAR1, předpokládá se tudíž, že inhibice HBV enzymem ADAR1 nespočívá v editaci virového genomu (Liu et al., 2019). Je známo, že ADAR1 podporuje tvorbou komplexu s enzymem Dicer vznik miRNA, a tím i následnou RNA interferencí (Ota et al., 2013). Transfekcí vektorů produkujících katalyticky aktivní formu enzymu ADAR1 a mutovaného, katalyticky neaktivního enzymu ADAR1 do Huh7 buněk bylo zjištěno, že obě isoformy enzymu ADAR1 pozitivně regulují množství miRNA-122, a tudíž je regulace replikace HBV nezávislá na editaci virového genomu (Liu et al., 2019). Tento typ regulace byl potvrzen delecí ADAR1 pomocí CRISPR/Cas9 systému, která

měla za následek snížení množství miRNA-122 (Liu et al., 2019), u níž je známo, že negativně ovlivňuje replikaci HBV snížením exprese cyklinu G1, který indukuje ubiquitinaci proteinu p53 proteinem Mdm2 (Wang et al., 2012). Protein p53 inhibuje replikaci HBV vazbou na virové *enhancer*y, ubiquitinace však vede k degradaci proteinu p53 (Wang et al., 2012). U enzymu ADAR1 byl tedy sledován jeho antivirální vliv na HBV, spočívající v pozitivní regulaci tvorby miRNA-122, která negativně reguluje cyklin G1, a tím zvyšuje hladinu proteinu p53, který negativně reguluje HBV (viz **Obrázek 4**) (Liu et al., 2019).



Obrázek 4: Grafické znázornění vztahu, kterým ADAR1 inhibuje replikaci HBV. Zelené šipky značí pozitivní regulaci a červené negativní regulaci. **a)** podpora tvorby miRNA-122 pomocí tvorby komplexu s Dicer **b)** snížení exprese cyklinu G1 pomocí RNA interference **c)** ubiquitinace p53 proteinem Mdm2 a následná degradace **d)** inhibice HBV vazbou p53 na virové *enhancerové* sekvence

3.6 Virus lymfocytární choriomeningitidy

Virus lymfocytární choriomeningitidy (dále LCMV) je virus z čeledi *Arenaviridae*, způsobující stejnojmennou nemoc. Primárním hostitelem tohoto viru je myš domácí, *Mus musculus*, ale může dojít také k přenosu na člověka, kde poté virus vyvolává zánět mozkových blan, který je někdy doprovázen encefalitidou.

Genom LCMV tvoří dva segmenty jednovláknové RNA s *ambisens* uspořádáním. Menší z těchto segmentů (segment S), je dlouhý přibližně 3,5 kb a obsahuje čtecí rámce pro nukleoprotein NP a pro prekurzor GP-C, jehož rozštěpením subtilasou SKI1/S1P v Golgiho aparátu vznikají glykoproteiny GP-1 a GP-2 (Beyer et al., 2003; Riviere et al.,

1985). Druhý segment (segment L), je dlouhý přibližně 7,2 kb a kóduje protein L, což je RNA-dependentní RNA polymerasa a protein Z, což je protein s motivem *zinc-finger* (Salvato & Shimomaye, 1989; Singh et al., 1987). Jednotlivé geny jsou na virových segmentech odděleny nekódující intragenovou oblastí (IGR) (Salvato & Shimomaye, 1989), která tvoří RNA vlásenku zajišťující strukturně závislou terminaci transkripce, podporuje expresi virových proteinů a má také roli při skládání virových částic (Meyer & Southern, 1993; Pinschewer et al., 2005).

Během replikace LCMV viru vzniká dsRNA intermediát, který pravděpodobně slouží jako substrát pro cytoplasmatickou isoformu p150 enzymu ADAR1 (Zahn et al., 2007), neboť replikace LCMV probíhá v cytoplasmě. U výše zmíněné isoformy enzymu ADAR1 byla v myších buňkách L929 pozorována její zvýšená exprese po infekci buněk virem LCMV (Zahn et al., 2007). V transkriptu genu kódujícího GP-C polyprotein byly detekovány mutace způsobené enzymem ADAR1, přičemž polovina z těchto mutací vedla ke změně primární sekvence výsledného polypeptidového řetězce mající za následek snížené či dokonce žádné štěpení GP-C polyproteinu SKI1/S1P subtilasou (Zahn et al., 2007), což je pravděpodobně způsobeno sestavením proteinu do nefunkční konformace vedoucí k degradaci GP-C polyproteinu v cytoplasmě, místo transportu do Golgiho aparátu (Zahn et al., 2007). Případná akumulace nesprávně složeného proteinu v endoplasmatickém retikulu by mohla vést až k buněčné smrti (Xu et al., 2005). Bezchybná syntéza glykoproteinů GP-1 a GP-2 je esenciální pro replikaci viru, protože tyto glykoproteiny zprostředkovávají vstup viru do buňky, a tudíž zajišťují infektivitu viru (Beyer et al., 2003; Borrow & Oldstone, 1992). Enzymatická aktivita isoformy p150 enzymu ADAR1 vedoucí ve výsledku k produkci defektních virových glykoproteinů by tedy v kontextu infekce LCMV měla antivirální efekt.

Efekt isoformy p150 enzymu ADAR1 při infekci LCMV a dalších virů (virus spalniček, Newcastleké nemoci, psinky, chřipky A, vezikulární stomatitidy a Sendai virus) byl zkoumán i v další studii, ve které ovšem nebyl zjištěn žádný efekt enzymu ADAR1 na virovou infekci (Ward et al., 2011). Vysvětlením této neshody může být rozdíl v experimentální metodice, neboť v této studii byl pozorován vliv isoformy p150 enzymu ADAR1 v MEF buňkách nejdéle 24 hodin po infekci LCMV (Ward et al., 2011). Naopak, při použití buněk L929, což jsou též buňky odvozené od myšího fibroblastu, byla exprese isoformy p150 enzymu ADAR1 nejvyšší přibližně 48 hodin po infekci a editace RNA LCMV byla zaznamenána až 7 dní po infekci virem (Zahn et al., 2007).

4. Další savčí viry a ADAR

Antivirální efekt enzymů ADAR byl pozorován i na skupiny virů, které neinfikují lidské buňky. Z důvodu příbuznosti těchto virů k virům lidským budou v této práci zmíněny vybrané viry, které jsou ovlivněny působením enzymů skupiny ADAR.

4.1 Virus bovinní virové diarrhey

Bovinní virová diarrhea je nemoc způsobená virem BVDV z čeledi *Flaviviridae*. Toto onemocnění se vyskytuje u skotu a volně žijících přežvýkavců. Z ekonomického hlediska je to velmi významný virus, neboť snižuje plodnost skotu. Pokud se tedy nakazí březí kráva, může dojít k narození persistentně nakaženého telete, které je vůči viru imunotolerantní a dále slouží jako přenašeč choroby (McClurkin et al., 1984; Stokstad et al., 2003; Virakul et al., 1988).

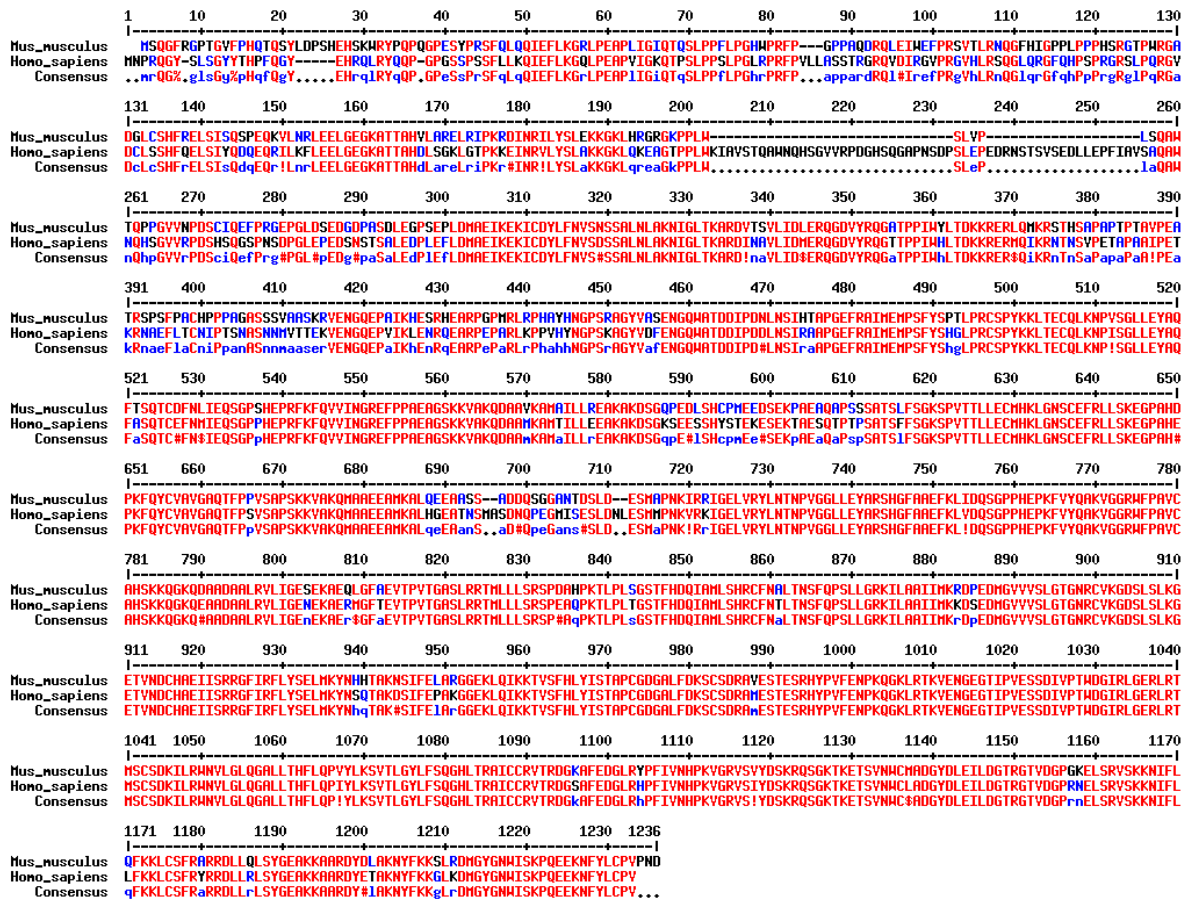
Genom BVDV je tvořen jednovláknovou pozitivní „+ RNA“ o délce zhruba 12,5 kb, obsahující pouze jeden otevřený čtecí rámec, který je ohraničen z obou stran nepřekládanými UTR oblastmi (Renard et al., 1985; Sato et al., 2016). Stejně jako virus hepatitidy typu C, což je další virus z čeledi *Flaviviridae* (viz. Kapitola 3.2 Virus hepatitidy typu C), využívá BVDV na čepičce nezávislou iniciaci translace pomocí IRES sekvence lokalizované v 5' UTR oblasti (Chon et al., 1998; Poole et al., 1995; Tsukiyama-Kohara et al., 1992). Translací virové RNA vzniká jeden polyprotein, který je buněčnými a virovými proteasami rozštěpen na příslušné proteiny (Wiskerchen et al., 1991; Wiskerchen & Collett, 1991).

I při infekci buněk virem BVDV byla prokázána antivirální role bovinního enzymu ADAR1 (Mohamed et al., 2014). V buňkách transfekovaných plazmidem exprimujícím enzym ADAR1, byla oproti kontrolním buňkám výrazně snížena replikace BVDV viru (Mohamed et al., 2014). Tato inhibiční aktivita byla mírně snížena přidáním s adenovirem asociované nekódující RNA (VAI RNA) (Mohamed et al., 2014), která inhibuje aktivitu enzymů ADAR1 (Lei et al., 1998). Bylo též zjištěno, že virální protein NS4A, kofaktor proteasy NS3 kódované BVDV, se váže svojí N-koncovou doménou k enzymu ADAR1. Význam této interakce není znám, ale předpokládá se, že vazbou na ADAR1 dojde k ovlivnění schopnosti enzymu ADAR1 vázat virovou dsRNA (Tautz et al., 2000). Přesný mechanismus, kterým inhibuje ADAR replikaci BVDV, není jasný. Je však důvod domnívat se, že vzhledem k podobnosti BVDV k HCV bude mechanismus obdobný (Mohamed et al., 2014; Taylor et al., 2005).

4.2 Myší polyomavirus

Myší polyomavirus (MPyV) je první objevený virus z čeledi *Polyomaviridae* (Gross, 1953), do které patří například i myší polyomavirus SV40. Infekce MPyV způsobuje u myší vznik nádorů slinných žláz. MPyV může infikovat i další hlodavce, na člověka se ale nepřenáší.

Genom neobaleného MPyV je tvořen 5,3 kbp dlouhou molekulou kruhové dsDNA a je rozdělen do oblastí s rozdílnou časovou produkcí jednotlivých genů na tzv. časné a pozdní geny, které jsou lokalizovány na rozdílných řetězcích DNA a tudíž transkribovány v opačné orientaci (Beard et al., 1976; Kamen et al., 1975). V definované fázi životního cyklu viru dochází k přepnutí produkce časných proteinů, jejichž funkce spočívá v iniciaci replikace virové DNA a reprogramování buněčného cyklu, na pozdní proteiny, které tvoří virovou kapsidu a způsobují maturaci virionů. K transkripci obou typů genů, časných i pozdních, dochází kontinuálně, avšak transkripce pozdních genů je v časné fázi životního cyklu MPyV efektivně terminována pomocí polyadenylačního signálu lokalizovaného na rozhraní časných a pozdních transkriptů. Tudíž před začátkem replikace MPyV vznikají pouze kratší a nestabilní transkripty, které jsou degradovány v jádře (Hyde-DeRuyscher & Carmichael, 1988). Po zahájení procesu replikace se efektivita polyadenylačního signálu snižuje, pravděpodobně vlivem vzniku dsRNA úseku na polyadenylačním signálu (Gu et al., 2009), a tím následně dochází během transkripce ke vzniku dlouhých pre-mRNA v důsledku tzv. „pročtení“ polyadenylačního signálu RNA polymerasou (Hyde-DeRuyscher & Carmichael, 1988). Sestřihem těchto pre-mRNA transkriptů vznikají mRNA pozdních virových genů a zároveň, vzhledem ke komplementaritě časných mRNA a pozdních pre-mRNA, dochází k tvorbě dsRNA úseků, které mohou sloužit jako substrát enzymu ADAR1, což vede ve výsledku k degradaci časných mRNA, a tím k regulaci exprese časných genů (Gu et al., 2009; Kumar & Carmichael, 1997). U myší se, stejně jako u člověka, vyskytují tři varianty enzymů skupiny ADAR (Chen et al., 2000). Vzhledem k tomu, že u MPyV byla zjištěna editace způsobená enzymy skupiny ADAR (Gu et al., 2009; Kumar & Carmichael, 1997), předpokládala se jejich role v regulaci genové exprese časných genů MPyV.



Obrázek 5: Srovnání primární sekvence polypeptidu isoformy p150 lidského a myšičího enzymu ADAR1; modře a černě jsou značené rozdíly v sekvenci

Pro ověření role enzymů ADAR1 v regulaci exprese MPyV byly připraveny MEF buňky deficientní v produkci enzymů ADAR1 a ADAR2 (George & Samuel, 2011). Oproti očekávání byla pozorována v případě delece ADAR1 a ADAR2 vyšší míra replikace viru než tomu bylo u kontrolních u buněk s funkční alelou obou enzymů ADAR (George & Samuel, 2011). Navíc byl u MEF buněk deficientních pouze na isoformu p110 enzymu ADAR1, nikoliv však na isoformu p150 enzymu ADAR1 či naADAR2 a u buněk divokého typu, pozorován silný cytopatický efekt (George & Samuel, 2011), který byl potlačen vnesením vektoru exprimujícího isoformu p110 lidského enzymu ADAR1 (pro srovnání enzymů viz **Obrázek 5**). Dále bylo zjištěno, že pro ochranu před cytopatickým efektem je dostačující isoforma p110 enzymu ADAR1 (George & Samuel, 2011). Expresí katalyticky neaktivní isoformy p110 enzymu ADAR1 v MEF buňkách deficitních na expresi ADAR1 bylo také prokázáno, že antivirální efekt tohoto enzymu je nezávislý na jeho editační aktivitě (George & Samuel, 2011). Je tedy možné, že ADAR1 způsobuje inhibici MPyV skrze miRNA interferenci (Heale et al., 2009; Ota et al., 2013), přičemž je možné, že pro mechanismus přepnutí fází životního cyklu viru a regulace exprese genů časných proteinů je důležitější

tvorba dsRNA úseků a editace enzymy skupiny ADAR je pouze průvodní jev (George & Samuel, 2011; Gu et al., 2009).

5. Další vztahy enzymů skupiny ADAR a virů

5.1 Antivirální efekt enzymů skupiny ADAR mimo skupinu obratlovců

Tato práce se primárně zabývá vlivem enzymů skupiny ADAR na lidské viry, nicméně antivirální efekt těchto enzymů byl pozorován i mimo skupinu obratlovců (Carpenter et al., 2009; Rosani et al., 2019).

U měkkýšů *Haliotis diversicolor supertexta* a *Crassostrea gigas* infikovaných viry čeledi *Malacoherpesiviridae* byla pozorována hyper-editace virové dsRNA způsobená enzymem ADAR1 (Rosani et al., 2019). Analýza genomů těchto virů ukázala sníženou frekvenci využití dinukleotidových motivů TA, které byly identifikovány jako preferenční cíle enzymu ADAR1, což naznačuje antivirální efekt enzymu ADAR1 na tuto virovou čeleď (Rosani et al., 2019)

Hyper-editace způsobená enzymy skupiny ADAR byla pozorována i u viru sigma infikujícího Octomilku obecnou (*Drosophila melanogaster*), což je virus z čeledi *Rhabdoviridae* (Carpenter et al., 2009). Při detailní studii však byla editace zjištěna pouze u malého počtu virových dsRNA molekul, což by mohlo znamenat, že k editaci dochází vzácně nebo že je hyper-editovaná RNA rychle degradována (Carpenter et al., 2009). Také u tohoto viru bylo prokázáno, že místa náchylná na editaci enzymy skupiny ADAR jsou na virovém genomu minimalizována (Rosani et al., 2019). Přesný efekt enzymů skupiny ADAR na replikaci sigma viru zatím není popsán, nicméně díky objevu hyper-editace na virové dsRNA a sníženému počtu míst náchylných na editaci lze spekulovat o antivirálním efektu enzymů skupiny ADAR (Carpenter et al., 2009; Rosani et al., 2019).

5.2 Provirální efekt enzymů skupiny ADAR

Provirální efekt enzymů skupiny ADAR byl již výše v textu u některých virů zmíněn (viz kapitola 3.1 Virus spalniček; kapitola 3.3 Virus chřipky A; kapitola 3.4 Virus lidské imunodeficiency 1). Provirální efekt této skupiny enzymů byl popsán i u dalších lidských virů, například i u viru Epstein-Barrové (T. Lei et al., 2013), lidského herpetického viru 8 (Gandy et al., 2007), viru dengue (de Chasseay et al., 2013), viru hepatitidy typu D (Wong & Lazinski, 2002), lidského respiračního syncytiálního viru (Martínez et al., 1997; Martínez & Melero, 2002). Tento provirální efekt enzymů skupiny ADAR je obecně založen na dvou

mechanismech působení. Prvním z nich je editace virové RNA, která následně vede k tvorbě proteinů s pozměněnou funkcí nebo k přepnutí fáze životního cyklu viru (Gandy et al., 2007; T. Lei et al., 2013; Martínez et al., 1997; Wong & Lazinski, 2002). Druhým mechanismem je již výše popsaná inhibice aktivity PKR (G. Clerzius et al., 2009; Toth et al., 2009).

6. Závěr

O enzymech skupiny ADAR se předpokládalo, že vzhledem k jejich substrátu (dsRNA) a vzhledem k interferony indukovatelné isoformě p110 enzymu ADAR1, mají antivirální efekt. Studie však ukazují, že otázka role enzymů skupiny ADAR při virové infekci není až tak jednoduchá. Na to, zdali budou enzymy skupiny ADAR působit antivirálně či provirálně, má zjevně vliv mnoho faktorů, například buněčný typ, množství virových částic, varianta či isoforma enzymu, fáze infekce a interakce s ostatními buněčnými proteiny.

Mechanismy inhibice replikace virů enzymy skupiny ADAR se dělí na mechanismy závislé na editaci virové dsRNA a mechanismy na editaci nezávislé. Mezi výsledky působení enzymů skupiny ADAR na dsRNA na editaci závislým způsobem patří navození změn ve struktuře a následně ve funkčnosti proteinů editací virových genů, způsobení změn v sekvenci dsRNA, která je následně rozpoznávána buněčnými proteiny a degradována a také rozvolňování struktury dsRNA. Nezávisle na editační aktivitě podporuje enzym ADAR1 tvorbu antivirálně působících miRNA a inhibuje aktivitu PKR, což může paradoxně též působit antivirálně.

U konkrétních virů se vyskytují často vzájemně si rozporující výsledky, co se vlivu enzymů ADAR na virovou infekci týče. U MV bylo zjištěno, že isoforma p150 enzymu ADAR1 chrání buňky při infekci před cytopatickým efektem, zároveň však další výsledky naznačují, že enzymy ADAR vedou k rozvoji SSPE a brání apoptóze. V případě infekce HCV byl zjištěn antivirální efekt enzymu ADAR1, a to jak editací virových RNA molekul, pravděpodobně včetně editace IRES sekvence, tak i inhibicí PKR. U IAV byla pozorována zvýšená exprese enzymu ADAR1 při infekci a cytopatický efekt v buňkách deficientních na isoformu p150 ADAR1, zároveň ale byla další studií odhalena interakce enzymu ADAR1 s virovým proteinem NS1 a také došlo, při utlumení exprese ADAR1 pomocí shRNA, ke snížení replikace viru. Různé výsledky přináší také různé studie zkoumající vliv enzymů ADAR1 a ADAR2 na replikaci HIV-1. Studie podporující antivirální vliv enzymu ADAR1 přisuzují tento efekt mutacím genů kódujících virové glykoproteiny a genů kódujících proteiny zajišťující transport nesestřižených virových mRNA z jádra. Oproti tomu větší počet

studií přisuzuje enzymům ADAR1 a ADAR2 v případě viru HIV-1 provirální roli, která je dána jednak editací RNA způsobenou vyšší produkcí virových proteinů a zvýšenou infektivitou a také na editaci nezávislou inhibicí PKR, zprostředkováváním efektivnějšího transportu virové mRNA z jádra a pravděpodobně i rolí enzymu ADAR1 při skládání virových částic. U HBV byla zjištěna antivirální role enzymu ADAR1, spočívající v podpoře produkce antivirálně působících miRNA. Antivirální role ADAR1 byla demonstrována i u LMCV, u kterého vlivem editace vzniká nefunkční povrchový glykoprotein. Na editaci závislá inhibice byla pozorována i u BVDV, avšak přesný mechanismus zatím není znám. Taktéž u MPyV byl popsán antivirální efekt enzymu ADAR1, konkrétně u isoformy p110, pravděpodobně způsobený miRNA interferencí.

Enzymy skupiny ADAR tedy v určitých případech působí antivirálně, ale je i mnoho případů, kdy působí provirálně. Nesrovnalosti v pozorovaných efektech jsou nejen v rámci čeledí, ale i konkrétních virů. Je tedy třeba do budoucna detailně definovat podmínky a faktory ovlivňující výslednou roli těchto enzymů při infekci viry.

Seznam použité literatury

* označuje sekundární citaci

- Alisi, A., Tomaselli, S., Balsano, C., & Gallo, A. (2011). *Hepatitis C Virus Therapeutics: Editing Enzymes Promising Therapeutic Targets?* 448–458. <https://doi.org/10.1002/hep.24365>
- Angelo, K. M., Libman, M., Gautret, P., Barnett, E., Grobusch, M. P., Hagmann, S. H. F., Gobbi, F., Schwartz, E., van Genderen, P. J. J., Asgeirsson, H., & Hamer, D. H. (2019). The rise in travel-associated measles infections-GeoSentinel, 2015-2019. *Journal of Travel Medicine*, 26(6), 1–3. <https://doi.org/10.1093/jtm/taz046>
- Arnaud, N., Dabo, S., Maillard, P., Budkowska, A., Kalliampakou, K. I., Mavromara, P., Garcin, D., Hugon, J., Gatignol, A., Akazawa, D., Wakita, T., & Meurs, E. F. (2010). Hepatitis c virus controls interferon production through PKR activation. *PLoS ONE*, 5(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010575>
- Athanasiadis, A., Placido, D., Maas, S., Brown, B. A., Lowenhaupt, K., & Rich, A. (2005). The crystal structure of the Z β domain of the RNA-editing enzyme ADAR1 reveals distinct conserved surfaces among Z-domains. *Journal of Molecular Biology*, 351(3), 496–507. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.06.028>
- Bass, B. L., & Weintraub, H. (1988). An unwinding activity that covalently modifies its double-stranded RNA substrate. *Cell*, 55(6), 1089–1098. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90253-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90253-X)
- Beard, P., Acheson, N. H., & Maxwell, I. H. (1976). Strand-Specific Transcription of Polyoma Virus DNA Early in Productive Infection and in Transformed Cells. *Journal of Virology*, 17(1), 20–26. <https://doi.org/10.1128/jvi.17.1.20-26.1976>
- Bellini, W. J., Englund, G., Richardson, C. D., Rozenblatt, S., & Lazzarini, R. A. (1986). Matrix genes of measles virus and canine distemper virus: cloning, nucleotide sequences, and deduced amino acid sequences. *Journal of Virology*, 58(2), 408–416. <https://doi.org/10.1128/jvi.58.2.408-416.1986>
- Bellini, W. J., Rota, J. S., Lowe, L. E., Katz, R. S., Dyken, P. R., Zaki, S. R., Shieh, W., & Rota, P. A. (2005). Subacute Sclerosing Panencephalitis: More Cases of This Fatal Disease Are Prevented by Measles Immunization than Was Previously Recognized. *The Journal of Infectious Diseases*, 192(10), 1686–1693. <https://doi.org/10.1086/497169>
- Beyer, W. R., Pöppelau, D., Garten, W., von Laer, D., & Lenz, O. (2003). Endoproteolytic Processing of the Lymphocytic Choriomeningitis Virus Glycoprotein by the Subtilase SKI-1/S1P. *Journal of Virology*, 77(5), 2866–2872. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.5.2866-2872.2003>
- Biswas, N., Wang, T., Ding, M., Tumne, A., Chen, Y., Wang, Q., & Gupta, P. (2012). ADAR1 is a novel multi targeted anti-HIV-1 cellular protein. *Virology*. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2011.10.024>
- Bock, C. T., Schwinn, S., Locarnini, S., Fyfe, J., Manns, M. P., Trautwein, C., & Zentgraf, H. (2001). Structural organization of the hepatitis B virus minichromosome. *Journal of Molecular Biology*, 307(1), 183–196. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4481>

- Borrow, P., & Oldstone, M. B. (1992). Characterization of lymphocytic choriomeningitis virus-binding protein(s): a candidate cellular receptor for the virus. *Journal of Virology*, *66*(12), 7270–7281. <https://doi.org/10.1128/jvi.66.12.7270-7281.1992>
- Bouvier, N. M., & Palese, P. (2008). The biology of influenza viruses. *Vaccine*, *26*(SUPPL. 4), 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.07.039>
- Brown, B. A., Lowenhaupt, K., Wilbert, C. M., Hanlon, E. B., & Rich, A. (2000). The Z α domain of the editing enzyme dsRNA adenosine deaminase binds left-handed Z-RNA as well as Z-DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*(25), 13532–13536. <https://doi.org/10.1073/pnas.240464097>
- Carpenter, J. A., Keegan, L. P., Wilfert, L., O’Connell, M. A., & Jiggins, F. M. (2009). Evidence for ADAR-induced hypermutation of the Drosophila sigma virus (Rhabdoviridae). *BMC Genetics*, *10*, 1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-10-75>
- Cattaneo, R., Schmid, A., Eschle, D., Baczko, K., ter Meulen, V., & Billeter, M. A. (1988). Biased hypermutation and other genetic changes in defective measles viruses in human brain infections. *Cell*, *55*(2), 255–265. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90048-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90048-7)
- Chan, T. H. M., Lin, C. H., Qi, L., Fei, J., Li, Y., Yong, K. J., Liu, M., Song, Y., Chow, R. K. K., Ng, V. H. E., Yuan, Y.-F., Tenen, D. G., Guan, X.-Y., & Chen, L. (2014). A disrupted RNA editing balance mediated by ADARs (Adenosine DeAminases that act on RNA) in human hepatocellular carcinoma. *Gut*, *63*(5), 832–843. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304037>
- Chatel-Chaix, L., Abrahamyan, L., Fréchina, C., Mouland, A. J., & DesGroseillers, L. (2007). The Host Protein Staufen1 Participates in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Assembly in Live Cells by Influencing pr55Gag Multimerization. *Journal of Virology*, *81*(12), 6216–6230. <https://doi.org/10.1128/jvi.00284-07>
- Chen, C. X., Cho, D. S., Wang, Q., Lai, F., Carter, K., & Nishikura, K. (2000). A third member of the RNA-specific adenosine deaminase gene binding domains. *Rna*, *6*, 755–767.
- Chilibeck, K. A., Wu, T., Liang, C., Schellenberg, M. J., Gesner, E. M., Lynch, J. M., & MacMillan, A. M. (2006). FRET analysis of in vivo dimerization by RNA-editing enzymes. *Journal of Biological Chemistry*, *281*(24), 16530–16535. <https://doi.org/10.1074/jbc.M511831200>
- *Cho, C. J., Myung, S. J., & Chang, S. (2017). ADAR1 and MicroRNA; a hidden crosstalk in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(4). <https://doi.org/10.3390/ijms18040799>
- Cho, D. S. C., Yang, W., Lee, J. T., Shiekhatar, R., Murray, J. M., & Nishikura, K. (2003). Requirement of dimerization for RNA editing activity of adenosine deaminases acting on RNA. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(19), 17093–17102. <https://doi.org/10.1074/jbc.M213127200>
- Chon, S. K., Perez, D. R., & Donis, R. O. (1998). Genetic analysis of the internal ribosome entry segment of bovine viral diarrhoea virus. *Virology*, *251*(2), 370–382. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9425>
- Clavel, F., Guetard, D., Brun-Vezinet, F., Chamaret, S., Rey, M. A., Santos-Ferreira, M. O., Laurent, A. G., Dauguet, C., Katlama, C., Rouzioux, C., & al., et. (1986). Isolation of a

- new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*, 233(4761), 343 LP – 346. <https://doi.org/10.1126/science.2425430>
- Clerzius, G., Gelinás, J.-F., Daher, A., Bonnet, M., Meurs, E. F., & Gatignol, A. (2009). ADAR1 Interacts with PKR during Human Immunodeficiency Virus Infection of Lymphocytes and Contributes to Viral Replication. *Journal of Virology*, 83(19), 10119–10128. <https://doi.org/10.1128/jvi.02457-08>
- Clerzius, G., Shaw, E., Daher, A., Burugu, S., Gélinas, J. F., Ear, T., Sinck, L., Routy, J. P., Mouland, A. J., Patel, R. C., & Gatignol, A. (2013). The PKR activator, PACT, becomes a PKR inhibitor during HIV-1 replication. *Retrovirology*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-96>
- Cuadrado, E., Booiman, T., Van Hamme, J. L., Jansen, M. H., Van Dort, K. A., Vanderver, A., Rice, G. I., Crow, Y. J., Kootstra, N. A., & Kuijpers, T. W. (2015). ADAR1 Facilitates HIV-1 Replication in Primary CD4+ T Cells. *PLoS ONE*, 10(12), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143613>
- de Chasse, B., Aublin-Gex, A., Ruggieri, A., Meyniel-Schicklin, L., Pradezynski, F., Davoust, N., Chantier, T., Tafforeau, L., Mangeot, P. E., Ciancia, C., Perrin-Cocon, L., Bartenschlager, R., André, P., & Lotteau, V. (2013). The Interactomes of Influenza Virus NS1 and NS2 Proteins Identify New Host Factors and Provide Insights for ADAR1 Playing a Supportive Role in Virus Replication. *PLoS Pathogens*, 9(7). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003440>
- Decorsière, A., Mueller, H., Van Breugel, P. C., Abdul, F., Gerossier, L., Beran, R. K., Livingston, C. M., Niu, C., Fletcher, S. P., Hantz, O., & Strubin, M. (2016). Hepatitis B virus X protein identifies the Smc5/6 complex as a host restriction factor. *Nature*, 531(7594), 386–389. <https://doi.org/10.1038/nature17170>
- Doria, M., Neri, F., Gallo, A., Farace, M. G., & Michienzi, A. (2009). Editing of HIV-1 RNA by the double-stranded RNA deaminase ADAR1 stimulates viral infection. *Nucleic Acids Research*, 37(17), 5848–5858. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp604>
- Doria, M., Tomaselli, S., Neri, F., Ciafrè, S. A., Farace, M. G., Michienzi, A., & Gallo, A. (2011). ADAR2 editing enzyme is a novel human immunodeficiency virus-1 proviral factor. *Journal of General Virology*, 92(5), 1228–1232. <https://doi.org/10.1099/vir.0.028043-0>
- Ehrhardt, C., Seyer, R., Hrinčius, E. R., Eierhoff, T., Wolff, T., & Ludwig, S. (2010). Interplay between influenza A virus and the innate immune signaling. *Microbes and Infection*, 12(1), 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.09.007>
- Emmott, E., Wise, H., Loucaides, E. M., Matthews, D. A., Digard, P., & Hiscox, J. A. (2010). Quantitative proteomics using SILAC coupled to LC-MS/MS reveals changes in the nucleolar proteome in influenza A virus-infected cells. *Journal of Proteome Research*, 9(10), 5335–5345. <https://doi.org/10.1021/pr100593g>
- Fabozzi, G., Oler, A. J., Liu, P., Chen, Y., Mindaye, S., Dolan, M. A., Kenney, H., Gucek, M., Zhu, J., Rabin, R. L., & Subbarao, K. (2018). Strand-Specific Dual RNA Sequencing of Bronchial Epithelial Cells Infected with Influenza A/H3N2 Viruses Reveals Splicing of Gene Segment 6 and Novel Host-Virus Interactions. *Journal of Virology*, 92(17). <https://doi.org/10.1128/jvi.00518-18>
- Field, A. K., Lampson, G. P., Tytell, A. A., & Hilleman, M. R. (1972). Demonstration of

- double-stranded ribonucleic acid in concentrates of RNA viruses. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 141(2), 440–444. <https://doi.org/10.3181/00379727-141-36793>
- *Frankel, A. D., & Young, J. A. T. (1998). HIV-1: Fifteen Proteins and an RNA. *Annual Review of Biochemistry*, 67(1), 1–25. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.1>
- Gandy, S. Z., Linnstaedt, S. D., Muralidhar, S., Cashman, K. A., Rosenthal, L. J., & Casey, J. L. (2007). RNA Editing of the Human Herpesvirus 8 Kaposin Transcript Eliminates Its Transforming Activity and Is Induced during Lytic Replication. *Journal of Virology*, 81(24), 13544–13551. <https://doi.org/10.1128/jvi.01521-07>
- Gannon, H. S., Zou, T., Kiessling, M. K., Gao, G. F., Cai, D., Choi, P. S., Ivan, A. P., Buchumenski, I., Berger, A. C., Goldstein, J. T., Cherniack, A. D., Vazquez, F., Tsherniak, A., Levanon, E. Y., Hahn, W. C., & Meyerson, M. (2018). Identification of ADAR1 adenosine deaminase dependency in a subset of cancer cells. *Nature Communications*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07824-4>
- Gao, W., & Hu, J. (2007). Formation of Hepatitis B Virus Covalently Closed Circular DNA: Removal of Genome-Linked Protein. *Journal of Virology*, 81(12), 6164–6174. <https://doi.org/10.1128/jvi.02721-06>
- Garaigorta, U., & Chisari, F. V. (2009). Hepatitis C Virus Blocks Interferon Effector Function by Inducing Protein Kinase R Phosphorylation. *Cell Host and Microbe*, 6(6), 513–522. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2009.11.004>
- George, C. X., & Samuel, C. E. (2011). Host Response to Polyomavirus Infection Is Modulated by RNA Adenosine Deaminase ADAR1 but Not by ADAR2. *Journal of Virology*, 85(16), 8338–8347. <https://doi.org/10.1128/jvi.02666-10>
- Gerber, A., Grosjean, H., Melcher, T., & Keller, W. (1998). Tad1p, a yeast tRNA-specific adenosine deaminase, is related to the mammalian pre-mRNA editing enzymes ADAR1 and ADAR2. *EMBO Journal*, 17(16), 4780–4789. <https://doi.org/10.1093/emboj/17.16.4780>
- Grice, L. F., & Degnan, B. M. (2015). The origin of the ADAR gene family and animal RNA editing. *BMC Evolutionary Biology*, 15(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0279-3>
- 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. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 83(2), 414–421. <https://doi.org/10.3181/00379727-83-20376>
- Gu, R., Zhang, Z., Decerbo, J. N., & Carmichael, G. G. (2009). Gene regulation by sense-antisense overlap of polyadenylation signals. *Rna*, 15(6), 1154–1163. <https://doi.org/10.1261/rna.1608909>
- Hartner, J. C., Walkley, C. R., Lu, J., & Orkin, S. H. (2009). ADAR1 is essential for the maintenance of hematopoiesis and suppression of interferon signaling. *Nature Immunology*, 10(1), 109–115. <https://doi.org/10.1038/ni.1680>
- Heale, B. S. E., Keegan, L. P., McGurk, L., Michlewski, G., Brindle, J., Stanton, C. M., Caceres, J. F., & O’Connell, M. A. (2009). Editing independent effects of ADARs on the

- miRNA/siRNA pathways. *EMBO Journal*, 28(20), 3145–3156.
<https://doi.org/10.1038/emboj.2009.244>
- Herbert, A., Alfken, J., Kim, Y. G., Mian, I. S., Nishikura, K., & Rich, A. (1997). A Z-DNA binding domain present in the human editing enzyme, double-stranded RNA adenosine deaminase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(16), 8421–8426. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.16.8421>
- Hijikata, M., Mizushima, H., Akagi, T., Mori, S., Kakiuchi, N., Kato, N., Tanaka, T., Kimura, K., & Shimotohno, K. (1993). Two distinct proteinase activities required for the processing of a putative nonstructural precursor protein of hepatitis C virus. *Journal of Virology*, 67(8), 4665–4675.
- Horikami, S. M., & Moyer, S. A. (1995). Double-stranded RNA adenosine deaminase activity during measles virus infection. *Virus Research*, 36(1), 87–96.
[https://doi.org/10.1016/0168-1702\(94\)00103-J](https://doi.org/10.1016/0168-1702(94)00103-J)
- Hyde-DeRuyscher, R., & Carmichael, G. G. (1988). Polyomavirus early-late switch is not regulated at the level of transcription initiation and is associated with changes in RNA processing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(23), 8993–8997. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.23.8993>
- Inglis, S. C., & Brown, C. M. (1981). Spliced and unspliced RNAs encoded by virion RNA segment 7 of influenza virus. *Nucleic Acids Research*, 9(12), 2727–2740.
<https://doi.org/10.1093/nar/9.12.2727>
- Kamen, R., Lindstrom, D. M., Shure, H., & Old, R. W. (1975). Virus-specific RNA in cells productively infected or transformed by polyoma virus. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 39 Pt 1, 187–198. <https://doi.org/10.1101/sqb.1974.039.01.025>
- Keating, G. M., & Noble, S. (2003). Recombinant Hepatitis B Vaccine (Engerix-B®). *Drugs*, 63(10), 1021–1051. <https://doi.org/10.2165/00003495-200363100-00006>
- Kowalski, M., Potz, J., Basiripour, L., Dorfman, T., Chun, W., Kowalski, M., Potz, J., Basiripour, L., Dorfman, T., Goh, W. E. I. C., Terwilliger, E., Dayton, A., Rosen, C., Haseltine, W., & Sodroski, J. (2016). *Functional Regions of the Envelope Glycoprotein of Human Immunodeficiency Virus Type Sodroski Published by : American Association for the Advancement of Science Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1700013>*
REFERENCES Linked references are available on.
- Kumar, M., & Carmichael, G. G. (1997). Nuclear antisense RNA induces extensive adenosine modifications and nuclear retention of target transcripts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(8), 3542–3547.
<https://doi.org/10.1073/pnas.94.8.3542>
- Lamb, R. A., & Choppin, P. W. (1979). Segment 8 of the influenza virus genome is unique in coding for two polypeptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(10), 4908–4912. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.4908>
- Lehmann, K. A., & Bass, B. L. (2000). *Double-Stranded RNA Adenosine Deaminases ADAR1 and ADAR2 Have Overlapping Specificities*. 1996, 12875–12884.
<https://doi.org/10.1021/bi001383g>
- Lei, M., Liu, Y., & Samuel, C. E. (1998). Adenovirus VAI RNA antagonizes the RNA-editing activity of the ADAR adenosine deaminase. *Virology*, 245(2), 188–196.

<https://doi.org/10.1006/viro.1998.9162>

- Lei, T., Yuen, K. S., Tsao, S. W., Chen, H., Kok, K. H., & Jin, D. Y. (2013). Perturbation of biogenesis and targeting of Epstein-Barr virus-encoded miR-BART3 microRNA by adenosine-to-inosine editing. *Journal of General Virology*, 94(PART 12), 2739–2744. <https://doi.org/10.1099/vir.0.056226-0>
- Lexová, P., Částková, J., Kynčl, J., Mand'áková, Z., & Němeček, V. (2015). *Výskyt virových hepatitid v České republice-rok 2015 a trendy v posledních deseti letech* *Viral hepatitis in the Czech Republic in 2015 and trends in the last decade* *INFORMACE Z NRL A ODBORNÝCH PRACOVÍŠŤ CEM INFORMATION FROM THE NRL AND RESEARCH GROUPS O*. http://www.szu.cz/uploads/Epidemiologie/Hepatitidy/2015_trendy_vir_hep_v_CR.pdf
- Li, Y., Masaki, T., Shimakami, T., & Lemon, S. M. (2014). *hnRNP L and NF90 Interact with Hepatitis C Virus 5' Terminal Untranslated RNA and Promote Efficient Replication*. 88(13), 7199–7209. <https://doi.org/10.1128/JVI.00225-14>
- Li, Z., Okonski, K. M., & Samuel, C. E. (2012). Adenosine Deaminase Acting on RNA 1 (ADAR1) Suppresses the Induction of Interferon by Measles Virus. *Journal of Virology*, 86(7), 3787–3794. <https://doi.org/10.1128/jvi.06307-11>
- *Liaw, Y. F., & Chu, C. M. (2009). Hepatitis B virus infection. *The Lancet*, 373(9663), 582–592. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60207-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60207-5)
- Lindley, R. A., & Steele, E. J. (2018). *ADAR and APOBEC editing signatures in viral RNA during acute-phase Innate Immune responses of the host-parasite relationship to Flaviviruses*. 2018, 1–21. <https://doi.org/10.9777/rr.2018.10325.www.companyofscientists.com/index.php/chd>
- Liu, G., Ma, X., Wang, Z., Wakae, K., Yuan, Y., He, Z., Yoshiyama, H., Iizasa, H., Zhang, H., Matsuda, M., Sugiyama, R., Yuan, Z., Muramatsu, M., & Li, L. (2019). Adenosine deaminase acting on RNA-1 (ADAR1) inhibits hepatitis B virus (HBV) replication by enhancing microRNA-122 processing. *Journal of Biological Chemistry*, 294(38), 14043–14054. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.007970>
- Malathi, K., Saito, T., Crochet, N., Barton, D. J., Gale, M., & Silverman, R. H. (2010). RNase L releases a small RNA from HCV RNA that refolds into a potent PAMP. *Rna*, 16(11), 2108–2119. <https://doi.org/10.1261/rna.2244210>
- Martínez, I., Dopazo, J., & Melero, J. A. (1997). Antigenic structure of the human respiratory syncytial virus G glycoprotein and relevance of hypermutation events for the generation of antigenic variants. *Journal of General Virology*, 78(10), 2419–2429. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-78-10-2419>
- Martínez, I., & Melero, J. A. (2002). A model for the generation of multiple A to G transitions in the human respiratory syncytial virus genome: Predicted RNA secondary structures as substrates for adenosine deaminases that act on RNA. *Journal of General Virology*, 83(6), 1445–1455. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-83-6-1445>
- McClurkin, A. W., Littledike, E. T., Cutlip, R. C., Frank, G. H., Coria, M. F., & Bolin, S. R. (1984). Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 48(2), 156–161.
- Meyer, B. J., & Southern, P. J. (1993). Concurrent sequence analysis of 5' and 3' RNA

- termini by intramolecular circularization reveals 5' nontemplated bases and 3' terminal heterogeneity for lymphocytic choriomeningitis virus mRNAs. *Journal of Virology*, 67(5), 2621–2627. <https://doi.org/10.1128/jvi.67.5.2621-2627.1993>
- Mohamed, Y. M., Bangphoomi, N., Yamane, D., Suda, Y., Kato, K., Horimoto, T., & Akashi, H. (2014). Physical interaction between bovine viral diarrhoea virus nonstructural protein 4A and adenosine deaminase acting on RNA (ADAR). *Archives of Virology*, 159(7), 1735–1741. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-1997-3>
- Mouland, A. J., Mercier, J., Luo, M., Bernier, L., DesGroseillers, L., & Cohen, É. A. (2000). The Double-Stranded RNA-Binding Protein Staufen Is Incorporated in Human Immunodeficiency Virus Type 1: Evidence for a Role in Genomic RNA Encapsidation. *Journal of Virology*, 74(12), 5441–5451. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.12.5441-5451.2000>
- Neville, M., Stutz, F., Lee, L., Davis, L. I., & Rosbash, M. (1997). The importin-beta family member Crm1 p bridges the interaction between Rev and the nuclear pore complex during nuclear export. *Current Biology*, 7(10), 767–775. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(06\)00335-6](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(06)00335-6)
- *Nishikura, K. (2010). Functions and regulation of RNA editing by ADAR deaminases. *Annual Review of Biochemistry*, 79, 321–349. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060208-105251.Functions>
- Ngamurulert, S., Limjindaporn, T., & Auewarakul, P. (2009). Identification of cellular partners of Influenza A virus (H5N1) non-structural protein NS1 by yeast two-hybrid system. *Acta Virologica*, 53(3), 153–159. https://doi.org/10.4149/av_2009_03_153
- Nie, Y., Hammond, G. L., & Yang, J.-H. (2007). Double-Stranded RNA Deaminase ADAR1 Increases Host Susceptibility to Virus Infection. *Journal of Virology*, 81(2), 917–923. <https://doi.org/10.1128/jvi.01527-06>
- Niu, C., Livingston, C. M., Li, L., Beran, R. K., Daffis, S., Ramakrishnan, D., Burdette, D., Peiser, L., Salas, E., Ramos, H., Yu, M., Cheng, G., Strubin, M., Delaney, W. E., & Fletcher, S. P. (2017). The Smc5/6 complex restricts HBV when localized to ND10 without inducing an innate immune response and is counteracted by the HBV X protein shortly after infection. In *PLoS ONE* (Vol. 12, Issue 1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169648>
- Orecchini, E., Federico, M., Doria, M., Arenaccio, C., Giuliani, E., Ciafrè, S. A., & Michienzi, A. (2015). The ADAR1 editing enzyme is encapsidated into HIV-1 virions. *Virology*, 485, 475–480. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.07.027>
- Ota, H., Sakurai, M., Gupta, R., Valente, L., Wulff, B.-E., Ariyoshi, K., Iizasa, H., Davuluri, R. V., & Nishikura, K. (2013). ADAR1 forms a complex with Dicer to promote microRNA processing and RNA-induced gene silencing. *Cell*, 153(3), 575–589. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.024>
- Ovsyannikova, I. G., Oberg, A. L., Kennedy, R. B., Zimmermann, M. T., Haralambieva, I. H., Goergen, K. M., Grill, D. E., & Poland, G. A. (2016). Gene signatures related to HAI response following influenza A/H1N1 vaccine in older individuals. *Heliyon*, 2(5). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00098>
- Patterson, J B, & Samuel, C. E. (1995). Expression and regulation by interferon of a double-stranded-RNA-specific adenosine deaminase from human cells: evidence for two forms

- of the deaminase. *Molecular and Cellular Biology*, 15(10), 5376–5388.
<https://doi.org/10.1128/mcb.15.10.5376>
- Patterson, J. B., Cornu, T. I., Redwine, J., Dales, S., Lewicki, H., Holz, A., Thomas, D., Billeter, M. A., & Oldstone, M. B. A. (2001). Evidence that the hypermutated M protein of a subacute sclerosing panencephalitis measles virus actively contributes to the chronic progressive CNS disease. *Virology*. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1182>
- Peng, X., Xu, X., Wang, Y., Hawke, D. H., Yu, S., Han, L., Zhou, Z., Mojumdar, K., Jeong, K. J., Labrie, M., Tsang, Y. H., Zhang, M., Lu, Y., Hwu, P., Scott, K. L., Liang, H., & Mills, G. B. (2018). A-to-I RNA Editing Contributes to Proteomic Diversity in Cancer. *Cancer Cell*, 33(5), 817–828.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.026>
- Phuphuakrat, A., Kraiwong, R., Boonarkart, C., Lauhakirti, D., Lee, T.-H., & Auewarakul, P. (2008). Double-Stranded RNA Adenosine Deaminases Enhance Expression of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Proteins. *Journal of Virology*, 82(21), 10864–10872. <https://doi.org/10.1128/jvi.00238-08>
- Pinschewer, D. D., Perez, M., & de la Torre, J. C. (2005). Dual Role of the Lymphocytic Choriomeningitis Virus Intergenic Region in Transcription Termination and Virus Propagation. *Journal of Virology*, 79(7), 4519–4526. <https://doi.org/10.1128/jvi.79.7.4519-4526.2005>
- Polson, A. G., & Bass, B. L. (1994). *Preferential selection of adenosines for modification by double-stranded RNA adenosine deaminase*. 13(23), 5701–5711.
- Poole, T. L., Wang, C., Popp, R. A., Potgieter, L. N. D., Siddiqui, A., & Collett, M. S. (1995). Pestivirus translation initiation occurs by internal ribosome entry. *Virology*, 206(1), 750–754. [https://doi.org/10.1016/S0042-6822\(95\)80003-4](https://doi.org/10.1016/S0042-6822(95)80003-4)
- Poulsen, H., Nilsson, J., Damgaard, C. K., Egebjerg, J., & Kjems, J. (2001). CRM1 Mediates the Export of ADAR1 through a Nuclear Export Signal within the Z-DNA Binding Domain. *Molecular and Cellular Biology*, 21(22), 7862–7871. <https://doi.org/10.1128/mcb.21.22.7862-7871.2001>
- Pujantell, M., Franco, S., Galván-Femenía, I., Badia, R., Castellví, M., Garcia-Vidal, E., Clotet, B., de Cid, R., Tural, C., Martínez, M. A., Riveira-Muñoz, E., Esté, J. A., & Ballana, E. (2018). ADAR1 affects HCV infection by modulating innate immune response. *Antiviral Research*, 156(May), 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.05.012>
- Pujantell, M., Riveira-Muñoz, E., Badia, R., Castellví, M., Garcia-Vidal, E., Sirera, G., Puig, T., Ramirez, C., Clotet, B., Esté, J. A., & Ballana, E. (2017). RNA editing by ADAR1 regulates innate and antiviral immune functions in primary macrophages. *Scientific Reports*, 7(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13580-0>
- Qi, L., Song, Y., Chan, T. H. M., Yang, H., Lin, C. H., Tay, D. J. T., Hong, H., Tang, S. J., Tan, K. T., Huang, X. X., Lin, J. S., Ng, V. H. E., Maury, J. J. P., Tenen, D. G., & Chen, L. (2017). An RNA editing/dsRNA binding-independent gene regulatory mechanism of ADARs and its clinical implication in cancer. *Nucleic Acids Research*, 45(18), 10436–10451. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx667>
- Renard, A., Guiot, C., Schmetz, D., Dagenais, L., Pastoret, P.-P., Dina, D., & Martial, J. A. (1985). Molecular Cloning of Bovine Viral Diarrhea Viral Sequences. *DNA*, 4(6), 429–438. <https://doi.org/10.1089/dna.1985.4.429>

- Riviere, Y., Ahmed, R., Southern, P. J., Buchmeier, M. J., Dutko, F. J., & Oldstone, M. B. (1985). The S RNA segment of lymphocytic choriomeningitis virus codes for the nucleoprotein and glycoproteins 1 and 2. *Journal of Virology*, *53*(3), 966–968. <https://doi.org/10.1128/jvi.53.3.966-968.1985>
- Robinson, W. S., Clayton, D. A., & Greenman, R. L. (1974). DNA of a Human Hepatitis B Virus Candidate. *Journal of Virology*, *14*(2), 384–391. <https://doi.org/10.1128/jvi.14.2.384-391.1974>
- Rosani, U., Bai, C. M., Maso, L., Shapiro, M., Abbadi, M., Domeneghetti, S., Wang, C. M., Cendron, L., MacCarthy, T., & Venier, P. (2019). A-to-I editing of Malacoherpesviridae RNAs supports the antiviral role of ADAR1 in mollusks. *BMC Evolutionary Biology*, *19*(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12862-019-1472-6>
- Runkler, N., Pohl, C., Schneider-Schaulies, S., Klenk, H. D., & Maisner, A. (2007). Measles virus nucleocapsid transport to the plasma membrane requires stable expression and surface accumulation of the viral matrix protein. *Cellular Microbiology*, *9*(5), 1203–1214. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00860.x>
- Ruszkowska, A., Lenartowicz, E., Moss, W. N., Kierzek, R., & Kierzek, E. (2016). Secondary structure model of the naked segment 7 influenza A virus genomic RNA. *Biochemical Journal*, *473*(23), 4327–4348. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160651>
- Salvato, M. S., & Shimomaye, E. M. (1989). The completed sequence of lymphocytic choriomeningitis virus reveals a unique RNA structure and a gene for a zinc finger protein. *Virology*, *173*(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(89\)90216-x](https://doi.org/10.1016/0042-6822(89)90216-x)
- *Samuel, C. E. (2011). Adenosine deaminases acting on RNA (ADARs) are both antiviral and proviral. *Virology*, *411*(2), 180–193. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.12.004>
- Sarvestani, S. T., Tate, M. D., Moffat, J. M., Jacobi, A. M., Behlke, M. A., Miller, A. R., Beckham, S. A., McCoy, C. E., Chen, W., Mintern, J. D., O’Keeffe, M., John, M., Williams, B. R. G., & Gantier, M. P. (2014). Inosine-Mediated Modulation of RNA Sensing by Toll-Like Receptor 7 (TLR7) and TLR8. *Journal of Virology*, *88*(2), 799–810. <https://doi.org/10.1128/jvi.01571-13>
- Sato, A., Tateishi, K., Shinohara, M., Naoi, Y., Shiokawa, M., Aoki, H., Ohmori, K., Mizutani, T., Shirai, J., & Nagai, M. (2016). Complete genome sequencing of bovine viral diarrhea virus 1, subgenotypes 1n and 1o. *Genome Announcements*, *4*(1), 2015–2016. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01744-15>
- *Savva, Y. A., Rieder, L. E., & Reenan, R. A. (2012). The ADAR protein family. *Genome Biology*, *13*(12), 252. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-12-252>
- Scadden, A. D. J. (2005). The RISC subunit Tudor-SN binds to hyper-edited double-stranded RNA and promotes its cleavage. *Nature Structural & Molecular Biology*, *12*(6), 489–496. <https://doi.org/10.1038/nsmb936>
- Scadden, A. D. J., & Smith, C. W. J. (1997). A ribonuclease specific for inosine-containing RNA: A potential role in antiviral defence? *EMBO Journal*, *16*(8), 2140–2149. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.8.2140>
- Scadden, A. D. J., & Smith, C. W. J. (2001). Specific cleavage of hyper-edited dsRNAs. *EMBO Journal*, *20*(15), 4243–4252. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.15.4243>
- Serra, M. J., Smolter, P. E., & Westhof, E. (2004). Pronounced instability of tandem IU base

- pairs in RNA. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1824–1828.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkh501>
- Singh, M. K., Fuller-Pace, F. V., Buchmeier, M. J., & Southern, P. J. (1987). Analysis of the genomic l rna segment from lymphocytic choriomeningitis virus. *Virology*, 161(2), 448–456. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0042-6822\(87\)90138-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0042-6822(87)90138-3)
- Srivastava, S. P., Kumar, K. U., & Kaufman, R. J. (1998). Phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 2 mediates apoptosis in response to activation of the double-stranded RNA-dependent protein kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 273(4), 2416–2423. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.4.2416>
- Stokstad, M., Niskanen, R., Lindberg, A., Thorén, P., Belák, S., Alenius, S., & Løken, T. (2003). Experimental Infection of Cows with Bovine Viral Diarrhoea Virus in Early Pregnancy - Findings in Serum and Foetal Fluids. *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 50(9), 424–429.
<https://doi.org/10.1046/j.0931-1793.2003.00699.x>
- Strobel, S. A., Cech, T. R., Usman, N., & Beigelman, L. (1994). The 2,6-diaminopurine riboside.5-methylisocytidine wobble base pair: an isoenergetic substitution for the study of G.U pairs in RNA. *Biochemistry*, 33(46), 13824–13835.
<https://doi.org/10.1021/bi00250a037>
- Summers, J., O'Connell, A., & Millman, I. (1975). Genome of hepatitis B virus: Restriction enzyme cleavage and structure of DNA extracted from Dane particles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72(11), 4597–4601.
<https://doi.org/10.1073/pnas.72.11.4597>
- Summers, Jesse, & Mason, W. S. (1982). Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell*, 29(2), 403–415.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90157-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90157-X)
- Suspense, R., Petit, V., Puyraimond-Zemmour, D., Aynaud, M.-M., Henry, M., Guetard, D., Rusniok, C., Wain-Hobson, S., & Vartanian, J.-P. (2011). Double-Stranded RNA Adenosine Deaminase ADAR-1-Induced Hypermutated Genomes among Inactivated Seasonal Influenza and Live Attenuated Measles Virus Vaccines. *Journal of Virology*, 85(5), 2458–2462. <https://doi.org/10.1128/jvi.02138-10>
- Suspène, R., Renard, M., Henry, M., Guétard, D., Puyraimond-Zemmour, D., Billecocq, A., Bouloy, M., Tangy, F., Vartanian, J. P., & Wain-Hobson, S. (2008). Inversing the natural hydrogen bonding rule to selectively amplify GC-rich ADAR-edited RNAs. *Nucleic Acids Research*, 36(12), 1–10. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn295>
- Tautz, N., Kaiser, A., & Thiel, H. J. (2000). NS3 serine protease of bovine viral diarrhea virus: Characterization of active site residues, NS4A cofactor domain, and protease-cofactor interactions. *Virology*, 273(2), 351–363. <https://doi.org/10.1006/viro.2000.0425>
- Taylor, D. R., Darnell, M. E. R., Mihalik, K., Feinstone, S. M., & Al, T. E. T. (2005). *New Antiviral Pathway That Mediates Hepatitis C Virus Replicon Interferon Sensitivity through ADAR1*. 79(10), 6291–6298. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.10.6291>
- TenOever, B. R., Ng, S.-L., Chua, M. A., McWhirter, S. M., Garcia-Sastre, A., & Maniatis, T. (2007). Multiple Functions of the IKK-Related Kinase IKKe in Interferon-Mediated Antiviral Immunity. *Science*, 315(March), 1274–1279.
<https://doi.org/10.7551/mitpress/8876.003.0036>

- Terenin, I. M., Dmitriev, S. E., Andreev, D. E., & Shatsky, I. N. (2008). Eukaryotic translation initiation machinery can operate in a bacterial-like mode without eIF2. *Nature Structural & Molecular Biology*, *15*(8), 836–841. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1445>
- *Tomaselli, S., Galeano, F., Locatelli, F., & Gallo, A. (2015). *ADARs and the Viral Life Cycle Tomaselli et al.* <https://doi.org/10.21775/cimb.017.037>
- Toth, A. M., Li, Z., Cattaneo, R., & Samuel, C. E. (2009). RNA-specific adenosine deaminase ADAR1 suppresses measles virus-induced apoptosis and activation of protein kinase PKR. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(43), 29350–29356. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.045146>
- Tsukiyama-Kohara, K., Iizuka, N., Kohara, M., & Nomoto, A. (1992). Internal ribosome entry site within hepatitis C virus RNA. *Journal of Virology*, *66*(3), 1476–1483. <https://doi.org/10.1128/jvi.66.3.1476-1483.1992>
- Tuttleman, J. S., Pourcel, C., & Summers, J. (1986). Formation of the pool of covalently closed circular viral DNA in hepadnavirus-infected cells. *Cell*, *47*(3), 451–460. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(86\)90602-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90602-1)
- Virakul, P., Fahning, M. L., Joo, H. S., & Zemjanis, R. (1988). Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of Bovine Viral Diarrhea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. *Theriogenology*, *29*(2), 441–449. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(88\)90246-4](https://doi.org/10.1016/0093-691X(88)90246-4)
- Wagner, R. W., Smith, J. E., Cooperman, B. S., & Nishikura, K. (1989). A double-stranded RNA unwinding activity introduces structural alterations by means of adenosine to inosine conversions in mammalian cells and *Xenopus* eggs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *86*(8), 2647–2651. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.8.2647>
- *Walkley, C. R., & Li, J. B. (2017). Rewriting the transcriptome: Adenosine-to-inosine RNA editing by ADARs. *Genome Biology*, *18*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1347-3>
- Wang, Q., Miyakoda, M., Yang, W., Khillan, J., Stachura, D. L., Weiss, M. J., & Nishikura, K. (2004). Stress-induced Apoptosis Associated with Null Mutation of ADAR1 RNA Editing Deaminase Gene. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(6), 4952–4961. <https://doi.org/10.1074/jbc.M310162200>
- Wang, S., Qiu, L., Yan, X., Jin, W., Wang, Y., Chen, L., Wu, E., Ye, X., Gao, G. F., Wang, F., Chen, Y., Duan, Z., & Meng, S. (2012). Loss of microRNA 122 expression in patients with hepatitis B enhances hepatitis B virus replication through cyclin G 1-modulated P53 activity. *Hepatology*, *55*(3), 730–741. <https://doi.org/10.1002/hep.24809>
- Wang, Shanshan, Wu, X., Pan, T., Song, W., Wang, Y., Zhang, F., & Yuan, Z. (2012). Viperin inhibits hepatitis C virus replication by interfering with binding of NS5A to host protein hVAP-33. *Journal of General Virology*, *93*(1), 83–92. <https://doi.org/10.1099/vir.0.033860-0>
- Ward, S. V., George, C. X., Welch, M. J., Liou, L. Y., Hahm, B., Lewicki, H., De La Torre, J. C., Samuel, C. E., & Oldstone, M. B. (2011). RNA editing enzyme adenosine deaminase is a restriction factor for controlling measles virus replication that also is required for embryogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108*(1), 331–336. <https://doi.org/10.1073/pnas.1017241108>

- *Watts, J. M., Dang, K. K., Gorelick, R. J., Leonard, C. W., Bess Jr, J. W., Swanstrom, R., Burch, C. L., & Weeks, K. M. (2009). Architecture and secondary structure of an entire HIV-1 RNA genome. *Nature*, *460*(7256), 711–716. <https://doi.org/10.1038/nature08237>
- Weiden, M. D., Hoshino, S., Levy, D. N., Li, Y., Kumar, R., Burke, S. A., Dawson, R., Hioe, C. E., Borkowsky, W., Rom, W. N., & Hoshino, Y. (2014). Adenosine deaminase acting on RNA-1 (ADAR1) Inhibits HIV-1 replication in human alveolar macrophages. *PLoS ONE*, *9*(10), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108476>
- Werle-Lapostolle, B., Bowden, S., Locarnini, S., Wursthorn, K., Petersen, J., Lau, G., Trepo, C., Marcellin, P., Goodman, Z., Delaney IV, W. E., Xiong, S., Brosgart, C. L., Chen, S. S., Gibbs, C. S., & Zoulim, F. (2004). Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology*, *126*(7), 1750–1758. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.03.018>
- Wiskerchen, M., Belzer, S. K., & Collett, M. S. (1991). Pestivirus gene expression: the first protein product of the bovine viral diarrhea virus large open reading frame, p20, possesses proteolytic activity. *Journal of Virology*, *65*(8), 4508–4514. <https://doi.org/10.1128/jvi.65.8.4508-4514.1991>
- Wiskerchen, M., & Collett, M. S. (1991). Pestivirus gene expression: protein p80 of bovine viral diarrhea virus is a proteinase involved in polyprotein processing. *Virology*, *184*(1), 341–350. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(91\)90850-b](https://doi.org/10.1016/0042-6822(91)90850-b)
- Wong, S. K., & Lazinski, D. W. (2002). Replicating hepatitis delta virus RNA is edited in the nucleus by the small form of ADAR1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(23), 15118–15123. <https://doi.org/10.1073/pnas.232416799>
- *World Health Organization. (2020). Hepatitis B Fact Sheet N204: Hepatitis B. *World Health Organization*.
- Wright, D. J., Rice, J. L., Yanker, D. M., & Znosko, B. M. (2007). Nearest neighbor parameters for inosine·uridine pairs in RNA duplexes. *Biochemistry*, *46*(15), 4625–4634. <https://doi.org/10.1021/bi0616910>
- Wu, X., Shi, W., Wu, J., Zhu, X., Chen, K., Zheng, S., Li, Z., Duan, Z., Li, H., & Liu, Y. (2014). A functional polymorphism in ADAR1 gene affects HBsAg seroclearance both spontaneously and interferon induced. *Liver International*, *34*(10), 1560–1565. <https://doi.org/10.1111/liv.12444>
- Wu, X., Xin, Z., Zhu, X., Pan, L., Li, Z., Li, H., & Liu, Y. (2012). Polymorphisms in ADAR1 gene affect response to interferon alpha based therapy for chronic hepatitis B in Han Chinese. *Antiviral Research*, *94*(3), 272–275. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.03.004>
- *Xu, C., Bailly-maitre, B., Reed, J. C., Xu, C., Bailly-maitre, B., & Reed, J. C. (2005). *Endoplasmic reticulum stress : cell life and death decisions Find the latest version : Review series Endoplasmic reticulum stress : cell life and death decisions*. *115*(10), 2656–2664. <https://doi.org/10.1172/JCI26373.2656>
- Zahn, R. C., Schelp, I., Utermöhlen, O., & von Laer, D. (2007). A-to-G Hypermutation in the Genome of Lymphocytic Choriomeningitis Virus. *Journal of Virology*, *81*(2), 457–464. <https://doi.org/10.1128/jvi.00067-06>