

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program:

Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor:

Molekulární biologie a biochemie organismů



**Lucie Dvořáková**

MikroRNA u lidských zhoubných nádorů spojených s virovou infekcí

MicroRNAs in Human Cancers Associated with Viral Infections

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

Praha 2016

**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, 17. 8. 2016

Podpis:

**Poděkování:**

Chtěla bych poděkovat své vedoucí práce RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D. za odborné rady, ochotu a věnovaný čas.

Mé poděkování patří také Mgr. Zuzaně Vojtěchové za vstřícný přístup a poskytnuté rady.

## Abstrakt

MikroRNA (miRNA) jsou krátké jednořetězcové RNA, které nekódují proteiny. Jejich hlavním cílem je regulace genové exprese na úrovni translace. Tato regulace je způsobena vazbou miRNA na částečně komplementární úsek mRNA, jež může být jak buněčná, tak virová. Předpokládá se, že miRNA ovlivňují expresi až jedné třetiny lidských genů, čímž regulují růst, diferenciaci a apoptózu buněk. V poslední době byly také identifikovány miRNA kódované převážně DNA viry. Tyto miRNA podporují perzistenci virové infekce v hostiteli a mohou přispívat ke vzniku nádorových transformací. Onkogenezi významně ovlivňují také buněčné miRNA, jejichž exprese je regulována virovými proteiny.

V současné době je výzkum miRNA velmi aktuální. Uvažuje se o nich jako o potenciálních biomarkerech a v běhu jsou klinické zkoušky použití miRNA pro terapii nádorových onemocnění.

V této práci popisují biogenezi a regulační funkce miRNA. Dále uvádím přehled virových miRNA a následně se zaměřuji na lidské nádorové viry, které nejenže kódují vlastní miRNA, ale také ovlivňují expresi hostitelských miRNA. V neposlední řadě informuji o současném klinickém využití miRNA.

**Klíčová slova:** virová miRNA, buněčná miRNA, onkogeneze, virové infekce, nádorová transformace, genová exprese

## Abstract

MicroRNA (miRNA) are short single-stranded RNAs that do not encode proteins. Their main function is the regulation of the gene expression on the level of translation. This regulation is mediated by the binding of miRNA to the partially complementary segments of mRNA, both cellular or viral. It is estimated that miRNAs affect expression of at least one third of human genes and thereby influence regulation of cellular growth, differentiation and apoptosis of cells. Recently the miRNAs encoded mainly by DNA viruses were discovered. These miRNAs enhance the persistence of viral infection in the host and can contribute to malignant transformation. However, the oncogenesis is also significantly affected by the regulation of cellular miRNAs expression by viral proteins.

The miRNA research is topical. MiRNAs are considered as potential biomarkers and their utilization as a cancer therapy is being intensely explored.

In this thesis, I'm describing the biogenesis and regulatory functions of miRNAs. I'm also presenting an overview of viral miRNAs focusing on human oncogenic viruses which do not only code their own miRNAs but also influence the expression of the host miRNAs. Finally, I am focusing on current clinical applications of miRNA.

**Key words:** viral miRNA, cellular miRNA, oncogenesis, viral infections, malignant transformation, gene expression

# Obsah

1	Úvod .....	1
2	MikroRNA.....	2
2.1	Biogeneze mikroRNA .....	2
2.2	Interakce s genomem.....	5
2.2.1	Vyhledávání a vazba cílových sekvencí.....	5
2.2.2	Inhibice translace.....	5
2.2.3	Degradace mRNA .....	6
3	Virové mikroRNA .....	7
3.1	Objev virových mikroRNA .....	7
3.2	Přehled virových mikroRNA.....	8
3.2.1	MiRNA u herpesvirů .....	8
3.2.2	MiRNA u polyomavirů.....	10
3.2.3	MiRNA u adenovirů.....	10
3.2.4	MiRNA u retrovirů.....	11
4	Lidské nádorové viry .....	12
4.1	Mechanismus onkogeneze virů .....	12
4.1.1	Onkogeneze herpesvirů .....	12
4.1.2	Onkogeneze papilomavirů.....	14
4.1.3	Onkogeneze HBV.....	15
4.1.4	Onkogeneze HCV.....	15
4.1.5	Onkogeneze HTLV-1 .....	16
4.1.6	Onkogeneze polyomavirů.....	16
4.2	MikroRNA nádorových virů a jejich funkce.....	17
4.3	Hostitelské mikroRNA a regulace virové infekce.....	18
4.3.1	Herpesviry .....	18
4.3.2	Papilomaviry .....	19

4.3.3	Polyomaviry .....	19
4.3.4	HTLV-1 .....	20
4.3.5	HBV.....	20
4.3.6	HCV.....	21
4.4	Klinické využití mikroRNA .....	21
5	Závěr.....	25
6	Seznam zkratek.....	26
7	Seznam použité literatury .....	31

# 1 Úvod

MikroRNA (miRNA) se řadí mezi krátké nekódující RNA, které vznikají v jádře eukaryotických buněk a váží se ke komplementárním úsekům mRNA molekul, což vede k degradaci těchto molekul, k inhibici translace a v některých případech k aktivaci exprese jimi kódovaných genů. Až jedna třetina všech mRNA v buňce je regulována pomocí miRNA (Lewis *et al.*, 2005). O funkci krátkých molekul RNA jako o regulátorech translace se poprvé začalo uvažovat v roce 1993 (Lee *et al.*, 1993).

Studium vlastností a biogeneze miRNA nabývá významu v oblasti virologie. Svě vlastní miRNA kóduje řada DNA virů, včetně virů vyvolávajících nádory. Mezi nádorové viry řadíme herpesviry, hepadnaviry, adenoviry, papilomaviry, polyomaviry a HTLV-1, přičemž virové miRNA nebyly dosud identifikovány pouze u papilomavirů a HTLV-1. Většina DNA virů využívá pro svou reprodukci transkripční aparát hostitelské buňky a to i k syntéze vlastních virových miRNA. Na druhou stranu v infikovaných buňkách virové molekuly ovlivňují expresi buněčných miRNA. Virové miRNA se účastní regulace buněčného cyklu a inhibice apoptózy. Tyto zásahy do běžných nitrobuněčných procesů pomáhají virům navodit a udržet latenci, případně způsobit nadměrnou deregulovanou proliferaci hostitelských buněk vedoucí až k jejich imortalizaci a transformaci.

V současné době se již poznatky o buněčných miRNA využívají v terapii nádorových onemocnění. Nadměrná exprese miRNA v transformovaných buňkách je potlačována antagonisty miRNA, naopak snížená exprese miRNA v nádorové tkáni je kompenzována krátkými dvouřetězcovými oligonukleotidy, které zastupují funkci miRNA. MiRNA se též využívají jako biomarker k získání informace o metabolickém stavu či pozměněné regulaci buněčného cyklu.

V této bakalářské práci popíši biogenezi miRNA, uvedu obecný přehled virových miRNA, krátce vysvětlím základní mechanismy onkogeneze jednotlivých skupin virů a následně se zaměřím na miRNA účastnící se maligní transformace buněk.



## 2 MikroRNA

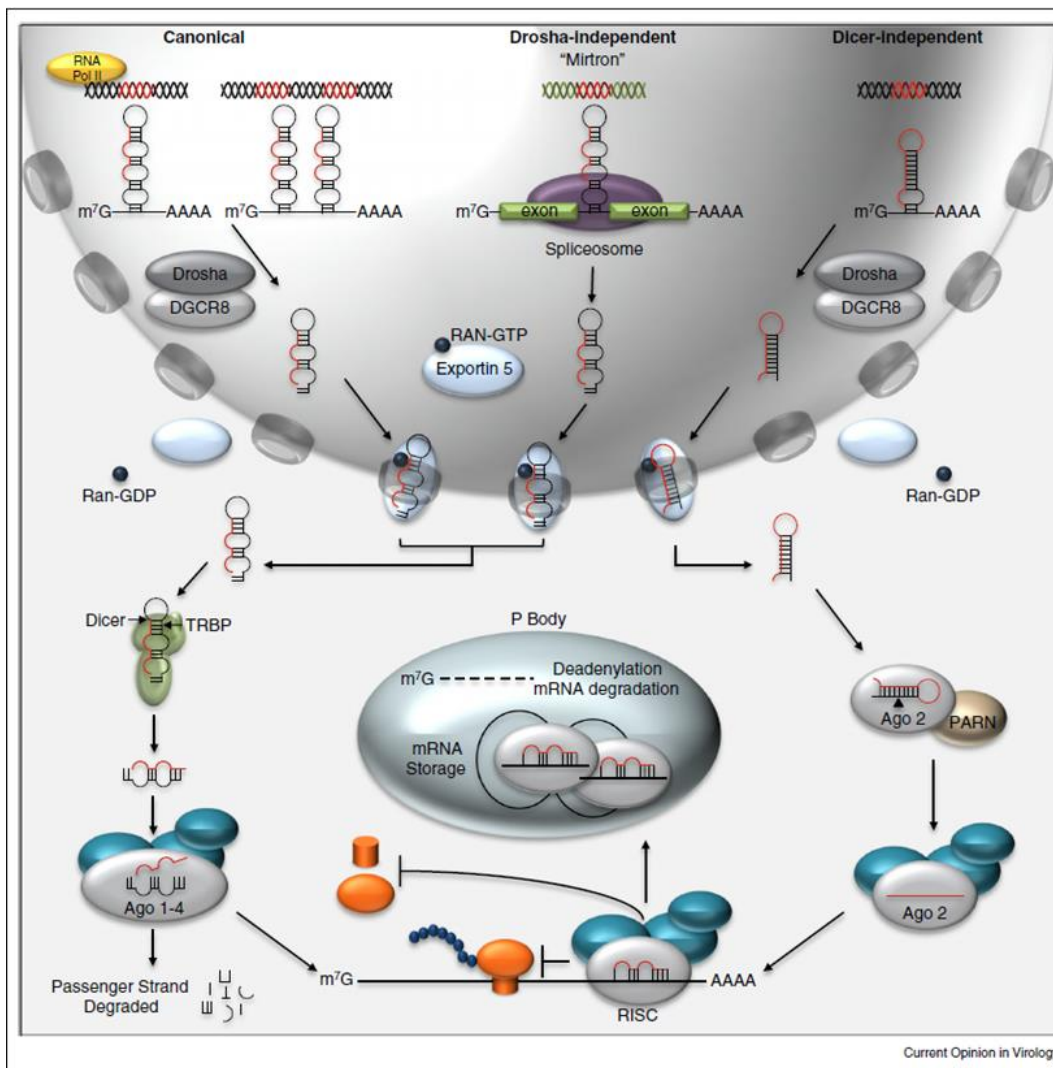
MiRNA jsou ~22 nukleotidů dlouhé nekódující jednořetězcové RNA, které hrají významnou roli v regulaci genové exprese. V lidském genomu bylo doposud objeveno 1881 prekurzorů miRNA a 2588 maturovaných miRNA ([www.mirbase.org](http://www.mirbase.org)).

MiRNA jsou exprimovány z různých oblastí buněčného genomu. Geny kódující miRNA byly nalezeny v intronech i exonech genů nekódujících proteiny a v intronech genů kódujících proteiny (Rodriguez *et al.*, 2004). MiRNA geny, které mezi sebou mají fyzickou vzdálenost menší než 10 kb, jsou nazývány shluky neboli klastry. Mohou fungovat jako autonomní transkripční jednotky a jsou přepisované jako polycistronní nascentní transkripty (Lee *et al.*, 2002). Na základě sekvenční podobnosti řadíme dále miRNA do rodin.

### 2.1 Biogeneze mikroRNA

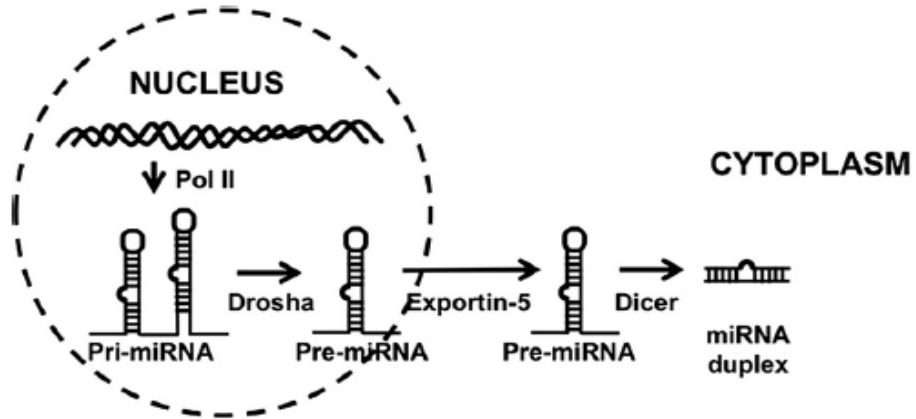
MiRNA jsou kódované jaderným genomem a jejich biogeneze probíhá jak v jádře, tak v cytoplazmě (Lee *et al.*, 2002).

Polycistronní transkripty, ale i transkripty vzniklé přepisem samostatných genů jsou označovány jako primární miRNA (pri-miRNA). Pri-miRNA jsou dále v jádře upraveny na prekurzorové miRNA (pre-miRNA) (Lee *et al.*, 2002). Pri-miRNA mají vlásenkovou strukturu o délce až několika stovek nukleotidů, ohraničenou na 5' konci 7-metylguanosinem (m<sup>7</sup>G) a na 3' konci polyA sekvencí. Nejčastěji jsou pri-miRNA přepisovány pomocí RNA polymerázy II (Lee *et al.*, 2004). Pokud se sekvence kódující miRNA nachází v oblasti repetitivní sekvence Alu, probíhá její přepis pomocí RNA polymerázy III (Borchert *et al.*, 2006). Během kanonické dráhy (Obr. 2.1.1) nasedá na transkript komplex zahrnující RNA vazebný protein DGCR8 (z angl. DiGeorge syndrome chromosomal region 8) a RNAzu III Drosha. Ta odstraní m<sup>7</sup>G a polyA a zkrátí pri-miRNA za vzniku ~70 nt pre-miRNA uspořádané do vlásenkové struktury (Obr. 2.1.2) (Han *et al.*, 2004). Na přenosu pre-miRNA jaderným pórem se účastní protein Exportin 5 (Exp 5) v komplexu s kofaktorem Ran (z angl. Ras-related nuclear protein) (Yi *et al.*, 2003). Neaktivní Ran je vázán s GTP. Pro aktivaci Exp 5 je zapotřebí hydrolýzy Ran-GTP na Ran-GDP, kterou zajišťuje enzym Ran-GTPáza.



Obr. 2.1.1 Biogeneze miRNA. Znázorněna kanonická, Drosha nezávislá a Dicer nezávislá dráha (převzato Ruiz and Russell 2015).

V cytoplasmě se na pre-miRNA připojí TAR RNA vazebný protein (TRBP, z angl. TAR RNA binding protein) s RNázou III (Dicerem) a rozštěpí ji na ~22 nt dlouhé dvouřetězcové jednotky označované jako miRNA/miRNA\* s dvounukleotidovými přesahy na 3' koncích. S těmito jednotkami asociuje RISC (z ang. RNA induced silencing complex) navazující komplex (RLC, z angl. RISC-loading complex) o velikosti přibližně 500 kDa tvořený RNázou III Dicerem, TRBP a proteiny Argonaut (Ago) 1-4. Proteiny Ago mají endonukleázovou aktivitu, kterou pak uplatňují proti cílové mRNA. Stabilita vazby RLC rozhoduje o další funkci maturovaných miRNA; z vlákna, na něž se RLC váže silněji, vzniká maturovaná miRNA, která se spojuje s miRNA indukovaným umlčujícím komplexem (miRISC) a váže se na částečně komplementární úseky mRNA. Tato vazba vede k inhibici translace genů (Gregory *et al.*, 2005) či deadenylaci polyA konců. Na deadenylaci se podílí protein GW182 a Ago 1-4 (Chekulaeva *et al.*, 2009). Takto vzniká nestabilní mRNA, která je následně degradována v P-tělíčkách (z ang. processing bodies). Vedlejší vlákno je buď rozloženo v cytoplasmě, nebo je také určeno jako hlavní a začleněno do komplexu miRISC (Yang *et al.*, 2011).



Obr. 2.1.2 Vlášková struktura pri-miRNA, pre-miRNA a dvouřetězcová jednotka miRNA/miRNA\* (převzato a upraveno Chawla *et al.*, 2015).

MiRNA mohou vznikat i jinými dráhami (Obr. 2.1.1). V dráze nezávislé na Drosha je pre-miRNA spliceozomem vystřihávána z krátkých intronů tzv. mirtronů. Dále již biogeneze pokračuje navázáním Exp 5 jako u kanonické dráhy (Okamura *et al.*, 2007). Druhou možností nekanonické dráhy je dráha nezávislá na Diceru. Jaderná fáze probíhá stejným způsobem jako u kanonické dráhy. Po vstupu pre-miRNA do cytoplazmy se na ni váže Ago 2 a 3 specifická ribonukleáza PARN (z angl. poly(A)-specific ribonuclease), které ji zkrátí a rozdělí na hlavní a vedlejší vlákno (Cifuentes *et al.*, 2010).

## 2.2 Interakce s genomem

### 2.2.1 Vyhledávání a vazba cílových sekvencí

Vazba miRNA k cílové sekvenci mRNA je odlišná u rostlin a živočichů. Rostlinné buňky vyžadují zcela komplementární párování, zatímco u živočišné buňky je dostačující částečná vnitřní komplementarita bází. Párující úsek se nazývá „seed“ sekvence a je lokalizována mezi druhým a sedmým nukleotidem na 5' konci miRNA. Zvýšení specifity párování je u rodin miRNA dosaženo rozšířením „seed“ sekvence miRNA na osm nukleotidů. Zbylé části miRNA mohou tvořit smyčky, jsou více variabilní a může docházet k delecím v jejich krajních sekvencích (Bartel, 2009).

Většina známých miRNA se váže v 3' nepřekládané oblasti (3'UTR, z angl. untranslated region) mRNA, kde je regulace genové exprese nejúčinnější, avšak cíle miRNA se mohou nacházet i v oblasti otevřeného čtecího rámce nebo 5'UTR (Ørom *et al.*, 2008). Vazba miRNA v 3'UTR je účinnější, pokud se v blízkosti vazebné sekvence nacházejí AU bohaté úseky a také při kumulaci vazebných míst s konzervovanou vazebnou sekvencí (Bartel, 2009). Právě tyto sekvence se nejčastěji nacházejí na okrajích 3'UTR. Nekonzervované vazebné úseky jsou spíše rovnoměrně rozprostřeny po celé délce 3'UTR (Hoffman *et al.*, 2013).

### 2.2.2 Inhibice translace

MiRNA negativně regulují až 60 % lidských genů, přičemž jedna miRNA je schopna regulovat několik různých mRNA a zároveň se na jedné mRNA mohou vyskytovat vazebná místa pro více miRNA (Sun *et al.*, 2009). Popsána byla také pozitivní regulace, kdy se jedna miRNA váže na 5' konec mRNA pro ribozomální proteiny a tím zvyšuje jejich translaci o 30 % (Ørom *et al.*, 2008).

Všechny mRNA, které jsou určeny k translaci, obsahují 5' čepičku a polyA konec. Translační proces se skládá ze tří částí: iniciace, elongace a terminace. Regulace translace je závislá na počtu miRNA a mRNA molekul (Mathonnet *et al.*, 2007) a může probíhat na dvou úrovních; v iniciační a elongační fázi.

Pro zvýšení efektivity translace se na počátku iniciační fáze eukaryotických buněk vytvoří kruhová struktura z mRNA, která vzniká reakcí polyA vazebných proteinů (PABP, z angl. poly(A)-binding protein) na 3' konci mRNA s eukaryotickým iniciačním faktorem 4F (eIF4F, z angl. eukaryotic initiation factor 4F) na 5' čepičce mRNA. Jak již bylo uvedeno (viz Kap. 2.2.1), miRNA se v komplexu miRISC nejčastěji váže na 3'UTR, kde může způsobit deadenylaci polyA konce, čímž zabrání cirkularizaci mRNA.

K inhibici přispívá i kompetice komplexu miRISC a eukaryotického iniciačního faktoru 4E (eIF4E) o vazbu na 5' čepičku během iniciační fáze translace (Mathonnet *et al.*, 2007). Pokud se na 5' čepičku naváže komplex miRISC, nemůže dojít k nasednutí 40S podjednotky ribozomu zprostředkovaného iniciačním faktorem eIF4E.

Další případ vazebné kompetice je mezi miRISC a 40S podjednotkou navázanou na mRNA. Eukaryotický iniciační faktor 6 (eIF6) přivádí velkou ribozomální podjednotku 60S k menší podjednotce 40S. Pokud je komplex eIF6/60S navázán na miRISC, nedochází ke složení ribozomu a translace nemůže pokračovat (Chendrimada *et al.*, 2007).

Vznik nového proteinu může být potlačen též v průběhu elongace. Působením miRISC dochází k předčasnému rozpadu polyribosómů. Dochází k němu u translace závislé na 5' čepičce i na IRES (z angl. internal ribosome entry site) u HCV (z angl. hepatitis C virus). Přesný mechanismus této reakce není zcela objasněn (Petersen *et al.*, 2006).

### 2.2.3 Degradace mRNA

K degradaci mRNA dochází uvnitř multivezikulárních zpracovávacích tělísek. Celý komplex miRISC s navázanou mRNA je přenesen do P-tělísek, které tvoří granulovité útvary volně umístěné v cytoplazmě. Zde probíhá deadenylace 3' konce mRNA, následuje odstranění 5' čepičky pomocí enzymových komplexů a závěrečná degradace mRNA 5'-3' exoribonukleázou 1 (XRN1, z angl. 5'-3' exoribonuclease 1).

Na deadenylaci se podílí podjednotky komplexu miRISC, protein GW 182 a Ago1-4. Ty interagují s polyA vazebnými proteiny na 3' konci mRNA. Následně jsou přivedeny deadenylázy CCR4 a/nebo CAF1, které postupně odstraní polyA konec mRNA (Fabian *et al.*, 2009). Avšak inhibovaná mRNA nemusí vždy podléhat degradaci, ale může být z nitra P-tělísek znovu uvolněna zpět do cytoplazmy nebo do stresových granulí, kde zůstane uskladněna po dobu buněčného stresu, po jehož ukončení je znovu připravena k translaci a rychlé obnově homeostáze buněčného prostředí (Kedersha *et al.*, 2005).

## 3 Virové mikroRNA

Některé skupiny virů jsou schopny kódovat své vlastní miRNA, jejichž biogeneze probíhá shodně s buněčnými miRNA. Virové miRNA jsou využívány především k ovlivnění buněčného cyklu hostitelské buňky (Bellare & Ganem, 2009), u některých virů ale mohou také regulovat vlastní virovou expresi (Seo *et al.*, 2008). Pokud viry nekódují svou vlastní miRNA, jsou některé z nich přesto schopné ovlivnit expresi buněčných miRNA tak, aby napomáhaly virové infekci.

### 3.1 Objev virových mikroRNA

První virové miRNA byly objeveny u herpesviru Epstein-Barrové (EBV, HHV-4), který latentně infikuje B-lymfocyty a lymfatické tkáně. MiRNA jsou u EBV exprimovány podle typu infekce (latentní a lytické) ze dvou regionů virového genomu. V těchto oblastech jsou geny uloženy v klastrech. Z prvního klastru BHRF1 (z angl. Bam HI fragment H rightward open reading frame 1) byly izolovány miR-BHRF1-1, miR-BHRF1-2 a miR-BHRF1-3, následně z druhého klastru BART (z angl. Bam HI-A region rightward transcript) byly izolovány miR-BART1 a miR-BART2 (Pfeffer *et al.*, 2004). Dnes je již u EBV identifikováno 25 pre-miRNA a 44 maturovaných miRNA ([www.mirbase.org](http://www.mirbase.org)).

MiRNA kódované viry byly následně objevené u herpesviru vyvolávajícího Kaposiho sarkom (HHV-8), myšího gammaherpesviru 68 (HHV-5) a lidského cytomegaloviru (HCMV, z angl. human cytomegalovirus) (Pfeffer *et al.*, 2005).

Virové miRNA se vyskytují především u DNA virů. Díky tomu, že replikace jejich virové DNA probíhá v jádře hostitelské buňky, může viry kódovaná miRNA projít shodnou biogenezí jako buněčná miRNA. Doposud byly miRNA objeveny u většiny velkých dvouvláknových DNA virů, s výjimkou čeledi *Poxviridae*, jejíž zástupci se replikují v cytoplazmě, čeledi *Papillomaviridae* (Cai *et al.*, 2006), viru varicelly zoster (VZV, HHV-3) a HHV-7 (Pfeffer *et al.*, 2005; Umbach *et al.*, 2009). Expresí virových miRNA u RNA virů je velmi nepravděpodobná z důvodu separace jaderné a cytoplazmatické fáze biogeneze. RNA viry se povětšinou replikují v cytoplazmě, kdy jsou fyzicky odděleny od komplexu Drosha a nemohou projít sestřihem pri-miRNA na pre-miRNA. To však neplatí u retrovirů, jejichž jednovláknová RNA je v cytoplazmě přepsána reverzní transkriptázou, přenesena do jádra a vložena do buněčného genomu. Existence miRNA u retrovirů, převážně u viru lidské imunitní nedostatečnosti 1 (HIV-1, z angl. human immunodeficiency virus-1), není ale stále jednoznačně potvrzena (Lin and Cullen 2007).

V roce 2008 Rodrigues a kol. ukázali, že tzv. extracelulárních vezikuly (exozómy), mohou mezi buňkami přenášet virové a buněčné miRNA a mRNA (Rodrigues *et al.*, 2008). Tento fenomén je v současné době intenzivně zkoumán. Hlavním úskalím výzkumu je rozlišit exozóm od samotné virové částice, hlavně v případě retrovirů a RNA virů jako je HCV, kde byla prokázána inkorporace celého virového genomu do exozómu (Ramakrishnaiah *et al.*, 2013). Problém při identifikaci, také představují povrchové proteiny, které jsou stejné jako v případě virových částic. MiRNA do exozómu může vstupovat volně difúzí či pomocí RNA vazebných proteinů (Villarroya-Beltri *et al.*, 2013). Přítomnost virové miRNA v exozómech byla prokázána u EBV pozitivního NPC (Canitano *et al.*, 2013; Meckes *et al.*, 2010). Rainy a kol. ve své studii poprvé ukázali, že šíření virových miRNA pomocí exozómů je dalším mechanismem, který virus KSHV

využívá k inhibici anti-virové imunity hostitele a následně podporuje onkogenezi (Rainy *et al.*, 2016). Šíření miRNA exozómy napomáhá též antiapoptické modulaci buněk (Canitano *et al.*, 2013).

## 3.2 Přehled virových mikroRNA

### 3.2.1 MiRNA u herpesvirů

Herpesviry jsou obalené dvouvláknové DNA viry, které kódují více jak polovinu virových miRNA dosud nalezených v lidském těle. Herpetické miRNA jsou přepisovány RNA polymerázou II s výjimkou MHV68 (z angl. Murine herpesvirus 68), jehož miRNA přepisuje RNA polymeráza III (Pfeffer *et al.*, 2005). Herpesviry jsou schopné navodit latenci, která může přecházet v produktivní infekci. V průběhu jejich lytického cyklu jsou postupně přepisovány tři typy genů. Okamžité geny (IE, z angl. immediately early) jsou podstatné pro navození aktivní infekce. Jejich produkty napomáhají expresi časných genů (E, z angl. early), které jsou důležité pro replikaci. Pozdní geny (L, z angl. late) kódují strukturní virové proteiny. Herpesviry se dělí na podčeledi alfa, beta a gamma. Rozdělení je závislé na struktuře genomu, způsobu replikace a lokalizaci latentní infekce. MiRNA alfaherpesvirů a gammaherpesvirů jsou kódované shluky genů lokalizovaných v homologních regionech genomu, naopak u betaherpesvirů jsou tyto geny rozprostřeny po celém virovém genomu (Pfeffer *et al.*, 2005).

Mezi zástupce podčeledi *Alfaherpesviridae* řadíme lidské viry HSV-1, HSV-2 (z angl. herpes simplex virus) a VZV (z angl. varicella zoster virus), které nejčastěji latentně infikují sensorická ganglia.

Virus HSV-1 (z angl. herpes simplex virus-1) kóduje 18 pre-miRNA, ze kterých vzniká 27 maturovaných miRNA (www.mirbase.org). HSV-1 v průběhu latentní fáze neprodukuje žádné proteiny a využívá své miRNA k ustálení latentního cyklu. Tyto miRNA jsou součástí transkriptu asociovaného s latencí (LAT, z angl. latency associated transkript). Primární LAT transkript obsahuje čtyři miRNA: miR-H2, miR-H3, miR-H4, miR-H5, dále pak je v oblasti promotoru LAT kódována miR-H6 a antisense miR-H1 (Umbach *et al.*, 2008).

Jedním z významných produktů okamžitých genů lytického cyklu je virový transaktivátor ICP0 (z angl. infected cell polypeptide), jehož inhibici zprostředkovává miR-H2. Regulace probíhá na úrovni translace a nemá vliv na množství ICP0 mRNA v buňce (Umbach *et al.*, 2008). Virová miR-H6 reguluje transkripční faktor ICP4, který vzniká z okamžitého lytického genu. Neurovirulentní faktor ICP34.5, indukující transkripce, je součástí pozdních virových genů a jeho inhibice je způsobena miR-H3 a miR-H4 antisense mechanismem. Je prokázáno, že LAT miRNA jsou v menší míře exprimovány i v průběhu aktivní infekce, miR-H1 a miR-H6 se vyskytují v lytické fázi i ve větším množství (Umbach *et al.*, 2008).

Virus HSV-2 kóduje 18 pre-miRNA a 24 maturovaných miRNA (www.mirbase.org). Mechanismus infekce je podobný jako u viru HSV-1, se kterým sdílí podobnost přibližně 85 % genomu a u obou se vyskytuje LAT. Unikátní miRNA pro HSV-2 jsou miR-H9, miR-H10, miR-H19, miR-H25, ale velká část miRNA jsou ortology miRNA HSV-1. Je to například miR-III (odpovídá miR-H2 u HSV-1), která stejně jako u HSV-1 snižuje expresi ICP0. Dále pak miR-I a miR-II (odpovídají miR-H3 a miR-H4 u HSV-1), které regulují translaci ICP34.5 (Tang *et al.*, 2009). V promotoru viru HSV-2 byla nalezena miRNA, která je podobná miR-H6 viru HSV-1, avšak zatím není jednoznačně potvrzeno, zda také inhibuje gen pro ICP4

(Tang *et al.*, 2011). I když jsou některé miRNA u různých virů podobné, hladina jejich exprese se může u jednotlivých virů výrazně lišit. Bylo zjištěno, že miR-III (resp. miR-H2) je více exprimována u viru HSV-1, naopak miR-I a miR-II se ve větším množství vyskytuje u HSV-2 (Tang *et al.*, 2011).

VZV (HHV-3) je původcem dětských neštovic a pásového oparu. V jeho virovém genomu se nenachází LAT sekvence a doposud u tohoto viru nebyly nalezeny geny kódující virové miRNA (Pfeffer *et al.*, 2005; Umbach *et al.*, 2009).

Podčeleď *Betaherpesviridae* zahrnuje viry HCMV (HHV-5), HHV-6A, HHV-6B a HHV-7, které latentně infikují leukocyty.

Virus HCMV kóduje 15 pre-miRNA a 26 maturovaných miRNA (www.mirbase.org). K infekci HCMV nejčastěji dochází v raném dětství a většinou probíhá bez příznaků, závažné důsledky má infekce u imunosuprimovaných jedinců a kongenitálně infikovaných dětí. Významnou miRNA u HCMV je miR-UL112, která reguluje translaci jak buněčné, tak virové mRNA. Snižuje expresi genů důležitých pro replikaci viru, například *IE1*, *IE72*, *UL112/113*, *UL114* a *UL120/121* (Stern-Ginossar *et al.*, 2009) a podporuje únik infikované buňky před imunitním systémem hostitele inhibicí exprese MICB (z angl. MHC class I polypeptide-related sequence B) receptorů, které na povrchu buňky rozeznávají NK buňky (z angl. natural killers) (Stern-Ginossar *et al.*, 2007). Další miRNA bránící napadenou buňku před imunitním systémem je miR-UL148D, jenž snižuje expresi chemokinu *CCL5* vyhledávaného T-buňkami (Kim *et al.*, 2012). Virová miR-US25-1 cílí do 5'UTR hostitelského transkriptu pro cyklin E2 a ovlivňuje tak regulaci buněčného cyklu (Grey *et al.*, 2010).

HHV-6A nejčastěji infikuje děti do dvou let věku. Většinou zůstává v latentní fázi a vážné infekce způsobuje pouze u osob s imunodeficiencí. V nedávné studii Nukui a kol. bylo identifikováno pět nekódujících virových RNA, z nichž jedna byla miRNA. Je to miR-U86 a autoři se domnívají, že cílí na *IE* gen *U86*, čímž reguluje lytický cyklus (Nukui *et al.*, 2015).

Virus HHV-6B způsobuje exantém a v některých případech i febrilní křeče u dětí do dvou let. Byly u něj nalezeny miR-Ro6-1 až miR-Ro6-4 kódované v přímých repetitích virového genomu a jejich funkce není zatím známá (Tuddenham *et al.*, 2012). U viru HHV-7 nebyly doposud objeveny žádné virové miRNA (Pfeffer *et al.*, 2005).

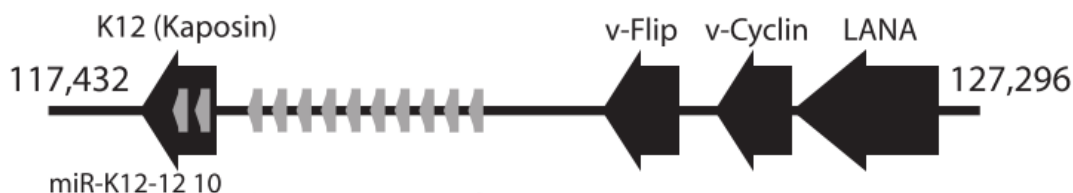
Podčeleď *Gammaherpesviridae* zahrnuje virus Epstein-Barrové (EBV, HHV-4) a virus Kaposiho sarkomu (HHV-8). Tyto viry udržují latentní fázi v lymfocytech a lymfatických tkáních, ale mohou přejít do lytické fáze a způsobit maligní transformaci.

K infekci virem EBV dochází nejčastěji v dětství a probíhá obvykle asymptomaticky. U dospívajících EBV způsobuje v 90 % případů infekční mononukleózu. EBV exprimuje 25 pre-miRNA a 44 maturovaných miRNA (www.mirbase.org). První virové miRNA byly objeveny právě u EBV a jsou kódovány ve dvou klastrech (*BHRF1* a *BART*; viz Kap. 3.1) (Pfeffer *et al.*, 2004). Na rozdíl od ostatních herpesvirů, EBV miRNA mají pouze nepřímý vliv na přepínání mezi latentní a lytickou fází (Riley *et al.*, 2012), například miR-BART2 váže 3'UTR mRNA *BALF5*, virové DNA polymerázy, a štěpí ji (Barth *et al.*, 2008), čímž snižuje hladinu replikace viru a ten zůstává v latentní fázi. Žádná EBV miRNA přímo neovlivňuje geny pro přepínání latentního na lytický cyklus, kterým je gen *BZLF1* kódujících DNA vazebný protein *Zta* (*Z*, *Zebra*) a gen *BRLF1* kódující sekundární virový replikační a transkripční aktivátor *Rta* (*R*) (Yu *et al.*, 2007).

Herpesvirus Kaposiho sarkomu (KSHV, HHV-8) bývá obvykle eliminován imunitním systémem hostitele, stává se tak nebezpečný především pro osoby s imunodeficiencí. Virus kóduje 13 pre-miRNA a 25 maturovaných miRNA (www.mirbase.org). Kódující sekvence pro miRNA viru se nachází v regionu asociovaném s KSHV latentí (KLAR, z angl. KSHV latency associated region), kde jsou také umístěny



čtyři geny; *LANA* (z angl. latency-associated nuclear antigen), *v-Cyclin*, *v-FLIP* a *Kaposin (K12)*. Úseky kódující virové miRNA miR-K12-1 až miR-K12-9 a miR-K12-11 leží z velké části v intronu mezi geny *K12* a *v-FLIP*. Naopak sekvence pro miR-K12-10 a miR-K12-12 se překrývají s otevřeným čtecím rámcem genu *K12* (Obr. 3.2.) (Samols *et al.*, 2007).



Obr. 3.2. HHV-8 s latencí asociovaný region (KLAR) v němž se nachází čtyři geny *K12*, *v-Flip*, *v-Cyclin*, *LANA* (černé šipky) a oblasti kódující HHV-8 miRNA (šedé) (převzato a upraveno Samols *et al.*, 2007).

### 3.2.2 MiRNA u polyomavirů

Polyomaviry jsou dvouvláknové DNA viry, mezi které řadíme např. lidský polyomavirus karcinomu Merkelových buněk (MCPyV, z angl. Merkel cell polyomavirus) či lidské polyomaviry BKPyV (z angl. human polyomavirus BK) a JCPyV (z angl. John Cunningham polyomavirus), které jsou potenciálně karcinogenní. Dobře prostudovaný je také opičí simian virus 40 (SV40). SV40, stejně jako lidské polyomaviry, kóduje časné transkripty pro malý (sTag, z angl. small T-antigen) a velký T antigen (LTag, z angl. large T-antigen) a pozdní transkripty pro kapsidové proteiny (Sullivan *et al.*, 2005). Virová pre-miRNA bývá kódována na 3' konci pozdních transkriptů a je komplementární k časným virovým transkriptům. Pre-miRNA vzniká jen jedna, ale obě její vlákna jsou inkorporována do RISC komplexu a inhibují mRNA velkého T antigenu (Sullivan *et al.*, 2005). JCV-miR-J1 tvořená virem JCPyV dereguluje expresi mRNA LTag, stejně jako BKV-miR-B1 u BKPyV viru (Seo *et al.*, 2008) a MCV-miR-M1 u MCPyV viru (Seo *et al.*, 2009). Infikovaná buňka se tak stává hůře detekovatelná pro cytotoxické T-lymfocyty. Dále pak JCV-miR-J1 a BKV-miR-B1 inhibují mRNA pro UL16 vazebný protein 3 (ULBP3, z angl. UL16 binding protein 3), který je rozpoznáván NK buňkami (Bauman *et al.*, 2011). Uvedená data naznačují, že polyomaviry využívají svou miRNA převážně k úniku před imunitní odpovědí hostitele.

### 3.2.3 MiRNA u adenovirů

Dalšími dsDNA viry jsou adenoviry, které za pomoci RNA polymerázy III transkribují nekódující s viry asociované RNA (VA, z angl. viral associated RNA). VA RNA se rozděluje na VAI a VAII a tvoří vláskovitou strukturu o délce přibližně 157 – 163 nukletidů (Akusjarvi *et al.*, 1980), která může být dále využita jako pre-miRNA. Z VA RNA tedy může vzniknout miRNA nazývaná miva-RNA (mikro virus asociovaná RNA). Její vznik probíhá Droscha nezávislou drahou a je značně neefektivní, pouze 2-5 % VAI je sestříháno Dicerem na konečnou miva-RNA, která se integruje do RISC (Aparici *et al.*, 2006). Bylo zjištěno, že z VAI vznikají mivaRI-137, mivaRI-138 a z VAII mivaRII-138 (Xu *et al.*, 2007). VA RNA jsou

virem spíše využívány ke zpomalení biogeneze buněčných miRNA tím, že dokáží vysytit Exp 5, Dicer či Ago (Lu and Cullen 2004).

### 3.2.4 MiRNA u retrovirů

Doposud nebyly objeveny miRNA kódované RNA virem, avšak u čeledi *Retroviridae* jsou známé případy, kdy napadené buňky byly manipulovány virovými miRNA. Jedním z nich je virus bovinní leukémie, který za pomoci RNA polymerázy III kóduje tak krátké miRNA, že jsou nezávislé na Drosha a jsou upravovány až Dicerem v cytoplazmě (Kincaid *et al.*, 2012). Mezi retroviry se řadí virus lidské imunodeficiency 1 (HIV-1), u kterého je existence virových miRNA stále kontroverzní téma. Jedním z důvodů, proč by virus HIV-1 neměl exprimovat miRNA, je riziko sestřížení vlastního genomu RNAzou III Drosha v rámci biogeneze miRNA. Rouha a kol. však ukázali, že miRNA RNA virů replikujících se v cytoplazmě může vzniknout bez ohrožení replikace virového genomu (Rouha *et al.*, 2010). V současné době jsou v datábázi miRNA uvedené 3 pre-miRNA a 4 maturované miRNA exprimované HIV-1 ([www.mirbase.org](http://www.mirbase.org)).

Jedna z diskutovaných HIV-1 miRNA je miR-N367, která by měla být kódována na 3' konci virové RNA v místě genu *nef*. Omoto a Fujii hypotetizovali, že miRNA může regulovat transkripci vazbou na U3 oblast v 5' dlouhé koncové repetici (LTR, z angl. long terminal repeat) (Omoto & Fujii, 2005). Ve stejném roce, kdy vyšla práce Omota a Fujii, jiná práce zpochybnila existenci virových miRNA HIV-1 s využitím sekvenování (Pfeffer *et al.*, 2005). V HIV-1 genomu se nachází transaktivací reakční (TAR, z angl. trans-activation response) element, což je ~50 nukleotidová vlásenka na 5' konci RNA, na kterou se váží proteiny podporující aktivaci virového promotoru a následnou replikaci virového genomu. Právě z tohoto elementu by mohla vzniknout další miRNA, a to sestřížením TAR vlásenky Dicerem za vzniku miR-TAR (Klase *et al.*, 2007). Nedávná studie potvrzuje přítomnost miR-TAR v HIV-1 infikovaných makrofázích odvozených od monocytů (MDMs, z angl. monocyte-derived macrophages) periferní krve, Li a kol. ukázali, že miR-TAR inhibuje virovou replikaci a transkripci vazbou do TAR elementu HIV-1 v 5'LTR (Li *et al.*, 2016). Další nedávno objevená HIV-1 miRNA je miR-H3, která nasedá do oblasti 5'LTR přímo na místo TATA boxu, kde zvyšuje aktivitu promotoru a pozitivně reguluje virovou replikaci (Zhang *et al.*, 2014). Poslední známá miRNA u HIV-1 je miR-H1 kódovaná v 3'LTR oblasti virového genomu. Cílem této sekvence miRNA je gen pro apoptózu antagonizující transkripční faktor (*AATF*, apoptosis antagonizing transcription factor), na který se rovněž váže buněčná miR-149 a vazba těchto miRNA vede infikovanou buňku do apoptózy (Kaul *et al.*, 2009).

Lidský T-lymfotropický virus 1 (HTLV-1) je nádorový retrovirus způsobující T-buněčný lymfom (ATL) u dospělých jedinců. Doposud u něj nebyly objeveny žádné virové miRNA (Pfeffer *et al.*, 2005).

## 4 Lidské nádorové viry

### 4.1 Mechanismus onkogeneze virů

Onkogeneze může mít mnoho příčin. Jednou z nich může být také aktivita viru v buňce. Jedná se o komplexní proces, který může být virem ovlivňován přímo, tedy zahájením exprese onkogenních proteinů bezprostředně ovlivňujících buněčnou transformaci, nebo nepřímo, kdy je maligní transformace buňky ovlivněna chronickou infekcí či zánětem.

#### 4.1.1 Onkogeneze herpesvirů

EBV je etiologické agens nasofaryngeálního karcinomu (NPC, z angl. nasopharyngeal carcinoma), Hodgkinova lymfomu (HL), Non-Hodgkinova lymfomu (NHL), Burkittova lymfomu (BL), extranodálního NK/T buněčného lymfomu nazálního typu a zvažuje se jeho role i při vzniku karcinomu žaludku (Bouvard *et al.*, 2009).

Onkogeneze probíhá několika způsoby, které se mohou vzájemně prolínat. Prvním mechanismem je kódování vlastních virových onkogenů. Latentní membránový protein 1 (LMP1, z angl. latent membrane protein 1) je virový onkoprotein, vyskytující se v Hodgkinově lymfomu a nasofaryngeálním karcinomu způsobeném virem EBV. Má šest hydrofóbních transmembránových domén a funkčně napodobuje receptory pro tumor nekrotizující faktory (TNFR, z angl. tumor necrosis factor receptor), mezi které patří také CD40 (z angl. cluster of differentiation 40) receptor (Gires *et al.*, 1997). Napodobením CD40 receptoru jsou spuštěny signální dráhy PI3K/AKT, MAPK, JAK/STAT, a také je stimulován NF- $\kappa$ B (z angl. nuclear faktor kappa B) (Gires *et al.*, 1997; Soni *et al.*, 2007), důležitý transkripční faktor B-buněk. Tyto dráhy vedou k nadměrné proliferaci buňky.

Onkoprotein LMP2A obsahuje dvanáct transmembránových domén a je strukturně i funkčně podobný B-buněčným receptorům (BCR, z angl. B-cell receptors). Tyto tyrosin-fosfátové receptory jsou fosforylovány a přenáší signál dál pomocí Src a Syk signálních drah (Longnecker *et al.*, 1991). LMP2A zabezpečuje zvýšení signální transdukce v buňce (Longnecker *et al.*, 1991).

Dalšími proteiny jsou EBV jaderné proteiny (EBNA, z angl. EBV nuclear antigen) EBNA1, EBNA2, EBNA3a, EBNA3b, EBNA3c a EBNA-LP (z angl. leader protein). EBNA1 je multifunkční protein, má vliv na virovou replikaci, transkripci a perzistenci genomu. Jako jediný z EBNA proteinů je exprimován v latentní i lytické fázi buňky. Ukázalo se, že navozuje latenci a zabraňuje lytické reaktivaci snížením množství transkriptu *BZLF1* genu (Sivachandran *et al.*, 2012). U nasofaryngeálního a žaludečního karcinomu EBNA1 snižuje hladinu promyelocytických leukemických tělísek (PML jaderných tělísek, z angl. promyelocytic leukemia), čímž snižuje aktivaci nádorového supresorového proteinu p53 a oddaluje apoptózu (Sivachandran *et al.*, 2008; Sivachandran *et al.*, 2012). Proteiny EBNA2 a EBNA-LP se společně s transkripčním faktorem vážou poblíž promotoru *c-Myc* genu, který kóduje transkripční faktory, a zvyšují jeho expresi, což vede k nadměrné proliferaci buňky (Portal *et al.*, 2013). Rodina EBNA3 proteinů sdílí stejný promotor a je koaktivátorem EBNA2 proteinu. Vážou se na doménu

RBPI (z angl. recombining binding protein suppressor of hairless) transkripčního faktoru, a tím ovlivňují Notch signální dráhu a podporují rozvoj akutní lymfatické leukémie T-buněk a vznik karcinomů (Robertson *et al.*, 1996).

Druhým mechanismem onkogeneze je potlačení či využití hostitelské imunity. Tuto funkci má protein EBNA1, který svými Gly/Ala sekvencemi narušuje prezentaci antigenu hlavním histokompatibilním komplexem I (MHC I, z angl. major histocompatibility complex I) (Levitskaya *et al.*, 1995). Stejnou funkci pak plní také virové proteiny BNLF2a a BGLF5 (Croft *et al.*, 2009; Rensing *et al.*, 2008). K tvorbě malignit výrazně přispívá imunodeficience pacienta, ke které dochází například po alogenní transplantaci kmenových buněk nebo solidních orgánů a při infekci HIV/AIDS (z angl. acquired immune deficiency syndrome). Některé studie dokázaly, že lidé trpící HIV mají až stokrát vyšší pravděpodobnost výskytu NHL, toto číslo se snižuje, pokud pacient podstoupí antiretrovirovou terapii (Robbins *et al.*, 2014).

Virus HHV-8 způsobuje Kaposiho sarkom (KS), primární efuzní lymfom (PEL, z angl. primary effusion lymphoma) a multicentrickou Castlemanovu chorobu. Všechna tato onemocnění jsou spjatá s imunodeficiencí pacienta. HHV-8 ovlivňuje proliferaci a buněčný cyklus prostřednictvím sekvenční homologie s hostitelskými geny. Proteiny vznikající v latentní fázi virové infekce jsou virový cyklin D (v-cyklin D), virový FLICE inhibiční protein (vFLIP), kaposiny a vIRF (z angl. viral interferon response factors).

V-cyklin D napodobuje buněčný D-cyklin, který interaguje s cyklin-dependentní kinázou 6 (CDK6, z angl. cyclin-dependent kinase 6). Ta fosforyluje retinoblastomový protein (pRB, z angl. retinoblastoma protein), čímž dochází k uvolňování transkripčních faktorů a progresi buněčného cyklu (Godden-Kent *et al.*, 1997). Virový komplex v-cyklinD/CDK6, na rozdíl od buněčného D-cyklin/CDK6, není inhibován inhibitory cyklin-dependentních kináz (Swanton *et al.*, 1997).

v-FLIP protein je homologem buněčného FLIP proteinu, který váže inhibiční kinázy a aktivuje NK- $\kappa$ B transkripční faktor (Chaudhary *et al.*, 1999). To vede ke zvýšení exprese transkripčního interferon regulačního faktoru 4 (IRF4, z angl. interferon response factors 4), který přispívá ke vzniku primárního efuzního lymfomu zvýšením exprese interferon stimulovaných genů (ISG, z angl. interferon-stimulated gene) (Forero *et al.*, 2013).

Kaposiny vznikají alternativním sestřihem K12 ORF. Nejvýznamnější je Kaposin B, zvyšující expresi PROX1 (z angl. prospero homeobox protein 1), který je hlavním faktorem regulujícím diferenciaci lymfatických endoteliálních buněk. Zvýšení exprese PROX1 u KSHV infikovaných buněk je dosaženo pomocí latentního genu *kaposin-B*, který aktivací signální dráhy p38/MK2 způsobí redistribuci proteinu HuR (z angl. human antigen R) z jádra do cytoplazmy. HuR protein poté váže mRNA pro PROX1, tím dojde ke stabilizaci mRNA PROX1 a jeho zvýšené expresi (Yoo *et al.*, 2010).

Mezi HHV-8 virové onkogenní proteiny patří také vIRF1-4, které jsou homology buněčných IRF. Během latence je exprimován vIRF3 (také nazývaný LANA-2). Virový IRF3 se vyskytuje v PEL buňkách a přispívá k jejich proliferaci (Wies *et al.*, 2008). Onkogenezi podporuje ovlivněním proteinu p53 (Rivas *et al.*, 2001), c-Myc závislou transkripcí (Lubyova, Kellum, Frisancho, & Pitha, 2007) a inhibicí proapoptického IRF-5 (Wies *et al.*, 2009). Únik před imunitní reakcí zprostředkovává vIRF3 přes inhibici interferonu- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), který se váže do promotoru genu *CIITA* (z angl. class II major histocompatibility complex transactivator), regulátoru transkripce MHC II (Schmidt *et al.*, 2011). vIRF1, vIRF2 a vIRF4 vznikají v lytické fázi infekce, vINF2 snižuje expresi MHC I (Lagos *et al.*, 2007).

Mezi proteiny vznikající v lytické fázi patří také virový receptor spojený s G proteinem (vGPCR, z angl. viral G-protein-coupled receptor), který je homologem IL-8 receptoru (CXCR1, z angl. C-X-C chemokine receptor type 1) (Cesarman *et al.*, 1996). vGPCR indukuje angiogenezi

a aktivuje MAPK, PI3K/AKT a NF- $\kappa$ B signální dráhy, které vedou k proliferaci buněk (Arvanitakis *et al.*, 1997; Bais *et al.*, 1998).

#### 4.1.2 Onkogeneze papilomavirů

Papilomaviry způsobují karcinomy epiteliálních buněk. Nejrozšířenější vysoce rizikové typy papilomavirů jsou HPV16 a HPV18, které se nejčastěji podílejí na vzniku nádorů děložního hrdla a dalších malignit u lidí. Virus po vstupu do buňky exprimuje časné geny *E1*, *E2*, *E5*, *E6* a *E7* a později pozdní geny *L1* a *L2* (L, late) a protein E4, které se podílejí na tvorbě virové kapsidy a uvolnění virionu z buňky. Virový protein E5 má větší transformační potenciál u bovinního papilomaviru 1 (BPV1) (Petti *et al.*, 1991), u lidských HPV spíše přispívá ke správné funkci hlavních onkoproteinů E6 a E7 a hraje roli ve virovém úniku imunitnímu systému. Proteiny E6 a E7 jsou nejvýznamnějšími onkogeny papilomavirů (Herber *et al.*, 1996; Song *et al.*, 1999), kdy jejich nadměrná exprese přispívá k nádorové transformaci (Duensing *et al.*, 2001). Protein E6 inaktivuje transkripční faktor p53 (Scheffner *et al.*, 1990). E7 váže nádorový supresorový retinoblastomový protein (pRb), čímž dochází k rozpadu komplexu pRB/E2F a je odblokován buněčný cyklus (Chellappan *et al.*, 1992). Stejný výsledek má také blokování proteinu p21 virovým onkoproteinem E7 (Funk *et al.*, 1997).

Na rozdíl od herpesvirů dochází u papilomavirů k inkorporaci virového genomu do genomu hostitele. U většiny benigních nádorů způsobených papilomaviry je virová DNA přítomná v extrachromozomální formě, oddělená od genetické informace hostitele. U nádorů asociovaných s HPV je DNA viru začleněna do genomu hostitele zhruba v 60 %. Frekvence integrace je závislá na stádiu onemocnění a typu HPV (Vinokurova *et al.*, 2008). V části HPV pozitivních nádorů je však virová DNA přítomná jen ve formě extrachromozomální (Mellin *et al.*, 2002). Zdá se tedy, že virová integrace není nezbytným předpokladem karcinogeneze, ale dodává buňce selektivní výhodu (Jeon *et al.*, 1995). K integraci viru dochází nejčastěji v místě *E2* ORF, který ztrácí svou funkci regulačního genu, čímž je způsobena zvýšená exprese *E6* a *E7* onkogenů (Jeon *et al.*, 1995). Jelikož začlenění virového genomu není podmínkou karcinogeneze, Cheung a kol. se zabývali alternativním mechanismem zvýšení *E6* a *E7* u epizomálních forem virové infekce. Ve studii došli k závěru, že tyto geny jsou nadměrně exprimovány i pokud je virová DNA mimo hostitelský genom pravděpodobně v důsledku metylace vazebných míst *E2* proteinu lokalizovaných v promotoru HPV a tím narušením exprese *E6* a *E7* genů (Cheung *et al.*, 2013).

Nejnovější studie ukazují, že onkogeneze způsobená integrací HPV však není vždy závislá na vysoké hladině virových onkoproteinů. Genom se může náhodně včlenit do hostitelské DNA a způsobit mezichromozomální přestavby, zvýšit množství pozměněných transkriptů a narušit expresi nádorových supresorových genů. V nedávných studiích se ukázalo, že virus se zvýšenou pravděpodobností integruje do oblastí genů spojených s onkogenezí a narušuje tak jejich strukturu a expresi (Akagi *et al.*, 2014). Jedním z nich je buněčný gen *TERT* (telomerázová reverzní transkriptáza), integrace HPV způsobí jeho nadměrnou expresi a vyšší aktivitu telomerázy, což vede k imortalizaci napadené buňky. Tento jev byl pozorován v HPV pozitivním karcinomu děložního hrdla (Ferber *et al.*, 2003).

### 4.1.3 Onkogeneze HBV

Virus hepatitidy B (HBV, z angl. hepatitis B virus) řadíme do čeledi *Hepadnaviridae*. Dlouhodobá infekce HBV může způsobit chronickou hepatitidu, cirhózu jater a hepatocelulární karcinom (HCC, z angl. hepatocellular carcinoma). HBV má dsDNA genom se ssDNA úseky, které se po vstupu viru do buňky dosyntetizují. Virový genom mimo jiné kóduje obalové proteiny (preS1, preS2 a S) z *preS/S* genu a regulační protein HBx z genu *X*, přispívající ke karcinogenezi. HBV ovlivňuje onkogenezi přímými mechanismy, například včleněním do hostitelského genomu, narušením chromatinu nebo transkripce, ale také nepřímo narušením signalizačních drah v cytoplazmě (Benn & Schneider, 1994).

Nejvýznamnější onkoprotein u HBV je HBx, který má mnoho funkcí. Narušuje buněčný cyklus inaktivací inhibitorů INK4A a p21, což vede k zabránění aktivace pRB proteinu (Park *et al.*, 2011), inaktivuje p53 (Wang *et al.*, 1994), váže DDB1 protein (z angl. DNA damage-binding protein 1) opravující DNA (Wentz *et al.*, 2000), což může přispívat k mutagenezi, a reaguje s transkripčními faktory (Cougot *et al.*, 2007).

V 80 % HCC vyvolaných HBV byl virus nalezený integrovaný do hostitelského genomu. U zhruba 40 % těchto nádorů byla nalezena místa integrace v genech *MLL4* (z angl. mixed-lineage leukemia 4), jehož protein má metyltransferázovou aktivitu, která modifikací histonů ovlivňuje epigenetické vlastnosti genomu, a dále *CCE1* (z angl. cyclin E1) ovlivňující buněčný cyklus. Stejně jako u karcinomu děložního hrdla způsobeného HPV (viz Kap. 4.1.2), dochází i v buňkách HCC k začlenění genomu HBV do promotoru genu TERT a následně imortalizaci modifikovaných buněk (Ferber *et al.*, 2003). Začlenění virové genetické informace do těchto genů vede k jejich nadměrné expresi (Sung *et al.*, 2012).

Proteiny kódované z *preS/S* ORF mohou tvořit mutanty, které se akumulují v endoplazmatickém retikulu (ER, z angl. endoplasmic reticulum) hepatocytů a vyvolávají stres ER, oxidativní narušení DNA a nestabilitu genomu. Mutovaný *preS2* je potenciálním protoonkogen, interaguje s inhibitorem CDK JAB1 (z angl. Jun activating binding protein 1), čímž dochází k hyperfosforylaci pRP, uvolnění transkripčních faktorů a aktivaci buněčného cyklu (Hsieh *et al.*, 2007). Mutované *preS* proteiny aktivují proteázu calpain, která odštěpí N-terminální doménu cyklinu A. Ta po translokaci do cytoplazmy způsobí zvýšení počtu centrozómu a nestabilitu chromozómů (Wang *et al.*, 2012). Z *preS/S* sekvence zkrácené na 3'konci vznikají MHBst proteiny (z angl. truncated middle size surface proteins), ty mohou aktivovat proteinkinázu C (PKC, z angl. protein kinase C) a na ní závislou dráhu c-Raf-1/MEK/Erk2, která vede k potlačení transkripčních faktorů AP-1 (z angl. activator protein-1) a NF-κB (Hildt *et al.*, 2002).

### 4.1.4 Onkogeneze HCV

Virus hepatitidy C (HCV) řadíme do čeledi *Flaviviridae*. Dlouhodobá infekce HCV může způsobit řadu onemocnění jater jako je například chronická žloutenka, cirhóza nebo hepatocelulární karcinom. Jedná se o jediný RNA virus podílející se na onkogenezi, která je navozena nepřímým mechanismem. Genom je tvořen jednořetězcovou RNA, kódující jeden polyprotein, který je následně rozštěpen na jednotlivé virové proteiny. Nukleokapsidový protein přispívá k oxidačnímu stresu, narušením mitochondriálního komplexu I a zvýšením produkce reaktivní formy kyslíku (ROS, z angl. reactive oxygen species) (Korenaga *et al.*, 2005). Jeho působením také dochází k nadměrné expresi prohibitinu (mitochondriálního chaperonu), což vede ke snížení aktivity cytochrom c oxidázy (COX, z angl. cytochrome c oxidase)

a narušení dýchacího řetězce (Tsutsumi *et al.*, 2009). Nukleokapsidový protein je schopný ovlivnit buněčnou signalizaci jako je MAPK (z angl. mitogen-activated protein kinase) kaskáda (Tsutsumi *et al.*, 2003) a aktivuje AP-1 transkripční faktor (Tsutsumi *et al.*, 2002), jenž podporuje proliferaci buňky.

#### 4.1.5 Onkogeneze HTLV-1

Lidský T-lymfotropický virus typu 1 (HTLV-1) může způsobovat adultní T-buněčný lymfom (ATL, z angl. adult T-cell lymphoma), agresivní nádor CD4<sup>+</sup> T-lymfocytů. HTLV-1 kóduje strukturní proteiny gag, pol, env a proteiny Tax a HBZ (z angl. HTLV-1 basic leucine zipper factor), přispívající k rozvoji malignit v infikovaných buňkách.

Tax protein reaguje s CREB (z angl. cyclic AMP-responsive element-binding protein) a SRF (z angl. serum-response factor), jež aktivují mnoho buněčných promotorů (Adya and Giam 1995). Tax přes vazbu CREB se váže k NK-κB, což vede k aktivaci transkripce dalších buněčných genů. Tax podporuje proliferaci a immortalizaci buněk (Adya and Giam 1995; Grassmann *et al.* 1992).

HBZ asociuje s CREB2, c-Jun nebo JunB a vytvoří heterodimer (Basbous *et al.*, 2003; Gaudray *et al.*, 2002), který snižuje transaktivaci zprostředkovanou Tax proteinem. HBZ hraje důležitou roli v buněčné proliferaci ATL buněk (Satou *et al.*, 2006).

#### 4.1.6 Onkogeneze polyomavirů

Mezi lidské polyomaviry patří již zmiňované MCPyV, JCPyV a BKPyV, způsobující celoživotní bezpříznakové infekce, které mohou být nebezpečné u imunosuprimovaných osob. Viry JCPyV a BKPyV mají mezi sebou 75% homologii a nejčastěji se jimi infikují děti. Promořenost populace těmito viry je až 70 % (Stolt *et al.*, 2003). Latentní fáze virového cyklu je lokalizována v ledvinách. JCPyV je asociován s progresivní multifokální leukoencefalopatií a virus BKPyV s hemoragickým zánětem močového měchýře a nefropatií (Bouvard *et al.*, 2012). Není dosud jednoznačně prokázáno, že viry JCPyV a BKPyV jsou pro člověka onkogenní. Jako potenciální onkoprotein polyomavirů působí LTag, který má domény vázající pRb a p53 nádorový supresorový protein (Harris *et al.*, 1998). BKPyV byl podle některých studií objeven v uroteliálním a ledvinovém karcinomu (Emerson *et al.*, 2008; Geetha *et al.*, 2002), jiná studie výskyt viru nepotvrdila (Kausman *et al.*, 2004). Přesto byly tyto viry v roce 2012 uznány jako “potenciálně karcinogenní pro člověka“ (Bouvard *et al.*, 2012).

Virus MCPyV byl objeven až v roce 2008 v karcinomu Merkelových buněk (MCC, z angl. Merkel-cell carcinoma), podle kterých byl pojmenován (Feng *et al.*, 2008). MCC je poměrně vzácný, nicméně velmi agresivní kožní karcinom. Tento virus má kódující sekvence pro LTag, sTag a VP1-3 (z angl. viral proteins). V karcinomu Merkelových buněk je virový genom zpravidla integrovaný, charakteristická je mutace v genu pro LTag. V jejím důsledku je produkovaný LTag zkrácený na C-konci, a tedy bez helikázové domény, avšak pRB vazebná doména je stále zachována (Shuda *et al.*, 2008).

## 4.2 MikroRNA nádorových virů a jejich funkce

EBV produkuje miRNA, které dokáží ovlivňovat translaci buněčné i virové mRNA. MiR-BART5 a miR-BART19 snižují expresi PUMA (z angl. p53 upregulated mediator of apoptosis) proteinu, který napomáhá buněčné apoptóze (Choy *et al.*, 2008). Bylo zjištěno, že v nádorových buňkách BL, ve kterých nejsou exprimovány onkoproteiny, je blokována apoptóza pomocí miR-BART1 a miR-BATR16, které cílí na transkript proapoptické kaspázy 3 (Casp3) (Vereide *et al.*, 2014). Napadená buňka tedy dále přežívá a virus se může replikovat. Regulace množství Diceru byla objevena pouze u EBV infikovaných lidských buněk a je zapříčiněna vazbou miR-BART6 na 3'UTR konec mRNA Diceru, kde se nachází 4 vazebná místa pro tuto miRNA. Snížení exprese Diceru vede ke kontrole viru nad vznikem buněčných, ale i virových miRNA, a také k negativní zpětné vazbě vzniku samotné miR-BART6 (Iizasa *et al.*, 2010). MiR-BART-3 přispívá k proliferaci a transformaci buněk NPC vazbou a negativní regulaci DICE1 mRNA, jejíž transkript působí jako buněčný nádorový supresor (Lei *et al.*, 2013).

Některé EBV miRNA se zaměřují na únik před imunitním systémem. MiR-BHRF1 cílí na mRNA pro CXCL-11 (z angl. C-X-C motif chemokine 11) (Xia *et al.*, 2008), což je chemokin produkovaný buňkou napadenou virem EBV. Tato miRNA se však dle nejnovějších poznatků podílí na zpomalení akutní infekce, ale nezvyšuje onkogenní potenciál (Wahl *et al.*, 2013). Únik před T-lymfocyty je také zajištěn pomocí miR-BART2, způsobující nižší produkci MICB (Nachmani *et al.*, 2009).

Jak již bylo zmíněno, viry produkují miRNA regulující expresi jejich vlastní mRNA. Cílem jsou především mRNA pro virové membránové proteiny. Jedním z nich je onkogenní latentní membránový protein 1 viru EBV, jehož exprese je potlačována několika miRNA přepisovanými z BART klastru (miR-BART5, miR-BART16, miR-BART17 a miR-BART19) (Lo *et al.*, 2007; Riley *et al.*, 2012). Snížení exprese LMP1 funguje jako prevence napadené buňky před apoptózou (Lu *et al.*, 1996). Některé studie také ukazují, že pokud miR-BART5 a miR-BART19 spolupracují, je inhibice LMP1 mRNA účinnější (Riley *et al.*, 2012). K úniku napadené buňky před imunitním systémem slouží negativní regulace mRNA imunogenního virového antigenu LMP-2a vazbou miR-BART22 (Lung *et al.*, 2009).

HHV-8 miR-K12-7 a miR-K12-9 negativně regulují virový gen *Rta*, který je významný pro přechod z latentního do lytického cyklu (Bellare and Ganem 2009; Lin *et al.*, 2011). Čtyři virové miRNA (miR-K12-1, miR-K12-3, miR-K12-6, miR-K12-11) se podílejí na regulaci translace buněčné mRNA vazbou na mRNA trombospondinu 1 (THBS1), který hraje roli v angiogenezi, proliferaci a nádorové supresi (Samols *et al.*, 2007). Další tři virové miRNA (miR-K12-5, miR-K12-9, miR-K12-10) snižují expresi Bcl2-asociovaného faktoru 1 (BCLAF1, z angl. BCL2 associated transcription factor 1), čímž zvyšují citlivost buňky k reaktivaci a usnadňují přechod do lytického cyklu (Ziegelbauer *et al.*, 2009). Působení miR-K12-1 zabraňuje apoptóze snížením exprese proteinu p21, který je inhibitorem cyklin-dependentních kináz (Gottwein & Cullen, 2010). Exprese proteinu p21 je aktivována působením proteinu p53, který reguluje správný průběh buněčného cyklu. MiR-K12-1 také spolu s miR-K12-3 a miR-K12-4 cílí na mRNA Casp3, stejně jako miR-BART1 a miR-BATR16 u EBV (Suffert *et al.*, 2011).

Lidské polyomaviry mohou také způsobit nádorová onemocnění. Nádorové bujení v infikované tkáni podporuje převážně LTag, jehož translace je deregulována virovými miRNA (viz Kap.3.2.2).



## 4.3 Hostitelské mikroRNA a regulace virové infekce

Kapitola 3 pojednává o virových miRNA, jejichž pomocí dokáží viry regulovat buněčné procesy, jako jsou proliferace, stárnutí a diferenciace. Průběh virové infekce však může být ovlivněn i hostitelskými miRNA. Tyto miRNA pak virovou infekci potlačují či naopak napomáhají perzistenci viru. Buněčné miRNA ovlivňují virovou infekci nepřímo (herpesviry, HPV) působením na signální dráhy buňky nebo přímo (HCV) vazbou na virovou RNA.

Buněčné miRNA se stejně jako virové miRNA, mohou přenášet mezi buňkami pomocí exozómů (viz. Kap 3.1). Přesné mechanismy ovlivňující sekreci buněčných miRNA v závislosti na virové infekci nejsou stále známy. Avšak v nedávných studiích bylo dokázáno, že buněčné miRNA doručené exozómy do EBV pozitivních buněk mohou vyvolat přechod z latentní do lytické fáze infekce (Lin *et al.*, 2016). Buněčná miRNA může být také přenesena v exozómu EBV infikovaných buněk do zdravé epiteliální buňky a způsobit vyšší expresi faktorů podporujících angiogenezi (Yoon *et al.*, 2015). Výzkum exozómů má velký potenciál, jejich prostřednictvím by bylo možné přenášet a cílit terapeutické miRNA.

### 4.3.1 Herpesviry

Jak již bylo řečeno v Kap.3.2.1, herpesviry kódují vlastní miRNA ovlivňující virovou infekci, která však může být manipulována také buněčnými miRNA. Jedna z nejdůležitějších je miR-155, která se hojně vyskytuje u mnoha nádorů např. u NPC (Du *et al.*, 2011) a difuzního B-velkobuněčného lymfomu (DLBCL, z angl. diffuse large B-cell lymphoma), a podporuje proliferaci buněk (Linnstaedt *et al.*, 2010). MiR-155 je přepsána z primárního transkriptu označovaného jako B-buněčný integrační klastr (BIC) a její produkce je iniciována řadou faktorů stimulujících imunitní buňky; ligandy TLR (z angl. toll-like receptor), TNF- $\alpha$  (z angl. tumor necrosis factor- $\alpha$ ), interferony- $\beta$  a antigeny skrze interakci s BCR (O'Connell *et al.*, 2007). Exprese miR-155 je vyvolána EBV proteinem LMP1, ale může ji spouštět také EBNA2 nebo LMP2a protein (Du *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2008).

Další deregulovanou miRNA v EBV napadených buňkách je miR-146a, jejíž exprese je spuštěna TLR přes NF- $\kappa$ B signální dráhu (Cameron *et al.*, 2008; Motsch *et al.*, 2007). MiR-146a podporuje únik napadené buňky před imunitní odpovědí (Taganov *et al.*, 2006). Také je schopná autoregulace přes kontrolu exprese IRAK1 proteinu, který je součástí NF- $\kappa$ B dráhy (Cameron *et al.*, 2008).

MiRNA přispívající k infekci jsou například miR-34a, miR-127 a miR-21. Zvýšení exprese miR-34a v B-lymfoblastoidních buněčných liniích podporuje přežití a proliferaci buněk, na rozdíl od většiny ostatních buněčných linií, kde funguje jako nádorová supresorová miRNA (Forte *et al.*, 2012).

MiR-127 se ve větším množství vyskytuje v EBV pozitivním BL než EBV negativním, což ukazuje na vliv virové infekce na expresi této miRNA (Leucci *et al.*, 2010). MiR-127 přispívá ke vzniku lymfomů snížením transkriptu pro vznik proteinů BLIMP-1 (též PRDM1, z angl. PR domain zinc finger protein 1) a XBP-1 (z angl. X-box binding protein 1), které jsou regulátory diferenciace B-lymfocytů na plazmatické buňky. B-lymfocyty se přestávají diferenciovat a dochází k lymfatické transformaci (Leucci *et al.*, 2010).

Exprese miR-21 může být stejně jako miR-155 ovlivněna proteinem EBNA2 (Rosato *et al.*, 2012). Tato miRNA je zapojena do regulace proliferace, diferenciace a blokování apoptózy hostitelské buňky. Její nadměrná exprese způsobuje rozšíření prekarcinogenního lymfoidního fenotypu. Studie Medina a kol.

ukázala, že zablokování miR-21 v rostoucích nádorech způsobí výrazné zmenšení karcinomu aktivací apoptózy v řádu několika dní (Medina *et al.*, 2010). MiR-21 by mohla mít významný terapeutický potenciál.

HHV-8 je také schopný interagovat s buněčnými miRNA, dokáže ovlivnit expresi např. miR-21, miR-31 a miR-146a. Zvýšená exprese miR-21 a miR-31 v PEL je vyvolána virovým SH2 (z angl. src homology 2) vazebným motivem K15M proteinu přes NF- $\kappa$ B signální dráhu. Tsai a kol. ve své studii poprvé ukázali, že miR-21 a miR-31 jsou regulátory migrace nádorových buněk (Tsai *et al.*, 2009).

Transkripce miR-146a je spuštěna pomocí HHV-8 proteinu vFLIP K13 přes NF- $\kappa$ B signalizaci. Tato miRNA snižuje množství cytokinu CXCR4, který je přirozeně exprimován v nezralých endoteliálních buňkách kostní dřeně. Buňky pak mohou přispívat ke vzniku KS jejich předčasným uvolněním do oběhu (Punj *et al.*, 2010).

Ačkoliv HHV-8 neovlivňuje expresi buněčné miR-155 v PEL, transkribuje si svou vlastní miR-K12-11, která je jejím ortologem (Skalsky *et al.*, 2007).

### 4.3.2 Papilomaviry

I když lidské papilomaviry nekódují žádnou svou vlastní miRNA, infekce buňky ovlivňuje jednoznačně expresi miRNA hostitelských buněk. Řada studií zkoumajících miRNA expresní profily v nádorech asociovaných s HPV ukázala rozdíly oproti normální nemaligní tkáni či nádorům HPV negativním ve stejné anatomické lokalizaci (Lajer *et al.*, 2012; Wald *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2008). Většina studií však vykazuje minimální překryvy v diferencially exprimovaných miRNA a pouze u málo z těchto miRNA byla studována jejich funkce.

Expresi hostitelských miRNA zcela nepochybně ovlivňují proteiny E6 a E7. Jak již bylo zmíněno v Kap. 4.1.2, protein E6 destabilizuje transkripční faktor p53, na kterém je závislá exprese tumor-supresorové miR-34a, jejíž snížená exprese byla prokázána u karcinomu děložního hrdla (Wang *et al.*, 2009). Pokles miR-218 v buňkách karcinomu děložního hrdla způsobuje také onkoprotein E6. Tato miRNA blokuje transkript z genu *LAMB3*, jehož nadměrná exprese zvyšuje migraci buněk a jejich onkogenicitu v myším modelu a společně s ligandem  $\alpha$ 6b4-integrinem podporuje nádorovou transformaci lidských keratinocytů (Calaluce *et al.*, 2004; Dajee *et al.*, 2003). Studie Martineze a kol. ukazuje, že k nadměrné expresi *LAMB3* vede snížená exprese miR-218 vyvolaná proteinem E6 (Martinez *et al.*, 2008). Prostřednictvím E7 onkoproteinu je přes MAP kinázovou dráhu blokována miR-203, vyskytující se v diferencujících se epiteliálních buňkách, kde potlačuje proliferaci (Melar-New & Laimins, 2010). Dále byla mimo jiné pozorována zvýšená exprese miR-9 v HPV pozitivním karcinomu děložního hrdla a karcinomu krčních mandlí (Vojtechova *et al.*, 2016). Liu a kol. ukázali, že její exprese je ovlivněna HPV proteinem E6. Její nadměrné množství v HPV infikovaných buňkách vede k vyšší motilitě snížením exprese genů inhibujících buněčnou migraci, což může významně přispívat k tvorbě metastáz (Liu *et al.*, 2014).

### 4.3.3 Polyomaviry

Reakce mezi hostitelskými miRNA a lidskými polyomaviry není zcela objasněna. U opičího SV40 viru byla objevena miRNA SV40-miR-S1, jejímž buněčným ortologem je miR-423 (You *et al.*, 2012). Tato

virová miRNA snižuje expresi LTag a tím reguluje imunitní odpověď hostitele. Přesná funkce této miRNA však není ještě zcela odhalena.

Další buněčné miRNA souvisí s infekcí MCPyV v MCC. Ve studii Xie a kol. byly porovnány miRNA profily MCC pozitivních (přítomnost MCPyV) a negativních (bez infekce MCPyV) buněk (Xie *et al.*, 2014). U pozitivních MCC buněk byla detekována zvýšená exprese buněčných miR-30a, miR-34a, miR-375 a miR-769 a naopak snížená exprese miR-203, v metastázách primárních nádorů v lymfatických uzlinách byla zjištěna výrazně vyšší exprese miR-150. Funkčně autoři ověřili, že nadměrná exprese miR-203, podobně jako u HPV, inhibuje růst a buněčný cyklus a produkci onkogenu survivinu v MCV negativních buňkách MCC (Xie *et al.*, 2014).

#### 4.3.4 HTLV-1

Retrovirus HTLV-1 způsobuje ATL v maturovaných CD4<sup>+</sup> T-lymfocytech, ale také dokáže infikovat hematopoetické kmenové buňky a replikovat v nich svůj genom. Virový onkoprotein Tax má podobný význam jako onkoprotein LMP1 u EBV. U HTLV-1 způsobuje nadměrnou expresi miR-21, miR-24, miR-146a a miR-155, ale také snižuje transkripci miR-223 v infikovaných buňkách (Pichler *et al.*, 2008). MiR-155 a miR-146a jsou stejně jako u EBV exprimovány přes NF- $\kappa$ B signální dráhu a způsobují nadměrnou proliferaci buněk (Wang *et al.*, 2011). HTLV-1-transformované buňky odvozené z ATL mají sníženou hladinu miR-155 a miR-22, což vede ke zvýšení exprese proteinu STAT1. Zvýšená hladina STAT1 korelovala u pacientů s ATL s vyšší hladinou MHC I. Tyto nádory pak také byly daleko agresivnější, pravděpodobně protože vyšší exprese MHC I může umožňovat infikovaným transformovaným buňkám uniknout před eliminací NK buňkami (Mocikat *et al.*, 2003; Moles *et al.*, 2015). Vznik vyššího množství miR-17 a miR-21 způsobuje také druhý HTLV-1 onkogenní protein HBZ. Tyto miRNA reprimují gen *OBFC2A*, který kóduje hSSB2 proteiny (z angl. human single strand binding protein), podporující stabilitu genomu (Vernin *et al.*, 2014).

#### 4.3.5 HBV

Virus HBV nekóduje své vlastní miRNA, nicméně hostitelské miRNA dokáží ovlivnit průběh infekce. Zvýšená exprese některých buněčných miRNA, jako je například miR-155, potlačuje infekci. MiR-155 snižuje množství SOCS1 (z angl. suppressor of cytokine signaling 1), což vede k aktivaci JAK/STAT signalizace a zvýšení antivirové imunity. Také částečně omezuje expresi *HBx* genu. MiR-155 tedy ovlivňuje inhibici infekce a podporuje imunitní odpověď hostitele (Su *et al.*, 2011).

MiR-221 je nejvíce exprimovaná miRNA v HCC způsobených HBV. Ukázalo se, že má několik vazebných cílů. Jedním z nich je DDIT4 (z angl. DNA damage inducible transcript 4), který slouží jako negativní regulátor mTOR (z angl. mechanistic target of rapamycin) kinázy (Pineau *et al.*, 2010). Dále váže inhibitory cyklin-dependentní kinázy CDKN1B/p27 a CDKN1C/p57 (z angl. cyclin-dependent kinase inhibitor 1B, 1C) (Fornari *et al.*, 2008). Proto tato miRNA podporuje růst a buněčný cyklus. Signalizační dráha mTOR je také ovlivněna miR-21, jejíž exprese je v HCC zvýšená a vyvažuje nádorový supresorový protein PTEN (z angl. phosphatase and tensin homolog) (Meng *et al.*, 2007).

Také zvýšená exprese miR-143, miR-602 a miR-221 napomáhá rozvoji HCC. Nadměrná exprese miR-143 v metastázách HCC je zapříčiněna vlivem HBx na NF- $\kappa$ B signální dráhu. Tato miRNA váže

mRNA *FNDC3B* genu, jehož protein omezuje migraci buněk, proto je miR-143 důležitá pro tvorbu metastáz (Zhang *et al.*, 2009). Yang a kol. zjistili zvýšené množství miR-602 v hepatocytech infikovaných HBV a v buňkách HCC. Tato miRNA snižuje množství nádorového supresoru RASS-F1A (z angl. Ras association domain-containing protein 1) a tím podporuje onkogenezi hepatocytů (Yang *et al.*, 2010).

Nedávná studie Liu a kol. ukázala, že miR-15a váže Smad7 (z angl. small mothers against decapentaplegic) a snižuje jeho množství v HBV infikovaných hepatocytech. Smad7 je inhibitor signalizační dráhy transformačního růstového faktoru  $\beta$  (TGF- $\beta$ , z angl. transforming growth factor beta) zabraňujícího apoptóze (Liu *et al.*, 2015). Z tohoto důvodu HBV infikované buňky snižují množství miR-15a vazbou komplementárního úseku HBV mRNA (Liu *et al.*, 2013) a tím podporují nádorovou transformaci.

#### 4.3.6 HCV

HCV je virus s pozitivním vláknem RNA o délce přibližně 9,6 kb. V játrech se přirozeně nachází vysoké množství miR-122, která se dokáže přímo vázat ve dvou místech HCV RNA na 5' UTR mezi vlásenkou a IRES (Obr. 4.3.7) a pozitivně regulovat infekci. MiR-122 podporuje replikaci HCV genomu, ale přesný mechanismus není zcela znám (Jopling *et al.*, 2005). Také miR-196 a miR-448 dokáží přímo vázat virovou RNA, avšak mají antivirový potenciál stejně jako miR-296, miR-351, miR-431 a miR-448, jejichž exprese je vyvolána interferonem  $\beta$  (Pedersen *et al.*, 2007). Provirovou funkci má dále například miR-141, která vyvažuje nádorový supresor DLC-1 (z angl. deleted in liver cancer 1), čímž podporuje proliferaci napadené buňky (Banaudha *et al.*, 2011).

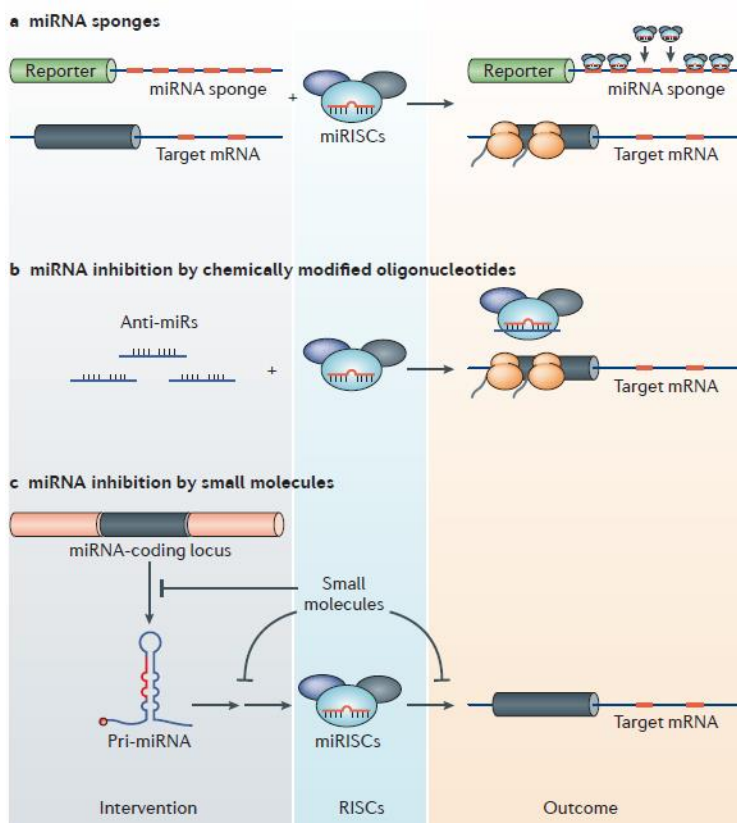
### 4.4 Klinické využití mikroRNA

Především díky tomu, že expresi specifických miRNA lze detekovat v různých typech tkání a to i ve fixovaných tkáních zalitých v parafínu a též lidské plazmě, mají tyto molekuly předpoklad stát se důležitými biomarkery. MiRNA byly též detekované v dalších tělních tekutinách, v moči a slinách.

Pilotní studie v roce 2005 ukázala, že na základě miRNA profilů lze odlišit různé druhy nádorů a exprese většiny diagnostikovaných miRNA je v nádorech snížena (Lu *et al.*, 2005). Detekce miRNA byla dále využita k odlišení subtypů nádorů a stanovení prognózy (Blenkiron *et al.*, 2007). V krevním séru u pacientů s velkobuněčným B-lymfomem se jako potenciální biomarker uvažuje o detekci miR-21, jejíž hladina je v těchto nádorech zvýšená (Lawrie *et al.*, 2008). Ukázalo se, že výskyt miRNA může být použit také pro predikci vzniku onemocnění. Analýzou jednotlivých cirkulujících miRNA Boeri a kol. ukázali, že se dá předpovědět výskyt rakoviny plic i roky před nástupem onemocnění (Boeri *et al.*, 2011). Velký význam by mělo využití detekce miRNA u špatně diferenciováných karcinomů. Studie Rosenfelda a kol. navrhla klasifikační schéma založené na expresi miRNA, které jim umožnilo pomocí 48 miRNA s 90% specificitou diagnostikovat primární lokalizaci nádorů neznámého původu (Rosenfeld *et al.*, 2008). Firma, která participovala i na této studii, nyní nabízí panel pro identifikaci primární lokalizace metastázujících nádorů (Varadhachary *et al.*, 2011).

Z klinického hlediska mají miRNA jistě i velký potenciál k terapeutickému využití. Od doby objevu miRNA výzkum velmi pokročil a nyní existuje množství vědeckých důkazů o jejich roli v řadě lidských nemocí, především malignit. V *in vitro* pokusech a v preklinických pokusech na zvířecích modelech byla ukázána efektivní blokáce funkce miRNA pomocí chemicky modifikovaných oligonukleotidů (Rayner *et al.*, 2011). I když je tento přístup komplikován řadou faktorů, první terapeutické nukleotidy cílené na miRNA jsou ve fázi II klinických zkoušek (Janssen *et al.*, 2013; ClinicalTrials.gov číslo: NCT01200420).

Existují tři přístupy pro léčbu zaměřenou na miRNA (Obr. 4.4.1). První dva se zdají být hůře využitelné, jedná se o metodu založenou na vnášení arteficiálních miRNA vazebných míst a tím vyvázání dané miRNA (Ebert *et al.*, 2007), druhý přístup je aplikace malých molekul inhibujících miRNA expresi (Gumireddy *et al.*, 2008). Metoda třetí je použití antisense oligonukleotidů, především těch, které se přímo váží na miRNA (anti-miRs) a inhibují tak jejich funkci (Janssen *et al.*, 2013). Tyto nukleotidy však musí být chemicky modifikované, což zvyšuje jejich rezistenci k sérovým nukleázám, afinitu k cílové miRNA a zlepšuje jejich farmakokinetický/farmakodynamický profil. Nahé nukleotidy by též nebyly schopné přímo vstoupit do buněk přes negativně nabitě buněčné membrány (Geary 2009; Lennox and Behlke 2010).



Obr. 4.4.1 Tři přístupy k inhibici miRNA a) vnesení arteficiálních miRNA vazebných míst, b) inhibice pomocí chemicky modifikovaných oligonukleotidů, c) inhibice pomocí malých molekul (převzato Li and Rana 2014).

Výzkum v oblasti chemických modifikací těchto oligonukleotidů má však svá úskalí. Jedním z nich je existence „seed“ sekvencí v miRNA, které jsou shodné pro celé miRNA rodiny a dochází tedy pak k inhibici ne jedné, ale řady miRNA. Jedním z řešení by mohla být inhibice cílená na prekurzorová stádia

miRNA (Kloosterman *et al.*, 2007). Druhý problém je reakce imunitního systému na anti-miRs a modifikační proteiny. Vnesení těchto terapeutik bylo spojené s imunostimulací vedoucí k toxickým projevům (Jurk *et al.*, 2011). Další výzkum musí vést k navržení modifikací oligonukleotidů, které budou imunostimulační efekty minimalizovat. Třetí problém je efektivní vnesení terapeutických oligonukleotidů do místa určení a zaručení vstřebání dostatečně vysoké dávky cílovými buňkami (Geary, 2009).

Přes všechny zmíněné komplikace jsou již terapeutika založená na anti-miRech testována v preklinických zkouškách a klinických zkouškách fáze I a II (Tab. 4.4.1) (Janssen *et al.*, 2013; Rayner *et al.*, 2011).

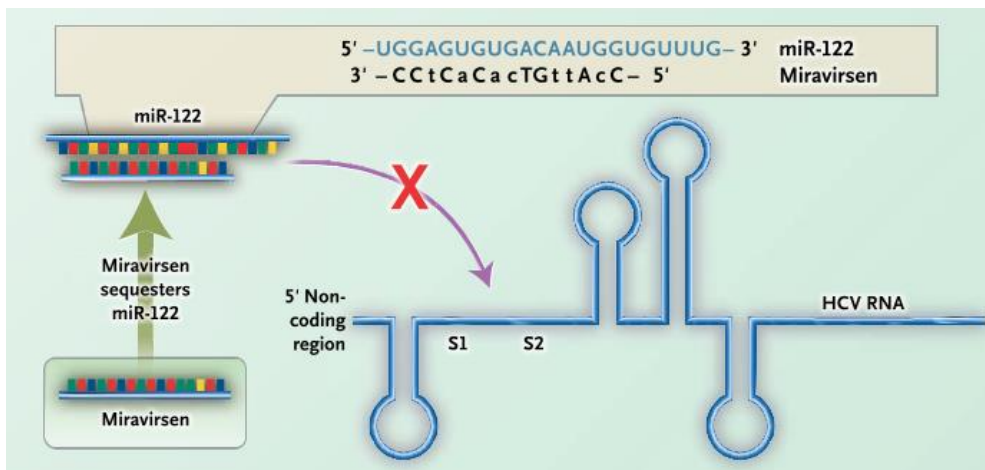
MicroRNA	Oligonucleotide format	Indications	Companies	Developmental stage
miR-122	LNA-modified antisense inhibitor	HCV infection	Santaris Pharma	Phase II
miR-122	GalNAc-conjugated antisense inhibitor	HCV infection	Regulus Therapeutics	Phase I
miR-34	miRNA mimic replacement	Liver cancer or metastasized cancer involving liver	miRNA Therapeutics	Phase I
Let-7	miRNA mimic replacement	Cancer (details undisclosed)	miRNA Therapeutics	Preclinical
miR-21	2'-F and 2'-MOE bicyclic sugar modified antisense inhibitor	Cancer, fibrosis	Regulus Therapeutics	Preclinical
miR-208	Antisense inhibitor	Heart failure, cardiometabolic disease	miRagen/Servier	Preclinical
miR-195 (miR-15 family)	Antisense inhibitor	Post-myocardial infarction remodelling	miRagen/Servier	Preclinical
miR-221	Antisense inhibitor	Hepatocellular carcinoma	Regulus Therapeutics	Preclinical
miR-103/105	Antisense inhibitor	Insulin resistance	Regulus Therapeutics	Preclinical
miR-10b	Antisense inhibitor	Glioblastoma	Regulus Therapeutics	Preclinical

Tab. 4.4.1 Terapeutika založená na anti-miR (převzato Li and Rana 2014).

Do klinické fáze II testování se zatím dostal pouze Miravirsen. Je to LNA-modifikovaný oligonukleotid (z angl. locked nucleic acid) podáván subkutánně nebo intravenózně v solném roztoku. Inhibuje miR-122 (Obr. 4.4.2) u pacientů s chronickou hepatitidou C (Janssen *et al.*, 2013; ClinicalTrials.gov číslo: NCT01200420). MiR-122 byla identifikovaná jako miRNA specificky ovlivňující HCV replikaci v játrech.

Zcela nový způsob léčby by měla být MRX34 v lipozómu enkapsidovaná mimická miR-34a, která je testována na pacientech s primárním nádorem jater nebo hematologickými nádory. Tato látka bude

zastávat funkci tumor-supresivní miR-34a. Momentálně je v první fázi klinického testování (ClinicalTrials.gov číslo: NCT01829971).



Obr. 4.4.2 Ukázka vazby Miravirsenu na miR-122 a inhibice její vazby na HCV RNA (převzato a upraveno Janssen *et al.*, 2013).

## 5 Závěr

Studium miRNA je v současné době velmi aktuální. Jedním z hlavních cílů výzkumu je identifikace virových a buněčných miRNA ovlivňujících nádorové bujení. Ve své práci se snažím přiblížit funkci virových miRNA, které dokáží deregulovat translaci proteinů ovlivňujících především buněčný cyklus a únik napadené buňky před imunitní odpovědí. Tímto způsobem miRNA přispívají k neřízené proliferaci hostitelských buněk. Selektované miRNA by v budoucnu mohly být regulovány antisense vlákny, čímž by bylo možné potlačit jejich funkci.

V práci jsem popsala důležité buněčné miRNA, jejichž exprese je ovlivněna virovými proteiny. Hostitelské miRNA jsou schopny pozitivně i negativně regulovat translaci tumor-supresivních genů, ale také se přímo vážat na virové RNA. Pozitivní regulace přímou vazbou na RNA HCV je využívána při terapeutické léčbě chronické hepatitidy C, kdy LNA-modifikovaný oligonukleotid Miravirsen přímo váže a inhibuje miR-122. Tento způsob terapeutické léčby by se mohl dát využít i k potlačení některých nádorů. Avšak jako problém se jeví tkáňová specifita miRNA a možné vedlejší účinky při špatném zaměření cíle.

Narušení exprese konkrétní miRNA v infikované a nádorové tkáni má také velký potenciál v diagnostice onemocnění, kdy je možné využívat miRNA jako biomarkery.

Výzkum miRNA je velmi významný a mohl by přinést zcela nový způsob léčby nejen nádorových onemocnění.



## 6 Seznam zkratek

<b>zkratka</b>	<b>anglický název</b>	<b>český název</b>
<b>3'/5'UTR</b>	3'/5' untranslated region	3'/5' nepřekládaná oblast
<b>40/60S</b>	ribosomal subunit	ribozomální podjednotky
<b>AATF</b>	apoptosis antagonizing transcription factor	apoptózu antagonistizující transkripční faktor
<b>Ago</b>	argonaute	argonaut
<b>AIDS</b>	acquired immune deficiency syndrome	získaný syndrom imunodeficiency
<b>Alu</b>	Arthrobacter luteus restriction endonuclease	Arthrobacter luteus restriční endonukleáza
<b>AP-1</b>	activator protein-1	aktivátorový protein-1
<b>ATL</b>	adult T-cell lymphoma	adultní T-buněčný lymfom
<b>AU</b>	adenine, uracyl	adenine, uracyl
<b>BART</b>	Bam HI-A region rightward transcript	Bam HI-A region pravotočivého transkriptu
<b>BCLAF1</b>	Bcl2 associated transcription factor 1	Bcl2-asociovaný faktor 1
<b>BCR</b>	B-cell receptors	B-buněčné receptory
<b>BHRF1</b>	Bam HI fragment H rightward open reading frame 1	Bam HI fragment H pravotočivý čtecí rámec 1
<b>BIC</b>	B-cell integration cluster	integrační klastr B-buněk
<b>BKPyV</b>	human polyomavirus BK	lidský polyomavirus BK
<b>BL</b>	Burkitt's lymphoma	Burkittův lymfom
<b>BLIMP1</b>	PR domain zinc finger protein 1	PR doména proteinu zinkového prstu 1
<b>BPV</b>	bovine papillomavirus	bovinní papilomavirus
<b>CIITA</b>	class II major histocompatibility complex transactivator	transaktivátor hlavního histokompatibilního komplexu třídy II
<b>Casp3</b>	caspase-3	kaspáza-3
<b>CAF1</b>	deadenylase	deadenyláza
<b>CCE1</b>	cyclin E1	cyklin E1
<b>CCL5</b>	chemokine (C-C motif) ligand 5	chemokin (C-C motiv) ligand 5
<b>CCR4</b>	deadenylase	deadenyláza
<b>CD40</b>	cluster of differentiation 40	diferenciační skupina 40
<b>CDK</b>	cyclin-dependent kinase	cyklin-dependentní kináza
<b>CDKN1B/p27</b>	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B	inhibitor cyklin-dependentní kinázy 1B
<b>CDKN1C/p57</b>	cyclin-dependent kinase inhibitor 1C	inhibitor cyklin-dependentní kinázy 1C
<b>COX</b>	cytochrome c oxidase	cytochrom c oxidáza

<b>CREB</b>	cyclic AMP-responsive element-binding protein	cyklický AMP responzivní element vázající protein
<b>CXCL-11</b>	C-X-C motif chemokine 11	C-X-C motiv chemokine 11
<b>CXCR4</b>	C-X-C chemokine receptor type 4	C-X-C chemokin receptor typu 4
<b>DDB1</b>	DNA damage-binding protein 1	protein vázající DNA poškození
<b>DDIT</b>	DNA Damage Inducible Transcript	transkript indukovaný poškozením DNA
<b>DGCR8</b>	DiGeorge syndrome chromosomal region 8	chromozomální region 8 DiGeorgeova syndromu
<b>DLBCL</b>	diffuse large B-cell lymphoma	difuzní B-velkobuněčný lymfom
<b>DLC-1</b>	deleted in liver cancer 1	odstraněný u rakoviny jater 1
<b>DNA</b>	deoxyribonucleic acid	deoxyribonukleotidová kyselina
<b>E geny</b>	early genes	časné geny
<b>EBNA</b>	EBV nuclear antigen	EBV jaderný antigen
<b>EBNA-LP</b>	EBV nuclear antigen – leader protein	EBV jaderný antigen – vedoucí protein
<b>EBV</b>	Epstein–Barr virus	Epstein–Barr virus
<b>eIF4F/4E/6</b>	eukaryotic initiation factor 4F/4E/6	eukaryotický iniciační faktor 4F/4E/6
<b>env</b>	viral envelop	virový obal
<b>ER</b>	endoplasmic reticulum	endoplazmatické retikulum
<b>Exp5</b>	exportin 5	exportin 5
<b>gag</b>	group-specific antigen	skupina specifických antigenů
<b>Gly/Ala</b>	glycin/alanin	glycin/alanin
<b>GTP</b>	guanosine-5'-triphosphate	guanosin-5'-trifosfát
<b>HBV</b>	hepatitis B virus	virus hepatitidy B
<b>HBZ</b>	HTLV-1 basic leucine zipper factor	HTLV-1 základní leucinový zip faktor
<b>HCC</b>	hepatocellular carcinoma	hepatocelulární karcinom
<b>HCMV</b>	human cytomegalovirus	lidský cytomegalovirus
<b>HCV</b>	hepatitis C virus	virus hepatitidy C
<b>HHV</b>	herpesviridae	herpesviry
<b>HIV</b>	human immunodeficiency virus	virus lidské imunodeficience
<b>HL</b>	Hodgkin's lymphoma	Hodgkinův lymfom
<b>HPV</b>	human papillomavirus	lidský papilomavirus
<b>hSSB</b>	human single strand binding protein	lidské proteiny vázající samostatné vlákno
<b>HSV</b>	herpes simplex virus	Herpes simplex virus
<b>HTLV-1</b>	human T-cell lymphotropic virus type 1	lidský T-lymfotropický virus 1
<b>HuR</b>	human antigen R	lidský antigen R
<b>IARC</b>	International Agency for Research on Cancer	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
<b>ICP</b>	infected cell polypeptide	polypeptid infikované buňky

<b>IE geny</b>	immediately early genes	okamžité geny
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	interferon gamma	interferon gamma
<b>IL</b>	interleukin	interleukin
<b>IRAK</b>	interleukin receptor-associated kinase	kináza asociovaná s interleukinovým receptorem
<b>IRES</b>	internal ribosome entry site	vnitřní místo pro vstup ribozomu
<b>IRF</b>	interferon response factors	faktory reagující na interferon
<b>ISG</b>	interferon-stimulated gene	interferon stimulované geny
<b>JAK/STAT</b>	Janus kinase/signal transducer and activator of transcription	Janus kináza/signální transduktor a aktivátor transkripce
<b>JAB1</b>	Jun activating binding protein 1	Jun aktivační vazebný protein 1
<b>JCPyV</b>	John Cunningham polyomavirus	John Cunningham polyomavirus
<b>JunB</b>	transcription factor Jun-B	transkripční faktor Jun-B
<b>K12</b>	kaposine	kaposin
<b>kb</b>	kilobase	kilobáze
<b>KLAR</b>	KSHV latency associated region	KSHV s latencí asociovaný region
<b>KS</b>	Kaposi's sarcoma	Kaposiho sarkom
<b>KSHV</b>	Kaposi's sarcoma associated herpesvirus	herpesvirus asociovaný s Kaposiho sarkomem
<b>L geny</b>	late genes	pozdní geny
<b>LAMB3</b>	laminin subunit beta-3	lamininová podjednotka beta-3
<b>LANA</b>	latency-associated nuclear antigen	s latencí asociovaný jaderný antigen
<b>LAT</b>	latency associated transkript	s latencí asociovaný transkript
<b>LMP</b>	latent membrane protein	latentní membránový protein
<b>LNA</b>	locked nucleic acid	uzamčená nukleová kyselina
<b>LTag</b>	large T-antigen	velký T-antigen
<b>LTR</b>	long terminal repeats	dlouhé terminální repetice
<b>m<sup>7</sup>G</b>	7-methylguanosine	7-metylguanosa
<b>MAPK/Erk2</b>	mitogen-activated protein kinase	mitogenem aktivovaná protein kináza
<b>MCC</b>	Merkel-cell carcinoma	karcinom Merkelových buněk
<b>MCPyV</b>	Merkel cell polyomavirus	polyomavirus Merkelových buněk
<b>MDMs</b>	monocyte-derived macrophages	makrofágy odvozené z monocytů
<b>MEK</b>	Mitogen-activated protein kinase kinase	mitogenem aktivovaná protein kináza kináza
<b>MHBst</b>	truncated middle size surface proteins	zkrácené středně velké povrchové proteiny
<b>MHC</b>	major histocompatibility complex	hlavní histokompatibilní komplex
<b>MHV68</b>	Murine herpesvirus 68	myší herpesvirus 68
<b>MICB</b>	MHC class I polypeptide-related sequence B	MHC I polypeptide související se sekvencí B

<b>miRISC</b>	miRNA-induced silencing complex	miRNA indukovaný umlčující komplex
<b>miR</b>	mature miRNA	maturovaná miRNA
<b>miRNA</b>	microRNA	mikroRNA
<b>miva-RNA</b>	micro virus associated RNA	mikro virus asociovaná RNA
<b>MML4</b>	mixed-lineage leukemia 4	mix linie leukemie 4
<b>mRNA</b>	messenger RNA	mediátorová RNA
<b>MRX34</b>	mimic miR-34a	mimická miR-34a
<b>mTOR</b>	mechanistic target of rapamycin	mechanistické cílové místo rapamycinu
<b>NF-κB</b>	nuclear faktor kappa B	jaderný faktor kappa B
<b>NHL</b>	Non-Hodgkins lymphoma	Non-Hodgkinův lymfom
<b>NK</b>	natural killers	přirození zabíječi
<b>NPC</b>	nasopharyngeal carcinoma	nazofaryngeální karcinom
<b>nt</b>	nucleotide	nukleotid
<b>OBFC2A/NABP1</b>	nucleic acid binding protein 1	protein navazující nukleovou kyselinu 1
<b>ORF</b>	open reading frame	otevřený čtecí rámec
<b>p21</b>	cyclin-dependent kinase inhibitor 1	inhibitor cyklin-dependentní kinázy 1
<b>p38/MK2</b>	p38 mitogen-activated protein kinases/MAP kinase-activated protein kinase 2	p38 mitogenem aktivovaná protein kináza/MAP kinázou aktivovaná proteinkináza 2
<b>PABP</b>	poly(A)-binding protein	polyA vazebné proteiny
<b>PARN</b>	poly(A)-specific ribonuclease	polyA specifická ribonukleáza
<b>PEL</b>	primary effusion lymphoma	primární efuzní lymfom
<b>PI3K/AKT</b>	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate kinase/protein kinase B	3- fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát 3-kináza/protein kináza B
<b>PKC</b>	protein kinase C	proteinkináza C
<b>PML tělíska</b>	promyelocytic leukemia protein	promyelocytární leukemická tělíska
<b>polyA</b>	polyadenylation	polyadenylace
<b>pRB</b>	retinoblastoma protein	retinoblastomový protein
<b>pre-miRNA</b>	precursor-microRNA	prekurzorová miRNA
<b>pri-miRNA</b>	primary-microRNA	primární miRNA
<b>PROX1</b>	prospero homeobox protein 1	prospero homeobox protein 1
<b>PTEN</b>	phosphatase and tensin homolog	fosfátový a tensinový homolog
<b>PUMA</b>	p53 upregulated mediator of apoptosis	p53 upregulovaný mediátor apoptózy
<b>Raf-1</b>	RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase	RAF protoonkogen serine/threonin-protein kináza
<b>Ran</b>	Ras-related nuclear protein	s Ras související jaderný protein

<b>RASS-F1A</b>	Ras association domain-containing protein 1	Ras asociovaná doména obsahující protein 1
<b>RBP</b>	retinol-binding proteins	retinol vazebný protein
<b>RLC</b>	RISC-loading complex	RISC navazující komplex
<b>RNA</b>	ribonucleic acid	ribonukleová kyselina
<b>RNA pol.</b>	RNA polymerase	RNA polymeráza
<b>ROS</b>	reactive oxygen species	reaktivní formy kyslíku
<b>SCCHN</b>	squamous cell carcinoma of the head and neck	karcinom dlaždicových buněk hlavy a krku
<b>SH2</b>	Src Homology 2	Src homolog 2
<b>Smad</b>	small mothers against decapentaplegic	
<b>SOCS</b>	suppressor of cytokine signaling	supresor cytokinové signalizace
<b>ssDNA</b>	single-stranded DNA molecules	jednořetězcová DNA
<b>SRF</b>	serum-response factor	faktor odpovídající na sérum
<b>sTag</b>	small T-antigen	malý T-antigen
<b>SV40</b>	simian virus 40	opičí polyomavirus 40
<b>Syk</b>	spleen tyrosine kinase	slezinná tyrozin kináza
<b>TAR element</b>	trans-activation response element	transaktivační element
<b>TATA box</b>	DNA sequence 5'-TATAAA-3'	DNA sekvence 5'-TATAAA-3'
<b>TERT</b>	telomerase reverse transcriptase	telomerázová reverzní transkriptáza
<b>TGF-β</b>	transforming growth factor beta	transformační růstový faktor beta
<b>THBS1</b>	thrombospondin 1	thrombospondin 1
<b>TNFR</b>	tumor necrosis factor receptor	tumor nekrotizující faktory
<b>TRBP</b>	TAR RNA binding protein	TAR RNA vazebný protein
<b>U3 region</b>	sequences upstream	sekvence v protisměru
<b>ULBP3</b>	UL16 Binding Protein 3	UL16 vazebný protein 3
<b>VA</b>	viral associated RNA	s viry asociovaná RNA
<b>v-cyklin</b>	viral-cyklin	virový cyklin
<b>vFLIP</b>	viral FLIP	virový FLIP
<b>vGPCR</b>	viral G-protein-coupled receptor	virový s G-proteinem spojený receptor
<b>vIRF</b>	viral interferon response factors	virové faktory reagující na interferon
<b>VP</b>	viral protein	virový protein
<b>VZV</b>	varicella zoster virus	varicella zoster virus
<b>XBP-1</b>	X-box binding protein 1	X-box vazebný protein
<b>XRN1</b>	5'-3' exoribonuclease 1	5'-3' exoribonukleáza 1

## 7 Seznam použité literatury

- Adya, N., & Giam, C. Z. (1995). Distinct regions in human T-cell lymphotropic virus type I tax mediate interactions with activator protein CREB and basal transcription factors. *Journal of Virology*, 69(3), 1834–1841.
- Akagi, K., Li, J., Broutian, T. R., Padilla-Nash, H., Xiao, W., Jiang, B., ... Gillison, M. L. (2014). Genome-wide analysis of HPV integration in human cancers reveals recurrent, focal genomic instability. *Genome Research*, 24(2), 185–199.
- Akusjärvi, G., Mathews, M. B., Anderson, P., Venntrom, B., & Pettersson, U. (1980). Structure of genes for virus-associated RNAI and RNAII of adenovirus type-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77(5), 2424–2428.
- Aparicio, O., Razquin, N., & Zaratiegui, M. (2006). Adenovirus virus-associated RNA is processed to functional interfering RNAs involved in virus production. *Journal of Virology*, 80(3), 1376–1384.
- Arvanitakis, L., Geras-Raaka, E., Varma, A., Gershengorn, M. C., & Cesarman, E. (1997). Human herpesvirus KSHV encodes a constitutively active G-protein-coupled receptor linked to cell proliferation. *Nature*.
- Bais, C., Santomaso, B., Coso, O., Raaka, E. G., Gutkind, J. S., Asch, A. S., ... Henderson, C. E. (1998). G-protein-coupled receptor of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus is a viral oncogene and angiogenesis activator. *Nature*, 392(March), 0–3.
- Banaudha, K., Kaliszewski, M., Korolnek, T., Florea, L., Yeung, M. L., Jeang, K. T., & Kumar, A. (2011). MicroRNA silencing of tumor suppressor DLC-1 promotes efficient hepatitis C virus replication in primary human hepatocytes. *Hepatology*, 53(1), 53–61.
- \*Bartel, D. P. (2009). MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions. *Cell*, 136(2), 215–233.
- Barth, S., Pfuhl, T., Mamiani, A., Ehses, C., Roemer, K., Kremmer, E., ... Grässer, F. A. (2008). Epstein-Barr virus-encoded microRNA miR-BART2 down-regulates the viral DNA polymerase BALF5. *Nucleic Acids Research*, 36(2), 666–675.
- Basbous, J., Arpin, C., Gaudray, G., Piechaczyk, M., Devaux, C., & Mesnard, J. M. (2003). The HBZ Factor of Human T-cell Leukemia Virus Type I Dimerizes with Transcription Factors JunB and c-Jun and Modulates Their Transcriptional Activity. *Journal of Biological Chemistry*, 278(44), 43620–43627.
- Bauman, Y., Nachmani, D., Vitenshtein, A., Tsukerman, P., Drayman, N., Stern-Ginossar, N., ... Mandelboim, O. (2011). An identical miRNA of the human JC and BK polyoma viruses targets the stress-induced ligand ULBP3 to escape immune elimination. *Cell Host and Microbe*, 9(2), 93–102.
- Bellare, P., & Ganem, D. (2009). Regulation of KSHV Lytic Switch Protein Expression by a Virus-Encoded MicroRNA: An Evolutionary Adaptation that Fine-Tunes Lytic Reactivation. *Cell Host and Microbe*, 6(6), 570–575.
- Benn, J., & Schneider, R. J. (1994). Hepatitis B virus HBx protein activates Ras-GTP complex formation and establishes a Ras, Raf, MAP kinase signaling cascade. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(22), 10350–4.
- Blenkiron, C., Goldstein, L. D., Thorne, N. P., Spiteri, I., Chin, S.-F., Dunning, M. J., ... Miska, E. a. (2007). MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumor subtype. *Genome Biol.*, 8(10), R214.
- Boeri, M., Verri, C., Conte, D., Roz, L., Modena, P., Facchinetti, F., ... Sozzi, G. (2011). MicroRNA signatures in tissues and plasma predict development and prognosis of computed tomography detected lung cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(9), 3713–8.
- Borchert, G. M., Lanier, W., & Davidson, B. L. (2006). RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nature Structural & Molecular Biology*, 13(12), 1097–1101.
- Bouvard, V., Baan, R. a, Grosse, Y., Lauby-Secretan, B., El Ghissassi, F., Benbrahim-Tallaa, L., ... Straif, K. (2012). Carcinogenicity of malaria and of some polyomaviruses. *The Lancet Oncology*, 13(4), 339–340.
- \*Bouvard, V., Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., El Ghissassi, F., ... Ghissassi, F. El. (2009). A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncology*, 10, 321–322.
- Cai, X., Li, G., Laimins, L. A., & Cullen, B. R. (2006). Human Papillomavirus Genotype 31 Does Not Express Detectable MicroRNA Levels during Latent or Productive Virus Replication. *Journal of Virology*, 80(21), 10890–10893.

\* sekundární citace

- Calaluce, R., Bearss, D. J., Barrera, J., Zhao, Y., Han, H., Beck, S. K., ... Nagle, R. B. (2004). Laminin-5 beta3A expression in LNCaP human prostate carcinoma cells increases cell migration and tumorigenicity. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 6(5), 468–79.
- Cameron, J. E., Yin, Q., Fewell, C., Lacey, M., McBride, J., Wang, X., ... Flemington, E. K. (2008). Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces cellular MicroRNA miR-146a, a modulator of lymphocyte signaling pathways. *Journal of Virology*, 82(4), 1946–58.
- Canitano, A., Venturi, G., Borghi, M., Ammendolia, M. G., & Fais, S. (2013). Exosomes released in vitro from Epstein-Barr virus (EBV)-infected cells contain EBV-encoded latent phase mRNAs. *Cancer Letters*, 337(2), 193–199.
- Cesarman, E., Nador, R. G., Bai, F., Bohenzky, R. a, Russo, J. J., Moore, P. S., ... Knowles, D. M. (1996). Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus contains G protein-coupled receptor and cyclin D homologs which are expressed in Kaposi's sarcoma and malignant lymphoma. *Journal of Virology*, 70(11), 8218–8223.
- Cifuentes, D., Xue, H., Taylor, D. W., Patnode, H., Mishima, Y., Cheloufi, S., ... Giraldez, A. J. (2010). A Novel miRNA Processing Pathway Independent of Dicer Requires Argonaute2 Catalytic Activity. *Science*, 328(5986), 1694–1698.
- Cougot, D., Wu, Y., Cairo, S., Caramel, J., Renard, C. A., Lévy, L., ... Neuveut, C. (2007). The hepatitis B virus X protein functionally interacts with CREB-binding protein/p300 in the regulation of CREB-mediated transcription. *Journal of Biological Chemistry*, 282(7), 4277–4287.
- Croft, N. P., Shannon-Lowe, C., Bell, A. I., Horst, D., Kremmer, E., Rensing, M. E., ... Hislop, A. D. (2009). Stage-specific inhibition of MHC class I presentation by the epstein-barr virus BNLF2a protein during virus lytic cycle. *PLoS Pathogens*, 5(6).
- Dajee, M., Lazarov, M., Zhang, J. Y., Cai, T., Green, C. L., Russell, A. J., ... Khavari, P. a. (2003). NF-kappaB blockade and oncogenic Ras trigger invasive human epidermal neoplasia. *Nature*, 421(6923), 639–643.
- Du, Z. M., Hu, L. F., Wang, H. Y., Yan, L. X., Zeng, Y. X., Shao, J. Y., & Ernberg, I. (2011). Upregulation of miR-155 in nasopharyngeal carcinoma is partly driven by LMP1 and LMP2A and downregulates a negative prognostic marker JMJD1A. *PLoS ONE*, 6(4).
- Duensing, S., Duensing, A., Crum, C. P., & Münger, K. (2001). Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein-induced abnormal centrosome synthesis is an early event in the evolving malignant phenotype. *Cancer Research*, 61(6), 2356–2360.
- Ebert, M. S., Neilson, J. R., & Sharp, P. a. (2007). MicroRNA sponges: competitive inhibitors of small RNAs in mammalian cells. *Nature Methods*, 4(9), 721–726.
- Emerson, L. L., Carney, H. M., Layfield, L. J., & Sherbotie, J. R. (2008). Collecting duct carcinoma arising in association with bk nephropathy post-transplantation in a pediatric patient. a case report with immunohistochemical and in situ hybridization study. *Pediatric Transplantation*, 12(5), 600–605.
- Fabian, M. R., Mathonnet, G., Sundermeier, T., Mathys, H., Zipprich, J. T., Svitkin, Y. V., ... Sonenberg, N. (2009). Mammalian miRNA RISC Recruits CAF1 and PABP to Affect PABP-Dependent Deadenylation. *Molecular Cell*, 35(6), 868–880.
- Feng, H., Shuda, M., Chang, Y., & Moore, P. S. (2008). Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science (New York, N.Y.)*, 319(5866), 1096–100.
- Ferber, M. J., Montoya, D. P., Yu, C., Aderca, I., McGee, a, Thorland, E. C., ... Roberts, L. R. (2003). Integrations of the hepatitis B virus (HBV) and human papillomavirus (HPV) into the human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene in liver and cervical cancers. *Oncogene*, 22(24), 3813–3820.
- Forero, A., Moore, P. S., & Sarkar, S. N. (2013). Role of IRF4 in IFN-stimulated gene induction and maintenance of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus latency in primary effusion lymphoma cells. *J Immunol*, 191(3), 1476–1485.
- Fornari, F., Gramantieri, L., Ferracin, M., Veronese, A., Sabbioni, S., Calin, G. A., ... Negrini, M. (2008). MiR-221 controls CDKN1C/p57 and CDKN1B/p27 expression in human hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 27(43), 5651–5661.
- Forte, E., Salinas, R. E., Chang, C., Zhou, T., Linnstaedt, S. D., Gottwein, E., ... Luftig, M. A. (2012). The Epstein-Barr virus (EBV)-induced tumor suppressor microRNA MiR-34a is growth promoting in EBV-infected B cells. *Journal of Virology*, 86(12), 6889–98.
- Funk, J. O., Waga, S., Harry, J. B., Espling, E., Stillman, B., & Galloway, D. A. (1997). Inhibition of CDK activity and pcna-dependent DNA replication p21 is blocked by interaction with the HPV-16 E7 oncoprotein. *Genes and Development*, 11(16), 2090–2100.

\* sekundární citace

- Gaudray, G., Gachon, F., Basbous, J., Biard-Piechaczyk, M., Devaux, C., & Mesnard, J.-M. (2002). The complementary strand of the human T-cell leukemia virus type 1 RNA genome encodes a bZIP transcription factor that down-regulates viral transcription. *Journal of Virology*, *76*(24), 12813–22.
- \*Geary, R. S. (2009). Antisense oligonucleotide pharmacokinetics and metabolism. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, *5*, 381–391.
- Geetha, D., Tong, B. C., Racusen, L., Markowitz, J. S., & Westra, W. H. (2002). Bladder carcinoma in a transplant recipient: evidence to implicate the BK human polyomavirus as a causal transforming agent. *Transplantation*, *73*(12), 1933–6.
- Gires, O., Zimmer-strobl, U., Gonnella, R., Ueffing, M., Marschall, G., Zeidler, R., ... Hammerschmidt, W. (1997). Latent membrane protein 1 of Epstein – Barr virus mimics a constitutively active receptor molecule, *16*(20), 6131–6140.
- Godden-Kent, D., Talbot, S. J., Boshoff, C., Chang, Y., Moore, P., Weiss, R. a, & Mittnacht, S. (1997). The cyclin encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus stimulates cdk6 to phosphorylate the retinoblastoma protein and histone H1. *Journal of Virology*, *71*(6), 4193–4198.
- Gottwein, E., & Cullen, B. R. (2010). A human herpesvirus microRNA inhibits p21 expression and attenuates p21-mediated cell cycle arrest. *Journal of Virology*, *84*(10), 5229–5237.
- Grassmann, R., Berchtold, S., Radant, I., Alt, M., Fleckenstein, B., Sodroski, J. G., ... Ramstedt, U. (1992). Role of human T-cell leukemia virus type 1 X region proteins in immortalization of primary human lymphocytes in culture. *Journal of Virology*, *66*(7), 4570–4575.
- Gregory, R. I., Chendrimada, T. P., Cooch, N., & Shiekhattar, R. (2005). Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell*, *123*(4), 631–640.
- Grey, F., Tirabassi, R., Meyers, H., Wu, G., McWeeney, S., Hook, L., & Nelson, J. A. (2010). A viral microRNA down-regulates multiple cell cycle genes through mRNA 5'UTRs. *PLoS Pathogens*, *6*(6).
- Gumireddy, K., Young, D. D., Xiong, X., Hogenesch, J. B., Huang, Q., & Deiters, A. (2008). Small-molecule inhibitors of microRNA miR-21 function. *Angewandte Chemie - International Edition*, *47*(39), 7482–7484.
- Han, J., Lee, Y., Yeom, K. H., Kim, Y. K., Jin, H., & Kim, V. N. (2004). The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes and Development*, *18*(24), 3016–3027.
- Harris, K. F., Christensen, J. B., Radany, E. H., & Imperiale, M. J. (1998). Novel mechanisms of E2F induction by BK virus large-T antigen: requirement of both the pRb-binding and the J domains. *Molecular and Cellular Biology*, *18*(3), 1746–56.
- Herber, R., Liem, A., Pitot, H., & Lambert, P. F. (1996). Squamous epithelial hyperplasia and carcinoma in mice transgenic for the human papillomavirus type 16 E7 oncogene. *Journal of Virology*, *70*(3), 1873–81.
- Hildt, E., Munz, B., Saher, G., Reifenberg, K., & Hofschneider, P. H. (2002). The PreS2 activator MHBs t of hepatitis B virus activates c-raf-1 / Erk2 signaling in transgenic mice, *21*(4), 525–535.
- Hoffman, Y., Dahary, D., Bublik, D. R., Oren, M., & Pilpel, Y. (2013). The majority of endogenous microRNA targets within Alu elements avoid the microRNA machinery. *Bioinformatics*, *29*(7), 894–902.
- Hsieh, Y. H., Su, I.-J., Wang, H.-C., Tsai, J.-H., Huang, Y. J., Chang, W. W., ... Huang, W. (2007). Hepatitis B virus pre-S2 mutant surface antigen induces degradation of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 through c-Jun activation domain-binding protein 1. *Molecular Cancer Research : MCR*, *5*(10), 1063–72.
- Chaudhary, P. M., Jasmin, a, Eby, M. T., & Hood, L. (1999). Modulation of the NF-kappa B pathway by virally encoded death effector domains-containing proteins. *Oncogene*, *18*(42), 5738–46.
- \*Chawla, J. P. S., Iyer, N., Soodan, K. S., Sharma, A., Khurana, S. K., & Priyadarshni, P. (2015). Role of miRNA in cancer diagnosis, prognosis, therapy and regulation of its expression by Epstein-Barr virus and human papillomaviruses: With special reference to oral cancer. *Oral Oncology*, *51*(8), 731–737.
- Chekulaeva, M., Filipowicz, W., & Parker, R. (2009). Multiple independent domains of dGW182 function in miRNA-mediated repression in Drosophila. *TL - 15. RNA (New York, N.Y.)*, *15* VN - r(5), 794–803.
- Chellappan, S., Kraus, V. B., Kroger, B., Munger, K., Howley, P. M., Phelps, W. C., & Nevins, J. R. (1992). Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between transcription factor E2F and the retinoblastoma gene product. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *89*(10), 4549–53.
- Chendrimada, T. P., Finn, K. J., Ji, X., Baillat, D., Gregory, R. I., Liebhaber, S. a, ... Shiekhattar, R. (2007). MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6. *Nature*, *447*(7146), 823–828.

\* sekundární citace



- Cheung, J. L. K., Cheung, T. H., Yu, M. Y., & Chan, P. K. S. (2013). Virological characteristics of cervical cancers carrying pure episomal form of HPV16 genome. *Gynecologic Oncology*, *131*(2), 374–379.
- Choy, E. Y.-W., Siu, K.-L., Kok, K.-H., Lung, R. W.-M., Tsang, C. M., To, K.-F., ... Jin, D.-Y. (2008). An Epstein-Barr virus-encoded microRNA targets PUMA to promote host cell survival. *The Journal of Experimental Medicine*, *205*(11), 2551–60.
- Iizasa, H., Wulff, B. E., Alla, N. R., Maragkakis, M., Megraw, M., Hatzigeorgiou, A., ... Nishikura, K. (2010). Editing of Epstein-Barr virus-encoded BART6 microRNAs controls their dicer targeting and consequently affects viral latency. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(43), 33358–33370.
- Janssen, H. L., Reesink, H. W., Lawitz, E. J., Zeuzem, S., Rodriguez-Torres, M., Patel, K., ... Hodges, M. R. (2013). Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med*, *368*(18), 1685–1694.
- Jeon, S., Allen-Hoffmann, B. L., & Lambert, P. F. (1995). Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. *Journal of Virology*, *69*(5), 2989–97.
- Jopling, C. L., Yi, M., Lancaster, A. M., Lemon, S. M., & Sarnow, P. (2005). Modulation of Hepatitis C Virus RNA Abundance by a Liver-Specific MicroRNA. *Science*, *1*(2005), 1577–1581.
- Jurk, M., Chikh, G., Schulte, B., Kritzler, A., Richardt-Pargmann, D., Lampron, C., ... Vollmer, J. (2011). Immunostimulatory potential of silencing RNAs can be mediated by a non-uridine-rich toll-like receptor 7 motif. *Nucleic Acid Therapeutics*, *21*(3), 201–14.
- Kaul, D., Ahlawat, A., & Gupta, S. D. (2009). HIV-1 genome-encoded hiv1-mir-H1 impairs cellular responses to infection. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *323*(1-2), 143–148.
- Kausman, J. Y., Somers, G. R., Francis, D. M., & Jones, C. L. (2004). Association of renal adenocarcinoma and BK virus nephropathy post transplantation. *Pediatric Nephrology*, *19*(4), 459–462.
- Kedersha, N., Stoecklin, G., Ayodele, M., Yacono, P., Lykke-Andersen, J., Fitzler, M. J., ... Anderson, P. (2005). Stress granules and processing bodies are dynamically linked sites of mRNP remodeling. *Journal of Cell Biology*, *169*(6), 871–884.
- Kim, Y., Lee, S., Kim, S., Kim, D., Ahn, J. H., & Ahn, K. (2012). Human cytomegalovirus clinical strain-specific microRNA miR-UL148D targets the human chemokine RANTES during infection. *PLoS Pathogens*, *8*(3).
- Kincaid, R. P., Burke, J. M., & Sullivan, C. S. (2012). RNA virus microRNA that mimics a B-cell oncomiR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(8), 3077–82.
- Klase, Z., Kale, P., Winograd, R., Gupta, M. V., Heydarian, M., Berro, R., ... Kashanchi, F. (2007). HIV-1 TAR element is processed by Dicer to yield a viral micro-RNA involved in chromatin remodeling of the viral LTR. *BMC Molecular Biology*, *8*, 63.
- Kloosterman, W. P., Lagendijk, A. K., Ketting, R. F., Moulton, J. D., & Plasterk, R. H. A. (2007). Targeted inhibition of miRNA maturation with morpholinos reveals a role for miR-375 in pancreatic islet development. *PLoS Biology*, *5*(8), 1738–1749.
- Korenaga, M., Wang, T., Li, Y., Showalter, L. A., Chan, T., Sun, J., & Weinman, S. A. (2005). Hepatitis C virus core protein inhibits mitochondrial electron transport and increases reactive oxygen species (ROS) production. *Journal of Biological Chemistry*, *280*(45), 37481–37488.
- Lagos, D., Trotter, M. W. B., Vart, R. J., Wang, H., Matthews, N. C., Hansen, A., ... Boshoff, C. (2007). Kaposi sarcoma herpesvirus – encoded vFLIP and vIRF1 regulate antigen presentation in lymphatic endothelial cells. *Blood*, *109*(4), 1550–1558.
- Lajer, C. B., Garnæs, E., Friis-Hansen, L., Norrild, B., Therkildsen, M. H., Glud, M., ... Nielsen, F. C. (2012). The role of miRNAs in human papilloma virus (HPV)-associated cancers: bridging between HPV-related head and neck cancer and cervical cancer. *British Journal of Cancer*, *106*(9), 1526–34.
- Lawrie, C. H., Gal, S., Dunlop, H. M., Pushkaran, B., Liggins, A. P., Pulford, K., ... Harris, A. L. (2008). Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *British Journal of Haematology*, *141*(5), 672–675.
- Lee, R. C., Feinbaum, R. L., & Ambros, V. (1993). The *C. elegans* Heterochronic Gene *lin-4* Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-14*. *Cell*, *75*, 843–854.
- Lee, Y., Jeon, K., Lee, J. T., Kim, S., & Kim, V. N. (2002). MicroRNA maturation: Stepwise processing and subcellular localization. *EMBO Journal*.
- Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K.-H., Lee, S., Baek, S. H., & Kim, V. N. (2004). MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *The EMBO Journal*, *23*.

\* sekundární citace

- Lei, T., Yuen, K. S., Xu, R., Tsao, S. W., Chen, H., Li, M., ... Jin, D. Y. (2013). Targeting of DICE1 tumor suppressor by Epstein-Barr virus-encoded miR-BART3\* microRNA in nasopharyngeal carcinoma. *International Journal of Cancer*, *133*(1), 79–87.
- Lennox, K. A., & Behlke, M. A. (2010). A direct comparison of anti-microRNA oligonucleotide potency. *Pharmaceutical Research*, *27*(9), 1788–1799.
- Leucci, E., Onnis, A., Cocco, M., De Falco, G., Imperatore, F., Giuseppina, A., ... Leoncini, L. (2010). B-cell differentiation in EBV-positive Burkitt lymphoma is impaired at posttranscriptional level by miRNA-altered expression. *International Journal of Cancer*, *126*(6), 1316–1326.
- Levitskaya, J., Coram, M., Levitsky, V., Imreh, S., Steigerwald-Mullen, P. M., Klein, G., ... Masucci, M. G. (1995). Inhibition of antigen processing by the internal repeat region of the Epstein-Barr virus nuclear antigen-1. *Nature*.
- Lewis, B. P., Burge, C. B., & Bartel, D. P. (2005). Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, *120*(1), 15–20.
- Li, L., Feng, H., Da, Q., Jiang, H., Chen, L., Xie, L., ... Feng, Y. (2016). Expression of HIV-encoded microRNA-TAR and its inhibitory effect on viral replication in human primary macrophages. *Archives of Virology*, *161*(5), 1115–1123.
- \*Li, Z., & Rana, T. M. (2014). Therapeutic targeting of microRNAs: current status and future challenges. *Nature Reviews Drug Discovery*, *13*(8), 622–638.
- Lin, J., & Cullen, B. R. (2007). Analysis of the interaction of primate retroviruses with the human RNA interference machinery. *Journal of Virology*, *81*(22), 12218–12226.
- Lin, X., Liang, D., He, Z., Deng, Q., Robertson, E. S., & Lan, K. (2011). miR-K12-7-5p encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus stabilizes the latent state by targeting viral ORF50/RTA. *PLoS ONE*, *6*(1), 1–10.
- Lin, Z., Swan, K., Zhang, X., Cao, S., Brett, Z., Drury, S., ... Flemington, E. K. (2016). Secreted oral epithelial cell membrane vesicles induce Epstein-Barr virus (EBV) reactivation in latently infected B-cells. *Journal of Virology*, *90*(7), JVI.02830–15.
- Linnstaedt, S. D., Gottwein, E., Skalsky, R. L., Luftig, M. a., & Cullen, B. R. (2010). Virally induced cellular microRNA miR-155 plays a key role in B-cell immortalization by Epstein-Barr virus. *Journal of Virology*, *84*(22), 11670–11678.
- Liu, N., Jiao, T., Huang, Y., Liu, W., Li, Z., & Ye, X. (2015). Hepatitis B virus regulates apoptosis and tumorigenesis through the microRNA-15a-Smad7-transforming growth factor beta pathway. *Journal of Virology*, *89*(5), 2739–2749.
- Liu, N., Zhang, J., Jiao, T., Li, Z., Peng, J., Cui, Z., & Ye, X. (2013). Hepatitis B virus inhibits apoptosis of hepatoma cells by sponging the MicroRNA 15a/16 cluster. *J Virol*, *87*(24), 13370–13378.
- Liu, W., Gao, G., Hu, X., Wang, Y., Schwarz, J. K., Chen, J. J., ... Wang, X. (2014). Activation of miR-9 by human papillomavirus in cervical cancer. *Oncotarget*, *5*(22), 11620–30.
- Lo, A. K. F., To, K. F., Lo, K. W., Lung, R. W. M., Hui, J. W. Y., Liao, G., & Hayward, S. D. (2007). Modulation of LMP1 protein expression by EBV-encoded microRNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(41), 16164–9.
- Longnecker, R., Druker, B., Roberts, T. M., & Kieff, E. (1991). An Epstein-Barr virus protein associated with cell growth transformation interacts with a tyrosine kinase. *J Virol*, *65*(7), 3681–3692.
- Lu, F., Weidmer, A., Liu, C.-G., Volinia, S., Croce, C. M., & Lieberman, P. M. (2008). Epstein-Barr Virus-Induced miR-155 Attenuates NF- B Signaling and Stabilizes Latent Virus Persistence. *Journal of Virology*, *82*(21), 10436–10443.
- Lu, J., Getz, G., Miska, E. A., Saavedra, E. A., Lamb, J., Peck, D., ... Golub, T. R. (2005). MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*, *435*(June), 834–838.
- Lu, J. J., Chen, J. Y., Hsu, T. Y., Yu, W. C., Su, I. J., & Yang, C. S. (1996). Induction of apoptosis in epithelial cells by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1. *J Gen Virol*, *77* ( Pt 8), 1883–1892.
- Lu, S., & Cullen, B. R. (2004). Adenovirus VA1 Noncoding RNA Can Inhibit Small Interfering RNA and MicroRNA Biogenesis Adenovirus VA1 Noncoding RNA Can Inhibit Small Interfering RNA and MicroRNA Biogenesis. *Journal of Virology*, *78*(23), 12868–12876.
- Lubyova, B., Kellum, M. J., Frisancho, J. A., & Pitha, P. M. (2007). Stimulation of c-Myc transcriptional activity by vIRF-3 of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus. *Journal of Biological Chemistry*, *282*(44), 31944–31953.
- Lung, R. W.-M., Tong, J. H.-M., Sung, Y.-M., Leung, P.-S., Ng, D. C.-H., Chau, S.-L., ... To, K.-F. (2009). Modulation of LMP2A expression by a newly identified Epstein-Barr virus-encoded microRNA miR-BART22. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, *11*(11), 1174–1184.

\* sekundární citace

- Martinez, I., Gardiner, A. S., Board, K. F., Monzon, F. A., Edwards, R. P., & Khan, S. A. (2008). Human papillomavirus type 16 reduces the expression of microRNA-218 in cervical carcinoma cells. *Oncogene*, *27*(18), 2575–82.
- Mathonnet, G., Fabian, M. R., Svitkin, Y. V., Parsyan, A., Huck, L., Murata, T., ... Sonenberg, N. (2007). MicroRNA inhibition of translation initiation in vitro by targeting the cap-binding complex eIF4F. *Science (New York, N.Y.)*, *317*(5845), 1764–1767.
- Meckes, D. G., Shair, K. H. Y., Marquitz, A. R., Kung, C.-P., Edwards, R. H., & Raab-Traub, N. (2010). Human tumor virus utilizes exosomes for intercellular communication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(47), 20370–5.
- Medina, P. P., Nolde, M., & Slack, F. J. (2010). OncomiR addiction in an in vivo model of microRNA-21-induced pre-B-cell lymphoma. *Nature*, *467*(7311), 86–90.
- Melar-New, M., & Laimins, L. A. (2010). Human papillomaviruses modulate expression of microRNA 203 upon epithelial differentiation to control levels of p63 proteins. *Journal of Virology*, *84*(10), 5212–21.
- Mellin, H., Dahlgren, L., Munck-Wikland, E., Lindholm, J., Rabbani, H., Kalantari, M., & Dalianis, T. (2002). Human papillomavirus type 16 is episomal and a high viral load may be correlated to better prognosis in tonsillar cancer. *International Journal of Cancer*, *102*(2), 152–158.
- Meng, F., Henson, R., Wehbe-Janek, H., Ghoshal, K., Jacob, S. T., & Patel, T. (2007). MicroRNA-21 Regulates Expression of the PTEN Tumor Suppressor Gene in Human Hepatocellular Cancer. *Gastroenterology*, *133*(2), 647–658.
- Mocikat, R., Braumüller, H., Gumy, A., Egeter, O., Ziegler, H., Reusch, U., ... Röcken, M. (2003). Natural killer cells activated by MHC class II targets prime dendritic cells to induce protective CD8 T cell responses. *Immunity*, *19*(4), 561–569.
- Moles, R., Bellon, M., & Nicot, C. (2015). STAT1: A novel target of miR-150 and miR-223 is involved in the proliferation of HTLV-I-transformed and ATL cells. *Neoplasia (United States)*, *17*(5), 449–462.
- Motsch, N., Pfuhl, T., Mrazek, J., Barth, S., & Grässer, F. a. (2007). Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 (LMP1) induces the expression of the cellular microRNA miR-146a. *RNA Biology*, *4*(3), 131–137.
- Nachmani, D., Stern-Ginossar, N., Sarid, R., & Mandelboim, O. (2009). Diverse Herpesvirus MicroRNAs Target the Stress-Induced Immune Ligand MICB to Escape Recognition by Natural Killer Cells. *Cell Host and Microbe*, *5*(4), 376–385.
- Nukui, M., Mori, Y., & Murphy, E. A. (2015). A human herpesvirus 6A-encoded microRNA: role in viral lytic replication. *Journal of Virology*, *89*(5), 2615–27.
- O’Connell, R. M., Taganov, K. D., Boldin, M. P., Cheng, G., & Baltimore, D. (2007). MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(5), 1604–9.
- Okamura, K., Hagen, J. W., Duan, H., Tyler, D. M., & Lai, E. C. (2007). The Mirtron Pathway Generates microRNA-Class Regulatory RNAs in Drosophila. *Cell*, *130*(1), 89–100.
- Omoto, S., & Fujii, Y. R. (2005). Regulation of human immunodeficiency virus 1 transcription by nef microRNA. *Journal of General Virology*, *86*(3), 751–755.
- Ørom, U. A., Nielsen, F. C., & Lund, A. H. (2008). MicroRNA-10a Binds the 5’UTR of Ribosomal Protein mRNAs and Enhances Their Translation. *Molecular Cell*, *30*(4), 460–471.
- Park, S. H., Jung, J. K., Lim, J. S., Tiwari, I., & Jang, K. L. (2011). Hepatitis B virus X protein overcomes all-trans retinoic acid-induced cellular senescence by downregulating levels of p16 and p21 via DNA methylation. *Journal of General Virology*, *92*(6), 1309–1317.
- Pedersen, I. M., Cheng, G., Wieland, S., Volinia, S., Croce, C. M., Chisari, F. V., & David, M. (2007). Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism. *Nature*, *449*(7164), 919–22.
- Petersen, C. P., Bordeleau, M. E., Pelletier, J., & Sharp, P. A. (2006). Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells. *Molecular Cell*, *21*(4), 533–542.
- Petti, L., Nilson, L. A., & DiMaio, D. (1991). Activation of the platelet-derived growth factor receptor by the bovine papillomavirus E5 transforming protein. *The EMBO Journal*, *10*(4), 845–55.
- Pfeffer, S. (2004). Identification of Virus-Encoded MicroRNAs. *Science*, *304*(5671), 734–736.
- Pfeffer, S., Sewer, A., Lagos-Quintana, M., Sheridan, R., Sander, C., Grässer, F. a., ... Tuschl, T. (2005). Identification of microRNAs of the herpesvirus family. *Nature Methods*, *2*(4), 269–276.
- Pichler, K., Schneider, G., & Grassmann, R. (2008). MicroRNA miR-146a and further oncogenesis-related cellular microRNAs are dysregulated in HTLV-1-transformed T lymphocytes. *Retrovirology*, *5*, 100.

\* sekundární citace

- Pineau, P., Volinia, S., McJunkin, K., Marchio, A., Battiston, C., Terris, B., ... Dejean, A. (2010). miR-221 overexpression contributes to liver tumorigenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(1), 264–9.
- Portal, D., Zhou, H., Zhao, B., Kharchenko, P. V., Lowry, E., Wong, L., ... Kieff, E. (2013). Epstein-Barr virus nuclear antigen leader protein localizes to promoters and enhancers with cell transcription factors and EBNA2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(46), 18537–42.
- Punj, V., Matta, H., Schamus, S., Tamewitz, A., Anyang, B., & Chaudhary, P. M. (2010). Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded viral FLICE inhibitory protein (vFLIP) K13 suppresses CXCR4 expression by upregulating miR-146a. *Oncogene*, 29(12), 1835–44.
- Rainy, N., Zayoud, M., Kloog, Y., Rechavi, O., Goldstein, I., Rainy, N., ... Goldstein, I. (2016). Viral oncomiR spreading between B and T cells is employed by Kaposi's sarcoma herpesvirus to induce non-cell-autonomous target gene regulation. *Oncotarget*, 5(0).
- Ramakrishnaiah, V., Thumann, C., Fofana, I., Habersetzer, F., Pan, Q., Ruiter, P. E. De, ... Laan, L. J. W. Van Der. (2013). Exosome-mediated transmission of hepatitis C virus between human hepatoma Huh7.5 cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(32), 13109–13113.
- Rayner, K. J., Esau, C. C., Hussain, F. N., McDaniel, A. L., Marshall, S. M., van Gils, J. M., ... Moore, K. J. (2011). Inhibition of miR-33a/b in non-human primates raises plasma HDL and lowers VLDL triglycerides. *Nature*, 478(7369), 404–7.
- Ressing, M. E., Horst, D., Griffin, B. D., Tellam, J., Zuo, J., Khanna, R., ... Wiertz, E. J. H. J. (2008). Epstein-Barr virus evasion of CD8+ and CD4+ T cell immunity via concerted actions of multiple gene products. *Seminars in Cancer Biology*, 18(6), 397–408.
- Riley, K. J., Rabinowitz, G. S., Yario, T. a, Luna, J. M., Darnell, R. B., & Steitz, J. a. (2012). EBV and human microRNAs co-target oncogenic and apoptotic viral and human genes during latency. *The EMBO Journal*, 31(9), 2207–2221.
- Rivas, C., Thlick, A. E., Parravicini, C., Moore, P. S., & Chang, Y. (2001). Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus LANA2 is a B-cell-specific latent viral protein that inhibits p53. *Journal of Virology*, 75(1), 429–38.
- Robbins, H. a, Shiels, M. S., Pfeiffer, R. M., & Engels, E. a. (2014). Epidemiologic contributions to recent cancer trends among HIV-infected people in the United States. *AIDS (London, England)*, 28(6), 881–90.
- Robertson, E. S., Lin, J., & Kieff, E. (1996). The amino-terminal domains of Epstein-Barr virus nuclear proteins 3A, 3B, and 3C interact with RBPJ kappa. *Journal of Virology*, 70(5), 3068–74.
- Rodrigues, M. L., Nimrichter, L., Oliveira, D. L., Nosanchuk, J. D., & Casadevall, A. (2008). Vesicular trans-cell wall Transport in fungi: A mechanism for the delivery of virulence-associated macromolecules? *Lipid Insights*, 2 1(6), 27–40.
- Rodriguez, A., Griffiths-Jones, S., Ashurst, J. L., & Bradley, A. (2004). Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Research*, 14(10 A), 1902–1910.
- Rosato, P., Anastasiadou, E., Garg, N., Lenze, D., Boccellato, F., Vincenti, S., ... Trivedi, P. (2012). Differential regulation of miR-21 and miR-146a by Epstein-Barr virus-encoded EBNA2. *Leukemia*, 26(11), 2343–2352.
- Rosenfeld, N., Aharonov, R., Meiri, E., Rosenwald, S., Spector, Y., Zepeniuk, M., ... Barshack, I. (2008). MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nature Biotechnology*, 26(4), 462–469.
- Rouha, H., Thurner, C., & Mandl, C. W. (2010). Functional microRNA generated from a cytoplasmic RNA virus. *Nucleic Acids Research*, 38(22), 8328–8337.
- Ruiz, A. J., & Russell, S. J. (2015). MicroRNAs and oncolytic viruses. *Current Opinion in Virology*, 13(Table 1), 40–48.
- Samols, M. A., Skalsky, R. L., Maldonado, A. M., Riva, A., Lopez, M. C., Baker, H. V., & Renne, R. (2007). Identification of cellular genes targeted by KSHV-encoded microRNAs. *PLoS Pathogens*, 3(5), 0611–0618.
- Satou, Y., Yasunaga, J., Yoshida, M., & Matsuoka, M. (2006). HTLV-I basic leucine zipper factor gene mRNA supports proliferation of adult T cell leukemia cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(3), 720–5.
- Seo, G. J., Fink, L. H. L., O'Hara, B., Atwood, W. J., & Sullivan, C. S. (2008). Evolutionarily conserved function of a viral microRNA. *Journal of Virology*, 82(20), 9823–8.
- Seo, G. J., Chen, C. J., & Sullivan, C. S. (2009). Merkel cell polyomavirus encodes a microRNA with the ability to autoregulate viral gene expression. *Virology*, 383(2), 183–187.

\* sekundární citace

- Shuda, M., Feng, H., Kwun, H. J., Rosen, S. T., Gjoerup, O., Moore, P. S., & Chang, Y. (2008). T antigen mutations are a human tumor-specific signature for Merkel cell polyomavirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(42), 16272–7.
- Scheffner, M., Werness, B. A., Huibregtse, J. M., Levine, A. J., & Howley, P. M. (1990). The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*, *63*(6), 1129–1136.
- Schmidt, K., Wies, E., & Neipel, F. (2011). Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus viral interferon regulatory factor 3 inhibits gamma interferon and major histocompatibility complex class II expression. *Journal of Virology*, *85*(9), 4530–7.
- Sivachandran, N., Sarkari, F., & Frappier, L. (2008). Epstein-Barr nuclear antigen 1 contributes to nasopharyngeal carcinoma through disruption of PML nuclear bodies. *PLoS Pathogens*, *4*(10).
- Sivachandran, N., Wang, X., & Frappier, L. (2012). Functions of the Epstein-Barr Virus EBNA1 Protein in Viral Reactivation and Lytic Infection. *Journal of Virology*, *86*(11), 6146–6158.
- Skalsky, R. L., Samols, M. a, Plaisance, K. B., Boss, I. W., Riva, A., Lopez, M. C., ... Renne, R. (2007). Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus encodes an ortholog of miR-155. *Journal of Virology*, *81*(23), 12836–12845.
- Song, S. Y., Pitot, H. C., & Lambert, P. F. (1999). The human papillomavirus type 16 E6 gene alone is sufficient to induce carcinomas in transgenic animals. *J Virol*, *73*(7), 5887–5893.
- \*Soni, V., Cahir-McFarland, E., & Kieff, E. (2007). LMP1 TRAFFICKING activates growth and survival pathways. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *597*, 173–187.
- Stern-Ginossar, N., Elefant, N., Zimmermann, A., Wolf, D. G., Saleh, N., Biton, M., ... Mandelboim, O. (2007). Host immune system gene targeting by a viral miRNA. *Science (New York, N.Y.)*, *317*(5836), 376–381.
- Stern-Ginossar, N., Saleh, N., Goldberg, M. D., Prichard, M., Wolf, D. G., & Mandelboim, O. (2009). Analysis of human cytomegalovirus-encoded microRNA activity during infection. *Journal of Virology*, *83*(20), 10684–10693.
- Stolt, A., Sasnauskas, K., Koskela, P., Lehtinen, M., & Dillner, J. (2003). Seroepidemiology of the human polyomaviruses. *Journal of General Virology*, *84*(6), 1499–1504.
- Su, C., Hou, Z., Zhang, C., Tian, Z., & Zhang, J. (2011). Ectopic expression of microRNA-155 enhances innate antiviral immunity against HBV infection in human hepatoma cells. *Virology Journal*, *8*, 354.
- Suffert, G., Malterer, G., Hausser, J., Viiliinen, J., Fender, A., Contrant, M., ... Pfeffer, S. (2011). Kaposi's sarcoma herpesvirus microRNAs target caspase 3 and regulate apoptosis. *PLoS Pathogens*, *7*(12).
- 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*(7042), 682–6.
- Sun, G., Yan, J., Noltner, K., Feng, J., Li, H., Sarkis, D. A., ... Rossi, J. J. (2009). SNPs in human miRNA genes affect biogenesis and function. *RNA (New York, N.Y.)*, *15*(9), 1640–51.
- Sung, W.-K., Zheng, H., Li, S., Chen, R., Liu, X., Li, Y., ... Luk, J. M. (2012). Genome-wide survey of recurrent HBV integration in hepatocellular carcinoma. *Nature Genetics*, *44*(7), 765–9.
- Swanton, C., Mann, D. J., Fleckenstein, B., Neipel, F., Peters, G., & Jones, N. (1997). Herpes viral cyclin/Cdk6 complexes evade inhibition by CDK inhibitor proteins. *Nature*, *390*(6656), 184–7.
- Taganov, K. D., Boldin, M. P., Chang, K.-J., & Baltimore, D. (2006). NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(33), 12481–6.
- Tang, S., Bertke, A. S., Patel, A., Margolis, T. P., & Krause, P. R. (2011). Herpes simplex virus 2 microRNA miR-H6 is a novel latency-associated transcript-associated microRNA, but reduction of its expression does not influence the establishment of viral latency or the recurrence phenotype. *Journal of Virology*, *85*(9), 4501–4509.
- Tang, S., Patel, A., & Krause, P. R. (2009). Novel less-abundant viral microRNAs encoded by herpes simplex virus 2 latency-associated transcript and their roles in regulating ICP34.5 and ICP0 mRNAs. *Journal of Virology*, *83*(3), 1433–1442.
- Tsai, Y.-H., Wu, M.-F., Wu, Y.-H., Chang, S.-J., Lin, S.-F., Sharp, T. V., & Wang, H.-W. (2009). The M type K15 protein of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus regulates microRNA expression via its SH2-binding motif to induce cell migration and invasion. *Journal of Virology*, *83*(2), 622–32.
- Tsutsumi, T., Matsuda, M., Aizaki, H., Moriya, K., Miyoshi, H., Fujie, H., ... Koike, K. (2009). Proteomics analysis of mitochondrial proteins reveals overexpression of a mitochondrial protein chaperon, prohibitin, in cells expressing hepatitis C virus core protein. *Hepatology*, *50*(2), 378–386.

\* sekundární citace

- Tsutsumi, T., Suzuki, T., Moriya, K., Shintani, Y., Fujie, H., Miyoshi, H., ... Miyamura, T. (2003). Hepatitis C virus core protein activates ERK and p38 MAPK in cooperation with ethanol in transgenic mice. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 38(4), 820–8.
- Tsutsumi, T., Suzuki, T., Moriya, K., Yotsuyanagi, H., Shintani, Y., Fujie, H., ... Miyamura, T. (2002). Alteration of Intrahepatic Cytokine Expression and AP-1 Activation in Transgenic Mice Expressing Hepatitis C Virus Core Protein. *Virology*, 304(2), 415–424.
- Tuddenham, L., Jung, J. S., Chane-Woon-Ming, B., Dölken, L., & Pfeffer, S. (2012). Small RNA deep sequencing identifies microRNAs and other small noncoding RNAs from human herpesvirus 6B. *Journal of Virology*, 86(3)
- Umbach, J. L., Kramer, M. F., Jurak, I., Karnowski, H. W., Coen, D. M., & Cullen, B. R. (2008). MicroRNAs expressed by herpes simplex virus 1 during latent infection regulate viral mRNAs. *Nature*, 454(7205), 780–783.
- Umbach, J. L., Nagel, M. a, Cohrs, R. J., Gilden, D. H., & Cullen, B. R. (2009). Analysis of human alphaherpesvirus microRNA expression in latently infected human trigeminal ganglia. *Journal of Virology*, 83(20), 10677–10683.
- Varadhachary, G. R., Spector, Y., Abbruzzese, J. L., Rosenwald, S., Wang, H., Aharonov, R., ... Raber, M. N. (2011). Prospective gene signature study using microRNA to identify the tissue of origin in patients with carcinoma of unknown primary. *Clinical Cancer Research*, 17(12), 4063–4070.
- Vereide, D. T., Seto, E., Chiu, Y.-F., Hayes, M., Tagawa, T., Grundhoff, A., ... Sugden, B. (2014). Epstein-Barr virus maintains lymphomas via its miRNAs. *Oncogene*, 33(10), 1258–64.
- Vernin, C., Thenoz, M., Pinatel, C., Gessain, A., Gout, O., Delfau-Larue, M. H., ... Mortreux, F. (2014). HTLV-1 bZIP factor HBZ promotes cell proliferation and genetic instability by activating oncomiRs. *Cancer Research*, 74(21), 6082–6093.
- Villarroya-Beltri, C., Gutiérrez-Vázquez, C., Sánchez-Cabo, F., Pérez-Hernández, D., Vázquez, J., Martín-Cofreces, N., ... Sánchez-Madrid, F. (2013). Sumoylated hnRNP A2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs. *Nature Communications*, 4, 2980.
- Vinokurova, S., Wentzensen, N., Kraus, I., Klaes, R., Driesch, C., Melsheimer, P., ... Doeberitz, M. V. K. (2008). Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Research*, 68(1), 307–313.
- Vojtechova, Z., Sabol, I., Salakova, M., Smahelova, J., Zavadil, J., Turek, L., ... Tachezy, R. (2016). Comparison of the miRNA profiles in HPV-positive and HPV-negative tonsillar tumors and a model system of human keratinocyte clones. *BMC Cancer*, 16(1), 382.
- Wahl, A., Linnstaedt, S. D., Esoda, C., Krisko, J. F., Martinez-Torres, F., Delecluse, H.-J., ... Garcia, J. V. (2013). A Cluster of Virus-Encoded MicroRNAs Accelerates Acute Systemic Epstein-Barr Virus Infection but Does Not Significantly Enhance Virus-Induced Oncogenesis In Vivo. *Journal of Virology*, 87(10), 5437–5446.
- Wald, A. I., Hoskins, E. E., Wells, S. I., Ferris, R. L., & Khan, S. A. (2011). Human papillomavirus alters microRNA profiles in squamous cell carcinoma of the head and neck (SCCHN) cell lines. *Head and Neck*, 33(4), 504–512.
- Wang, L. H. C., Huang, W., Lai, M. D., & Su, I. J. (2012). Aberrant cyclin a expression and centrosome overduplication induced by hepatitis B virus pre-S2 mutants and its implication in hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis*, 33(2), 466–472.
- Wang, L., Toomey, N. L., Diaz, L. a, Walker, G., Ramos, J. C., Barber, G. N., & Ning, S. (2011). Oncogenic IRFs provide a survival advantage for Epstein-Barr virus- or human T-cell leukemia virus type 1-transformed cells through induction of BIC expression. *Journal of Virology*, 85(16), 8328–37.
- Wang, X., Tang, S., Le, S. Y., Lu, R., Rader, J. S., Meyers, C., & Zheng, Z. M. (2008). Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth. *PLoS ONE*, 3(7).
- Wang, X. W., Forrester, K., Yeh, H., Feitelson, M. a, Gu, J. R., & Harris, C. C. (1994). Hepatitis B virus X protein inhibits p53 sequence-specific DNA binding, transcriptional activity, and association with transcription factor ERCC3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(6), 2230–2234.
- Wang, X., Wang, H.-K., McCoy, J. P., Banerjee, N. S., Rader, J. S., Broker, T., ... Zheng, Z.-M. (2009). Oncogenic HPV infection interrupts the expression of tumor-suppressive miR-34a through viral oncoprotein E6. *Rna*, 1(15), 637–647.
- Wentz, M. J., Becker, S. A., & Slagle, B. L. (2000). Dissociation of DDB1-binding and transactivation properties of the hepatitis B virus X protein. *Virus Research*, 68(1), 87–92.
- Wies, E., Hahn, A. S., Schmidt, K., Viebahn, C., Rohland, N., Lux, A., ... Neipel, F. (2009). The Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded vIRF-3 inhibits cellular IRF-5. *Journal of Biological Chemistry*, 284(13), 8525–8538.

\* sekundární citace

- Wies, E., Mori, Y., Hahn, A., Kremmer, E., Stürzl, M., Fleckenstein, B., & Neipel, F. (2008). The viral interferon-regulatory factor-3 is required for the survival of KSHV-infected primary effusion lymphoma cells. *Blood*, *111*(1), 320–327.
- Xia, T., O'Hara, A., Araujo, I., Barreto, J., Carvalho, E., Sapucaia, J. B., ... Harrington, W. J. (2008). EBV microRNAs in primary lymphomas and targeting of CXCL-11 by ebv-mir-BHRF1-3. *Cancer Research*, *68*(5), 1436–1442.
- Xie, H., Lee, L., Caramuta, S., Höög, A., Browaldh, N., Björnhagen, V., ... Lui, W.-O. (2014). MicroRNA Expression Patterns Related to Merkel Cell Polyomavirus Infection in Human Merkel Cell Carcinoma. *The Journal of Investigative Dermatology*, *134*(2), 1–11.
- Xu, N., Segerman, B., Zhou, X., & Akusjärvi, G. (2007). Adenovirus virus-associated RNAII-derived small RNAs are efficiently incorporated into the rna-induced silencing complex and associate with polyribosomes. *Journal of Virology*, *81*(19), 10540–9.
- Yang, J.-S., Phillips, M. D., Betel, D., Mu, P., Ventura, A., Siepel, A. C., ... Lai, E. C. (2011). Widespread regulatory activity of vertebrate microRNA\* species. *RNA (New York, N.Y.)*, *17*(2), 312–26.
- Yang, L., Ma, Z., Wang, D., Zhao, W., Chen, L., & Wang, G. (2010). MicroRNA-602 regulating tumor suppressive gene RASSF1A is overexpressed in hepatitis B virus-infected liver and hepatocellular carcinoma. *Cancer Biology and Therapy*, *9*(10), 803–808.
- Yi, R., Qin, Y., Macara, I. G., & Cullen, B. R. (2003). Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs, 3011–3016.
- Yoo, J., Kang, J., Lee, H. N., Aguilar, B., Kafka, D., Lee, S., ... Hong, Y. K. (2010). Kaposin-B enhances the PROX1 mRNA stability during lymphatic reprogramming of vascular endothelial cells by Kaposi's sarcoma herpes virus. *PLoS Pathogens*, *6*(8), 37–38.
- Yoon, C., Kim, J., Park, G., Kim, S., Kim, D., Hur, D. Y., ... Kim, Y. S. (2015). Delivery of miR-155 to retinal pigment epithelial cells mediated by Burkitt's lymphoma exosomes. *Tumor Biology*, 1–9.
- You, X., Zhang, Z., Fan, J., Cui, Z., & Zhang, X. E. (2012). Functionally orthologous viral and cellular microRNAs studied by a novel dual-fluorescent reporter system. *PLoS ONE*, *7*(4).
- Yu, X., Wang, Z., & Mertz, J. E. (2007). ZEB1 regulates the latent-lytic switch in infection by Epstein-Barr virus. *PLoS Pathogens*, *3*(12), 1993–2004.
- Zhang, X., Liu, S., Hu, T., Liu, S., He, Y., & Sun, S. (2009). Up-regulated microRNA-143 transcribed by nuclear factor kappa B enhances hepatocarcinoma metastasis by repressing fibronectin expression. *Hepatology*, *50*(2), 490–499.
- Zhang, Y., Fan, M., Geng, G., Liu, B., Huang, Z., Luo, H., ... Zhang, H. (2014). A novel HIV-1-encoded microRNA enhances its viral replication by targeting the TATA box region. *Retrovirology*, *11*, 23.
- Ziegelbauer, J. M., Sullivan, C. S., & Ganem, D. (2009). Tandem array-based expression screens identify host mRNA targets of virus-encoded microRNAs. *Nature Genetics*, *41*(1), 130–4.

\* sekundární citace