

KRZYSZTOF RAKUS, MAGDALENA CHADZIŃSKA

Zakład Immunologii Ewolucyjnej  
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych  
Uniwersytet Jagielloński  
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków  
E-mail: krzysztof.rakus@uj.edu.pl

## RECEPTORY ROZPOZNAJĄCE WIRUSOWE KWASY NUKLEINOWE W ODPOWIEDZI PRZECIWWIRUSOWEJ RYB\*

### WSTĘP

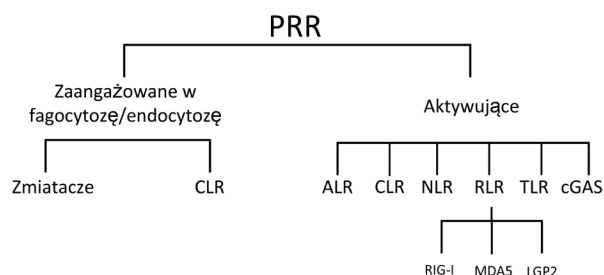
Ryby są pierwszymi kręgowcami, które posiadają w pełni wykształcony układ odpornościowy, składający się z odporności wrodzonej i nabytej. Podobnie, jak ma to miejsce u ssaków, funkcje rozpoznawania patogenów w odporności wrodzonej pełnią receptory rozpoznające wzorce (ang. pattern recognition receptors, PRR), które są obecne m.in. na/w komórkach układu odpornościowego ryb. Wykrywają one specjalne struktury i cząsteczki występujące na powierzchni bądź wewnątrz patogenów, określane jako wzorce molekularne związane z patogenami (ang. pathogen associated molecular patterns, PAMP). Są to struktury konserwatywne ewolucyjnie, charakterystyczne dla całej grupy drobnoustrojów, szczególnie istotne dla ich wirulencji, i których nie ma na/w komórkach gospodarza (MAGNADOTTIR 2006). Typowym przykładem struktur PAMP są np.: komponenty ścian komórek bakteryjnych, takie jak: peptydoglikan (mureina), kwasy lipotejchajowe (bakterie Gram-dodatnie), lipopolisacharyd (LPS) (bakterie Gram-ujemne), białka bakteryjne (flagellina), występujące w ścianie komórkowej drożdży  $\beta$ -glukany czy białka kapsydów wirusowych. Do PAMP należy również materiał genetyczny bakterii i wirusów, w tym DNA zawierający niemetylowane wysepki CpG, DNA znajdujący się poza fizjologicznym dla niego obszarem w komórce oraz jednoniciowy RNA (ang. single-stranded RNA, ssRNA) lub dwuniciowy RNA

(ang. double-stranded RNA, dsRNA) pochodzenia wirusowego (AKIRA i współaut. 2006).

Najważniejsza funkcja PRR polega na opsonizacji patogenu i indukcji jego fagocytozy oraz na aktywacji reakcji zapalnej. W związku z tym pod względem funkcjonalnym PRR dzieli się na te: (i) zaangażowane w endocytozę/fagocytozę, do których zalicza się receptory zmiatacze i receptory lektynowe zlokalizowane na powierzchni fagocytów oraz (ii) receptory aktywujące. Receptory aktywujące mogą być zlokalizowane zarówno na powierzchni komórki, jak w jej wnętrzu (w cytoplazmie lub w połączeniu z błonami endosomów) (Ryc. 1).

Wiele PRR opisanych u ssaków występuje także u ryb, chociaż ich zdolność do wiązania poszczególnych ligandów, wewnątrzkomórkowe szlaki przekazywania sygnałów i mechanizmy aktywacji odpowiedzi immunologicznej nie są tak dobrze poznane jak u ssaków. Z drugiej strony, nie wszystkie PRR scharakteryzowane u ssaków zostały jak dotąd zidentyfikowane u ryb, z kolei u ryb stwierdzono obecność kilku specyficznych PRR niewystępujących u ssaków (np. opisane poniżej PKZ, TLR21 czy TLR22). Dodatkowo, niektóre PRR u ryb rozpoznają także inne ligandy aniżeli ich odpowiedniki u ssaków. Ciekawym przykładem jest TLR4 (ang. Toll-like receptor 4), który jest głównym PRR ssaków odpowiedzialnym za rozpoznawanie LPS. U wielu ryb brak jest genu ortologicznego do *tlr4*, bądź jeśli nawet występuje (głównie u ryb karpiowatych), to w genomie

\*Niniejsza praca powstała dzięki wsparciu w ramach projektu nr UMO-2015/18/E/NZ6/00516 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (NCN).



Ryc. 1. Uproszczony podział receptorów rozpoznających wzorce (PRR) ze względu na funkcję.

CLR – receptory lektynopodobne typu C, ALR – receptory AIM2-podobne, NLR – receptory NOD-podobne, RLR – receptory RIG-I-podobne, TLR – receptory Toll-podobne oraz cGAS – syntaza cGAMP. Dodatkowo uwzględniono podział receptorów RLR.

nie zidentyfikowano genów kodujących białka kostymulujące MD-2 (ang. myeloid differentiation protein 2) i CD14, niezbędnych do związania LPS i następnie przekazania sygnału do wnętrza komórki *via* TLR4. Wydaje się zatem, iż TLR4 nabył swoje właściwości do rozpoznawania LPS po rozdzieleniu się ryb od pozostałych kręgowców (SEPULCRE i współaut. 2009).

Niewątpliwie ryby stanowią doskonały model do identyfikacji i badania ewolucji mechanizmów odporności u kręgowców. Dodatkowo, poznanie mechanizmów przeciwwirusowej odpowiedzi immunologicznej u ryb jest niezbędnym krokiem do lepszej ochrony ryb przed zakażeniami wirusowymi, poprzez opracowanie nowych strategii diagnostycznych, leczniczych i profilaktycznych, które są tak bardzo potrzebne w akwakulturze, gdzie choroby wirusowe wpływają na znaczne obniżenie produkcji.

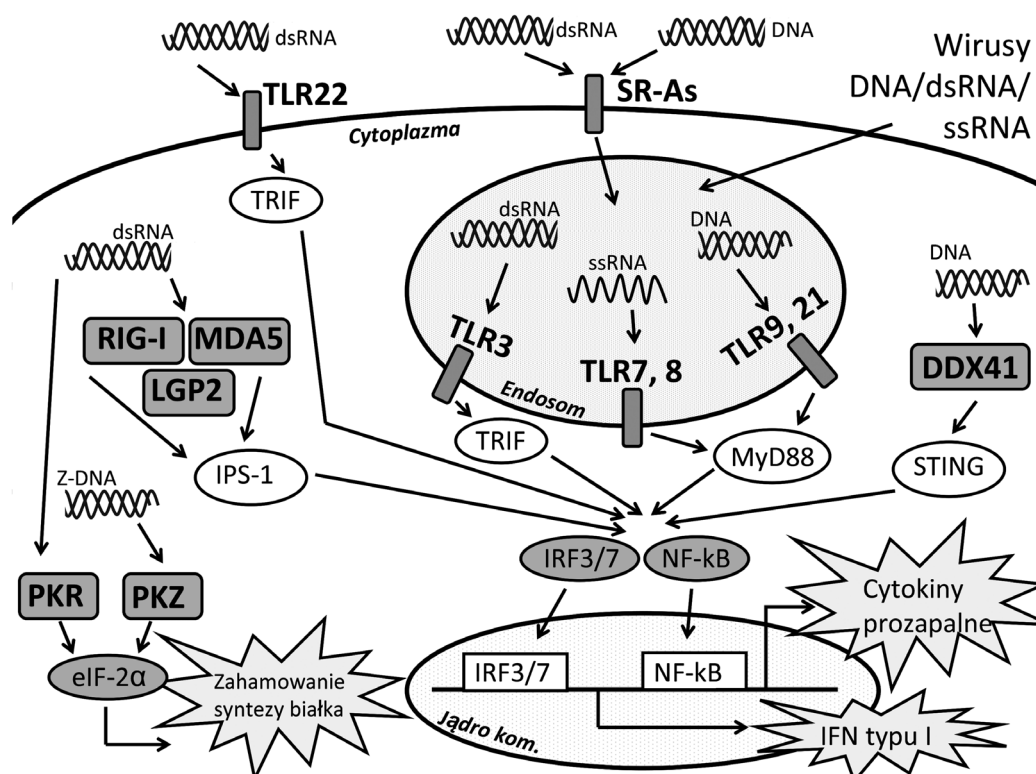
## PRR RYB ROZPOZNAJĄCE WIRUSOWE KWASY NUKLEINOWE

Wirusowe kwasy nukleinowe (DNA i RNA) są głównymi strukturami PAMP pochodzenia wirusowego rozpoznawanymi przez wrodzony układ odpornościowy. Wirusowe kwasy nukleinowe są rozpoznawane w oparciu o ich strukturę, subkomórkową lokalizację, a nawet ich sekwencję. U ssaków, wśród receptorów rozpoznających wirusowe kwasy nukleinowe należy wyróżnić: (i) receptory Toll-podobne (ang. Toll-like receptors, TLR), rozpoznające wirusowe DNA i RNA wewnątrz endosomów; (ii) receptory RIG-I-podobne (ang. RIG-I-like receptors, RLR), które należą do rodziny DExD/H-box RNA helikaz i rozpoznają wirusowe RNA w cytoplazmie; (iii) receptory NOD-podobne (ang. NOD-like

receptors, NLR,), występujące w cytoplazmie i których aktywacja prowadzi do indukcji inflamasomów, oraz (iv) cytoplazmatyczne sensory DNA (ang. cytosolic DNA sensors, CDSs) (WILKINS i GALE 2010, YONEYAMA i FUJITA 2010, JENSEN i THOMSEN 2012).

PRR ryb mają zdolność wiązania i rozpoznawania wszystkich trzech typów kwasów nukleinowych pochodzenia wirusowego: DNA, ssRNA i dsRNA, które mogą pojawić się w komórce podczas zakażenia wirusowego (Ryc. 2). W komórkach zwierząt DNA występuje tylko w jądrze komórkowym lub mitochondriach (mtDNA), więc jego wykrycie w cytoplazmie jest sygnałem świadczącym o uszkodzeniu komórki lub zakażeniu wirusowym. U ssaków za rozpoznawanie DNA w cytoplazmie odpowiedzialne są tzw. sensory cytoplazmatycznego DNA, do których należą m.in.: receptor DAI (ang. DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors), LRRFIP1 (ang. leucine-rich repeat flightless I interacting protein-1), AIM2 (ang. absent in melanoma 2), RNA polimeraza III (RNA pol III), cGAS (ang. cGAMP synthase), DExD/H-box RNA helikazy (takie jak DDX41, DHX9 i DHX36) oraz IFI16 (ang. interferon gamma inducible protein 16) (UNTERHOLZNER 2013). Poszczególne receptory mogą rozpoznawać DNA w cytoplazmie i bezpośrednio aktywować syntezę interferonów (IFN) typu I (np. DAI) lub biorą udział o odpowiedzi prozapalnej poprzez indukcję dojrzewania IL-1 $\beta$  na drodze aktywacji inflamasomu (np. AIM2). Z kolei RNA pol III przeprowadza transkrypcję fragmentów DNA, zawierających sekwencję poly(dA-dT), do dsRNA, który jest następnie rozpoznawany przez receptory rozpoznające dsRNA w cytoplazmie takie jak receptory RIG-I-podobne (RLR) (UNTERHOLZNER 2013), opisane w kolejnej części tego artykułu. Jeszcze inny szlak sygnalizacyjny aktywowany jest po wykryciu DNA w cytoplazmie przez białko cGAS. Po związaniu do DNA, białko to ulega dimeryzacji i katalizuje powstawanie 2'3'cGAMP (ang. cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate) z ATP i GTP, które następnie wiążą się z białkiem STING (ang. stimulator of interferon genes), co prowadzi do aktywacji syntezy IFN typu I (RENIWICZ i współaut. 2016).

U ryb jak dotąd opisano tylko dwa receptory rozpoznające obecność DNA w cytoplazmie. Pierwszym z nich jest PKZ (ang. protein kinase containing Z-DNA binding motifs), scharakteryzowany przez ROTHENBURG i współaut. (2005), i jak do tej pory opisany tylko u ryb łososiowatych i karpowatych. PKZ nie występuje u pozostałych kręgowców, jest natomiast paralogiem innej kinazy: PKR (ang. dsRNA-dependent protein kinase), występującej u wszystkich kręgowców



Ryc. 2. Receptory i enzymy rozpoznające wirusowe kwasy nukleinowe oraz główne białka adaptorowe w szlakach transdukcji sygnału wewnątrzkomórkowego u ryb.

Ryby oprócz receptorów opisanych u ssaków, posiadają dodatkowe receptory niewystępujące u ssaków takie jak PKZ, TLR21 i TLR22. Opis w tekście (wg POYNTER i współaut. 2015, zmodyfikowana).

i odpowiedzialnej za rozpoznawanie dsRNA w cytoplazmie. PKR jest enzymem, którego konstytutywna ekspresja została wykazana w większości rodzajów komórek i który należy do grupy białek przeciwwirusowych zwanych ogólnie ISG (ang. interferon-stimulated genes). Białka ISG to białka, których ekspresja jest indukowana pod wpływem IFN typu I. Odgrywają one rolę w odpowiedzi przeciwwirusowej. Oprócz wiązania dsRNA i funkcji w procesach związanych z odpowiedzią przeciwwirusową, PKR pełni w komórce także inne funkcje, wpływając m.in. na procesy jej różnicowania (RENIWICZ i współaut. 2016). Części C-terminalne PKZ i PKR są bardzo do siebie zbliżone, natomiast w części N-terminalnej PKZ posiada dwie domeny Z- $\alpha$ , zamiast dwóch domen wiążących dsRNA, występujących w PKR. Domeny Z- $\alpha$  wiążą fragmenty lewoskrętnego DNA (Z-DNA) lub lewoskrętnego dsRNA (Z-RNA). Związanie przez PKZ zarówno Z-DNA, jak i Z-RNA prowadzi do aktywacji receptora, powodując jego homodimeryzację i autofosforylację. Aktywowany PKZ (podobnie jak ma to miejsce w przypadku PKR aktywowanego przez dsRNA) fosforyluje eIF-2 $\alpha$  (ang. eukaryotic initiation factor 2 alpha), który jest czynnikiem inicjującym translację, co prowadzi do

zahamowania syntezy wszystkich białek w komórce, zarówno endogennych (własnych), jak i wirusowych (ROTHENBURG i współaut. 2005, BERGAN i współaut. 2008, LEMAIRE i współaut. 2008). Jak dotąd, przeciwwirusowa rola PKZ badana była tylko *in vitro* w hodowli komórkowej CAB (ang. crucian carp blastula embryonic cells) zakażonej wirusem GCRV (ang. grass carp reovirus) (LIU i współaut. 2011).

Drugim, obecnym u ryb typem PRR, rozpoznającym wirusowe DNA w cytoplazmie, jest DDX41 (ang. DEAD box protein 41), scharakteryzowany u flądry japońskiej (*Paralichthys olivaceus*) (QUYNH i współaut. 2015). Receptor ten występuje także u ssaków. Wykazano, iż zakażenie ryb wirusem DNA o nazwie LCDV (ang. lymphocystis disease virus) podnosi ekspresję genu *DDX41* m.in. w skrzelach, sercu, nerce, wątrobie i śledzionie. Dodatkowo wykazano, iż aktywacja DDX41 pod wpływem stymulacji C-di-GMP (ang. cyclic diguanylate monophosphate) – dinukleotydu składającego się z dwóch guanin połączonych z rybozą i resztami fosforanowymi, indukuje odpowiedź przeciwwirusową (ekspresja genów kodujących IFN typu I i genu kodującego białko przeciwwirusowe Mx), a także zwiększa ekspresję cytokin pro-

zapalnych (interleukin: IL-1 $\beta$  i IL-6) (QUYNH i współaut. 2015). DDX41 ssaków oraz ryb aktywuje wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe poprzez oddziaływanie z białkiem STING (ang. stimulator of interferon genes). Ortologi białka STING opisano m.in. u karasia złocistego (*Carassius auratus*), danio przegowanego (*Danio rerio*) i strzebli grubogłowej (*Pimephales promelas*) (POYNTER i współaut. 2015). Wydaje się zatem, że DDX41 ryb ma podobne działanie przeciwwirusowe i prozapalne jak jego odpowiednik u ssaków.

Dodatkową cechą DNA pochodzenia wirusowego (ale też bakteryjnego) jest duża zawartość nisko metylowanych wysepek CpG, co odróżnia go od DNA własnego i sprawia, iż taki DNA będzie rozpoznawany przez PRR (np. TLR9 i TLR21 zakotwiczone w błonie endosomu). TLR9 został opisany u ssaków oraz u wielu gatunków ryb w tym m.in. łososia atlantyckiego (*Salmo salar*), amura białego (*Ctenopharyngodon idella*), suma kanałowego (*Ictalurus punctatus*), pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*), rozdymki (*Takifugu rubripes*), flądry japońskiej i danio przegowanego (POYNTER i współaut. 2015). U ryb TLR9 ulega ekspresji w wielu różnych tkankach niezależnie od stadium rozwoju. U większości gatunków ryb obserwuje się aktywację TLR9 pod wpływem niemetylowanych wysepek CpG w syntetycznych oligodeoksynukleotydach (ODN) i w konsekwencji pobudzenie ekspresji cytokin prozapalnych (SKJAEVELAND i współaut. 2008, YEH i współaut. 2013, POYNTER i współaut. 2015). TLR9, tak jak większość TLR przekazuje sygnał wewnątrzkomórkowy z wykorzystaniem białka adaptorowego MyD88 (ang. myeloid differentiation primary response gene 88), co prowadzi do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B (ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), jego translokacji do jądra komórkowego i ekspresji cytokin prozapalnych (TAKEDA i AKIRA 2004).

Kolejnym receptorem ryb rozpoznającym DNA pochodzenia wirusowego jest TLR21. Receptor ten nie występuje u ssaków, a oprócz ryb [m.in. dorsz atlantycki (*Gadus morhua*), łosoś atlantycki, amur biały, sum kanałowy, danio przegowane] jego obecność stwierdzono także u kur (POYNTER i współaut. 2015). Podobnie jak TLR9, TLR21 występuje związany z błoną endosomalną, gdzie domena N-terminalna, odpowiedzialna za wiązanie PAMP znajduje się w świetle endosomu, natomiast domena C-terminalna znajduje się w części cytoplazmatycznej i związana jest z przekazywaniem sygnału wewnątrzkomórkowego. TLR21 ulega aktywacji pod wpływem CpG-ODN (YEH i współaut. 2013). U ryb ekspresję TLR21 obserwuje się

głównie w narządach immunokompetentnych takich jak np. śledziona (SUNDARAM i współaut. 2012). Uważa się, że w porównaniu do TLR9, TLR21 ma węższy zakres wiązania ligandów. TLR21 przekazuje sygnał wewnątrzkomórkowy z wykorzystaniem białka adaptorowego MyD88 (POYNTER i współaut. 2015).

W przypadku egzogenego RNA pochodzenia wirusowego istnieje szereg cech, które odróżniają go od endogenego (własnego) RNA zwierząt. Większość endogenego RNA występuje w postaci jednoniciowego RNA (ssRNA). Zarówno wirusowe, jak i endogenne ssRNA posiadają na końcach 5' grupy fosforanowe. Co jednak ważne, w komórkach eukariotycznych ssRNA syntetyzowany w jądrze komórkowym ulega modyfikacji poprzez dodanie czapeczki (cap) na końcu 5'. Jest to struktura chroniąca migrujący do cytoplazmy własny ssRNA przed działaniem komórkowych endonukleaz. Dodatkowo w endogennym ssRNA dochodzi do usunięcia intronów i łączenia eksonów oraz dodania na końcu 3' sekwencji adeninowych (poliA). Wirusowy ssRNA nie posiada tych modyfikacji. Ważnymi receptorami rozpoznającymi wirusowe ssRNA są TLR7 i TLR8, które występują zakotwiczone w błonie endosomów i wiążą ssRNA znajdujący się w świetle endosomów. TLR7 myszy oraz TLR7 i TLR8 człowieka wiążą ssRNA wirusowe i pobudzają ekspresję IFN typu I oraz cytokin prozapalnych. Wydaje się natomiast, że TLR8 myszy nie wykazuje aktywacji pod wpływem ssRNA, w związku z czym uważa się, że jest нефunkcjonalny (HEMMI i współaut. 2002, HEIL i współaut. 2004, GANTIER i współaut. 2008). TLR7 i TLR8 zostały także opisane u wielu gatunków ryb. Zarówno TLR7 jak i TLR8 wykazują konstytutywną ekspresję w różnych tkankach i narządach wliczając w to narządy immunokompetentne (np. nerka głowowa, śledziona) (POYNTER i współaut. 2015). Jak dotąd nie opisano jakie dokładnie ligandy są wiązane przez TLR7 i -8 u ryb. Co ciekawe, wykazano, iż stymulacja ryb poly I:C (kwas poliryboinozyłowy: polirybocytydylowy) będącym syntetycznym analogiem dwuniciowego RNA, indukuje ekspresję TLR7 i -8 u amura białego i należącej do rodziny kulbinowatych *Pseudosciaena crocea*, podczas gdy u ssaków nie obserwuje się wpływu poly I:C na ekspresję TLR7 i -8 (CHEN i współaut. 2013, QIAN i współaut. 2013). CHEN i współaut. (2013) prowadząc badania polegające na zakażeniu wirusem GCRV komórek linii CIK (ang. *C. idella* kidney) amura białego z wyłączonym (knock-out) genem TLR8 wykazali, że TLR8 u ryb może negatywnie regulować odpowiedź przeciwwirusową. Hipoteza ta wymaga jednak dodatkowych badań. Z kolei SU i współaut.

(2015), którzy opisali polimorfizm pojedynczych nukleotydów (ang. single nucleotide polymorphism, SNP) w obrębie genu *TLR8* u amura białego, wykazali związek pomiędzy dwoma wariantami SNP a odpornością/podatnością amura na zakażenie GCRV, co potwierdza rolę *TLR8* w odporności przeciwwirusowej u ryb. Aktywacja *TLR7* i *-8* u ryb wymaga obecności dojrzałych endosomów, a pobudzenie odpowiedzi immunologicznej jest zależne od białka adaptorowego MyD88 i aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B (ZHOU i SUN 2015).

Również liniowy dwuniciowy RNA (dsRNA) pochodzenia wirusowego jest ligandem rozpoznawanym przez PRR. U ryb na powierzchni komórek występuje *TLR22*, który ma zdolność wiązania dsRNA znajdującego się w przestrzeni międzykomórkowej. *TLR22* występuje tylko u ryb i w wyniku aktywacji indukuje ekspresję IFN typu I (MATSUO i współaut. 2008). U turбота (*Scophthalmus maximus*) opisano konstytutywną ekspresję *TLR22* w wielu różnych tkankach i narządach zaś najwyższy poziom ekspresji tego receptora wykazano w narządach immunokompetentnych (nerka głowowa, nerka, śledziona) (HU i współaut. 2015). Wzrost poziomu ekspresji *TLR22* jest indukowany w wyniku stymulacji poly I:C, ale także bakteryjnym LPS, oraz podczas zakażenia iridowirusem turbot reddish body iridovirus (HU i współaut. 2015). Wykazano także zależność pomiędzy długością fragmentu dsRNA rozpoznawanego przez *TLR22*, a poziomem aktywacji odpowiedzi przeciwwirusowej. Była ona najwyższa przy zastosowaniu dsRNA o długości 1000 pz (MATSUO i współaut. 2008). dsRNA jest rozpoznawany także przez *TLR3*, który u ssaków i ryb występuje związany z błoną endosomalną. *TLR3* rozpoznaje dsRNA wewnątrz endosomów i indukuje ekspresję cytokin prozapalnych oraz aktywuje odpowiedź przeciwwirusową. *TLR3* wykazuje konstytutywną ekspresję w wielu różnych tkankach i narządach ryb (POYNTER i współaut. 2015), a jego ekspresja ulega podwyższeniu pod wpływem stymulacji poly I:C oraz podczas zakażenia wirusowego (HUANG i współaut. 2011, LIN i współaut. 2013, SAMANTA i współaut. 2013). Nadekspresja *TLR3* w linii komórkowej flądry japońskiej (ang: Japanese flounder kidney YO-K cells) stymulowanej poly I:C, wpływa na wzrost ekspresji genów kodujących cytokiny prozapalne (HWANG i współaut. 2012), zaś wyłączenie *TLR3* (ang. knock-down) *in vivo* u flądry japońskiej za pomocą siRNA skutkuje obniżeniem aktywności przeciwwirusowej w odpowiedzi na stymulację poly I:C (ZHOU i współaut. 2014). W przeciwieństwie do pozostałych *TLR*, *TLR3* i *TLR22* przekazują sygnał wewnątrzkomór-

kowy z pominięciem białka adaptorowego MyD88. W ich przypadku główną rolę w transdukcji sygnału wewnątrzkomórkowego odgrywa białko adaptorowe TRIF (ang. TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- $\beta$ ). W wyniku przekazywania sygnału z białka TRIF, dochodzi do aktywacji NF- $\kappa$ B oraz IRF-3 i IRF-7 (ang. interferon regulatory factor), co prowadzi do ekspresji cytokin prozapalnych oraz IFN typu I (TAKE-DA i AKIRA 2004).

Dodatkowo, w rozpoznawaniu zewnątrzkomórkowego wirusowego dsRNA, a także DNA, zaangażowane są receptory zmiatacze klasy A (ang. class A scavenger receptor, SR-A), występujące na powierzchni komórek. Receptory SR-A są glikoproteinami błonowymi typu II i u ssaków wiążą m.in. zewnątrzkomórkowy dsRNA, który następnie ulega internalizacji do wnętrza endosomów, gdzie może być rozpoznawany przez *TLR3*, co prowadzi do aktywacji odpowiedzi przeciwwirusowej (PEARSON 1996, DEWITTE-ORR i współaut. 2010). Tak więc, rola SR-A w rozpoznawaniu kwasów nukleinowych wirusów polega na ich wiązaniu na powierzchni komórki, a następnie dostarczeniu do wnętrza komórki, gdzie są rozpoznawane przez inne PRR. Receptory SR-A zostały również opisane u ryb (POYNTER i współaut. 2015), ale ich funkcja w odpowiedzi immunologicznej jak dotąd nie została poznana. Wykazano obecność sekwencji kodujących wybrane SR-A u ryb, a analiza *in silico* wykazała, że niektóre geny (np. SCARA3, -4, -5) są konserwatywne w badanych grupach ryb (WHELAN i współaut. 2012). Wykazano także wzrost poziomu ekspresji genów kodujących niektóre SR-A (MARCO, SCARA3, -5) podczas zakażenia bakteryjnego u *Pseudosciaena crocea* (HE i współaut. 2014).

Obecny w cytoplazmie wirusowy dsRNA rozpoznawany jest także przez opisany wcześniej enzym PKR (LEMAIRE i współaut. 2008) oraz grupę receptorów cytoplazmatycznych, należących do RIG-I-podobnych receptorów (RLR) i należących do rodziny DExD/H-box RNA helikaz, których charakterystykę przedstawiamy poniżej.

#### DExD/H-BOX RNA HELIKAZY

DExD/H-box RNA helikazy należą do nadrodziny 2 (ang. superfamily 2, SF2) helikaz (GORBALENYA i KOONIN 1993). Charakteryzują się obecnością co najmniej 9 konserwatywnych motywów (motyw Q, I, Ia, Ib, II, III, IV, V, i VI). Motyw II (tzw. motyw Walke-*ra B*), charakteryzuje się konserwatywną sekwencją aminokwasów: kwas asparaginowy (D) – kwas glutaminowy (E) – jeden dowolny aminokwas (x) – kwas asparaginowy (D)

lub histydyna (H), od której to wywodzi się nazwa tych białek (DExD/H-box). Motyw II razem z motywem I (tzw. motyw Walkera A), motywem Q oraz motywem VI jest odpowiedzialny za wiązanie i hydrolizę ATP. Pozostałe motywy biorą udział w wiązaniu RNA i rozplatywaniu nici RNA (CORDIN i współaut. 2006, LINDER 2006).

DExD/H-box RNA helikazy zostały zidentyfikowane we wszystkich komórkach eukariotycznych i prokariotycznych, natomiast brak jest ich u większości wirusów (RANJI i BORIS-LAWRIE 2010). U ssaków opisano jak dotąd co najmniej 60 białek z rodziny DExD/H-box RNA helikaz, które zostały sklasyfikowane w 4 grupach: receptory RIG-I-podobne (RLR), grupa DEAH/RHA, grupa DEAD-box i białka Ski2-podobne (JANKOWSKY i FAIRMAN-WILLIAMS 2010). Białka te odgrywają kluczową rolę na wszystkich etapach metabolizmu RNA w komórce, począwszy od transkrypcji i obróbki pre-mRNA, poprzez transport RNA i biogenezę rybosomów, a skończywszy na translacji i degradacji RNA (FULLER-PACE 2006, LINDER 2006). Dodatkowo, wiele z pośród DExD/H-box RNA helikaz to białka wielofunkcyjne, które pełnią także rolę w regulacji cyklu komórkowego (SCHRODER 2010), apoptozie (HAAS i POECK 2012), rozwoju nowotworów (FULLER-PACE 2013) i oczywiście w odpowiedzi przeciwwirusowej.

### RECEPTORY RLR W ODPOWIEDZI PRZECIWWIRUSOWEJ

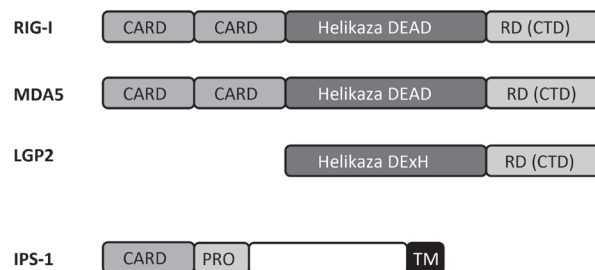
W obrębie RLR wyróżniamy 3 receptory: (i) RIG-I (ang. retinoic acid-inducible gene I), opisywane także jako DDX58 (ang. DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 58), (ii) MDA5 (ang. melanoma differentiation-associated gene 5), znany też jako IFIH1 (ang. interferon-induced with helicase C domain 1) lub RH116 (ang. RNA helicase 116), oraz (iii) LGP2 (ang. laboratory of genetics and physiology-2), znane też jako DHX58 [ang. DExH (Asp-Glu-X-His) box polypeptide 58] (LANGEVIN i współaut. 2013).

Naturalnym PAMP rozpoznawanym przez RLR jest dsRNA i ssRNA pochodzenia wirusowego. RIG-I preferencyjnie rozpoznaje krótkie fragmenty dsRNA o długości 21-27 pz, natomiast MDA5 wiąże fragmenty o długości powyżej 2000 pz. RIG-I rozpoznaje także ssRNA i dsRNA posiadające wolne, nieosłonięte czapkę (cap) trzy reszty fosforanowe na końcu 5' (5'ppp), sekwencje homopolinukleotydowe (poly(U/UC) lub poly(AG/A)), ale także dłuższe (około 100-400 pz) fragmenty dsRNA pozbawione 5'ppp. MDA5 z kolei może także wiązać tzw. RNA web, czyli RNA o dużej masie cząsteczkowej, zawierające zarówno regiony dsRNA, jak i

ssRNA, oraz małe duplekisy RNA. Wykazano, że RIG-I może wiązać ssRNA wirusów o dodatniej i ujemnej polaryzacji nici, natomiast MDA5 wiąże głównie ssRNA wirusów o dodatniej polaryzacji nici. Dla obydwu receptorów ligandem jest także poly I:C, przy czym RIG-I wiąże poly I:C o długości około 300 pz, zaś MDA5 o długości 4000-8000 pz. Z kolei LGP2 wiąże głównie dsRNA, natomiast w mniejszym stopniu 5'ppp ssRNA (FULLAM i SCHRODER 2013, JABŁOŃSKA i PARADOWSKA 2014).

Receptory RLR w swojej budowie posiadają: (i) C-terminalną domenę CTD (ang. C-terminal domain) zawierającą domenę represorową/regulatorową RD (ang. repressor/regulatory domain), (ii) domenę DEAD (RIG-I, MDA5) lub DExH (LGP2) o charakterze helikazy zależnej od ATP, wiążącej dsRNA, (iii) a RIG-I i MDA5 zawierają bliźniacze N-terminalne domeny aktywacji i rekrutacji kaspaz (ang. caspase activation and recruitment domain, CARD), których brak jest w LGP2, i które odpowiedzialne są za przesyłanie sygnałów wewnątrzkomórkowych (Ryc. 3) (AOKI i współaut. 2013, JABŁOŃSKA i PARADOWSKA 2014).

W formie nieaktywnej receptory RIG-I i MDA5 występują w cytoplazmie w postaci monomerów, a ich domeny CARD są maskowane i blokowane poprzez oddziaływanie z domeną o charakterze helikazy oraz domeną CTD. Po związaniu odpowiedniego liganda przez RIG-I i MDA5 dochodzi do zmiany konformacji przestrzennej receptora i odsłonięcia domen CARD. Niezwykle ważnym etapem w aktywacji receptorów RIG-I i MDA5 jest ubikwitynacja domeny CARD, polegająca na przyłączeniu cząsteczek ubikwityny do odsłoniętej domeny CARD w pozycji lizyny 63 (K63). Dodatkowo, w wyniku aktywacji, receptory RIG-I i MDA5 ulegają oligomeryzacji, co wpływa na zwielokrotnienie siły sygnału pochodzącego z jednej cząsteczki RNA (GIERYŃSKA i SCHOLLENBERGER 2011, YONEY-



Ryc. 3. Struktura receptorów RLR oraz głównego białka adaptorowego IPS-1.

Opis w tekście (wg AOKI i współaut. 2013, zmodyfikowana).

AMA i współaut. 2015, RENIEWICZ i współaut. 2016). Domeny CARD aktywowanych receptorów RIG-I i MDA5, tworzących multimery, oddziałują z domeną CARD białka adaptorowego IPS-1 (ang. IFN- $\beta$  promotor stimulator 1), opisywanego także skrótem MAVS (ang. mitochondrial antiviral signaling protein), VISA (ang. virus-induced signaling adapter) lub Cardiff (ang. CARD adapter inducing IFN- $\beta$ ). Białko IPS-1 jest umiejscowione w zewnętrznej błonie mitochondriów i oprócz domeny CARD, zawiera także domenę bogatą w prolinę (Pro) i mitochondrialną domeną TM (YONEYAMA i współaut. 2015) (Ryc. 3). Taka interakcja domen CARD receptora i białka adaptorowego uruchamia wewnątrzkomórkową ścieżkę sygnalizacyjną prowadzącą do aktywacji czynników transkrypcyjnych IRF-3 i IRF-7, które ulegają translokacji do jądra komórkowego i indukują ekspresję IFN typu I. Szczegółowe szlaki transdukcji sygnału po aktywacji RLR opisane zostały przez LANGEVINA i współaut. (2013).

W związku z brakiem domen CARD, sądzi się, że LGP2, mimo iż wiąże wirusowy dsRNA, to nie jest w stanie sam indukować przekazywania sygnału na białko adaptorowe IPS-1, a jego rola polega na kontroli szlaków sygnałowych indukowanych przez aktywowane receptory RIG-I i MDA5. Początkowe badania wykazały, że LGP2 działa hamująco na aktywację odpowiedzi przeciwwirusowej przez RIG-I. LGP2 może wiązać dsRNA, przez co blokuje dostęp do niego RIG-I, a więc działa na zasadzie konkurencji o ten sam ligand, co może doprowadzić do jego sekwestracji. Uważa się także, że LGP2 może bezpośrednio oddziaływać z RIG-I i blokować jego multimeryzację, a co za tym idzie, przekazywanie sygnału na IPS-1. Może także łączyć się z białkiem IPS-1 i blokować jego łączenie się z kolejnym białkiem w ścieżce sygnałowej (kinazą IKK- $\tau$ ), w wyniku czego dochodzi do zahamowania przekazywania sygnału. Zwiększona ekspresja LGP2 w komórce pod wpływem IFN typu I, dsRNA czy zakażenia wirusowego wpływa na obniżenie ekspresji IFN typu I, RIG-I i MDA5. Z drugiej strony, badania prowadzone na myszach transgenicznym *Lgp2*<sup>-/-</sup> wykazały, że podczas zakażeń niektórymi wirusami, LGP2 może wpływać również stymulująco na przekazywanie sygnału w szlaku receptorów RLR. U myszy *Lgp2*<sup>-/-</sup> obserwowano m.in. obniżoną produkcję IFN typu I podczas zakażenia wirusem zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (ang. encephalomyocarditis virus, EMCV) (TAKEUCHI i AKIRA 2008, GIERYŃSKA i SCHOLLENBERGER 2011).

Obecność wysoce konserwatywnych sekwencji kodujących RLR opisano u wielu gatunków ryb doskonałokostnych, w tym u

ryb karpioatych takich jak: danio pręgowany, strzebla grubogłowa, amur biały, łososiowatych: losoś atlantyckiego, pstrąg tęczowy, a także u flądry japońskiej (AOKI i współaut. 2013, LANGEVIN i współaut. 2013, POYNTER i współaut. 2015). Przy czym, o ile obecność LGP2 i MDA5 jest charakterystyczna dla wszystkich ryb, to RIG-I znaleziono tylko u ryb stosunkowo prymitywnych jak np. łososiowate czy karpioatych (AOKI i współaut. 2013). Obecność genów kodujących RIG-I stwierdzono także w genomie bezkręgowców, a konkretnie ukwiału morskiego (*Nematostella vectensis*) i jeżowca purpurowego (*Strongylocentrotus purpuratus*) oraz ryb celakantokształtnych i mięśniopłetwych. Według ZOU i współaut. (2009), rodzina RLR wyewoluowała od oddzieleniu kolcopleśnych (Acanthopterygii) od pseudokolcopleśnych (Paracanthopterygii), doszło do utraty RIG-I. Co ciekawe, większość gatunków ryb, u których nie stwierdzono obecności RIG-I, to ryby hodowlane, należące właśnie do nadrzędu kolcopleśnych, a więc ryb powstałych stosunkowo niedawno (AOKI i współaut. 2013).

Konstytutywną ekspresję genów kodujących RLR u ryb wykazano w bardzo wielu tkankach, w tym we krwi, mózgu, skrzelach, sercu, jelicie, nerkach (głowej i właściwej), wątrobie, śledzionie, grasicy i skórze (AOKI i współaut. 2013). Dodatkowo, u niektórych gatunków ryb występują po dwa warianty RIG-I, MDA5 i LGP2. U danio pręgowanego, po raz pierwszy u kręgowców, stwierdzono występowanie RIG-I w dwóch formach: RIG-Ia (zawierający wstawkę 38 aminokwasów w N-terminalnej części domeny CARD2) i RIG-Ib (forma typowa) (ZOU i współaut. 2015). Ekspresja genów kodujących obie formy ulega podwyższeniu w komórkowej linii ZF4 (ang. zebrafish embryonic fibroblast ZF4 cell line) danio pręgowanego pod wpływem zakażenia wirusem wiosennej wiremii karpia (ang. spring viremia of carp virus, SVCV) (ZOU i współaut. 2015). Wyłączenie (knock-down) RIG-I w komórkach tej linii, spowodowało obniżenie ekspresji genów IFN typu I oraz zahamowanie odpowiedzi zapalnej podczas zakażenia wirusem NNV (ang. nervous necrosis virus) (CHEN H.-Y. i współaut. 2015). Z kolei nadekspresja genu *RIG-Ib* w linii komórkowej EPC (ang. epithelioma papulosum cyprini) spowodowała podwyższoną ekspresję genów IFN typu I oraz zwiększoną odporność komórek na zakażenie wirusem SVCV, podczas gdy w przypadku komórek z nadekspresją RIG-Ia nie obserwowano tego typu zmian. Uważa się zatem, że RIG-Ia pełni rolę wzmacniającą w przekazywaniu sygnału z kompleksu RIG-Ib/IPS-1, zwiększając odpowiedź przeciwwirusową (ZOU i współaut. 2015).

Również MDA5 u danio pręgowanego występuje w dwóch wariantach transkrypcyjnych (MDA5a i MDA5b), powstałych w wyniku alternatywnego składania genów (splicingu). Obydwa warianty ulegają podwyższonej ekspresji w liniach komórkowych ryb pod wpływem wirusa SVCV i pobudzają odpowiedź przeciwwirusową (ZOU i współaut. 2014). Badania przeprowadzone na flądze japońskiej wykazały, że wyłączenie (knock-down) genu *MDA5* skutkowało obniżeniem aktywności przeciwwirusowej po stymulacji poly I:C (ZHOU i współaut. 2014).

Także *LGP2*, u danio pręgowanego i pstrąga tęczowego, występuje w dwóch wariantach (*LGP2a* i *LGP2b*) (CHANG i współaut. 2011, WANG i współaut. 2015). W przypadku danio pręgowanego zakażenie komórek linii ZF4 wirusem SFV (ang. snakehead fish vesiculovirus) powoduje podwyższoną ekspresję *LGP2a*, natomiast nie wpływa na ekspresję *LGP2b* (WANG i współaut. 2015). U karpia (*Cyprinus carpio* L.) opisano podwyższoną ekspresję *LGP2* pod wpływem zakażenia wirusem CyHV-3 (ang. cyprinid herpesvirus 3, znanym także jako KHV, ang. koi herpesvirus) oraz w wyniku stymulacji poly I:C (CAO i współaut. 2015). Co ciekawe, nadekspresja *LGP2* w linii komórkowej CIK amura białego hamuje replikację wirusa GCRV i wpływa na przeżywalność komórek (CHEN X. i współaut. 2015).

Można zatem stwierdzić, że, podobnie jak to mam miejsce u ssaków, ekspresja RLR u ryb zmienia się pod wpływem zakażeń wirusowych, a także po stymulacji poly I:C. Zaskakująco, zarówno u ryb jak i ssaków, stwierdzono również podniesienie ekspresji RLR po stymulacji LPS lub w trakcie zakażeń bakteryjnych. Jednak mechanizm tego zjawiska nie został jeszcze poznany.

#### DEXD/H-BOX RNA HELIKAZY NIENALEŻĄCE DO RLR

W ostatnich latach odkryto, że niektóre DExD/H-box RNA helikazy, nienależące do grupy receptorów RLR (ang. non-RLR RNA helicases), mają również zdolność wykrywania wirusowego RNA w komórce i aktywacji syntezy IFN typu I, chociaż mechanizmy ich działania nie są jeszcze dobrze poznane. Rola tych białek w odpowiedzi przeciwwirusowej była jak dotąd badana tylko z wykorzystaniem szczepionych linii komórkowych.

W 2008 r. dwie grupy badawcze opublikowały w tym samym wydaniu *The EMBO Journal*, niezależne artykuły wskazujące na przeciwwirusową funkcję białka DDX3 (ang. DEAD box protein 3) (SCHRODER i współaut. 2008, SOULAT i współaut. 2008). Intensywne badania prowadzone głównie na ssa-

czych liniach komórkowych, zaowocowały w późniejszych latach opisaniem dodatkowych DExD/H-box RNA helikaz nienależących do grupy RLR, a mających właściwość rozpoznawania poly I:C i pobudzenia ekspresji IFN typu I. Są to: DDX1 (ang. DEAD box protein 1), DDX3 (ang. DEAD box protein 3), DHX9 (ang. DEAH box protein 9), DDX21 (ang. DEAD box protein 21), DHX33 (ang. DEAH box protein 33), DHX36 (ang. DEAH box helicase 36) oraz DDX60 (ang. DEAD box protein 60) (KIM i współaut. 2010; SCHRODER 2010; MIYASHITA i współaut. 2011; ZHANG i współaut. 2011a, b; LIU i współaut. 2014; OSHIUMI i współaut. 2015).

Jak dotąd rola tych białek w odpowiedzi przeciwwirusowej u ryb nie była jednak badana. Poniżej przedstawiamy krótkie omówienie dostępnych informacji na temat roli białek DDX1, DDX3 i DHX9, w odpowiedzi przeciwwirusowej ssaków. Bardzo ciekawe jest to, iż białka te oprócz funkcji przeciwwirusowej, odgrywają także kluczową rolę w procesie replikacji wirusów (RANJI i BORIS-LAWRIE 2010, FULLAM i SCHRODER 2013). Ta podwójna funkcja może świadczyć o tym, że helikazy te znajdują się w centrum „ewolucyjnego wyścigu zbrojeń” pomiędzy wirusami a układem odpornościowym gospodarza, co czyni je tym bardziej interesującym obiektem badań.

Stwierdzono, że DDX3 pobudza syntezę IFN typu I poprzez interakcję z kinazą IKKe (SCHRODER i współaut. 2008, GU i współaut. 2013) lub kinazą TBK1 (ang. TANK-binding kinase 1) (SOULAT i współaut. 2008). Rola DDX3, jako białka rozpoznającego poly I:C w połączeniu z receptorem RIG-I i MDA5, została opisana przez OSHIUMI i współaut. (2010) i uważa się, iż DDX3 uwrażliwia receptory RLR na wirusowe RNA na wczesnym etapie zakażenia, gdy poziom tych receptorów jest nadal niski. Dodatkowo wykazano, że DDX3 aktywowany przez kinazę TBK1 wiąże się bezpośrednio z promotorem genów dla IFN typu I, w regionie wzmacniacza, działając jako regulator transkrypcji (SOULAT i współaut. 2008). Zaobserwowano ponadto, że DDX3 odgrywa ważną rolę w replikacji różnych wirusów, m.in. HIV czy wirusa zapalenia wątroby typu C (ang. hepatitis C virus, HCV) (ARIUMI i współaut. 2007, ISHAQ i współaut. 2008). W związku z tym, prowadzone są intensywne prace nad opracowaniem terapii zmierzającej do zablokowania replikacji wirusa HIV poprzez inaktywację białka DDX3 (RADI i współaut. 2012).

DDX1 i DHX9 również rozpoznają poly I:C i wirusowe RNA w różnych populacjach leukocytów ssaków (KIM i współaut. 2010; ZHANG i współaut. 2011a, b). Co ciekawe, DDX1 tworzy kompleks z dwoma inny-



mi DExD/H-box RNA helikazami: DDX21 i DHX36. Helikazy te oddziałują z białkiem adaptorowym TRIF i w ten sposób aktywują szlaki sygnału związane z syntezą IFN typu I (ZHANG i współaut. 2011a). Z kolei DHX9 aktywuje syntezę IFN typu I za pośrednictwem IPS-1 (ZHANG i współaut. 2011b) lub MyD88 (KIM i współaut. 2010).

### RNA HELIKAZY W ODPOWIEDZI PRZECIWWIRUSOWEJ U BEZKRĘGOWCÓW

U roślin i bezkręgowców (np. nicieni czy owadów) wykazano, że interferencja RNA (RNAi) pełni bardzo ważną rolę w obronie organizmu przed zakażeniami wirusowymi. RNAi jest to zjawisko wyciszania ekspresji genu przez krótkie fragmenty dsRNA o sekwencji homologicznej do sekwencji odpowiedniego fragmentu w mRNA. Głównym białkiem zaangażowanym w ten proces jest Dicer, który posiada właściwości RNA helikazy i pełni rolę receptora rozpoznającego wirusowe dsRNA w cytoplazmie. Białko to występuje także u kręgowców i najnowsze badania wskazują, że również u ssaków pełni ono rolę w odpowiedzi przeciwwirusowej, chociaż ta funkcja nie jest tak dobrze poznana jak u bezkręgowców (MACKAY i współaut. 2014, MACHITANI i współaut. 2016).

Dicer należy do rodziny RNAz III i posiada domenę zawierającą motyw DExD/H-box RNA helikazy, która jest bardzo zbliżona do odpowiedniego motywu występującego w RLR (RIG-I/MDA5/LGP2). Dzięki aktywności RNAzy III, w pierwszej kolejności Dicer tnie dsRNA pochodzenia wirusowego na krótkie fragmenty o długości około 20-25 pz zwane siRNA (ang. small interfering RNA). Powstałe siRNA, w kolejnym etapie wykorzystywane są do wyciszania ekspresji genów wirusowych z wykorzystaniem kompleksu RISC (ang. RNA-induced silencing complex) (MACKAY i współaut. 2014, AHMAD i HUR 2015).

U roślin i u owadów z rodzaju *Drosophila* opisano po kilka białek Dicer. U rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) scharakteryzowano 4 białka Dicer-podobne (DCL1-4), z których DCL1 odpowiedzialny jest za powstawanie micro RNA (micRNA), zaś DCL2-4 zaangażowane są w rozpoznawanie oraz cięcie wirusowego dsRNA, powstawanie siRNA i tym samym odpowiedź przeciwwirusową (DELERIS i współaut. 2006, DING i VOINNET 2007). Z kolei u *Drosophila* występują dwa białka Dicer (Dicer-1 i Dicer-2). Dicer-1 pełni rolę w powstawaniu micRNA i nie posiada funkcjonalnej domeny o charakterze helikazy, natomiast Dicer-2 pełni rolę receptora dla wirusowego dsR-

NA i zaangażowany jest w odpowiedź przeciwwirusową (LEE i współaut. 2004, WANG i współaut. 2006). Dicer-2 wiąże wirusowe dsRNA i tnie go na krótkie fragmenty siRNA, które wraz z kompleksem RISC biorą udział w wyciszeniu genów wirusowych. Co ciekawe, u niektórych owadów (np. *Culex quinquefasciatus*) wykazano, że Dicer-2 może niezależnie od szlaku RISC, pobudzać dodatkowo ekspresję białka przeciwwirusowego Vago, które jest wydzielane przez zakażone wirusem komórki i aktywuje przeciwwirusowe szlaki sygnałowe w sąsiednich, niezakażonych komórkach. Białko to pełni zatem podobną rolę jak IFN typu I u kręgowców (PARADKAR i współaut. 2012, 2014).

Nicień *Caenorhabditis elegans* posiada tylko jedno białko Dicer (DCR-1), które zaangażowane jest zarówno w powstawanie siRNA z wirusowego dsRNA i odgrywa rolę w odpowiedzi przeciwwirusowej, jak i pełni funkcję w powstawaniu micRNA. Podczas zakażenia wirusowego DCR-1 tnie wirusowe dsRNA na pierwotne siRNA (ang. primary siRNAs), które następnie są wykorzystywane do powstawania wtórnych siRNA (ang. secondary siRNAs), skierowanych przeciwko temu samemu fragmentowi wirusowego RNA (PAK i FIRE 2007, SARKIES i Miska 2013). Wtórne siRNA wzmocniają efekt wyciszania genów wirusowych i ich obecność jest charakterystyczna dla grzybów, roślin i nicieni, natomiast nie obserwuje się ich występowania w przypadku owadów i ssaków (AHMAD i HUR 2015). W przypadku nicieni, do przeciwwirusowej aktywności interferencyjnego RNA wymagane są dodatkowe białka: DRH-1 i DRH-3 (ang. Dicer-related helicase-1 and -3). Białka te wykazują bardzo duże podobieństwo do receptorów RIG-I/MDA5, zarówno w obrębie domeny helikazy, jak i w obrębie domeny CTD, natomiast ich domena NTD zawiera motywy specyficzne dla nicieni i związane z ich funkcją. DRH-1 jest niezbędne do procesu powstawania pierwotnych siRNA w odpowiedzi na egzogenne RNA (np. dsRNA pochodzenia wirusowego), natomiast nie jest konieczne do powstawania siRNA dla endogennych RNA. Mechanizmy wyjaśniające dlaczego DRH-1 jest zaangażowane tylko w powstawanie siRNA z egzogennej RNA nie są wyjaśnione. Uważa się, iż białko to może działać na podobnej zasadzie jak RIG-I, rozpoznając charakterystyczne struktury w egzogennym wirusowym RNA (AHMAD i HUR 2015). DRH-3 u *C. elegans* jest natomiast zaangażowane w powstawanie wtórnych siRNA i tym samym przyczynia się do wyciszenia genów wirusowych. Wtórne siRNA, zwane także 22G-RNA, mają zwykle długość 22 pz i charakteryzują się obecnością guanozyny na końcu 5'. Po-

wstają przy udziale polimerazy RNA zależnej od RNA (ang. RNA-dependent RNA polymerase, RdRP) oraz kilku dodatkowych białek, w tym właśnie DRH-3. Podobnie jak w przypadku DRH-1, dokładne mechanizmy działania białka DRH-3 nie są jednak do końca poznane (AHMAD i HUR 2015).

## PODSUMOWANIE

Wirusowe kwasy nukleinowe (DNA i RNA) są rozpoznawane w oparciu o ich strukturę, subkomórkową lokalizację, a nawet ich sekwencję, przez szereg receptorów odporności wrodzonej. U kręgowców (w tym także u ryb) rozpoznanie wirusowych kwasów nukleinowych prowadzi do produkcji IFN typu I oraz cytokin prozapalnych. Dodatkowo, u ssaków aktywacji ulegają również IFN typu III ( $\lambda$ ), które jak dotąd nie zostały opisane u ryb. Aktywność biologiczna IFN- $\lambda$  jest podobna do aktywności IFN typu I. Aktywują one komórki do syntezy szeregu białek przeciwwirusowych, które wpływają na zahamowanie zakażenia wirusowego (BANDURSKA i współaut. 2014). U bezkręgowców, ale także u roślin, istotnym elementem w odpowiedzi przeciwwirusowej jest interferencja RNA (RNAi), która prowadzi do wyciszenia genów wirusowych. Receptory rozpoznające wirusowe dsRNA u tych organizmów mają podobną strukturę do receptorów RIG-I-podobnych, opisanych u kręgowców. Uważa się, że u kręgowców RNAi w odpowiedzi przeciwwirusowej nie odgrywa tak dużej roli jak u bezkręgowców, głównie ze względu na powstanie i sprawne funkcjonowanie systemu IFN typu I w tej grupie zwierząt. Ryby, które są pierwszymi kręgowcami z pełni rozwiniętym układem odpornościowym wrodzonym i nabytym, stanowią doskonały model do badania ewolucji mechanizmów odporności u kręgowców.

### Streszczenie

Kluczowym etapem nieswoistej reakcji odpornościowej organizmu na zakażenie wirusowe jest szybkie wykrycie obecności wirusów w komórce i aktywacja syntezy interferonów (IFN) typu I. Wirusowe kwasy nukleinowe (DNA i RNA) są głównymi strukturami pochodzenia wirusowego rozpoznawanymi przez receptory wrodzonego układu odpornościowego. Wśród receptorów rozpoznających te struktury bardzo istotną rolę odgrywają receptory Toll-podobne (TLR) i RIG-I-podobne (RLR). Wiele z tych receptorów opisanych u ssaków występuje także u ryb, chociaż z drugiej strony ryby posiadają także receptory, które nie zostały zidentyfikowane u ssaków. Ryby, które są pierwszymi kręgowcami z pełni rozwiniętym układem odpornościowym wrodzonym i nabytym, stanowią doskonały model do badania ewolucji mechanizmów odporności u kręgowców. W pracy przedstawiono receptory rozpoznające wirusowe kwasy nukleinowe opisane u ryb oraz główne białka adaptorowe biorące udział w przekazywaniu sygnału wewnątrzkomórkowego w celu aktywacji syntezy IFN typu I i cytokin prozapalnych.

## LITERATURA

- AHMAD S., HUR S., 2015. *Helicases in antiviral immunity: dual properties as sensors and effectors*. Trends Biochem. Sci. 40, 576-585.
- AKIRA S., UEMATSU S., TAKEUCHI O., 2006. *Pathogen recognition and innate immunity*. Cell 124, 783-801.
- AOKI T., HIKIMA J., HWANG S. D., JUNG T. S., 2013. *Innate immunity of finfish: primordial conservation and function of viral RNA sensors in teleosts*. Fish Shellfish Immunol. 35, 1689-1702.
- ARIUMI Y., KUROKI M., ABE K., DANSAKO H., IKEDA M., WAKITA T., KATO N., 2007. *DDX3 DEAD-box RNA helicase is required for hepatitis C virus RNA replication*. J. Virol. 81, 139220-139226.
- BANDURSKA K., KRÓL I., MYGA-NOWAK M., 2014. *Interferony: między strukturą a funkcją*. Postępy Hig. Med. Dosw. 68, 428-440.
- BERGAN V., JAGUS R., LAUKSUND S., KILENG Ø., ROBERTSEN B., 2008. *The Atlantic salmon Z-DNA binding protein kinase phosphorylates translation initiation factor 2 alpha and constitutes a unique orthologue to the mammalian dsRNA-activated protein kinase R*. FEBS J. 275, 184-97.
- CAO X., CHEN J., CAO Y., NIE G., WAN Q., WANG L., SU J., 2015. *Identification and expression of the laboratory of genetics and physiology 2 gene in common carp Cyprinus carpio*. J. Fish Biol. 86, 74-91.
- CHANG M., COLLET B., NIE P., LESTER K., CAMPBELL S., SECOMBES C. J., ZOU J., 2011. *Expression and functional characterization of the RIG-I-like receptors MDA5 and LGP2 in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. J. Virol. 85, 8403-8412.
- CHEN H.-Y., LIU W., WU S.-Y., CHIOU P.P., LI Y.-H., CHEN Y.-C., LIN G.-H., LU M.-W., WU J.-L., 2015. *RIG-I specifically mediates group II type I IFN activation in nervous necrosis virus infected zebrafish cells*. Fish Shellfish Immunol. 43, 427-435.
- CHEN X., WANG Q., YANG C., RAO Y., LI Q., WAN Q., PENG L., WU S., SU J., 2013. *Identification, expression profiling of a grass carp TLR8 and its inhibition leading to the resistance to reovirus in CIK cells*. Dev. Comp. Immunol. 41, 82-93.
- CHEN X., YANG C., SU J., RAO Y., GU T., 2015. *LGP2 plays extensive roles in modulating innate immune responses in Ctenopharyngodon idella kidney (cik) cells*. Dev. Comp. Immunol. 49, 138-148.
- CORDIN O., BANROQUES J., TANNER N. K., LINDER P., 2006. *The DEAD-box protein family of RNA helicases*. Gene 367, 17-37.
- DELERIS A., GALLEGU-BARTOLOME J., BAO J., KASCHAU K. D., CARRINGTON J. C., VOINNET O., 2006. *Hierarchical action and inhibition of plant Dicer-like proteins in antiviral defense*. Science. 313, 68-71.
- DEWITTE-ORR S. J., COLLINS S. E., BAUER C. M., BOWDISH D. M., MOSSMAN K. L., 2010. *An accessory to the "trinity": SR-As are essential pathogen sensors of extracellular dsRNA, mediating entry and leading to subsequent type I IFN responses*. PLoS Pathog., 6, e1000829.
- DING S.-W., VOINNET O., 2007. *Antiviral immunity directed by small RNAs*. Cell 130, 413-426.
- FULLAM A., SCHRODER M., 2013. *DEXD/H-box RNA helicases as mediators of anti-viral innate immunity and essential host factors for viral re-*

- plication*. Biochim. Biophys. Acta 1829, 854-865.
- FULLER-PACE F. V., 2006. *DExD/H box RNA helicases: multifunctional proteins with important roles in transcriptional regulation*. Nucleic Acids Res. 34, 4206-4215.
- FULLER-PACE F. V., 2013. *DEAD box RNA helicase functions in cancer*. RNA Biol. 10, 121-132.
- GANTIER M. P., TONG S., BEHLKE M. A., XU D., PHIPPS S., FOSTER P. S., WILLIAMS B. R., 2008. *TLR7 is involved in sequence-specific sensing of single-stranded RNAs in human macrophages*. J. Immunol. 180, 2117-2124.
- GIERYŃSKA M., SCHOLLENBERGER A., 2011. *Molekularne rozpoznawanie zakażeń wirusowych – stymulacja odpowiedzi immunologicznej*. Post. Hig. Med. Dosw. 65, 299-313.
- GORBALENYA A. E., KOONIN E. V., 1993. *Helicases: amino acid sequence comparisons and structure – function relationships*. Curr. Opin. Struct. Biol. 3, 419-429.
- GU L., FULLAM A., BRENNAN R., SCHRODER M., 2013. *Human DEAD box helicase 3 couples I $\kappa$ B kinase  $\epsilon$  to interferon regulatory factor 3 activation*. Mol. Cell. Biol. 33, 2004-2015.
- HAAS T., POECK H., 2012. *Apoptosis induction by cytosolic RNA helicases*. J. Med. Microb. Diagn. 1, 117.
- HE J., LIU H., WU C., 2014. *Identification of SCARA3, SCARA5 and MARCO of class A scavenger receptor-like family in Pseudosciaena crocea*. Fish Shellfish Immunol. 41, 238-249.
- HEIL F., HEMMI H., HOCHREIN H., AMPENBERGER F., KIRSCHNING C., AKIRA S., LIPFORD G., WAGNER H., BAUER S., 2004. *Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8*. Science 303, 1526-1529.
- HEMMI H., KAISHO T., TAKEUCHI O., SATO S., SANJO H., HOSHINO K., HORIUCHI T., TOMIZAWA H., TAKEDA K., AKIRA S., 2002. *Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7/MyD88-dependent signaling pathway*. Nat. Immunol. 3, 196-200.
- HU G.-B., ZHANG S.-F., YANG X., LIU D.-H., LIU Q.-M., ZHANG S.-C., 2015. *Cloning and expression analysis of a toll-like receptor 22 (TLR22) gene from turbot, Scophthalmus maximus*. Fish Shellfish Immunol. 44, 399-409.
- HUANG X.-N., WANG Z.-Y., YAO C.-L., 2011. *Characterization of toll-like receptor 3 gene in large yellow croaker, Pseudosciaena crocea*. Fish Shellfish Immunol. 31, 98-106.
- HWANG S. D., OHTANI M., HIKIMA J.-I., JUNG T. S., KONDO H., HIRONO I., AOKI T., 2012. *Molecular cloning and characterization of toll-like receptor 3 in Japanese flounder, Paralichthys olivaceus*. Dev. Comp. Immunol. 37, 87-96.
- ISHAQ M., HU J., WU X., FU Q., YANG Y., LIU Q., GUO D., 2008. *Knockdown of cellular RNA helicase DDX3 by short hairpin RNAs suppresses HIV-1 viral replication without inducing apoptosis*. Mol. Biotechnol. 39, 231-238.
- JABŁOŃSKA A., PARADOWSKA E., 2014. *Rola receptorów RIG-I-podobnych w odpowiedzi przeciwwirusowej*. Post. Hig. Med. Dosw. 68, 541-556.
- JANKOWSKY E., FAIRMAN-WILLIAMS M. E., 2010. *An introduction to RNA helicases: superfamilies, families, and major themes*. [W:] RNA helicases. JANKOWSKY E. (red.). Published Royal Society of Chemistry, 1-31.
- JENSEN S., THOMSEN R., 2012. *Sensing of RNA viruses: a review of innate immune receptors involved in recognizing RNA virus invasion*. J. Virol. 86, 2900-2910.
- KIM T., PAZHOOR S., BAO M., ZHANG Z., HANABUCHI S., FACCHINETTI V., BOVER L., PLUMAS J., CHAPEROT L., QIN J., LIU Y. J., 2010. *Aspartate-glutamate-alanine-histidine box motif (DEAH)/RNA helicase A helicases sense microbial DNA in human plasmacytoid dendritic cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, 15181-15186.
- LANGEVIN C., ALEKSEJEVA E., PASSONI G., PALHA N., LEVRAUD J. P., BOUDINOT P., 2013. *The antiviral innate immune response in fish: evolution and conservation of the IFN system*. J. Mol. Biol. 425, 4904-4920.
- LEE Y. S., NAKAHARA K., PHAM J. W., KIM K., HE Z., SONTHEIMER E. J., CARTHEW R. W., 2004. *Distinct roles for Drosophila Dicer-1 and Dicer-2 in the siRNA/miRNA silencing pathways*. Cell. 117, 69-81.
- LEMAIRE P. A., ANDERSON E., LARY J., COLE J. L., 2008. *Mechanism of PKR activation by dsRNA*. J. Mol. Biol. 381, 351-360.
- LIN K., GE H., LIN Q., WU J., HE L., FANG Q., ZHOU C., SUN M., HUANG Z., 2013. *Molecular characterization and functional analysis of toll-like receptor 3 gene in orange-spotted grouper (Epinephelus coioides)*. Gene 527, 174-182.
- LINDER P., 2006. *Dead-box proteins: a family affair – active and passive players in RNP-remodeling*. Nucleic Acids Res. 34, 4168-4180.
- LIU T. K., ZHANG Y. B., LIU Y., SUN F., GUI J. F., 2011. *Cooperative roles of fish protein kinase containing Z-DNA binding domains and double-stranded RNA-dependent protein kinase in interferon-mediated antiviral response*. J. Virol. 85, 12769-12780.
- LIU Y., LU N., YUAN B., WENG L., WANG F., LIU Y. J., ZHANG Z., 2014. *The interaction between the helicase DHX33 and IPS-1 as a novel pathway to sense double-stranded RNA and RNA viruses in myeloid dendritic cells*. Cell. Mol. Immunol. 11, 49-57.
- MACHITANI M., SAKURAI F., WAKABAYASHI K., TOMITA K., TACHIBANA M., MIZUGUCHI H., 2016. *Dicer functions as an antiviral system against human adenoviruses via cleavage of adenovirus-encoded noncoding RNA*. Sci. Rep. 6, 27598.
- MACKEY C. R., WANG J. P., KURT-JONES E. A., 2014. *Dicer's role as an antiviral: still an enigma*. Curr. Opin. Immunol. 26, 49-55.
- MAGNADOTTIR B., 2006. *Innate immunity in fish (overview)*. Fish Shellfish Immunol. 20, 137-151.
- MATSUO A., OSHIUMI H., TSUJITA T., MITANI H., KASAI H., YOSHIMIZU M., MATSUMOTO M., SEYA T., 2008. *Teleost TLR22 recognizes RNA duplex to induce IFN and protect cells from birnaviruses*. J. Immunol. 181, 3474-3485.
- MIYASHITA M., OSHIUMI H., MATSUMOTO M., SEYA T., 2011. *DDX60, a DEXD/H box helicase, is a novel antiviral factor promoting RIG-I-like receptor-mediated signaling*. Mol. Cell. Biol. 31, 3802-3819.
- OSHIUMI H., SAKAI K., MATSUMOTO M., SEYA T., 2010. *DEAD/H BOX3 (DDX3) helicase binds the RIG-I adaptor IPS-1 to up-regulate IFN-beta-inducing potential*. Eur. J. Immunol. 40, 940-948.
- OSHIUMI H., MIYASHITA M., OKAMOTO M., MORIOKA Y., OKABE M., MATSUMOTO M., SEYA T., 2015. *DDX60 is involved in RIG-I-dependent and independent antiviral responses, and its function is attenuated by virus-induced EGFR activation*. Cell Rep. 11, 1193-1207.
- PAK J., FIRE A., 2007. *Distinct populations of primary and secondary effectors during RNAi in C. elegans*. Science 315, 241-244.

- PARADKAR P. N., TRINIDAD L., VOYSEY R., DUCHEMIN J. B., WALKER P. J., 2012. *Secreted Vago restricts West Nile virus infection in Culex mosquito cells by activating the Jak-STAT pathway*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109, 18915-18920.
- PARADKAR P. N., DUCHEMIN J. B., VOYSEY R., WALKER P. J., 2014. *Dicer-2-dependent activation of Culex Vago occurs via the TRAF-Rel2 signaling pathway*. PLoS Negl. Trop. Dis. 24, e2823.
- PEARSON A. M., 1996. *Scavenger receptors in innate immunity*. Curr. Opin. Immunol. 8, 20-28.
- POYNTER S., LISSER G., MONJO A., DEWITTE-ORR S., 2015. *Sensors of infection: viral nucleic acid PRRs in fish*. Biology 4, 460-493.
- QIAN T., WANG K., MU Y., AO J., CHEN X., 2013. *Molecular characterization and expression analysis of TLR 7 and TLR 8 homologs in large yellow croaker (Pseudosciaena crocea)*. Fish Shellfish Immunol. 35, 671-679.
- QUYNH N. T., HIKIMA J.-I., KIM Y.-R., FAGUTAO F. F., KIM M. S., AOKI T., JUNG T. S., 2015. *The cytosolic sensor, DDX41, activates antiviral and inflammatory immunity in response to stimulation with double-stranded DNA adherent cells of the olive flounder, Paralichthys olivaceus*. Fish Shellfish Immunol. 44, 576-583.
- RADI M., FALCHI F., GARBELLI A., SAMUELE A., BERNARDO V., PAOLUCCI S., BALDANTI F., SCHENONE S., MANETTI F., MAGA G., BOTTA M., 2012. *Discovery of the first small molecule inhibitor of human DDX3 specifically designed to target the RNA binding site: towards the next generation HIV-1 inhibitors*. Bioorg. Med. Chem. Lett. 22, 2094-2098.
- RANJI A., BORIS-LAWRIE K., 2010. *RNA helicases. Emerging roles in viral replication and the host innate response*. RNA Biol. 7, 775-787.
- RENIEWICZ P., ZYZAK J., SIEDNIENKO J., 2016. *Końcówkowe receptory egzogennej RNA*. Postępy Hig. Med. Dosw. 70, 337-348.
- ROTHENBURG S., DEIGENDESCH N., DITTMAR K., KOCH-NOLTE F., HAAG F., LOWENHAUPT K., RICH A., 2005. *A PKR-like eukaryotic initiation factor 2a kinase from zebrafish contains Z-DNA binding domains instead of dsRNA binding domains*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 1602-1607.
- SAMANTA M., BASU M., SWAIN B., PANDA P., JAYASANKAR P., 2013. *Molecular cloning and characterization of toll-like receptor 3, and inductive expression analysis of type I IFN, Mx and pro-inflammatory cytokines in the Indian carp, rohu (Labeo rohita)*. Mol. Biol. Rep., 40, 225-235.
- SARKIES P., MISKA E. A., 2013. *RNAi pathways in the recognition of foreign RNA: antiviral responses and host-parasite interactions in nematodes*. Biochem. Soc. Trans. 41, 876-880.
- SCHRODER M., 2010. *Human DEAD-box protein 3 has multiple functions in gene regulation and cell cycle control and is a prime target for viral manipulation*. Biochem. Pharmacol. 79, 297-306.
- SCHRODER M., BARAN M., BOWIE A. G., 2008. *Viral targeting of DEAD box protein 3 reveals its role in TBK1/IKKε-mediated IRF activation*. EMBO J. 27, 2147-2157.
- SEPULCRE M. P., ALCARAZ-PEREZ F., LOPEZ-MUNOZ A., ROCA F. J., MESEGUER J., CAYUELA M. L., MULERO V., 2009. *Evolution of lipopolysaccharide (LPS) recognition and signaling: fish TLR4 does not recognize LPS and negatively regulates NF-κB activation*. J. Immunol. 182, 1836-1845.
- SKJAEVELAND I., ILIEV D. B., ZOU J., JØRGENSEN T., JØRGENSEN J. B., 2008. *A TLR9 homolog that is up-regulated by IFN-γ in Atlantic salmon (Salmo salar)*. Dev. Comp. Immunol. 32, 603-607.
- SOULAT D., BURCKSTUMMER T., WESTERMAYER S., GONCALVES A., BAUCH A., STEFANOVIC A., HANTSCHEL O., BENNETT K. L., DECKER T., SUPERTI-FURGA G., 2008. *The DEAD-box helicase DDX3X is a critical component of the TANK-binding kinase 1-dependent innate immune response*. EMBO J. 27, 2135-2146.
- SU J., SU J., SHANG X., WAN Q., CHEN X., RAO Y., 2015. *SNP detection of TLR gene, association study with susceptibility/resistance to GCRV and regulation on mRNA expression in grass carp, Ctenopharyngodon idella*. Fish Shellfish Immunol. 43, 1-12.
- SUNDARAM A. Y., KIRON V., DOPAZO J., FERNANDES J. M., 2012. *Diversification of the expanded teleost-specific toll-like receptor family in Atlantic cod, Gadus morhua*. BMC Evol. Biol. 12, 256.
- TAKEDA K., AKIRA S., 2004. *TLR signaling pathways*. Semin Immunol. 16, 3-9.
- TAKEUCHI O., AKIRA S., 2008. *MDA5/RIG-I and virus recognition*. Curr. Opin. Immunol. 20, 17-22.
- UNTERHOLZNER L., 2013. *The interferon response to intracellular DNA: why so many receptors?* Immunobiology 218, 1312-1321.
- WANG W., ASIM M., YI L., HEGAZY A. M., HU X., ZHOU Y., AI T., LIN L., 2015. *Abortive infection of snake head fish vesiculovirus in ZF4 cells was associated with the RLRs pathway activation by viral replicative intermediates*. Int. J. Mol. Sci. 16, 6235-6250.
- WANG X. H., ALIYARI R., LI W. X., LI H. W., KIM K., CARTHEW R., ATKINSON P., DING S. W., 2006. *RNA interference directs innate immunity against viruses in adult Drosophila*. Science 312, 452-454.
- WHELAN F. J., MEEHAN C. J., GOLDING G. B., MCCONKEY B. J., BOWDISH D. M., 2012. *The evolution of the class A scavenger receptors*. BMC Evol. Biol. 12, 227.
- WILKINS C., GALE JR. M., 2010. *Recognition of viruses by cytoplasmic sensors*. Curr. Opin. Immunol. 22, 41-47.
- YEH D.-W., LIU Y.-L., LO Y.-C., YUH C.-H., YU G.-Y., LO J.-F., LUO Y., XIANG R., CHUANG T.-H., 2013. *Toll-like receptor 9 and 21 have different ligand recognition profiles and cooperatively mediate activity of CpG-oligodeoxynucleotides in zebrafish*. PNAS 110, 20711-20716.
- YONEYAMA M., FUJITA T., 2010. *Recognition of viral nucleic acids in innate immunity*. Rev. Med. Virol. 20, 4-22.
- YONEYAMA M., ONOMOTO K., JOGI M., AKABOSHI T., FUJITA T., 2015. *Viral RNA detection by RIG-I-like receptors*. Curr. Opin. Immunol. 32, 48-53.
- ZHANG Z., KIM T., BAO M., FACCHINETTI V., JUNG S.-Y., GHAFARI A. A., QIN J., CHENG G., LIU Y. J., 2011a. *DDX1, DDX21, and DHX36 helicases form a complex with the adaptor molecule TRIF to sense dsRNA in dendritic cells*. Immunity 34, 866-878.
- ZHANG Z., YUAN B., LU N., FACCHINETTI V., LIU Y.-J., 2011b. *DHX9 pairs with IPS-1 to sense double-stranded RNA in myeloid dendritic cells*. J. Immunol. 187, 4501-4508.
- ZHOU Z.-X., SUN L., 2015. *Immune effects of R848: Evidences that suggest an essential*

- role of TLR7/8-induced, MyD88-and NF- $\kappa$ B-dependent signaling in the antiviral immunity of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Dev. Comp. Immunol.* 49, 113–120.
- ZHOU Z.-X., ZHANG B.-C., SUN L., 2014. *Poly (I:C) induces antiviral immune responses in Japanese flounder (Paralichthys olivaceus) that require TLR3 and MDA5 and is negatively regulated by MyD88.* *PLoS ONE*, 9, e112918.
- ZOU J., CHANG M., NIE P., SECOMBES C. J., 2009. *Origin and evolution of the RIG-I like RNA helicase gene family.* *BMC Evol Biol*9, 85.
- ZOU P. F., CHANG M. X., XUE N. N., LIU X. Q., LI J. H., FU J. P., CHEN S. N., NIE P., 2014. *Melanoma differentiation-associated gene 5 in zebrafish provoking higher interferon-promoter activity through signalling enhancing of its shorter splicing variant.* *Immunology* 141, 192–202.
- ZOU P. F., CHANG M. X., LI Y., ZHANG S. H., FU J. P., CHEN S. N., NIE P., 2015. *Higher antiviral response of RIG-I through enhancing RIG-I/MAVs-mediated signaling by its long insertion variant in zebrafish.* *Fish Shellfish Immunol.* 43, 13-24.

**KOSMOS Vol. 66, 4, 609–621, 2017**

KRZYSZTOF RAKUS, MAGDALENA CHADZIŃSKA

*Department of Evolutionary Immunology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University, Gronostajowa 9, 30-387 Kraków, E-mail: krzysztof.rakus@uj.edu.pl*

#### RECEPTORS RECOGNIZING VIRAL NUCLEIC ACIDS DURING IMMUNE RESPONSE OF FISH

##### Summary

Recognition of the non-self signature of invading viruses is a crucial step for the initiation of the anti-viral innate immune defense mechanisms including interferon (IFN) type I production. Viral nucleic acids occur the main virus-derived structures to be recognized by the receptors of the innate immune system. There are a number of receptors that recognize viral nucleic acids among which the most important are Toll-like receptors (TLR) and RIG-I-like receptors (RLR). Many of those receptors described in mammals have been also found in fish, although fish possess some specific receptors which have not been characterized in mammals. Teleost fish represent a relevant model for the study of the core immune mechanisms activated by viral infections. In this work we review the current knowledge about the fish receptors for viral nucleic acids and the main adaptor proteins involved in signaling pathways for the activation IFN type I and pro-inflammatory cytokine synthesis.

Key words: interferons, nucleic acids, innate immunity, pattern recognition receptors, RLR, TLR, viral infection