

Received: 2013.06.25  
Accepted: 2014.02.18  
Published: 2014.05.14

## Rola receptorów RIG-I-podobnych w odpowiedzi przeciwwirusowej\*

### Role of the RIG-I-like receptors in antiviral response

Agnieszka Jabłońska, Edyta Paradowska

Pracownia Wirusologii Molekularnej i Chemii Biologicznej, Instytut Biologii Medycznej PAN, Łódź

#### Streszczenie

Wrodzona odporność nieswoista jest pierwszą linią obrony w zakażeniach wirusowych. Receptory Toll-podobne (TLR) oraz RIG-I-podobne (RLR) są dwoma głównymi rodzinami receptorów wykrywającymi wirusowy kwas nukleinowy. Dotychczas scharakteryzowano trzech członków rodziny RLR: RIG-I, MDA5 i LGP2. RLR są rodziną cytoplazmatycznych helikaz, które rozpoznają wewnątrzkomórkowy jednoniciowy oraz dwuniciowy RNA wprowadzony do cytosolu podczas infekcji i replikacji wirusa. W pracy przedstawiono mechanizmy rozpoznawania wirusów przez receptory RIG-I-podobne oraz szlaki przekazywania sygnału w celu aktywacji syntezy interferonów i cytokin prozapalnych.

**Słowa kluczowe:** odporność wrodzona • receptory komórkowe • wirus • interferon

#### Summary

The innate nonspecific immunity is the first line of defense against viral infection. Toll-like receptors (TLRs) and retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors (RLRs) are two main receptor families detecting viral nucleic acid. So far, three RLR family members were characterized: RIG-I, MDA5 and LGP2. RLR constitute a family of cytoplasmic helicases, which recognized intracellular single-stranded and double-stranded RNA that is introduced to cytosol during viral infection and replication. In this work we review the current knowledge about the mechanisms of viral recognition by RIG-I-like receptors and their signaling pathways for the activation of type I interferons and pro-inflammatory cytokines synthesis.

**Key words:** innate immunity • cell receptors • virus • interferon

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1102281>

**Word count:** 5669  
**Tables:** 2  
**Figures:** 2  
**References:** 107

\*Praca finansowana przez projekt „Badania mechanizmów molekularnych na styku organizm ludzki-patogen-czynniki środowiska (InterMolMed)”, POIG.01.01.02-10-107/09 realizowany w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka.

**Adres autorki:** mgr Agnieszka Jabłońska, Pracownia Wirusologii Molekularnej i Chemii Biologicznej, Instytut Biologii Medycznej PAN, ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź; e-mail: ajablonska@cbm.pan.pl

**Wykaz skrótów:** **aa** – aminokwas (amino acid); **Ankrd17** – domena 17 zawierająca powtórzenia ankiry (ankyrin repeat domain 17); **ARL** – receptor AIM2-podobny (AIM2-like receptor); **ATF-2** – czynnik 2 aktywujący transkrypcję (activating transcription factor-2); **CARD** – domena aktywacji i rekrutacji kaspaz (caspase activation and recruitment domain); **Cardif** – białko adaptorowe stymulujące syntezę IFN- $\beta$  zawierające domenę CARD (CARD adapter inducing IFN- $\beta$ ); **cDC** – konwencjonalna komórka dendrytyczna (conventional dendritic cell); **CLR11.3** – białko CLR11.3 (Caterpillar protein 11.3); **CRL** – receptor lektynopodobny typu C (C-type lectin-like receptor); **CTD** – domena C-końcowa (C-terminal domain); **DAI** – aktywator czynników regulatorowych IFN zależny od DNA (DNA-dependent activator of IFN-regulatory factor); **DAK** – kinaza dihydroksyacetonu (dihydroxyacetone kinase); **DC** – komórka dendrytyczna (dendritic cell); **DD** – domena śmierci (death domain); **DDX** – polipeptyd zawierający motyw DEAD (DEAD [Asp-Glu-Ala-Asp] box polypeptide); **DENV** – wirus denga (dengue virus); **DHX** – polipeptyd zawierający motyw DEXH (DEXH [Asp-Glu-X-His] box polypeptide); **DUB** – deubikwitynaza (Deubiquitinase); **DUBA** – enzym A deubikwitynujący (deubiquitinating enzyme A); **EFP** – białko wrażliwe na estrogen (estrogen-responsive finger protein); **EMCV** – wirus zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (encephalomyocarditis virus); **ER** – retikulum endoplazmatyczne (endoplasmic reticulum); **ERIS** – białko retikulum endoplazmatycznego regulujące IFN (endoplasmic reticulum interferon regulator); **FADD** – domena śmierci związana z Fas (Fas-associated death domain); **HCV** – wirus zapalenia wątroby typu C (hepatitis C virus); **HMPV** – ludzki metapneumowirus (human metapneumovirus); **HSV** – wirus opryszczki (herpes simplex virus); **IFIH1** – domena 1 helikazy C indukująca IFN (interferon induced with helicase C domain 1); **IFN** – interferon; **IID** – domena hamująca IFN (interferon inhibitory domain); **IKK** – kinaza białka  $\kappa$ B (I $\kappa$ B kinase); **IL** – interleukina (interleukin); **IPS-1** – białko stymulujące promotor IFN- $\beta$  1 (IFN- $\beta$  promotor stimulator 1); **IRF** – czynnik regulacyjny genu kodującego IFN (IFN-gene regulatory factor); **ISG15** – gen 15 stymulowany przez interferon (interferon-stimulated gene 15); **ISRE** – element odpowiedzi stymulowanej przez IFN (IFN-stimulated response element); **JEV** – wirus japońskiego zapalenia mózgu (Japanese encephalitis virus); **KSHV** – herpeswirus mięsaka Kaposiego (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus); **LGP2** – receptor LGP2 (laboratory of genetics and physiology 2); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolisaccharide); **MAMP** – molekularne wzorce związane z mikroorganizmami (microbial associated molecular patterns); **MAVS** – mitochondrialne przeciwwirusowe białko sygnałowe (mitochondrial antiviral signaling protein); **MCP-1** – białko chemotaktyczne monocytów typu 1 (monocyte chemotactic protein-1); **MDA5** – receptor MDA5 (melanoma differentiation associated gene 5); **MDP** – muramyldipeptyd (muramyl dipeptide); **MEF** – fibroblasty płodowe myszy (mouse embryonic fibroblasts); **Mfn1** – mitofuzyna 1 (mitofusin-1); **MHV** – mysz wirus zapalenia wątroby (mouse hepatitis virus); **MITA** – białko pośredniczące w aktywacji czynnika IRF-3 (mediator of IRF-3 activation); **MNV** – mysz norowirus (murine norovirus); **MPYS** – białko zawierające na N-końcu sekwencję metionina-prolina-tyrozyna-seryna (N-terminal methionine-proline-tyrosine-serine protein); **NDV** – wirus rzekomego pomoru drobiu (Newcastle disease virus); **NEMO** – modulator NF- $\kappa$ B – podjednostka regulatorowa IKK $\gamma$  (NF- $\kappa$ B essential modulator); **NF- $\kappa$ B** – czynnik jądrowy kappa B (nuclear factor  $\kappa$ B); **NK** – komórki NK (natural killer); **NKT** – limfocyty NKT (natural killer T cells); **NLRX1** – receptor X1 rodziny NLR (NLR family member X1); **NMR** – magnetyczny rezonans jądrowy (nuclear magnetic resonance); **NLR** – receptory NOD-podobne (NOD-like receptors); **NOD** – domena oligomeryzacyjna wiążąca nukleotyd (nucleotide-binding oligomerization domain); **NS1** – białko niestrukturalne 1 (non-structural 1); **OAS** – syntetaza poliadenylanowa (oligoadenylate synthetase); **OUT** – domena nowotworu jajnika (ovarian tumor domain); **OTUD5** – białko 5 zawierające domenę OTU (OTU domain containing 5 protein); **PAMP** – molekularne wzorce związane z patogenami (pathogen associated molecular patterns); **pDCs** – plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (plasmacytoid dendritic cells); **PGN** – peptydoglikan (peptidoglycan); **Pin1** – cis/trans izomeraza peptydylowo-propylowa, białko 1 oddziałujące z NIMA [(peptidyl-prolyl cis/trans isomerase) NIMA-interacting 1 protein]; **Pol-III** – RNA polimeraza III (RNA polymerase-III); **poly(dA-dT)** – kwas polideoksyadenyloowo-polideoksytymidyloowy (polydeoxyadenylic:polydeoxythymidylic acid); **poly(I:C)** – kwas poliryboinozyloowo-polirybocytydyloowy (polyriboinosinic:poliribocytydylic acid); **PRR** – receptory rozpoznające wzorce (pattern recognition receptors); **RAVER** – białko 1 wiążące rybonukleinowy PTB (ribonucleic PTB-binding 1); **RD** – domena represorowa/regulatorowa (repressory/regulatory domain); **RH116** – RNA helikaza 116 (RNA helicase 116); **RIG-I** – receptor RIG-I (retinoic acid-inducible gene-I); **RIP** – białko oddziałujące z receptorem (receptor interacting protein); **RLH** – helikazy RIG-I-podobne (RIG-I-like helicases); **RLR** – receptory RIG-I-podobne (RIG-I-like receptors); **RNazaL** – rybonukleaza L (ribonuclease

L); **RNF** – białko zawierające domenę RING (ring (Really Interesting New Gene) finger protein); **RNP** – rybonukleoproteina (ribonucleoprotein); **RSV** – wirus syncytium nabłonka oddechowego (respiratory syncytial virus); **RTA** – aktywator replikacji i transkrypcji (replication and transcription activator); **RVFV** – wirus gorączki Doliny Rift (Rift Valley fever virus); **SeV** – wirus Sendai (Sendai virus); **SF2** – nadrodzina 2 (superfamily 2); **SIKE** – supresor IKKε (suppressor of IKKε); **siRNA** – krótkie interferujące RNA (short interfering RNA); **STING** – białko stymulujące geny IFN (stimulator of interferon genes); **TAX1BP1** – białko 1 wiążące Tax1 (Tax1-binding protein 1); **TBK1** – kinaza TBK1 (TANK-binding kinase 1); **T6BP** – białko wiążące TRAF6 (TRAF6 binding protein); **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor); **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor); **TM** – domena przez błonową (transmembrane domain); **TMEM173** – białko przez błonowe 173 (transmembrane protein 173); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **TNFAIP3** – czynnik martwicy nowotworu, alfa-indukowane białko 3 (tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3); **TNFR1** – receptor 1 czynnika martwicy nowotworu (tumor necrosis factor receptor 1); **TRAC-1** – ligaza TRAC-1 (T cell RING protein identified in activation screen); **TRADD** – domena śmierci związana z TNFR1 (TNFR1-associated death domain); **TRAF** – czynnik związany z receptorem TNF (TNF receptor-associated factor); **TRIM25** – motyw trójdzielny 25 (tripartite motif 25); **Ub** – ubikwityna; **UBA** – enzym aktywujący ubikwitynę (ubiquitin activating enzyme); **UBC** – enzym koniugujący ubikwitynę (ubiquitin conjugating enzyme); **UBL** – ligaza ubikwityny (ubiquitin ligase); **USP4** – proteaza 4 specyficzna dla ubikwityny (ubiquitin-specific protease 4); **VISA** – białko adaptorowe VISA (virus-induced signaling adapter); **VSV** – wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (vesicular stomatitis virus); **WNV** – wirus Zachodniego Nilu (West Nile virus); **ZBP1** – białko 1 wiążące Z-DNA (Z-DNA binding protein 1); **ZNF147** – białko zawierające domenę palca cynkowego 147 (zinc finger protein 147).

## WSTĘP

Układ odpornościowy człowieka każdego dnia chroni organizm przed atakiem drobnoustrojów. Po pokonaniu przez patogeny naturalnych barier ochronnych, natychmiastową odpowiedź organizmu zapewnia odporność wrodzona. Mechanizmy odporności wrodzonej związane z aktywnością chemokin i cytokin, głównie interferonu (IFN) typu I, wrodzoną cytokinozależną opornością nieswoistą komórek oraz syntezą czynników ograniczających replikację wirusów i indukujących mechanizmy odpowiedzi nabytej, tworzą podstawową linię obrony organizmu w zakażeniach wirusowych [84,101]. Do IFN typu I należą IFN-α, IFN-β, IFN-ω, IFN-κ i IFN-τ. Aktywacja genów IFN następuje po rozpoznaniu RNA oraz przekazaniu sygnału do jądra komórki za pośrednictwem czynników transkrypcyjnych, takich jak czynnik 3 regulujący IFN (IRF-3), IRF-7, jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B (NF-κB) i czynnik transkrypcyjny c-Jun/ATF-2 [55]. IRF-3 jest niezbędnym elementem aktywacji genów IFN [104]. Fosforylacja reszty serynowej IRF-3 odbywa się z udziałem kompleksu kinaz IκB – TBK1, kinazy 1 wiążącej TANK (TANK-binding kinase 1) i kinazy IKKε/IKKι (IκB kinase) [61,81,104]. Aktywowany IRF-3 jest transportowany do jądra komórkowego, w którym indukuje transkrypcję genu kodującego IFN-β [103]. Stymulacja genów kodujących IFN-α następuje natomiast w wyniku fosforylacji czynnika IRF-7 [81].

Odporność wrodzona ma charakter nieswoisty i stanowi pierwszą linię obrony organizmu przeciw patogenom wirusowym. Uczestniczą w niej m.in. makrofagi, komórki tuczne, komórki NK, NKT i komórki dendrytyczne, które selektywnie rozpoznają antygeny patogenów za pośred-

nictwem receptorów rozpoznających wzorce (PRR – pattern recognition receptors). Elementem docelowym PRR są głównie białka wirusowe, jednak to kwasy nukleinowe są aktywatorami ich ekspresji. Komórki układu immunologicznego wykorzystują PRR do identyfikacji patogenów za pośrednictwem molekularnych wzorców związanych z patogenami (PAMP – pathogen-associated molecular patterns), zwanymi szerzej molekularnymi wzorcami związanymi z mikroorganizmami (MAMP – microbial associated molecular patterns).

Dotąd zidentyfikowano pięć rodzin receptorów PRR: 1) receptory Toll-podobne (TLR – Toll-like receptors) odróżniające różnego rodzaju struktury patogenów np. bakteryjny peptydoglikan (PGN), lipopolisacharyd (LPS), zymosan grzybów, hemozoinę pierwotniaków, a także wirusowe dsRNA i ssRNA [41], 2) RIG-I-podobne (RLR – RIG-I-like receptors) identyfikujące wirusowy dsRNA i ssRNA oraz syntetyczny analog dsRNA – poly(I:C) (kwas poliryboinozyloowo:polirybocytydylowy) [39,102], 3) receptory NOD-podobne (NLR – NOD-like receptors, nucleotide oligomerization domain-like receptors), różniące struktury bakteryjne np. flagellinę, muramylodipeptyd (MDP) i dsRNA wirusów [21,37], 4) receptory lektynopodobne typu C (CRL – C-type lectin-like receptors) wiążące cukry wchodzące w skład ściany komórkowej bakterii, grzybów oraz wirusów, takie jak β-glukan, fukoza i mannoza [66], a także 5) receptory AIM-2-podobne (ARL – AIM-2-like receptors) rozpoznające bakteryjny oraz wirusowy dsRNA [91]. Zidentyfikowano ponadto receptor DAI, aktywator czynników regulatorowych IFN zależny od DNA (DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors), zwany również DLM-1/ZBP1 (Z-DNA binding protein 1). Receptor DAI jest zaangażowany w indukcję od-

powiedzi odpornościowej przez aktywację IRF-3 i NF- $\kappa$ B, w następstwie związania wolnego cytosolowego dsDNA bakterii i wirusów [90].

Rozpoznanie zakażenia wirusowego następuje za pośrednictwem dwóch typów receptorów – Toll-podobnych i RIG-I-podobnych. Receptory powierzchniowe TLR4 i TLR2, tworzące heterodimery z TLR1 lub TLR6, uczestniczą w identyfikacji glikoprotein osłonki i białek fuzyjnych wirusów. Wewnątrzkomórkowe receptory TLR3 i TLR7-TLR9 wykrywają kwas nukleinowy wirusa znajdujący się w endosomach, natomiast helikazy RIG-I-podobne, takie jak RIG-I i MDA5 warunkują rozpoznanie wirusowego RNA, obecnego w cytoplazmie komórki na etapie infekcji oraz replikacji patogenu [40]. RLR po związaniu odpowiedniego liganda uruchamiają złożony i wieloetapowy szlak sygnałowy prowadzący do aktywacji odpowiedzi odpornościowej. Główną rolę w tym procesie odgrywają białka FADD oraz TRAF3, które przesyłają sygnał wzbudzający odpowiedź przeciwwirusową związaną z syntezą IFN typu I, IFN typu III lub uwolnieniem cytokin prozapalnych (np. IL-6, MCP-1, TNF- $\alpha$ ). Czynniki te hamują replikację wirusa, a także aktywują komórki prezentujące antygen do pobudzenia limfocytów Th i uruchomienia mechanizmów odporności swoistej. Interferon indukuje ekspresję enzymów degradujących wirusową RNA (RNaza L) oraz hamujących syntezę białek wirusowych (kinaza białkowa R) [24], pobudza także ekspresję receptorów RIG-I-podobnych.

## ROZPOZNANIE WIRUSÓW RNA PRZEZ RECEPTORY RIG-I-PODOBNE

RLR (RIG-I-like receptors), nazywane również helikazami RIG-I-podobnymi (RLH – RIG-I-like helicases), to rodzina wewnątrzkomórkowych receptorów rozpoznających wirusowy kwas rybonukleinowy obecny w cytoplazmie zakażonej komórki. RLR należą do nadrodziny 2 (SF2 – superfamily 2) helikaz/ATP-az zaangażowanych w proces replikacji, rekombinacji, naprawy, a także ekspresji DNA i RNA [25,26]. Dotychczas opisano trzech członków rodziny RLR: RIG-I (retinoic acid-inducible gene-1), MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5) i LGP2 (laboratory of genetics and physiology 2) [102]. Gen *DDX58* kodujący RIG-I zidentyfikował Sun w 1997 r., jako gen ulegający ekspresji w ostrej białaczce promielocytowej po terapii kwasem retinolowym [5]. Jego udział w indukcji odpowiedzi przeciwwirusowej odkryli Yoneyama i wsp. przeszukując bibliotekę cDNA pod kątem czynnika aktywującego ekspresję IFN- $\beta$  w odpowiedzi na transfekcję komórek poli(I:C) [102]. Gen *MDA5* został odkryty w 2002 r. metodą hybrydyzacji odejmowanej (subtraction hybridization), jako gen ulegający wzbudzeniu podczas różnicowania, regresji nowotworu oraz apoptozy [36]. Wykryto, że MDA5, zwany również Helicard, IFIH1 (interferon induced with helicase C domain 1) lub RH116 (RNA helicase 116), uczestniczy we wzbudzaniu ekspresji IFN w czasie infekcji wirusowej [101]. McCartney i wsp. wykazali, że receptor MDA5 jest niezbędny w rozpoznaniu zakażenia mysim norowirusem typu 1 (MNV-1) [56]. Komórki dendrytyczne (DC) myszy *MDA5*<sup>-/-</sup> wykazywały

defekt w ekspresji cytokin (IFN- $\alpha$ , IL-6, MCP-1 i TNF- $\alpha$ ) po infekcji MNV-1. Wirus replikował się w DC myszy *MDA5*<sup>-/-</sup> do wyższych mian niż w przypadku replikacji u myszy *MDA5*<sup>-/-</sup> zakażonych w warunkach *in vivo* [56]. Trzeci receptor rodziny RLR – LGP2, zwany również DHX58 zidentyfikowano, jako czynnik ulegający ekspresji w komórkach nowotworu piersi [63]. Receptor LGP2 modyfikuje wirusowy RNA w wyniku uwolnienia białek z kompleksów rybonukleoprotein (RNP – ribonucleoprotein) oraz zmiany struktury RNA, co umożliwia rozpoznanie wirusowego dsRNA przez receptory RIG-I i MDA5 [78].

Badania przeprowadzone na myszach z delecją genów *DDX58* lub *IFIH1* wykazały, że RLR są w różnicowany sposób zaangażowane w aktywację odpowiedzi przeciwwirusowej. Do wirusów rozpoznawanych przez receptor RIG-I należą: 1) wirusy zawierające genom w postaci RNA o ujemnej polaryzacji nici [(-)ssRNA] m.in. Ebola (*Filoviridae*), gorączki doliny Rift (RVFV) (*Bunyaviridae*), grypy typu A i B (*Orthomyxoviridae*), wirus Lassa (*Arenaviridae*), Nipah, rzekomego pomoru drobiu (NDV), Sendai (SeV), wirus syncytium nabłonka oddechowego (RSV) (*Paramyxoviridae*), pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (VSV) (*Rhabdoviridae*), 2) wirusy RNA o dodatniej polaryzacji nici [(+)ssRNA], takie jak wirus japońskiego zapalenia mózgu (JEV) i zapalenia wątroby typu C (HCV) (*Flaviviridae*), a także 3) wirus opryszczki typu 2 (HSV-2) i Epsteina-Barr (EBV) (*Herpesviridae*) zawierające genom w postaci dsDNA [1,19,27,29,38,40,52,68,72,78,101,102]. Receptor MDA5 pełni zasadniczą rolę w rozpoznaniu zakażeń wywołanych przez wirusy o dodatniej polaryzacji nici, takich jak wirus zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (EMCV), wirus Theiler's, Mengo (*Picornaviridae*) [23,38], myszy wirus zapalenia wątroby (MHV) (*Coronaviridae*), myszy norowirus 1 (MNV-1) (*Calciviridae*) [56,74], a także w zakażeniach wirusem opryszczki typu 1 (HSV-1) (*Herpesviridae*) [57]. Ponadto, receptory RIG-I i MDA5 wspólnie rozpoznają materiał genetyczny wirusa Dengi (DENV) i Zachodniego Nilu (WNV) (*Flaviviridae*) [20,52].

Wyniki badań przeprowadzonych w ostatniej dekadzie wskazują, że receptory RIG-I-podobne pełnią zasadniczą rolę w rozpoznaniu wirusowego RNA, a także DNA obecnego w cytoplazmie. Wykazano, że RIG-I wiąże RNA o dodatniej, jak i ujemnej polaryzacji nici oraz dsDNA wirusów, natomiast receptor MDA5 rozpoznaje głównie RNA wirusów o dodatniej polaryzacji nici.

## LIGANDY RECEPTORÓW RIG-I-PODOBNYCH

Komórki układu odpornościowego rozpoznają za pośrednictwem RIG-I oraz MDA5 niezmodyfikowane cząsteczki wirusowego ssRNA i dsRNA, które w warunkach naturalnych nie są syntetyzowane w komórkach gospodarza [5,39] (tabela 1). Istnienie grup fosforanowych na końcu 5' jest cechą wirusowych i komórkowych cząsteczek ssRNA. W związku z tym rozpoznanie kwasu nukleinowego wirusa w cytoplazmie odbywa się w oparciu o wykrywanie niezmodyfikowanego ssRNA (brak czapeczki „cap” na końcu 5' i poliadenylacji na końcu 3' oraz obecność intronów). RIG-I preferencyjnie wiąże krótkie fragmenty dsRNA o dłu-



gości 21-27 nukleotydów, powstałe w wyniku trawienia przez rybonukleazę RN-azę III, natomiast MDA5 rozpoznaje fragmenty dsRNA o długości powyżej 2 kpz [39,102]. Ponadto oba receptory rozpoznają syntetyczny analog dsRNA – poly(I:C), przy czym ligandem receptora RIG-I jest poly(I:C) o długości około 300 pz, natomiast MDA5 rozpoznaje cząsteczki poly(I:C) o długości 4-8 kpz [23,39,100], a także małe dupлексы RNA powstałe w wyniku cięcia wirusowego kwasu nukleinowego przez endonukleazę RN-azę I [54]. Obserwacje te potwierdziły także wyniki badań uzyskane po zakażeniu fibroblastów płodowych myszy (MEFs – mouse embryonic fibroblasts) reowirusem. Wykazały one, że krótkie (1,2-1,4 kpz) łańcuchy dsRNA wirusa indukowały ekspresję receptora RIG-I, natomiast łańcuchy dsRNA o długości 3,4 kpz aktywowały ekspresję MDA5 [39,76]. Mechanizm weryfikacji różnic w długości nukleotydów przez RLR nie został jeszcze poznany [100]. Receptor RIG-I rozróżnia także ssRNA zawierający na końcu 5' trifosforan (5'ppp) oraz sekwencje homopolinukleotydydowe poly(U/UC) lub poly(AG/A), 5'ppp dsRNA transkrybowany na nici B-DNA – poly(dA-dT) przez enzym DNA-zależną polimerazę RNA III (Pol-III), a w przypadku wirusów RNA o ujemnej polaryzacji nici struktury „panhandle”, czyli RNA zawierający wewnętrzną pętlę otoczoną przez krótkie fragmenty podwójnie splecionej nici [12,30,57,68,76,77,79,92]. Receptor MDA5 wiąże natomiast RNA o dużej masie cząsteczkowej i uporządkowanej strukturze, tak zwane RNA web, zawierające regiony dsRNA oraz ssRNA [69].

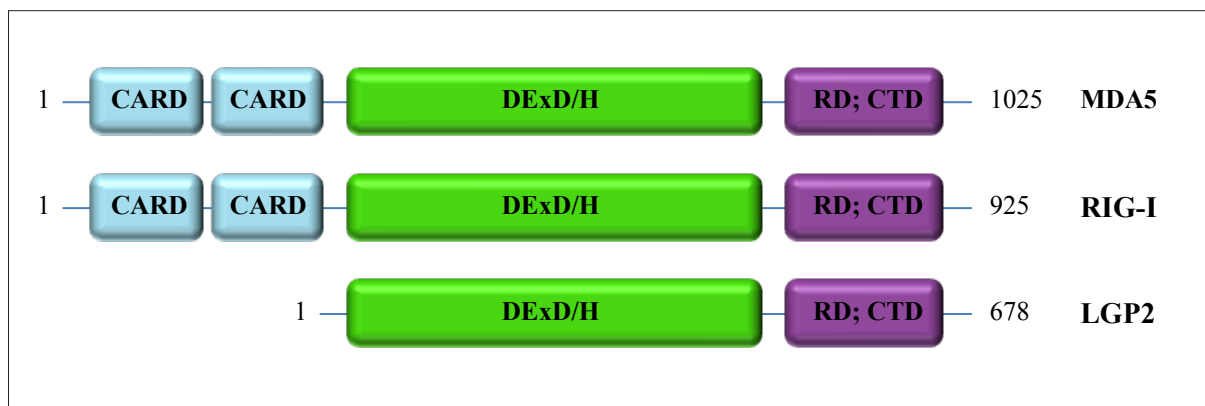
Podsumowując, rozpoznanie patogenu przez receptory RIG-I-podobne jest procesem złożonym i wieloetapowym. Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że długość łańcucha kwasu nukleinowego wirusa jest głównym czynnikiem determinującym identyfikację oraz wiązanie liganda przez RIG-I lub MDA5. Receptor RIG-I wiąże krótkie fragmenty dsRNA, natomiast MDA5 rozpoznaje fragmenty kwasu nukleinowego o długości powyżej 2 kpz.

### BUDOWA RLR

RIG-I, prototypowy członek rodziny RLR, zawiera domenę represorową/regulatorową RD (repressory/regulatory domain) umiejscowioną na C-końcu i wiążącą RNA wirusa, domenę DExD/H o aktywności helikazy zależnej od ATP oraz dwie unikatowe N-terminalne domeny aktywacji i rekrutacji kaspaz CARD (caspase activation and recruitment domain), odpowiedzialne za przesyłanie sygnałów wewnątrzkomórkowych [102] (ryc. 1). Receptor MDA5 zawiera domeny CARD i DExD/H [95,101], natomiast funkcjonalność domeny RD receptora budzi wątpliwości [41]. Receptor LGP2 nie zawiera domen CARD [45,102]. Dane uzyskane przez Yoneyama i wsp. ujawniły, że RIG-I oraz MDA5 wykazują 23 i 35% homologii w składzie aminokwasowym, odpowiednio dla domen CARD oraz domeny helikazowej. Domena DExD/H LGP2 wykazuje 31% homologii z sekwencją RIG-I i 41% homologii z sekwencją MDA5 [102]. Dzięki obecności domen CARD, receptory

**Tabela 1.** Ligandy receptorów RIG-I-podobnych

Lp.	Typ liganda	RIG-I	MDA5	LGP2
1.	Ligandy naturalne	dsRNA 5'ppp dsRNA dupлексы RNA poly (AG/A) 5'ppp poly-U/UC RNA 5'ppp ssRNA struktury panhandle	dsRNA dupлексы RNA RNA web	dsRNA 5'ppp ssRNA
2.	Syntetyczne ligandy	poly(I:C) o długości ~300 pz  – o dodatniej polaryzacji nici wirus Dengi wirus japońskiego zapalenia mózgu wirus Zachodniego Nilu wirus zapalenia wątroby typu C – o ujemnej polaryzacji nici wirus Ebola	poly(I:C) o długości 4-8 kpz  – o dodatniej polaryzacji nici mysi norowirus 1 mysi wirus zapalenia wątroby wirus Dengi wirus Mengo wirus Theiler's	-
3.	Wirusy	wirus gorączki doliny Rift wirusy grypy A i wirus Lassa wirus Nipah wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej wirus rzekomego pomoru drobiu wirus Sendai wirus syncytium nabłonka oddechowego – dsDNA wirus Epsteina-Barr wirus opryszczki typu 2	wirus Zachodniego Nilu wirus zapalenia mózgu i mięśnia sercowego – dsDNA wirus opryszczki typu 1	-



Ryc. 1. Struktura receptorów RIG-I-podobnych (opracowanie autorskie)

RIG-I oraz MDA5 po rozpoznaniu i związaniu wirusowego kwasu nukleinowego mają zdolność indukcji odpowiedzi komórkowej. LGP2 ze względu na brak powyższych domen nie uczestniczy w przekazywaniu sygnału, ale jest niezbędny do efektywnej odpowiedzi przeciwwirusowej zależnej od RIG-I i MDA5 [78].

Cui i wsp. z użyciem krystalografii rentgenowskiej, a także Takahasi i wsp. z zastosowaniem spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego NMR (nuclear magnetic resonance) zidentyfikowali w 2008 r. w obrębie RD domenę CTD (C-terminal domain). Domena ta (aa 792-925) jest odpowiedzialna za rozpoznawanie dsRNA i 5'-trifosforanu ssRNA [13,88]. Opisano także niezwykłą budowę CTD, w której cztery konserwatywne cysteiny (C810, C813, C864 i C869) połączone atomem cynku lub rzadziej rtęci są głównym elementem strukturalnym oraz funkcjonalnym białka, odpowiedzialnym za przesyłanie sygnału aktywującego odpowiedź przeciwwirusową [13,88]. Zaobserwowano również, że indukcja ekspresji receptora RIG-I możliwa jest wyłącznie w następstwie oddziaływania odpowiedniego liganda z domeną CTD [39,68,88], mającą zdolność aktywacji receptora nie tylko w wyniku związania liganda i utworzenia dimeru, lecz także przez strukturalną modulację miejsca wiązania ATP [13]. Interesujące, że receptor LGP2 wiąże z większym powinowactwem dsRNA niż ssRNA [63]. Ponadto LGP2 wiąże dsRNA za pośrednictwem CTD silniej niż RIG-I lub MDA5 [50,87].

Receptory RIG-I i MDA5 charakteryzują się złożoną budową, w której wyróżniamy domeny CARD, DEXD/H i CTD. W odróżnieniu od nich, receptor LGP2 nie zawiera domen CARD, odpowiedzialnych za przesyłanie sygnałów wewnątrzkomórkowych. Przypuszcza się, że brak domen CARD w cząsteczce LGP2 uniemożliwia rozpoznanie wirusowego RNA za pośrednictwem tego receptora.

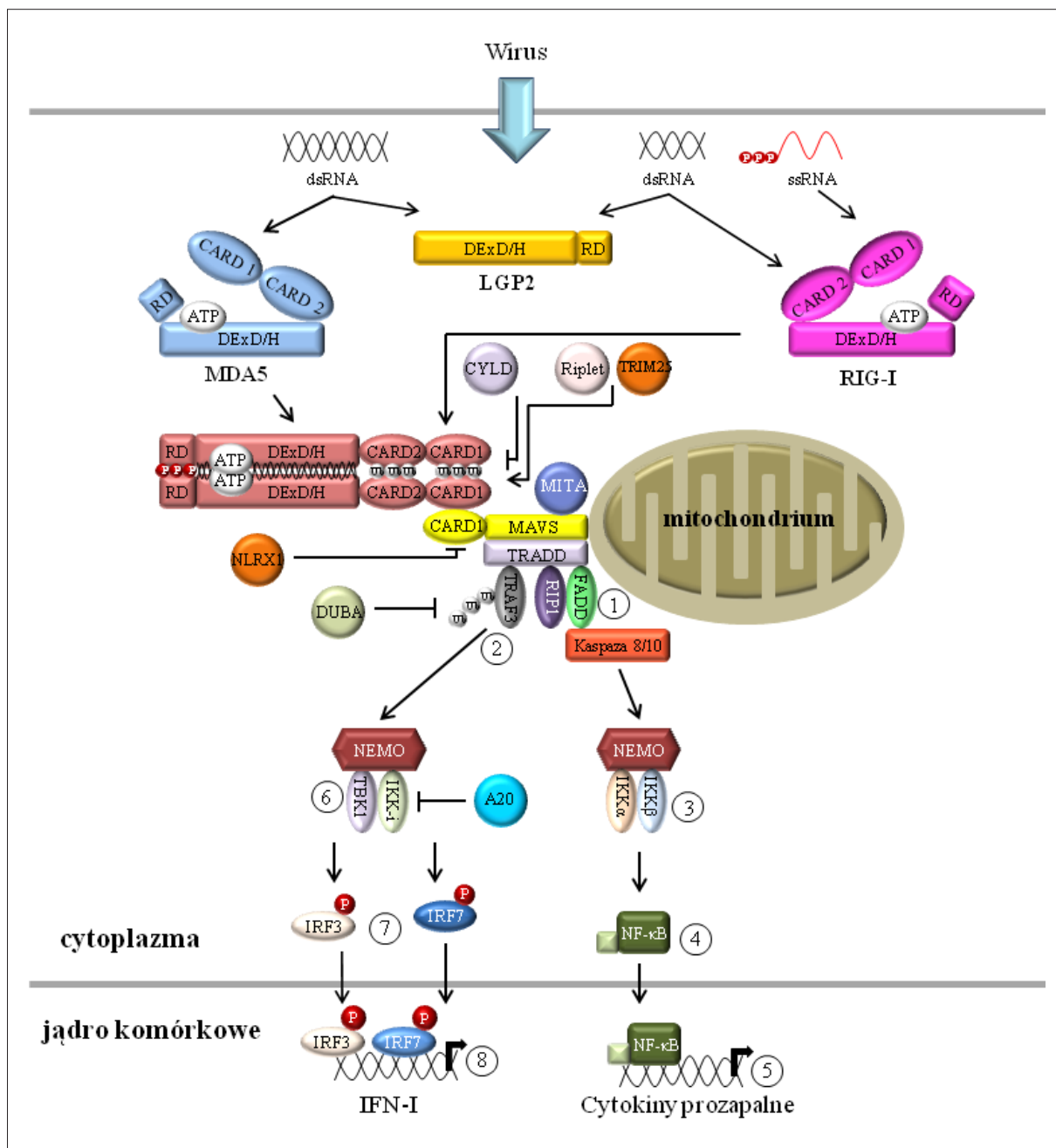
### DROGI PRZESYŁANIA SYGNAŁU ZA POŚREDNICTWEM RLR

RIG-I i MDA5 rozpoznają w cytoplazmie komórki zarówno jedno-, jak i dwuniciowy wirusowy RNA, co uruchamia kaskadę sygnałów prowadzących do aktywacji czynników NF-κB oraz syntezy cytokin prozapalnych, a także akty-

wacji IRF i indukcji syntezy IFN typu I. Na ryc. 2 przedstawiono główne szlaki przekazywania sygnału za pośrednictwem RLR.

Konstitutywna ekspresja RIG-I i MDA5 w większości tkanek jest na bardzo niskim poziomie, a receptory występują w postaci monomeru do czasu związania właściwego liganda [48]. W nieaktywnym monomerze domeny CARD receptorów RIG-I lub MDA5 oddziałują z domeną helikazową DEXD/H oraz domeną CTD. Po związaniu liganda (np. RNA wirusa), następuje aktywacja i zmiana konformacji przestrzennej receptora umożliwiająca ekspozycję wolnych domen CARD [6,13,88,97,100]. Domeny CARD mogą tworzyć multimery z innymi domenami CARD białek RIG-I lub MDA5, a także kompleksy z domeną CARD białka adaptorowego IPS-1 (IFN-β promotor stimulator 1, zwanego także CARD adapter inducing IFN-β [Cardif], mitochondrial antiviral signaling protein [MAVS] lub virus-induced signaling adapter [VISA]), umiejscowionego w błonie zewnętrznej mitochondriów [42,58,80,99]. Białko MAVS, poza domeną CARD odpowiedzialną za interakcję z RLR, zawiera także domenę bogatą w prolinę, domenę środkową oraz C-terminalną domenę przezbłonową TM (transmembrane domain) [80].

Niedawno wykazano, że oligomeryzacja domen CARD białka adaptorowego MAVS jest niezbędna do utworzenia kompleksu z RIG-I i transdukcji sygnału [89]. Po utworzeniu kompleksu z domeną CARD receptora RIG-I, MAVS aktywuje białko adaptorowe TRADD (tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein) (ryc. 2) i uruchamia dwa alternatywne szlaki przesyłania sygnału wewnątrzkomórkowego: zależny od białka FADD (Fas-associated death domain) (1) lub zależny od białka TRAF3 (TNF receptor-associated factor 3) (2). Białko FADD poprzez domenę śmierci DD (death domain) tworzy kompleks z kinazą RIP1 (receptor interacting protein 1) [42,59,75], a także oddziałuje z kaspazami 8 i 10, które aktywują kompleks IKK (IKK-α, IKK-β i białko NEMO/IKKγ) (3). Aktywowany IκB podlega fosforylacji oraz degradacji w proteasomie uwalniając czynnik NF-κB (4). Czynnik NF-κB przemieszcza się do jądra komórkowego, w którym indukuje ekspresję cytokin prozapalnych (5) [86].



Ryc. 2. Drogi przekazywania sygnału za pośrednictwem RLR (opracowanie autorskie)

Dowodzono, że knockout *TRADD* zapobiega interakcji RLR z białkiem MAVS, hamując ekspresję IFN- $\beta$  w odpowiedzi na infekcję wirusami RNA [59]. Szlak zależny od TRAF-3 prowadzi natomiast do aktywacji genów *IRF-3* i *IRF-7*, odpowiedzialnych za syntezę IFN typu I. Ligaza TRAF-3 ulegając ubikwitynacji aktywuje kinazy TBK1 (TANK-binding kinase 1) oraz IKK-i (zwaną także IKK $\epsilon$ ) (6), które fosforylują czynniki regulatorowe IRF-3 i IRF-7 [17]. Aktywowane IRF-3 oraz IRF-7 (7) tworzą homodimery i/lub heterodimery, które ulegają translokacji do jądra komórkowego, wiążą się z fragmentem ISRE – elementem odpowiedzi stymulowanej przez IFN (IFN-stimu-

lated response element) i aktywują ekspresję genów IFN typu I (8) [75]. Należy zwrócić uwagę, że ekspresję TBK1 stwierdza się w różnych tkankach, natomiast ekspresja IKK-i jest ograniczona wyłącznie do komórek układu odpornościowego [32].

Szlaki przekazywania sygnału zależą także od LGP2, helikazy wiążącej dsRNA, mimo braku domen CARD [101]. Do niedawna sądzono, że LGP2 jest przede wszystkim negatywnym regulatorem przesyłania sygnału za pośrednictwem RIG-I i MDA5, gdyż tworzy on heterodimeryczne kompleksy z tymi białkami [45,100,101]. Receptor LGP2

preferencyjnie wiąże dsRNA, natomiast w mniejszym stopniu ssRNA [63]. Ekspresja receptora LGP2 wzrasta w odpowiedzi na zakażenie wirusowe, dsRNA oraz wytwarzanie IFN typu I. Zwiększona ekspresja LGP2 działa hamująco na ekspresję interferonu, MDA5 i RIG-I [45], w związku z tym zaproponowano trzy mechanizmy wyjaśniające zasadę działania LGP2. Pierwszy z nich zakłada negatywną regulację komórkowej odpowiedzi przeciwwirusowej przez LGP2 opierającą się na sekwestracji dsRNA, co zapobiega aktywacji receptorów RIG-I i MDA5 [50,63,76,101]. Drugi model sugeruje bezpośrednią interakcję domeny RD LGP2 (aa 476-678) z receptorem RIG-I, co skutkuje zablokowaniem utworzenia kompleksu sygnalizacyjnego w następstwie zahamowania multimerizacji receptora RIG-I oraz przerwania homotypowych oddziaływań między domenami CARD RIG-I i białka MAVS [50,76,78]. Trzeci model natomiast sugeruje współzawodnictwo między receptorem LGP2 a kinazą IKK-i o wspólne miejsce wiązania na białku adaptorowym MAVS (aa 300-440), przy czym nie jest to domena CARD. W następstwie tego oddziaływania nie jest możliwa aktywacja czynnika IRF-3 oraz indukcja ekspresji IFN [45,50,78]. Badania przeprowadzone na myszach z wyłączonym genem *LGP2*<sup>-/-</sup> wykazały wzrost ekspresji IFN typu I w odpowiedzi na stymulację VSV lub poly(I:C), a także upośledzoną odpowiedź na zakażenie EMCV [93], wskazując, że LGP2 może negatywnie lub pozytywnie regulować przesyłanie sygnału za pośrednictwem RIG-I i MDA5. Wyniki badań Satoha i wsp. potwierdziły, że LGP2 może pełnić rolę pozytywnego regulatora mechanizmu rozpoznawania patogenu i indukcji odpowiedzi przeciwwirusowej. Konwencjonalne komórki dendrytyczne (cDCs) i MEFs pobrane od zwierząt *LGP2*<sup>-/-</sup> wytwarzały mniejsze ilości IFN- $\beta$  w odpowiedzi na zakażenie pikornawirusami (EMCV, wirus Mengo) rozpoznawanym przez receptor MDA5 w porównaniu do myszy *LGP2*<sup>+/+</sup> [78].

Wirusy RNA w celu uniknięcia odpowiedzi układu immunologicznego gospodarza wykształciły mechanizmy zakłócające i/lub blokujące szlak sygnałowy RLR, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania ekspresji IFN i cytokin prozapalnych. Niektóre białka wirusowe zakłócają szlak sygnałowy RIG-I/MDA5/MAVS, w następstwie sekwestracji wiązania receptorów RIG-I-podobnych z wirusowym RNA i/lub zaburzenia oddziaływania helikaz z cząsteczkami sygnalizacyjnymi lub w wyniku degradacji białek [95]. Białko NS1 (non-structural protein 1) wirusa grypy typu A hamuje syntezę IFN w następstwie zablokowania ubikwitinacji receptora RIG-I przez ligazę E3 ubikwityny, TRIM25 [71]. Syntezę IFN hamuje również aktywator replikacji i transkrypcji, RTA (replication and transcription activator) stanowiący jądrowy czynnik transkrypcyjny herpeswirusa mięsaka Kaposiego (KSHV, Kaposi's sarkoma-associated herpesvirus). Ligaza RTA uczestniczy w przyłączaniu łańcucha ubikwityny do IRF-7, kierując go na drogę degradacji w proteasomie [105]. Badania przeprowadzone w warunkach *in vitro* wykazały, że domena hamująca IFN (interferon inhibitory domain) białka VP35 wirusa Eboli wiąże krótkie fragmenty dsRNA, zapobiegając rozpoznaniu liganda przez RIG-I i ekspresję

sj i IFN [49]. W przypadku ludzkiego metapneumowirusa (HMPV) syntezę IFN hamuje białko G, które wiąże się z receptorem RIG-I i blokuje jego aktywność. W związku z powyższym hamuje ono aktywację czynników NF- $\kappa$ B i IRF, a także indukcję interferonów oraz cytokin prozapalnych. Białko G nie oddziałuje z MDA5 i białkiem MAVS [4]. Białko V wirusów z rodziny *Paramyxoviridae* blokuje natomiast szlak odpowiedzi przeciwwirusowej uruchamianej za pośrednictwem receptora MDA5. W następstwie przyłączenia domeny CTD wirusa do domeny SF2 (DEXD/H) MDA5 zablokowaniu ulega możliwość wiązania dsRNA przez receptor i indukcja syntezy IFN [2,62]. Ekspresja interferonu hamowana jest także w wyniku działania proteazy NS3/4A HCV, która blokuje fosforylację i dimeryzację czynnika IRF-3, prowadząc do proteolitycznej degradacji IRF-3 w proteasomie [19]. Białko tegumentu HSV-1 – US11, wiąże się natomiast z receptorami RIG-I i MDA5, hamując przekazywanie sygnałów za ich pośrednictwem, a zarazem transkrypcję IFN- $\beta$  [98].

Mechanizmy przesyłania sygnału za pośrednictwem RIG-I i MDA5 indukują odpowiedź przeciwwirusową w zakażonej komórce. Zasadniczą rolę w tym procesie odgrywają białka FADD oraz TRAF3, które warunkują syntezę odpowiednio IFN i cytokin prozapalnych. Receptor LGP2 pełni natomiast rolę regulatora przesyłania sygnału za pośrednictwem RIG-I i MDA5. W celu uniknięcia odpowiedzi odpornościowej ze strony gospodarza wirusy syntetyzują białka, które zapobiegają rozpoznaniu RNA przez RLR, blokują oddziaływanie RIG-I/MDA5 z domeną CARD białka MAVS i hamują przesyłanie sygnałów aktywujących syntezę czynników o aktywności przeciwwirusowej.

## CZYNNIKI UCZESTNICZĄCE W REGULACJI SYGNAŁU

Regulację szlaku sygnałowego RLR zapewniają precyzyjne mechanizmy kontrolne związane m.in. ze zmianami dynamiki mitochondriów (fuzją, fragmentacją), aktywnością enzymów ubikwytynujących, odpowiedzialnych za proces unieczynniania białek, a także fosforylacją białek.

## Struktury dynamiczne mitochondrium

Mitochondria postrzegane głównie jako centra energetyczne komórki zaangażowane w procesy termogenezy, apoptozy i utrzymanie homeostazy wapniowej zostały odkryte jako organelle uczestniczące także w regulacji wrodzonej odpowiedzi odpornościowej. Główną rolę w regulacji przekazywania sygnałów z udziałem mitochondriów odgrywa białko MAVS, umiejscowione na zewnętrznej błonie mitochondrium, a także zmiany morfologii zachodzące po aktywacji receptorów RIG-I-podobnych. MAVS oddziałuje z mitofuzyną 1 (Mfn1), białkiem pełniącym rolę regulatora fuzji mitochondriów tworząc kompleks MAVS-Mfn1. Utworzenie kompleksu stymuluje fuzję i elongację mitochondriów, w wyniku której degradacji ulega MAVS. W procesie tym Mfn1 pełni rolę pozytywnego regulatora szlaku sygnałowego RLR, natomiast RIG-I pełni rolę kofaktora MAVS [8]. Hou i wsp. wykazali, że infekcja wirusowa indukuje konwersję endogennego białka MAVS w agregata-



ty przypominające priony (prion-like aggregates), zdolne do aktywacji IRF-3 w cytoplazmie. Główną rolę w tym procesie odgrywa domena CARD białka MAVS, uczestnicząca także w aktywacji szlaku sygnałowego RLR [31]. Zgodnie z ostatnimi wynikami badań RIG-I inicjuje oligomeryzację MAVS, która prowadzi do aktywacji syntezy interferonów i cytokin prozapalnych [89]. Dowiedziono, że wyłączenie genu MAVS techniką knockout związane jest z silną redukcją poziomu ekspresji IFN- $\beta$  oraz IFN- $\lambda$ 1, co jednoznacznie potwierdza zaangażowanie MAVS w indukcję odpowiedzi przeciwwirusowej [57].

W 2008 r. dwa niezależne zespoły Barbera i Shu poinformowały o odkryciu białka STING/MITA (zwanego także ERIS, MPYS lub TMEM173), oddziałującego z MAVS w procesie indukcji odpowiedzi przeciwwirusowej. STING zlokalizowano w retikulum endoplazmatycznym (ER – endoplasmic reticulum) [33,34], natomiast MITA (mediator of IRF-3 activator) w zewnętrznej błonie mitochondrialnej [107]. Oddziaływanie MAVS z MITA sprzyja procesowi wydłużania mitochondriów i tworzenia sieci, natomiast rozpad sieci mitochondrialnej blokuje utworzenie kompleksu [8]. Ważną rolę w tym procesie odgrywa aktywacja RLR i utworzenie kompleksu także między MAVS i Mfn1, który reguluje rozmieszczenie MAVS wzdłuż mitochondriów lub wydłużenie sieci mitochondrialnej. Obserwacje te wskazują, że zmiany dynamiki organelli mogą regulować tworzenie kompleksu MAVS-MITA. MITA reguluje szlak sygnałowy RLR w wyniku aktywacji czynnika IRF-3, zaangażowanego w syntezę IFN typu I i zahamowanie replikacji wirusów. MITA pełni również funkcję białka adaptorowego dla VISA, do którego rekrutuje kinazę TBK1 i czynnik IRF-3. Po utworzeniu kompleksu, TBK1 fosforyluje MITA w pozycji seryny 358 (S358), która jest kluczowa dla późniejszej fosforylacji IRF-3. Zahamowanie ekspresji MITA blokuje aktywację IRF-3, syntezę IFN- $\beta$ , a w konsekwencji odpowiedź przeciwwirusową [107].

Dobrym regulatorem aktywacji szlaku sygnałowego RLR jest białko zawierające powtórzenia ankiryny (Ankrd17 – ankyrin repeat domain 17), pierwotnie opisane jako białko uczestniczące w cyklu życiowym komórki. Ankrd17 wzmacnia oddziaływanie receptorów RIG-I/MDA5 z białkiem adaptorowym MAVS, jednak dokładny mechanizm regulacji tego szlaku nie został poznany. Stwierdzono, że Ankrd17 może pobudzać za pośrednictwem receptorów RLR aktywację IRF-3 i NF- $\kappa$ B, a także regulować transkrypcję IFN- $\beta$  [96].

W szlak sygnałowy RLR z udziałem MAVS zaangażowane jest także białko NLRX1, które hamuje ekspresję IFN typu I i NF- $\kappa$ B [60]. NLRX1 (zwany także CLR11.3, NOD5 lub NOD9) należy do rodziny receptorów NLR pełniących zasadniczą funkcję w indukcji odpowiedzi przeciwbakteryjnej. NLRX1 umiejscowiony jest na zewnętrznej błonie mitochondrium, gdzie współzawodniczy z RLR o wiązanie domeny CARD białka MAVS. C-terminalna domena LRR receptora NLRX1 oddziałuje z domeną CARD MAVS blokując jego aktywację i przesyłanie sygnału z udziałem receptorów RIG-I lub MDA5 [60].

Mitochondria, znane jako organelle zaangażowane w procesy metaboliczne i kontrolę programowanej śmierci komórki, pełnią także zasadniczą rolę we wrodzonej odpowiedzi przeciwwirusowej. Obecność białka MAVS na zewnętrznej błonie mitochondriów umożliwia utworzenie kompleksu z MITA, a w konsekwencji aktywację syntezy IFN. Przypuszcza się, że tak ważna rola mitochondriów w aktywacji odpowiedzi odpornościowej jest związana z zachodzącym w nich procesem oddychania komórkowego oraz syntezą ATP.

## Ubikwitynacja

Ważną rolę w regulacji przeciwwirusowego szlaku sygnałowego RLR odgrywa proces ubikwitynacji polegający na przyłączeniu cząsteczki ubikwityny (Ub) do białka, jego potranslacyjnej modyfikacji i proteolitycznej degradacji w proteasomie. W pierwszym etapie procesu enzym E1 (UBA – ubiquitin activating enzyme) aktywuje ubikwitynę w obecności ATP. Ubikwityna za pośrednictwem C-końcowej glicyny tworzy wiązanie z grupą tiolową reszty cysteinowej E1 tworząc produkt E1-Ub [7,28]. Następnie ubikwityna przenoszona jest z kompleksu E1-Ub na resztę cysteinową enzymu koniugującego E2 (UBC – ubiquitin conjugating enzyme) prowadząc do powstania kompleksu E2-Ub. Ostatecznie enzym E3, zwany ligazą ubikwityny (UBL – ubiquitin ligase), przenosi resztę ubikwityny na białko formując produkt Ub-NH2-białko. Proces ten powtarza się do czasu „oznakowania” białka łańcuchem cząsteczek ubikwityny.

W przypadku receptorów RIG-I-podobnych stwierdzono zróżnicowany wpływ procesu ubikwitynacji domeny CARD RIG-I na transdukcję sygnału [7]. Ubikwitynacja białka w pozycji lizyny 48 (K48) domeny CARD jest związana z rozpoznaniem kompleksu przez podjednostkę 26S proteasomu i degradacją receptora RIG-I [53]. Natomiast ubikwitynacja w pozycji lizyny 63 (K63) nie inicjuje degradacji receptora, lecz reguluje jego aktywność [22,53]. Rozpoznanie cząsteczek wirusowego RNA przez domenę RD RIG-I inicjuje zmianę konformacji przestrzennej receptora i ekspozycję wolnych domen CARD. Domeny CARD wiążą w pozycji K63 łańcuch poliubikwityny pobudzając oligomeryzację receptora, a w konsekwencji utworzenie kompleksu z białkiem MAVS, co uruchamia szlak sygnałowy wrodzonej odpowiedzi przeciwwirusowej [106].

## Pozytywne regulatory szlaku sygnałowego

Dobrym regulatorem ekspresji IFN typu I za pośrednictwem receptora RIG-I jest ligaza TRIM25 (tripartite motif 25), zwana także EFP (estrogen-responsive finger protein) lub ZNF147 (zinc finger protein 147). C-końcowa domena TRIM25 oddziałuje z domeną CARD RIG-I, inicjując ubikwitynację receptora przez przyłączenie łańcucha ubikwityny do lizyny 63 domeny CARD, a następnie aktywację szlaku sygnałowego [22]. Proces ten możliwy jest dzięki zmianie konformacji przestrzennej receptora [6,94]. Należy zaznaczyć, że nie potwierdzono dotychczas procesu ubikwitynacji receptora MDA5 za pośrednictwem TRIM25 [22].

**Tabela 2.** Czynniki zaangażowane w szlak sygnałowy RLR

Komórkowe czynniki regulujące szlak sygnałowy receptorów RIG-I-podobnych				
Regulator	Cel działania	Proponowany mechanizm	Typ regulacji	Piśmiennictwo
A20	TBK1, IKKi	deubikwitynacja kinaz	negatywne sprzężenie zwrotne	10,51,67
Ankrd17	RIG-I, MDA5	zwiększa oddziaływanie RIG-I/MDA5 z MAVS	pozytywne sprzężenie zwrotne	96
Atg5-Atg12	RIG-I, MDA5, MAVS	sekwestracja RLR i MAVS	zaburzenie stanu równowagi	35,47
CYLD	RIG-I, TBK1	deubikwitynacja RIG-I	zaburzenie stanu równowagi	18
DAK	MDA5	sekwestracja MDA5	zaburzenie stanu równowagi	14
DUBA	TRAF3	deubikwitynacja TRAF3	negatywne sprzężenie zwrotne	43
ISG15	RIG-I	sekwestracja RIG-I	negatywne sprzężenie zwrotne	44
NLRX1	MAVS	współzawodnictwo z RLR o wiązanie MAVS	zaburzenie stanu równowagi	60
RAVER1	MDA5	pobudzenie wiązania poly(I:C) z MDA5	koaktywator MDA5	11
Riplet/RNF135	RIG-I	ubikwitynacja RIG-I	wytworzenie stanu równowagi	65
RNF11	TBK1, IKKi	deubikwitynacja kinaz	negatywne sprzężenie zwrotne	10,85
RNF125	RIG-I, MDA5, MAVS	proteasomalna degradacja czynników	negatywne sprzężenie zwrotne	3
SIKE	TBK1, IKKi	sekwestracja kinaz	zaburzenie stanu równowagi	32
STING/MITA	MAVS	rekrutacja TBK1 i IRF-3 do MAVS	pozytywne sprzężenie zwrotne	33,34,107
TAX1BP1	RIG-I	aktywacja kompleksu A20	negatywne sprzężenie zwrotne	67,82
TRIM25	RIG-I	ubikwitynacja RIG-I	wytworzenie stanu równowagi	22,71
USP4	RIG-I	deubikwitynacja RIG-I	zaburzenie stanu równowagi	94

TRIM25 jest zaangażowany również w proces ubikwitynacji MAVS zachodzący na powierzchni błony zewnętrznej mitochondrium [9]. Aktywacja RLR indukuje oligomeryzację i agregację MAVS, co powoduje przyłączenie do białka MAVS ligazy TRAF3 lub innej, nieznannej ligazy E3 ubikwityny (ryc. 3). TRAF3 katalizuje własną poliubikwitynację w pozycji K63, w następstwie której możliwe jest związanie białka NEMO z kinazą TBK1. Jednocześnie TRIM25 przyłącza łańcuch poliubikwityny do MAVS w pozycji K48, kierując go na drogę degradacji w proteasomie. Wskutek degradacji MAVS uwolnieniu ulega kompleks NEMO-TBK1, który przemieszcza się do cytosolu, gdzie TBK1 fosforyluje czynnik IRF-3. Aktywację RIG-I wskutek przyłączenia ubikwityny do K63 moduluje także inna ligaza E3 ubikwityny zwana Riplet/RNF135 (ring finger protein 135). C-końcowa domena Riplet oddziałuje z C-końcową domeną RD i DExD/H RIG-I aktywując ubikwitynację K63 domeny RD receptora, co zapobiega konwersji RIG-I w postać nieaktywną i w konsekwencji stymuluje syntezę IFN [65]. Nowo odkrytym pozytywnym regulatorem RIG-I jest także USP4 (ubiquitin-specific protease 4) [94]. Proteaza ta wiąże receptor i usuwa łańcuchy poliubikwityny zwią-

zane z lizyną w pozycji 48, zapobiegając degradacji receptora RIG-I w proteasomie. Zaobserwowano, że aktywność USP4 powoduje również znaczny wzrost ekspresji RIG-I, aktywację syntezy IFN- $\beta$ , a w konsekwencji zahamowanie replikacji VSV [94].

Szlak sygnałowy RLR jest pozytywnie regulowany przez ligazy np. TRIM25 lub RNF135. Ubikwitynacja białka adaptorowego MAVS oraz receptora RIG-I w pozycji K63 prowadzi do aktywacji szlaku sygnałowego RLR, a także indukcji odpowiedzi przeciwwirusowej. Natomiast ubikwitynacja białka MAVS w pozycji K48 związana jest z jego degradacją w proteasomie.

### Negatywne regulatory szlaku sygnałowego

Negatywnym regulatorem aktywacji ekspresji IFN- $\beta$  za pośrednictwem białek zawierających domenę CARD, czyli RIG-I, MDA5 i MAVS jest ligaza RNF125 (ring-finger protein 125), zwana również TRAC-1 (T cell RING protein identified in activation screen), odgrywająca pozytywną regulatorową rolę w aktywacji komórek T. N-końcowy re-

gion ligazy RNF125 oddziałuje z domeną CARD białka RIG-I, przylączając łańcuch ubikwityny do K48, co skutkuje degradacją receptora w proteasomie oraz zahamowaniem syntezy IFN typu I [3].

Długotrwała i niekontrolowana wrodzona odpowiedź odpornościowa może być przyczyną uszkodzenia tkanek oraz wyzwalac ostrych i przewlekłych stanów zapalnych. W związku z powyższym układ odpornościowy człowieka wykształcił mechanizm kontrolny zapobiegający nadmiernej aktywacji RLR. Negatywna regulacja szlaku sygnałowego receptorów związana jest głównie z aktywnością enzymów deubikwitynujących, DUB (deubiquitinase), które powodują proteolityczną degradację białek w proteasomie (tabela 2).

Białko CYLD (cylindromatosis) i DUBA (deubiquitinating enzyme A), zwany także OTUD5 (OTU domain containing 5), są białkami z rodziny DUB, które mając domeny OTU (ovarian tumor) wykazują zdolność do zablokowania aktywności RIG-I [18,43]. CYLD oddziałuje z domeną CARD receptora i białkiem TBK1 usuwając łańcuchy ubikwityny związane z lizyną w pozycji 63. Mechanizm ten zapobiega aktywacji czynnika IRF-3 przez kinazę TBK1, co skutkuje blokadą syntezy IFN typu I [18]. Natomiast DUBA oddziałuje z białkiem adaptorowym TRAF3, tłumiąc jego autoubikwitynację w pozycji K63, co uniemożliwia aktywację i utworzenie kompleksu z białkiem TBK1. Proces ten powoduje zahamowanie przesyłania sygnału z udziałem RLR przez zablokowanie fosforylacji IRF-3 i syntezy IFN typu I (ryc. 2) [43].

Fosforylację i dimeryzację czynnika IRF-3 blokuje także białko A20, zwane TNFAIP3 (tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3) [67]. Białko A20 ma N-końcową domenę OTU o aktywności deubikwitynazy i C-końcową domenę palców cynkowych (ZnF4) o aktywności ligazy ubikwityny [51]. Białko A20 blokuje odpowiedź przeciwwirusową indukowaną przez receptor RIG-I przez zahamowanie ubikwitynacji białek kompleksu TBK1-IKK-i [67], zablokowanie fosforylacji i dimeryzacji IRF-3, a także wiązania DNA [51]. Wstrzymanie przesyłania sygnału za pośrednictwem NF- $\kappa$ B wiąże się ze współdziałaniem obu domen A20, natomiast wyłącznie C-końcowa domena ligazy ubikwityny jest niezbędna do zakłócenia szlaku sygnałowego RIG-I. Dowodzi to, że A20 modyfikuje białka przez ubikwitynację lizyny w pozycji 48 prowadzącą do ich degradacji w proteasomie. Badania prowadzone w ostatnich latach wskazują, że białko A20 zaangażowane jest także w zahamowanie odpowiedzi przeciwwirusowej regulowanej przez czynnik NF- $\kappa$ B. W procesie tym uczestniczą również trzy inne białka regulatorowe TAX1BP1, RNF11 i domena HECT ligazy E3 Itch, które wspólnie z A20 tworzą kompleks edytujący ubikwitynę (A20 ubiquitin-editing complex) [10,67].

Białko 1 wiążące Tax1 (TAX1BP1, Tax1-binding protein 1), zwane również T6BP (TRAF6 binding protein) lub TXBP151 [67,82], zawiera dwie C-końcowe domeny palców cynkowych wiążące ubikwitynę, niezbędne do zahamo-

wania aktywności NF- $\kappa$ B i syntezy cytokin prozapalnych. W centrum aktywnym domen znajdują się motywy PPXY (gdzie X może stanowić dowolny aminokwas) wiążące się z domeną HECT ligazy Itch. Przypuszcza się, że TAX1BP1 występuje zazwyczaj w postaci nieaktywnej, wskutek czego domeny palców cynkowych i związane motywy PPXY są niedostępne dla kofaktorów, takich jak A20, Itch i RNF11. Fosforylacja w pozycjach S593 oraz S624 TAX1BP1 przez IKK- $\alpha$  aktywuje białko, umożliwiając utworzenie kompleksu A20 edytującego ubikwitynę [82].

Białko RNF11 (RING finger protein 11), pierwotnie zostało wykryte w guzach piersi i trzustki, w których reguluje szlak sygnałowy TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta) [85]. RNF11 hamuje ekspresję NF- $\kappa$ B i syntezę IFN- $\beta$  w następstwie oddziaływania z kinazami TBK-1 i IKK-i. RNF11 wiąże się z kinazami TBK1-IKK-i blokując ich poliubikwitynację przez ligazę TRAF3. Co więcej, stwierdzono, że oddziaływanie RNF11 z kinazami wymaga związania białka TAX1BP1. Białka RNF11 i A20 wspólnie z ligazą Itch tworzą kompleks, który reguluje poliubikwitynację K63 białek RIP1 oraz TRAF6, a następnie aktywację NF- $\kappa$ B za pośrednictwem TNF i IL-1. Badania z zastosowaniem krótkich interferujących cząsteczek RNA (siRNA) wykazały, że wyciszenie *RNF11* hamowało replikację VSV w hodowli ludzkich komórek nabłonkowych 293T [10].

W negatywnej regulacji szlaku sygnałowego RLR uczestniczą liczne białka m.in. RNF125, DUBA, CYLD i A20, których działanie polega głównie na zahamowaniu syntezy IFN typu I wskutek degradacji receptora RIG-I lub blokady szlaku sygnałowego.

### Inne czynniki zaangażowane w szlak sygnałowy RLR

Regulacja transdukcji szlaków sygnałowych odbywa się głównie w wyniku sekwestracji lub destabilizacji cząsteczek sygnałowych oraz negatywnych sprzężeń zwrotnych. Negatywna modulacja odpowiedzi PRR pełni istotną rolę w zachowaniu homeostazy organizmu, a także zahamowaniu szkodliwego i nadmiernego wytwarzania cytokin. Dotychczas poznano kilkadziesiąt białek zaangażowanych w procesy kontroli odpowiedzi przeciwwirusowej, z których większość, np. Atg5-Atg12, DAK i SIKE sekwestrują białka szlaku sygnałowego.

Przesyłanie sygnału za pośrednictwem receptorów RIG-I i MDA5, a także białka MAVS zahamowane jest w obecności kompleksu Atg5-Atg12, pełniącego zasadniczą rolę w regulacji procesu autofagii, czyli trawieniu przez komórkę obumarłych lub uszkodzonych elementów jej struktury [35]. Autofagia pełni główną rolę w rozpoznawaniu kwasu nukleinowego wirusa przez TLR7 w plazmocytoidalnych komórkach dendrytycznych (pDCs), w których jest skutecznym mechanizmem ograniczającym infekcję wirusową [47]. Kompleks Atg5-Atg12 oddziałuje z domeną CARD receptora RIG-I lub białka MAVS, zapobiegając utworzeniu kompleksu między RLR a białkiem MAVS i blokując tym samym indukcję ekspresji IFN typu I [35].

Kinaza dihydroksyacetonu DAK (dihydroxyacetone kinase) jest pierwszym opisanym białkiem, które pełni rolę negatywnego regulatora procesu ekspresji receptora MDA5. W następstwie oddziaływań N-końcowej domeny cykliczowej DAK z domeną CARD MDA5 zablokowana zostaje aktywacja receptora, fosforylacja i dimeryzacja IRF-3, a w konsekwencji ekspresja IFN- $\beta$  oraz odpowiedź przeciwwirusowa. Kinaza DAK jest umiejscowiona w cytoplazmie, nie wiąże się z białkami MAVS, TBK1 i IKK-i, a także nie wpływa na aktywację przez receptor MDA5 czynnika NF- $\kappa$ B [14].

Drugim białkiem uczestniczącym w regulacji ekspresji MDA5 jest RAVER1 (ribonucleic PTB-binding 1) pobudzający wiązanie poly(I:C) z receptorem. Zaobserwowano, że zahamowanie ekspresji RAVER1 blokuje aktywację receptora i syntezę IFN- $\beta$  w odpowiedzi na poly(I:C) zawierający długie łańcuchy. Nie stwierdzono natomiast zmian w indukcji ekspresji IRF-3 i NF- $\kappa$ B w odpowiedzi na stymulację 5'ppp ssRNA i poly(I:C) o krótkich łańcuchach. W związku z powyższym przypuszcza się, że RAVER1 jest koaktywatorem MDA5-zależnej komórkowej odpowiedzi przeciwwirusowej [11].

Białkiem oddziałującym z kinazami TBK1 i IKK-i jest SIKE (for suppressor of IKK $\epsilon$ ) [32]. W warunkach fizjologicznych SIKE jest związany z kinazą TBK1, od której oddysocjowuje po zakażeniu wirusowym lub stymulacji TLR3. Zaobserwowano, że nadekspresja SIKE blokuje utworzenie kompleksu między IRF-3, RIG-I i TRIF a białkami adaptorowymi TBK1 lub IKK-i, składnikami niezbędnymi do aktywacji czynnika IRF-3. SIKE nie przerywa natomiast oddziaływań TRIF z TRAF6 i RIP1, białkami uczestniczącymi w aktywacji szlaku sygnałowego TLR3 i syntezie NF- $\kappa$ B [32].

Gen *ISG15* (interferon stimulated gene 15) opisano po raz pierwszy w 1987 r., jako gen ulegający ekspresji pod wpływem IFN- $\alpha$  i IFN- $\beta$  [73]. *ISG15* o masie 15 kDa, jest przedstawicielem rodziny białek ubikwitynopodobnych, zaangażowanym w mechanizm regulacji odpowiedzi przeciwwirusowej. Wiązanie *ISG15* do białek zachodzi w trzystopniowym procesie zwanym *ISG*ilacją (*ISGylation*), w którym uczestniczy wiele enzymów, m.in. enzym UBE1L aktywujący *ISG15* wskutek adenylacji C-końcowego motywu LRLRGG, UBCM8/H8 aktywujący ubikwitynę oraz ligaza HERC/CEB1. Jednoczesna ekspresja UBE1L, UBCM8/H8 i *ISG15* w komórkach katalizuje modyfikację RIG-I, wpływając negatywnie na syntezę interferonu. Zgodnie z powyższym, zaobserwowano wzrost ekspresji IFN- $\beta$  po zakażeniu NDV w komórkach MEF *UBE1*<sup>-/-</sup> w stosunku do *UBE1*<sup>+/+</sup> [44]. Ligaza HERC5 oddziałuje również z czynnikiem IRF-3 stymulując jego oddziaływanie z *ISG15*. Proces wiązania *ISG15* stabilizuje IRF-3 blokując jego oddziaływanie z Pin1 ([peptidyl-prolyl cis/trans isomerase) NIMA-interacting 1 protein], białkiem aktywującym ubikwitynację i degradację IRF-3. W związku z tym, ligaza HERC5 pobudza ekspresję IRF-3 w odpowiedzi na infekcję wirusową [83].

Na regulację przekazywania sygnałów za pośrednictwem receptorów RLR mogą mieć wpływ także endogenne kwasy nukleinowe. Zakażenie komórki wirusem stymuluje wytwarzanie IFN- $\beta$ , który pobudza 2'5' syntetazę oligoadenylationową (OAS) [54] oraz endorybonukleazę RN-azę L [15,54]. OAS wytwarza z udziałem ATP 2-5A (oligonukleotydy adenylationowe) aktywujące endorybonukleazę, powodując zmianę jej konformacji przestrzennej (utworzenie dimerów) i stymulację aktywności enzymatycznej. RN-aza L rozkłada następnie RNA wirusa, w rezultacie powodując szlak sygnałowy receptorów RIG-I i MDA5 [54].

Na podstawie licznych badań można stwierdzić, że aktywacja syntezy IFN i cytokin prozapalnych jest regulowana przez wiele czynników, które mają zdolność oddziaływania z domeną CARD receptorów RIG-I i MDA5 lub z białkami adaptorowym szlaku sygnałowego RLR takimi jak MAVS, TBK1 i/lub IKK-i.

## PODSUMOWANIE

Identyfikacja receptorów RIG-I-podobnych, jako molekuli rozpoznających wzorce molekularne stanowi ważny etap w poznawaniu mechanizmów wrodzonej odpowiedzi przeciwwirusowej. Receptor RIG-I wiąże wirusowe RNA i DNA, a także syntetyczny analog dsRNA – poly(I:C) o długości około 300 pz, MDA5 natomiast rozpoznaje RNA wirusów o dodatniej polaryzacji nici i cząsteczki poly(I:C) o długości 4-8 kpz. W przypadku LGP2 brak domen CARD powoduje, że receptor ten nie uczestniczy w przekazywaniu sygnału, ale jest niezbędny do aktywacji odpowiedzi przeciwwirusowej zależnej od RIG-I i MDA5. Identyfikacja dsDNA wirusów za pośrednictwem RIG-I jest możliwa dzięki transkrypcji dsRNA na matrycy dsDNA przez enzym polimerazę RNA III. Udział receptorów RIG-I-podobnych w rozpoznaniu wirusów, których genom stanowi DNA został dotychczas potwierdzony jedynie dla kilku patogenów: adenowirus, EBV i HSV. Przypuszczamy, jednakże że RLR uczestniczą w rozpoznaniu i przekazaniu sygnałów wewnątrzkomórkowych także w przypadku CMV i innych wirusów DNA.

Dotychczas zidentyfikowano kilkanaście białek zaangażowanych w proces przesyłania sygnału z udziałem RLR oraz poznano część oddziaływań zachodzących między poszczególnymi typami receptorów (TLR, RLR i NLR) zaangażowanymi w indukcję odpowiedzi przeciwwirusowej [24]. Wykazano, że RLR mogą odgrywać ważną rolę nie tylko w rozpoznaniu patogenu i indukcji odpowiedzi przeciwwirusowej, lecz również w aktywacji procesu apoptozy oraz modulacji odpowiedzi przeciwnowotworowej. Komórki nowotworowe raka jajnika stymulowane ligandem RIG-I ulegają apoptozie oraz fagocytozie przez monocyty i komórki dendrytyczne [46]. Podobne obserwacje poczyniono w przypadku receptora MDA5, którego ekspresja w komórkach czerniaka hamuje tworzenie kolonii i powoduje ich programowaną śmierć [36]. Przypuszcza się, że ligandy RLR, takie jak 5'ppp RNA i poly(I:C) znajdują w przyszłości zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej wobec dużej toksyczności stosowanej obecnie te-



rapii systemowej i oporności komórek nowotworowych na cytostatyki. Badania przeprowadzone w ostatnich latach sugerują, że zaburzenia w przekazywaniu sygnału za pośrednictwem RLR mogą być również przyczyną rozwoju chorób o podłożu autoimmunologicznym. Wzrost ekspresji RIG-I i MDA5 zaobserwowano m.in. u chorych z łuszczycą [70], a receptora MDA5 u chorych na cukrzycę typu 1 [64] i izolowany niedobór przeciwciał typu IgA [16].

Stwierdzono także, że rzadkie warianty genu *IFIH1* chroniły przed rozwojem cukrzycy typu 1, natomiast warianty powszechnie występujące związane były ze wzrostem zachorowalności [64]. Poznanie mechanizmów molekularnych warunkujących aktywację RLR oraz indukcję odpowiedzi odpornościowej może się przyczynić do opracowania nowych i skutecznych strategii w leczeniu chorób wirusowych i nowotworowych.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Ablasser A., Bauernfeind F., Hartmann G., Latz E., Fitzgerald K.A., Hornung V.: RIG-I-dependent sensing of poly(dA:dT) through the induction of an RNA polymerase III-transcribed RNA intermediate. *Nat. Immunol.*, 2009; 10: 1065-1072
- [2] Andrejeva J., Childs K.S., Young D.F., Carlos T.S., Stock N., Goodbourn S., Randall R.E.: The V proteins of paramyxoviruses bind the IFN inducible RNA helicase, mda-5, and inhibit its activation of the *IFN-β* promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 17264-17269
- [3] Arimoto K.I., Takahashi H., Hishiki T., Konishi H., Fujita T., Shimotohno K.: Negative regulation of the RIG-I signaling by the ubiquitin ligase RNF125. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 7500-7505
- [4] Bao X., Liu T., Shan Y., Li K., Garofalo R.P., Casola A.: Human metapneumovirus glycoprotein G inhibits innate immune responses. *PLoS Pathog.*, 2008; 4: e1000077
- [5] Barral P.M., Sarkar D., Su Z.-Z., Barber G.N., DeSalle R., Racaniello V.R., Fisher P.B.: Functions of the cytoplasmic RNA sensors RIG-I and MDA-5: Key regulators of innate immunity. *Pharmacol. Ther.*, 2009; 124: 219-234
- [6] Beckham S.A., Brouwer J., Roth A., Wang D., Sadler A.J., John M., Jahn-Hofmann K., Williams B.R., Wilce J.A., Wilce M.C.: Conformational rearrangements of RIG-I receptor on formation of a multiprotein:dsRNA assembly. *Nucleic Acids Res.*, 2013; 41: 3436-3445
- [7] Bubko I., Gruber B.M., Anuszewska E.L.: Rola proteasomu w terapii chorób nieuleczalnych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 314-325
- [8] Castanier C., Garcin D., Vazquez A., Arnoult D.: Mitochondrial dynamics regulate the RIG-I-like receptor antiviral pathway. *EMBO Rep.*, 2010; 11: 133-138
- [9] Castanier C., Zemirli N., Portier A., Garcin D., Bidère N., Vazquez A., Arnoult D.: MAVS ubiquitination by the E3 ligase TRIM25 and degradation by the proteasome is involved in type I interferon production after activation of the antiviral RIG-I-like receptors. *BMC Biol.*, 2012; 10: 44
- [10] Charoenthongtrakul S., Gao L., Parvatykar K., Lee D., Harhaj E.W.: RING finger protein 11 targets TBK1/IKK $\alpha$  kinases to inhibit antiviral signaling. *PLoS One*, 2013; 8: e53717
- [11] Chen H., Li Y., Zhang J., Ran Y., Wei J., Yang Y., Shu H.B.: RAVER1 is a coactivator of MDA5-mediated cellular antiviral response. *J. Mol. Cell Biol.*, 2013; 5: 111-119
- [12] Chiu Y.H., MacMillan J.B., Chen Z.J.: RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type-I interferons through the RIG-I pathway. *Cell*, 2009; 138: 576-591
- [13] Cui S., Eisenächer K., Kirchofer A., Brzózka K., Lammens A., Lammens K., Fujita T., Conzelmann K.K., Krug A., Hopfner K.P.: The C-terminal regulatory domain is the RNA 5'-triphosphate sensor of RIG-I. *Mol. Cell*, 2008; 29: 169-179
- [14] Diao F., Li S., Tian Y., Zhang M., Xu L.G., Zhang Y., Wang R.P., Chen D., Zhai Z., Zhong B., Tien P., Shu H.B.: Negative regulation of MDA5 – but not RIG-I-mediated innate antiviral signaling by the dihydroxy-acetone kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 11706-11711
- [15] Dong B., Niwa M., Walter P., Silverman R.H.: Basis for regulated RNA cleavage by functional analysis of RNase L and Ire1p. *RNA*, 2001; 7: 361-373
- [16] Ferreira R.C., Pan-Hammarström Q., Graham R.R., Gateva V., Fontán G., Lee A.T., Ortmann W., Urcelay E., Fernández-Arquero M., Núñez C., Jorgensen G., Ludviksson B.R., Koskinen S., Haimila K., Clark H.F., Klareskog L., Gregersen P.K., Behrens T.W., Hammarström L.: Association of *IFIH1* and other autoimmunity risk alleles with selective IgA deficiency. *Nat. Genet.*, 2010; 42:777-780
- [17] Fitzgerald K.A., McWhirter S.M., Faia K.L., Rowe D.C., Latz E., Golenbock D.T., Coyle A.J., Liao S.M., Maniatis T.: IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 491-496
- [18] Friedman C.S., O'Donnell M.A., Legarda-Addison D., Ng A., Cárdenas W.B., Yount J.S., Moran T.M., Basler C.F., Komuro A., Horvath C.M., Xavier R., Ting A.T.: The tumor suppressor CYLD is a negative regulator of RIG-I-mediated antiviral response. *EMBO Rep.*, 2008; 9: 930-936
- [19] Foy E., Li K., Sumpter R. Jr., Loo Y.-M., Johnson C.L., Wang C., Fish P.M., Yoneyama M., Fujita T., Lemon S.M., Gale M. Jr.: Control of antiviral defenses through hepatitis C virus disruption of retinoic acid-inducible gene-1 signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 2986-2991
- [20] Fredericksen B.L., Gale M. Jr.: West Nile virus evades activation of interferon regulatory factor 3 through RIG-I-dependent and -independent pathways without antagonizing host defense signaling. *J. Virol.*, 2006; 80: 2913-2923
- [21] Fritz J.H., Ferrero R.L., Philpott D.J., Girardin S.E.: Nod-like proteins in immunity, inflammation and disease. *Nature Immunol.*, 2006; 7: 1250-1257
- [22] Gack M.U., Shin Y.C., Joo C.H., Urano T., Liang C., Sun L., Takeuchi O., Akira S., Chen Z., Inoue S., Jung J.U.: TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity. *Nature*, 2007; 446: 916-920
- [23] Gitlin L., Barchet W., Gilfillan S., Cella M., Beutler B., Flavell R.A., Diamond M.S., Colonna M.: Essential role of mda-5 in type I IFN responses to polyriboinosinic: polyribocytidylic acid and encephalomyocarditis picornavirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 8459-8464
- [24] Gołab J., Jakóbsiak M., Lasek W., Stokłosa T.: *Immunologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2011
- [25] Gorbalenya A.E., Koonin E.V., Donchenko A.P., Blinov V.M.: Two related superfamilies of putative helicases involved in replication, recombination, repair and expression of DNA and RNA genomes. *Nucleic Acids Res.*, 1989; 17: 4713-4730
- [26] Gorbalenya A.E., Koonin E.V., Donchenko A.P., Blinov V.M.: A novel superfamily of nucleoside triphosphate-binding motif containing proteins which are probably involved in duplex unwinding in DNA and RNA replication and recombination. *FEBS Letters*, 1988; 235: 16-24

- [27] Habjan M., Andersson I., Klingström J., Schümann M., Martin A., Zimmermann P., Wagner V., Pichlmair A., Schneider U., Mühlberger E., Mirazimi A., Weber F.: Processing of genome 5' termini as a strategy of negative-strand RNA viruses to avoid RIG-I-dependent interferon induction. *PLoS One*, 2008; 3: e2032
- [28] Harhaj E.W., Dixit V.M.: Regulation of NF- $\kappa$ B by deubiquitinases. *Immunol. Rev.*, 2012; 246: 107-124
- [29] Hausmann S., Marq J.B., Topparel C., Kolakofsky D., Garcin D.: RIG-I and dsRNA-induces IFN $\beta$  activation. *PLoS One*, 2008; 3: e3965
- [30] Hornung V., Ellegast J., Kim S., Brzózka K., Jung A., Kato H., Poeck H., Akira S., Conzelmann K.K., Schlee M., Endres S., Hartmann G.: 5'-Triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. *Science*, 2006; 314: 994-997
- [31] Hou F., Sun L., Zheng H., Skaug B., Jiang Q.X., Chen Z.J.: MAVS forms functional prion-like aggregates to activate and propagate antiviral innate immune response. *Cell*, 2011; 146: 448-461
- [32] Huang J., Liu T., Xu L.G., Chen D., Zhai Z., Shu H.B.: SIKE is an IKK $\epsilon$ /TBK1-associated suppressor of TLR3- and virus-triggered IRF-3 activation pathways. *The EMBO J.*, 2005; 24: 4018-4028
- [33] Ishikawa H., Barber G.N.: STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature*, 2008; 455: 674-678
- [34] Ishikawa H., Ma Z., Barber G.N.: STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity. *Nature*, 2009; 461: 788-792
- [35] Jounai N., Takeshita F., Kobiyama K., Sawano A., Miyawaki A., Xin K.Q., Ishii K.J., Kawai T., Akira S., Suzuki K., Okuda K.: The Atg5-Atg12 conjugate associates with innate antiviral immune responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 14050-14055
- [36] Kang D.C., Gopalkrishnan R.V., Wu Q., Jankowsky E., Pyle A.M., Fisher P.B.: mda-5: An interferon-inducible putative RNA helicase with double-stranded RNA-dependent ATPase activity and melanoma growth-suppressive properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 637-642
- [37] Kanneganti T.D., Body-Malapel M., Amer A., Park J.H., Whitfield J., Franchi L., Taraporewala Z.F., Miller D., Patton J.T., Inohara N., Núñez G.: Critical role for Cryopyrin/Nalp3 in activation of caspase-1 in response to viral infection and double-stranded RNA. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 36560-36568
- [38] Kato H., Sato S., Yoneyama M., Yamamoto M., Uematsu S., Matsui K., Tsujimura T., Takeda K., Fujita T., Takeuchi O., Akira S.: Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity*, 2005; 23: 19-28
- [39] Kato H., Takeuchi O., Mikamo-Sato H., Hirai R., Kawai T., Matsushita K., Hiiragi A., Dermody T.S., Fujita T., Akira S.: Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *J. Exp. Med.*, 2008; 205: 1601-1610
- [40] Kato H., Takeuchi O., Sato S., Yoneyama M., Yamamoto M., Matsui K., Uematsu S., Jung A., Kawai T., Ishii K.J., Yamaguchi O., Otsu K., Tsujimura T., Koh C.S., Reis e Sousa C., Matsuura Y., Fujita T., Akira S.: Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature*, 2006; 441: 101-105
- [41] Kawai T., Akira S.: The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int. Immunol.*, 2009; 21: 317-337
- [42] Kawai T., Takahashi K., Sato S., Coban C., Kumar H., Kato H., Ishii K.J., Takeuchi O., Akira S.: IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat. Immunol.*, 2005; 6: 981-988
- [43] Kayagaki N., Phung Q., Chan S., Chaudhari R., Quan C., O'Rourke K.M., Eby M., Pietras E., Cheng G., Bazan J.F., Zhang Z., Arnott D., Dixit V.M.: DUBA: a deubiquitinase that regulates type I interferon production. *Science*, 2007; 318: 1628-1632
- [44] Kim M.J., Hwang S.Y., Imaizumi T., Yoo J.Y.: Negative feedback regulation of RIG-I-mediated antiviral signaling by interferon-induced ISG15 conjugation. *J. Virol.*, 2008; 82: 1474-1483
- [45] Komuro A., Horvath C.M.: RNA- and virus-independent inhibition of antiviral signaling by RNA helicase LGP2. *J. Virol.*, 2006; 80: 12332-12342
- [46] Kübler K., Gehrke N., Riemann S., Böhnert V., Zillinger T., Hartmann E., Pölcher M., Rudlowski C., Kuhn W., Hartmann G., Barchet W.: Targeted activation of RNA helicase retinoic acid-inducible gene-I induces proimmunogenic apoptosis of human ovarian cancer cells. *Cancer Res.*, 2010; 70: 5293-52304
- [47] Lee H.K., Lund J.M., Ramanathan B., Mizushima N., Iwasaki A.: Autophagy-dependent viral recognition by plasmacytoid dendritic cells. *Science*, 2007; 315: 1398-1401
- [48] Leung D.W., Basler C.F., Amarasinghe G.K.: Molecular mechanisms of viral inhibitors of RIG-I-like receptors. *Trends Microbiol.*, 2012; 20: 139-146
- [49] Leung D.W., Prins K.C., Borek D.M., Farahbakhsh M., Tufariello J.M., Ramanan P., Nix J.C., Helgeson L.A., Otwinowski Z., Honzatko R.B., Basler C.F., Amarasinghe G.K.: Structural basis for dsRNA recognition and interferon antagonism by Ebola VP35. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2010; 17: 165-172
- [50] Li X., Ranjith-Kumar C.T., Brooks M.T., Dharmiah S., Herr A.B., Kao C., Li P.: The RIG-I-like receptor LGP2 recognizes the termini of double-stranded RNA. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 13881-13891
- [51] Lin R., Yang L., Nakhaei P., Sun Q., Sharif-Askari E., Julkunen I., Hiscott J.: Negative regulation of the retinoic acid-inducible gene I-induced antiviral state by the ubiquitin-editing protein A20. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 2095-2103
- [52] Loo Y.M., Fornek J., Crochet N., Bajwa G., Perwitasari O., Martinez-Sobrido L., Akira S., Gill M.A., García-Sastre A., Katz M.G., Gale M.Jr.: Distinct RIG-I and MDA5 signaling by RNA viruses in innate immunity. *J. Virol.*, 2008; 82: 335-345
- [53] Maelfait J., Beyaert R.: Emerging role of ubiquitination in antiviral RIG-I signaling. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2012; 76: 33-45
- [54] Malathi K., Dong B., Gale M.Jr., Silverman R.H.: Small self-RNA generated by RNase L amplifies antiviral innate immunity. *Nature*, 2007; 448: 816-819
- [55] Malmgaard L.: Induction and regulation of IFNs during viral infections. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2004; 24: 439-454
- [56] McCartney S.A., Thackray L.B., Gitlin L., Gilfillan S., Virgin H.W., Colonna M.: MDA-5 recognition of a murine norovirus. *PLoS Pathog.*, 2008; 4: e1000108
- [57] Melchjorsen J., Rintahaka J., Søby S., Horan K.A., Poltajainen A., Østergaard L., Paludan S.R., Matikainen S.: Early innate recognition of herpes simplex virus in human primary macrophages is mediated via the MDA5/MAVS-dependent and MDA5/MAVS/RNA polymerase III-independent pathways. *J. Virol.*, 2010; 84: 11350-11358
- [58] Meylan E., Curran J., Hofmann K., Moradpour D., Binder M., Bartenschlager R., Tschopp J.: Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature*, 2005; 437: 1167-1172
- [59] Michallet M.C., Meylan E., Ermolaeva M.A., Vazquez J., Rebsamen M., Curran J., Poeck H., Bscheider M., Hartmann G., König M., Kalinke U., Pasparakis M., Tschopp J.: TRADD protein is an essential component of the RIG-like helicase antiviral pathway. *Immunity*, 2008; 28: 651-661
- [60] Moore C.B., Bergstralh D.T., Duncan J.A., Lei Y., Morrison T.E., Zimmermann A.G., Accavitti-Loper M.A., Madden V.J., Sun L., Ye Z., Lich J.D., Heise M.T., Chen Z., Ting J.P.: NLRX1 is a regulator of mitochondrial antiviral immunity. *Nature*, 2008; 451: 573-577

- [61] Mori M, Yoneyama M., Ito T., Takahashi K., Inagaki F., Fujita T.: Identification of Ser-386 of interferon regulatory factor 3 as critical target for inducible phosphorylation that determines activation. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 9698-9702
- [62] Motz C., Schumman K.M., Kirchofer A., Moldt M., Witte G., Conzelmann K.K., Hopfer K.P.: Paramyxovirus V proteins disrupt the fold of the RNA sensor MDA5 to inhibit antiviral signaling. *Science*, 2013; 339: 690-693
- [63] Murali A., Li X., Ranjith-Kumar C.T., Bhardwaj K., Holzenburg A., Li P., Kao C.C.: Structure and function of LGP2, a DEX(D/H) helicase that regulates the innate immunity response. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 15825-15833
- [64] Nejentsev S., Walker N., Riches D., Egholm M., Todd J.A.: Rare variants of *IFIH1*, a gene implicated in antiviral responses, protect against type 1 diabetes. *Science*, 2009; 324: 387-389
- [65] Oshiumi H., Matsumoto M., Hatakeyama S., Seya T.: Riplet/RNF135, a RING finger protein, ubiquitinates RIG-I to promote interferon- $\beta$  induction during the early phase of viral infection. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 807-817
- [66] Osorio F., Reis e Sousa C.: Myeloid C-type lectin receptors in pathogen recognition and host defense. *Immunity*, 2011; 34: 651-664
- [67] Parvatiyar K., Barber G.L., Harhaj E.W.: TAX1BP1 and A20 inhibit antiviral signaling by targeting TBK1-IKK $\alpha$  kinases. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 14999-15009
- [68] Pichlmair A., Schulz O., Tan C.P., Näslund T.I., Liljeström P., Weber F., Reis e Sousa C.: RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. *Science*, 2006; 314: 997-1001
- [69] Pichlmair A., Schulz O., Tan C.P., Rehwinkel J., Kato H., Takeuchi O., Akira S., Way M., Schiavo G., Reis e Sousa C.: Activation of MDA5 requires higher-order RNA structures generated during virus infection. *J. Virol.*, 2009; 83: 10761-10769
- [70] Prens E.P., Kant M., van Dijk G., van der Wel L.I., Mourits S., van der Fits L.: IFN- $\alpha$  enhances poly-IC responses in human keratinocytes by inducing expression of cytosolic innate RNA receptors: relevance for psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 2008; 128: 932-938
- [71] Rajsbaum R., Albrecht R.A., Wang M.K., Maharaj N.P., Versteeg G.A., Nistal-Villán E., García-Sastre A., Gack M.U.: Species-specific inhibition of RIG-I ubiquitination and IFN induction by the influenza A virus NS1 protein. *PLOS Pathog.*, 2012; 8: e100305949
- [72] Rasmussen S.B., Jensen S.B., Costa E., Nielsen C., Kato H., Chen Z.J., Silverman R.H., Akira S., Paludan S.R.: Herpes simplex virus infection is sensed by both Toll-like receptors and RIG-like receptors, which synergize to induce type I interferon production. *J. Gen. Virol.*, 2009; 90: 74-78
- [73] Reich N., Evans B., Levy D., Fahey D., Knight E. Jr, Darnell J.E.Jr.: Interferon-induced transcription of a gene encoding a 15-kDa protein depends on an upstream enhancer element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987; 84: 6394-6398
- [74] Roth-Cross J.K., Bender S.J., Weiss S.R.: Murine coronavirus mouse hepatitis virus is recognized by MDA5 and induces type I interferon in brain macrophages/microglia. *J. Virol.*, 2008; 82: 9829-9838
- [75] Saha S.K., Pietras E.M., He J.Q., Kang J.R., Liu S.Y., Oganessian G., Shahangian A., Zarnegar B., Shiba T.L., Wang Y., Cheng G.: Regulation of antiviral responses by a direct and specific interaction between TRAF3 and Cardif. *EMBO J.*, 2006; 25: 3257-3263
- [76] Saito T., Hirai R., Loo Y-M., Owen D., Johnson C.L., Sinha S.C., Akira S., Fujita T., Gale M.Jr.: Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG-I and LGP2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 582-587
- [77] Saito T., Owen D.M., Jiang F., Marcotrigiano J., Gale M. Jr.: Innate immunity induced by composition-dependent RIG-I recognition of Hepatitis C virus RNA. *Nature*, 2008; 454: 523-527
- [78] Satoh T., Kato H., Kumagai Y., Yoneyama M., Sato S., Matsushita K., Tsujimura T., Fujita T., Akira S., Takeuchi O.: LGP2 is a positive regulator of RIG-I – and MDA5-mediated antiviral responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 1512-1517
- [79] Schlee M., Roth A., Hornung V., Hagmann C.A., Wimmenauer V., Barchet W., Coch C., Janke M., Mihailovic A., Wardle G., Juranek S., Kato H., Kawai T., Poeck H., Fitzgerald K.A. i wsp.: Recognition of 5'-triphosphate by RIG-I helicase requires short blunt double-stranded RNA as contained in panhandle of negative strand virus. *Immunity*, 2009; 31: 25-34
- [80] Seth R.B., Sun L., Ea C.K., Chen Z.J.: Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF- $\kappa$ B and IRF3. *Cell*, 2005; 122: 669-682
- [81] Sharma S., tenOever B.R., Grandvaux N., Zhou G.P., Lin R., Hiscott J.: Triggering the interferon antiviral response through an IKK-related pathway. *Science*, 2003; 300: 1148-1151
- [82] Shembade N., Pujari R., Harhaj N.S., Abbott D.W., Harhaj E.W.: The kinase IKK $\alpha$  inhibits activation of the transcription factor NF- $\kappa$ B by phosphorylation of the regulatory molecule TAX1BP1. *Nat. Immunol.*, 2012; 12: 834-843
- [83] Skaug B., Chen Z.J.: Emerging role of ISG15 in antiviral immunity. *Cell*, 2010; 143: 187-190
- [84] Sochocka M., Błach-Olszewska Z.: Mechanisms of innate immunity. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 250-258
- [85] Subramaniam V., Li H., Wong M., Kitching R., Attisano L., Wrana J., Zubovits J., Burger A.M., Seth A.: The RING-H2 protein RNF11 is overexpressed in breast cancer and is a target of Smurf2 E3 ligase. *Br. J. Cancer*, 2003; 89: 1538-1544
- [86] Takahashi K., Kawai T., Kumar H., Sato S., Yonehara S., Akira S.: Cutting edge: roles of caspase-8 and caspase-10 in innate immune responses to double-stranded RNA. *J. Immunol.*, 2006; 176: 4520-4524
- [87] Takahashi K., Kumeta H., Tsuduki N., Narita R., Shigemoto T., Hirai R., Yoneyama M., Horiuchi M., Ogura K., Fujita T., Inagaki F.: Solution structures of cytosolic RNA sensor MDA5 and LGP2 C-terminal domains. Identification of the RNA recognition loop in RIG-I-like receptor. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 17465-17474
- [88] Takahashi K., Yoneyama M., Nishihori T., Hirai R., Kumeta H., Narita R., Gale M.Jr., Inagaki F., Fujita T.: Nonself RNA-sensing mechanism of RIG-I helicase and activation of antiviral immune responses. *Mol. Cell*, 2008; 29: 428-440
- [89] Takamatsu S., Onoguchi K., Onomoto K., Narita R., Takahashi K., Ishidate F., Fujiwara T.K., Yoneyama M., Kato H., Fujita T.: Functional characterization of domains of IPS-1 using an inducible oligomerization system. *PLoS One*, 2013; 8: e53578
- [90] Takaoka A., Wang Z., Choi M.K., Yanai H., Negishi H., Ban T., Lu Y., Miyagishi M., Kodama T., Honda K., Ohba Y., Taniguchi T.: DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response. *Nature*, 2007; 448: 501-505
- [91] Unterholzner L., Keating S.E., Baran M., Horan K.A., Jensen S.B., Sharma S., Sirois C.M., Jin T., Xiao T., Fitzgerald K.A., Paludan S.R., Bowie A.G.: IFI16 is an innate immune sensor for intracellular DNA. *Nat. Immunol.*, 2010; 11: 997-1004
- [92] Uzri D., Gehrke L.: Nucleotide sequences and modifications that determine RIG-I/RNA binding and signaling activities. *J. Virol.*, 2009; 83: 4174-4184
- [93] Venkataraman T., Valdes M., Elsy R., Kakuta S., Caceres G., Saijo S., Iwakura Y., Barber G.N.: Loss of DEX/D/H box RNA helicase LGP2 manifests disparate antiviral responses. *J. Immunol.*, 2007; 178: 6444-6455
- [94] Wang L., Zhao W., Zhang M., Wang P., Zhao X., Yang S., Gao C.: USP4 positively regulates RIG-I-mediated antiviral response through deubiquitination and stabilization of RIG-I. *J. Virol.*, 2013; 87: 4507-4515

- [95] Wang X., Basler C.F., Williams B.R., Silverman R.H., Palese P., García-Sastre A.: Functional replacement of the carboxy-terminal two-thirds of the influenza A virus NS1 protein with short heterologous dimerization domains. *J. Virol.*, 2002; 76: 12951-12962
- [96] Wang Y., Tong X., Li G., Li J., Deng M., Yr X.: Ankrd17 positively regulates RIG-I-like receptor (RLR)-mediated immune signaling. *Eur. J. Immunol.*, 2012; 42: 1304-1315
- [97] Wu B., Peisley A., Richards C., Yao H., Zeng X., Lin C., Chu F., Walz T., Hur S.: Structural basis for dsRNA recognition, filament formation, and antiviral signal activation by MDA5. *Cell*, 2013; 152: 276-289
- [98] Xing J., Wang S., Lin R., Mossman K.L., Zheng C.: Herpes simplex virus 1 tegument protein US11 downmodulates the RLR signaling pathway via direct interaction with RIG-I and MDA-5. *J. Virol.*, 2012; 86: 3528-3540
- [99] Xu L.G., Wang Y.Y., Han K.J., Li L.Y., Zhai Z., Shu H.B.: VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN- $\beta$  signaling. *Mol. Cell*, 2005; 19: 727-740
- [100] Yoneyama M., Fujita T.: Structural mechanism of RNA recognition by the RIG-I-like receptors. *Immunity*, 2008; 29: 178-181
- [101] Yoneyama M., Kikuchi M., Matsumoto K., Imaizumi T., Miyagishi M., Taira K., Foy E., Loo Y.M., Gale M.Jr., Akira S., Yonehara S., Kato A., Fujita T.: Shared and unique functions of the DExD/H-box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity. *J. Immunol.*, 2005; 175: 2851-2858
- [102] Yoneyama M., Kikuchi M., Natsukawa T., Shinobu N., Imaizumi T., Miyagishi M., Taira K., Akira S., Fujita T.: The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 730-737
- [103] Yoneyama M., Suhara W., Fujita T.: Control of IRF-3 activation by phosphorylation. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2002; 22: 73-76
- [104] Yoneyama M., Suhara W., Fukuhara Y., Fukuda M., Nishida E., Fujita T.: Direct triggering of the type I interferon system by virus infection: activation of a transcription factor complex containing IRF-3 and CBP/p300. *EMBO J.*, 1998; 17: 1087-1095
- [105] Yu Y., Wang S.E., Hayward G.S.: The KSHV immediate-early transcription factor RTA encodes ubiquitin E3 ligase activity that targets IRF7 for proteasome-mediated degradation. *Immunity*, 2005; 22: 59-70
- [106] Zeng W., Sun L., Jiang X., Chen X., Hou F., Adhikari A., Xu M., Chen Z.J.: Reconstitution of the RIG-I pathway reveals a signaling role of unanchored polyubiquitin chains in innate immunity. *Cell*, 2010; 141: 315-330
- [107] Zhong B., Yang Y., Li S., Wang Y.Y., Li Y., Diao F., Lei C., He X., Zhang L., Tien P., Shu H.B.: The adaptor protein MIRA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation. *Immunity*, 2008; 29: 538-550

---

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.