

Received: 2015.07.27
Accepted: 2016.01.11
Published: 2016.04.21

Komórkowe receptory egzogenego RNA*

The cellular receptors of exogenous RNA

Patryk Reniewicz¹, Joanna Zyzak¹, Jakub Siednienko^{1,2}

¹Laboratorium Białek Sygnałowych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

²Wrocławskie Centrum Badań EIT+

Streszczenie

Prawidłowe odróżnienie egzogenych kwasów nukleinowych od własnych jest czynnikiem warunkującym przetrwanie całego organizmu, dlatego komórki wykształciły wiele receptorów, które pozwalają na identyfikację obcego DNA lub RNA. Wykrycie egzogenych kwasów nukleinowych jest swoistym „sygnałem niebezpieczeństwa” i mobilizuje komórki do walki ze źródłem zagrożenia, jakim najczęściej jest patogen. Proces rozpoznania egzogenego RNA jest skomplikowany ze względu na obecność w cytoplazmie komórek własnego RNA, dlatego w komórkach są obecne różne sensory kwasu nukleinowego. Pierwszą grupę tworzą receptory obecne w endosomie, zaliczane do receptorów Toll-podobnych: TLR3, TLR7, TLR8 i TLR13. Receptory wiążą RNA uwalniany z patogenów, które uległy endocytozie. Drugą ważną grupą receptorów RNA są receptory umiejscowione w cytoplazmie, takie jak PKR oraz receptory z grupy RLR, np. RIG-I, MDA5 i LGP2. Cytoplazmatyczne receptory rozpoznają RNA mikroorganizmów, które dostają się do wnętrza komórki, omijając endosomy. W każdym przypadku związanie RNA przez rozpoznający go receptor uruchamia kaskady sygnałowe prowadzące do wytwarzania interferonu i innych cytokin.

Słowa kluczowe:

RIG-I • receptory RLR • receptory RIG-I podobne • RNA • rozpoznawanie RNA • TLR • receptory Toll podobne

Summary

One of the key determinants of survival for organisms is proper recognition of exogenous and endogenous nucleic acids. Therefore, high eukaryotes developed a number of receptors that allow for discrimination between friend or foe DNA and RNA. Appearance of exogenous RNA in cytoplasm provides a signal of danger and triggers cellular responses that facilitate eradication of a pathogen. Recognition of exogenous RNA is additionally complicated by fact that large amount of endogenous RNA is present in cytoplasm. Thus, number of different receptors, found in eukaryotic cells, is able to recognize that nucleic acid. First group of those receptors consist endosomal Toll like receptors, namely TLR3, TLR7, TLR8 and TLR13. Those receptors recognize RNA released from pathogens that enter the cell by endocytosis. The second group includes cytoplasmic sensors like PKR and the family of RLRs comprised of RIG-I, MDA5 and LGP2. Cytoplasmic receptors recognize RNA from pathogens invading the cell by non-endocytic pathway. In both cases binding of RNA by its receptors results in activation of the signalling cascades that lead to the production of interferon and other cytokines.

Key words:

RIG-I • RLR receptors • RIG-I like receptors • RNA • RNA recognition • TLR • Toll like receptors

*Praca została sfinansowana ze środków Wrocławskiego Centrum Badań EIT+ w ramach realizacji projektu NanoMat – „Wykorzystanie nanotechnologii w nowoczesnych materiałach” (POIG.01.01. 02-02-002/08) współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.1.2).

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1199987>

Word count: 4632
Tables: 1
Figures: 2
References: 90

Adres autora: mgr Patryk Reniewicz, Laboratorium Białek Sygnałowych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda, ul Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: patryk.reniewicz@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów:

AIM2 – białko indukowane interferonem AIM2 (Absent In Melanoma 2); **AP1** – jądrowy czynnik transkrypcyjny; **ATP** – adenozylo-trójfosforan; **CARD** – domena rekrutująca i aktywująca kaspazę; **CTD** – C-końcowa domena; **cGAMP** – cykliczny guanozynomonofosforan-adenozynomonofosforan; **CpG** – wyspy w DNA bogate w pary C-G; **cGAS** – syntaza cGAMP; **DAMP** – wzorzec molekularny związany z zagrożeniem; **DC** – komórki dendrytyczne; **DEAD/DEAH** – motywy zawierające kwas asparaginowy-kwas glutaminowy-alanina-kwas asparaginowy/kwas asparaginowy-kwas glutaminowy-alanina-histydyna; **eIF2 α** – podjednostka α eukariotycznego czynnika inicjacji translacji; **HEL** – domena helikazy; **HMGB1** – białko o wysokiej mobilności B1 (High-Mobility Group Box 1); **HSP** – białka szoku cieplnego; **IFN** – interferon; **IKK α/β** – kinaza I κ B; **IKK ϵ** – inhibitor kinazy I κ B; **IL** – interleukina; **IP-10** – białko 10 indukowane interferonem γ ; **IRAK** – kinaza białkowa z rodziny kinaz związanych z receptorem interleukiny; **IRF-7** – czynnik transkrypcyjny regulujący ekspresję interferonu; **IRF-3** – czynnik transkrypcyjny regulujący ekspresję interferonu, **LGP2** – receptor z grupy RLR (Laboratory of Genetics and Physiology 2); **LRR** – powtórzenia bogate w leucynę; **MAVS** – mitochondrialne białko sygnału przeciwwirusowego; **MDA5** – receptor z grupy RLR (Melanoma Differentiation-Associated protein 5); **MKK** – kinaza kinazy aktywowanej mitogenami; **MyD88** – białko adaptorowe dla TLR; **NEMO** – czynnik modulujący NF- κ B; **NF- κ B** – jądrowy czynnik transkrypcyjny; **p38** – kinaza aktywowana mitogenem; **PAMP** – wzorzec molekularny związany z patogenem; **pDC** – plazmocytoidalne komórki dendrytyczne; **PKC α/β** – kinaza białkowa C; **poly(I:C)** – kwas poliinozynowy policytydynowy; **RANTES** – chemokina β syntetyzowana przez limfocyty T; **RIG-I** – receptor z grupy RLR (Retinoic acid-Inducible Gene I); **Rip1** – kinaza seronino-treoninowa oddziałująca z receptorem; **RRL** – receptory RIG-I podobne; **dsRNA** – dwuniciowy RNA; **SG** – granule stresowe; **STING** – białko adaptorowe stymulujące ekspresję genu interferonu; **TAK1** – kinaza aktywowana przez TGF- β ; **TANK** – aktywator NF- κ B; **TBK1** – kinaza 1 wiążąca TANK; **TIR** – domena Toll zawierająca receptor interleukiny 1; **TLR** – receptory Toll podobne; **TNF** – czynnik martwicy nowotworu; **TRAF3** – czynnik 3 związany z receptorem TNF; **TRAF6** – czynnik 6 związany z receptorem TNF; **TRIF** – białko adaptorowe TLR3; **TRIM25** – białko zawierające motyw trójczęściowy 25.

WSTĘP

Organizmy wielokomórkowe są stale narażone na kontakt z różnymi czynnikami patogennymi. Wykształciły nieswoiste systemy rozpoznawania takiego zagrożenia, które można podzielić na dwie nadrzędne grupy. Pierwsza grupa wykorzystuje mechanizmy detekcji cząsteczek zwanych wzorcami molekularnymi związanymi z zagrożeniem (DAMP, Danger Associated Molecular Pattern), druga bazuje na detekcji cząsteczek pochodzących od patogenów zwanych wzorcami molekularnymi związanymi z patogenami (PAMP, Pathogen Associated Molecular Patterns).

DAMP to endogenne elementy zdolne do aktywacji pierwotnej odpowiedzi odpornościowej, pojawiające się w chwili występowania fizycznego uszkodzenia organizmu. Można wśród nich wyróżnić: cząsteczki pochodzące z macierzy zewnątrzkomórkowej, takie jak fibronektyna czy kwas hialuronowy, związane ze stre-

sem komórkowym, np. HSP (Heat Shock Protein, białka szoku cieplnego), HMGB1 (High-Mobility Group Box 1) lub endogenne kwasy nukleinowe, a także białka immunomodulujące, np. β -defensyna [11,78].

Do PAMP zalicza się cząstki pochodzenia egzogenego zdolne do aktywacji odpowiedzi odpornościowej. Należą do nich m.in. komponenty osłon komórek bakteryjnych, np. lipopolisacharydy, peptydoglikany, białka bakteryjne, np. flagelina oraz białka kapsydów wirusowych [1,11]. Ze względu na powszechność występowania szczególną rolę w obrębie tej grupy pełnią egzogenne kwasy nukleinowe.

Inwazja patogenów na organizm wiąże się często z wprowadzeniem do komórki obcego materiału genetycznego. Może się to odbywać w wyniku bezpośredniego wnicania patogenów do wnętrza komórki gospodarza lub za pośrednictwem endocytozy mikroorganizmów zewnątrzkomórkowych.



W komórce zwierzęcej DNA jest umiejscowiony jedynie w obrębie jądra komórkowego i w mitochondriach. Pojawienie się kwasu deoksyrybonukleinowego w cytoplazmie jest zatem sygnałem świadczącym o uszkodzeniu komórki lub inwazji patogenu i uruchamia procesy obronne w komórce [50]. W przypadku cytosolowego receptora AIM2 (Absent in Melanoma 2), rozpoznającego cytoplazmatyczny dsDNA, jego aktywacja prowadzi do rekrutacji inflamasomów oraz programowanej śmierci komórki w wyniku pyroptozy zależnej od aktywacji kaspazy 1 [29]. Wykrycie DNA przez białko cGAS (cGAMP synthase, syntaza cGAMP) prowadzi do syntezy cGAMP (cykliczny guanozynomonofosforan-adenozynomonofosforan), co wywołuje aktywację białka adaptorowego STING (Stimulator of Interferon Genes) i wytwarzanie interferonów (IFN) typu I [76]. W przypadku umiejscowionego w endosomie TLR9, wykrywającego DNA o dużej zawartości nisko metylowanych wysp CpG, jego aktywacja pobudza zainfekowaną komórkę do wytwarzania interferonu typu I i cytokin prozapalnych [66].

Rozpoznanie egzogenego RNA jest dużo bardziej skomplikowane, ponieważ w cytoplazmie komórek ssaków jest obecny endogeny RNA. Większość kwasu nukleinowego występuje w postaci jednoniciowego RNA (ssRNA), którego drugorzędowa struktura często przypomina fragmenty dwuniciowego RNA (dsRNA). W odróżnieniu od pozostałych mikroorganizmów, wirusy do budowy genomu wykorzystują zarówno dsRNA, jak i ssRNA. Dlatego w toku ewolucji organizmy wyższe wykształciły wiele mechanizmów rozpoznawania i eliminacji egzogenego RNA z komórek przez specjalne oznakowanie i ochronę „swojego” RNA.

Białka opiekuńcze chronią endogenne RNA przed rozpoznaniem przez receptory układu odpornościowego i zapobiegają także jego degradacji. Innym sposobem na ukrycie własnego RNA jest modyfikacja zasad, jak na przykład metylacja lub synteza czapeczki na 5'końcu mRNA. Struktury wyższego rzędu obserwowane w tRNA czy rRNA pozwalają na odróżnienie endogennych cząsteczek od obcego RNA.

RNA pochodzący od patogenów jest rozpoznawany przez wyspecjalizowane grupy receptorów związanych z błonami endosomów i receptory umiejscowione w cytoplazmie.

Pierwszą grupą receptorów dla RNA są umiejscowione w endosomach receptory Toll podobne, TLR (Toll Like Receptors): dsRNA jest rozpoznawany przez TLR3, ssRNA przez TLR7 i 8, natomiast sekwencje CGGAAAGACC w podjednostce 23sRNA bakteryjnego rybosomu są ligandem dla TLR13.

Kolejna grupa receptorów RNA to receptory umiejscowione w cytoplazmie i rozpoznające egzogeny dsRNA (ryc.1) [17,26,38]. Należą do nich: kinaza białkowa zależna od RNA (PKR, RNA Dependent Protein Kinase) oraz grupa receptorów RIG-I podobnych (RLR, RIG-I Like

Receptors) obejmująca trzy białka: RIG-I (Retinoic acid-Inducible Gene 1), MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated Protein 5) oraz LGP2 (Laboratory of Genetics and Physiology 2).

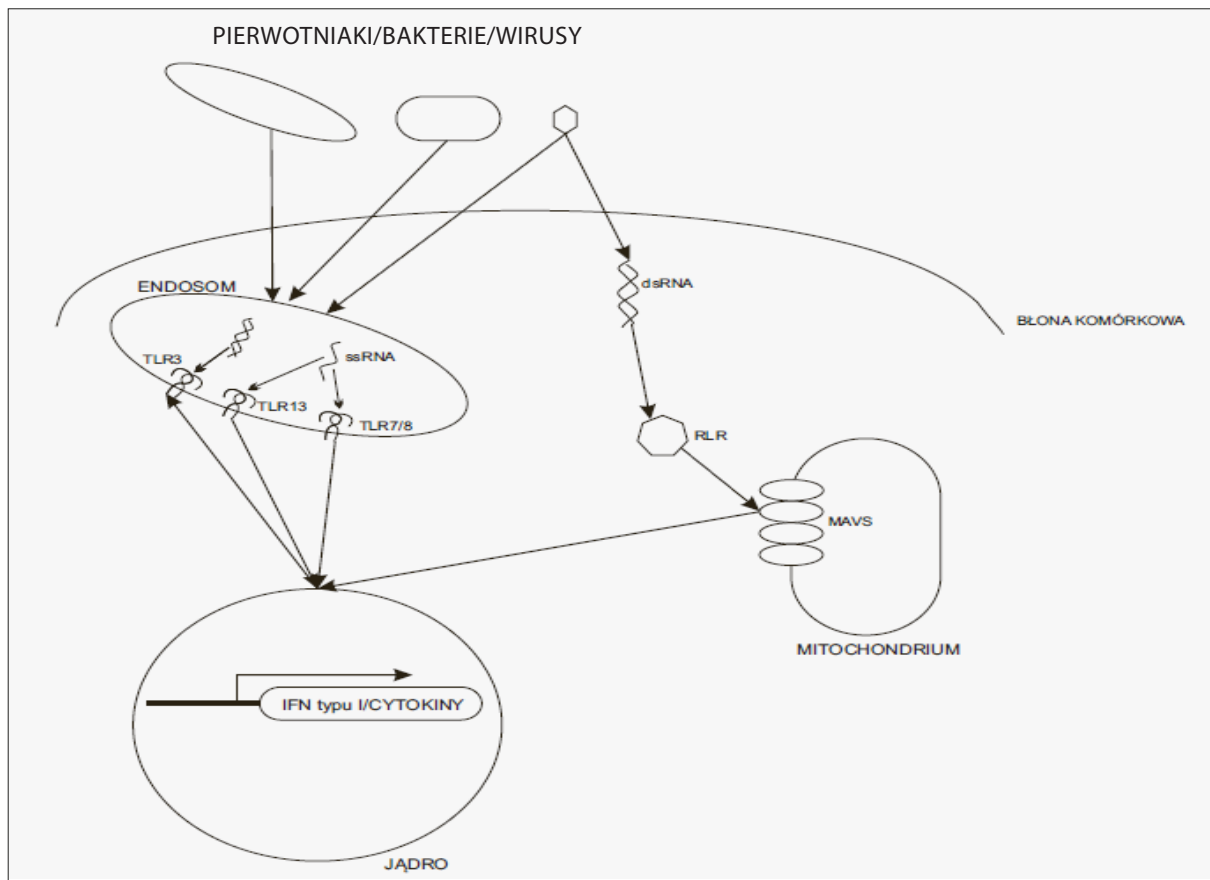
ENDOSOMALNE RECEPTORY ROZPOZNAJĄCE RNA

Znajdujące się na błonach endosomu receptory TLR, rozpoznające RNA, mają podobny plan budowy. Receptory te zawierają trzy główne domeny: od strony światła endosomu domenę (N-końcową) bogatą w motywy LRR (Leucine Rich Repeat, powtórzenia bogate w leucynę), krótką domenę przezbłonową, złożoną z pojedynczej α -helisy oraz cytoplazmatyczną (C-końcową) domenę TIR (Toll-interleukin 1 receptor). N-końcowa domena jest zaangażowana w rozpoznanie oraz wiązanie odpowiedniej cząsteczki RNA, natomiast domena TIR przekazuje sygnał na białka adaptorowe. Większość receptorów TLR wykorzystuje białko adaptorowe MyD88, wyjątkiem jest TLR3, który angażuje białko TRIF. Różnice w sekwencjach aminokwasowych domen N-końcowych poszczególnych receptorów TLR skutkują rozpoznawaniem różnych sekwencji i struktur kwasów nukleinowych, natomiast różnice w sekwencjach domen TIR w tych receptorach determinują swoistość aktywacji różnych szlaków sygnałowych [31].

TLR3

TLR3 to receptor, który w procesie ewolucji został wyselekcjonowany w kierunku rozpoznania egzogenego dsRNA i jest zaangażowany głównie w odpowiedź przeciwwirusową [2,80]. Wykazano, że w ludzkich fibroblastach pochodzenia płucnego linii MRC5, TLR3 jest umiejscowiony zarówno w błonie endosomów, jak i na powierzchni komórki [28]. Komórki dendrytyczne (DC), makrofagi, limfocyty B, jak również komórki MEF (Mouse Embryonic Fibroblasts) odpowiadają na stymulację syntetycznym ligandem dla TLR3 – poly(I:C) (Polyinosinic:polycytidylic acid) tylko w obecności czynnika transfekującego, co wskazuje na wewnątrzkomórkową lokalizację TLR3 w tych komórkach [51]. Potwierdzono również występowanie TLR3 w komórkach układu nerwowego, takich jak: mikroglej czy neurony (model komórkowy NT2-N). Komórki te po stymulacji poly(I:C) wytwarzały IFN- β (interfeon β), RANTES (Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted), IP-10 (Interferon gamma-induced Protein 10), TNF (Tumor Necrosis Factors) oraz IL-6; nie wykluczono jednak udziału w tym procesie cytoplazmatycznych receptorów RNA [41].

TLR3 odróżnia endogeny dsRNA od egzogenego RNA na podstawie struktury i długości ligandu. TLR3 jest aktywowany przez dsRNA o minimalnej długości 45pz, przy czym dsRNA dłuższe niż 90 pz znacznie mocniej indukuje wytwarzanie cytokin prozapalnych [10]. Endogeny RNA, taki jak tRNA tworzy skomplikowane drugorzędowe struktury uniemożliwiające wiązanie się do TLR3, a rybosomalny RNA występuje w kompleksach



Ryc. 1. Schemat rozpoznawania różnego rodzaju patogenów przez wewnątrzkomórkowe receptory układu odpornościowego. Receptory rozpoznające odpowiednie drobnoustroje aktywują kaskady sygnałowe doprowadzające do wytwarzania IFN typu I i innych cytokin

z białkami budującymi rybosom, które blokują dostęp receptora do RNA.

Endosomalna, zaangażowana w rozpoznawanie i wiązanie dsRNA, część TLR3 ma kształt podkowy i składa się z dwudziestu jeden motywów LRR oraz dodatkowych domen LRR na N- oraz C- końcu zwanych odpowiednio LRR-NT i LRR-CT. Zidentyfikowano obecność piętnastu miejsc glikozylacji, z których jedna bierze udział w wiązaniu RNA. Inną częścią białka jest pojedyncza α -helisa przezbłonowa, warunkująca kotwiczenie receptora w błonie endosomu. Częścią cytosolową jest domena TIR odpowiadająca za dokowanie białek adaptorowych oraz za przekazywanie sygnału [15].

W badaniach *in vitro* nad tym receptorem do stymulacji wykorzystuje się syntetyczny odpowiednik dsRNA, poly(I:C). W warunkach fizjologicznych jest aktywowany przez RNA pochodzenia wirusowego, np. *Influenza* typu A [28,52].

Badania nad mechanizmem rozpoznawania dsRNA przez TLR3 wykazały, że funkcjonalny receptor jest dimerem [77]. Gdy dsRNA trafia do endosomu, najczęściej w czasie infekcji wirusowej, wchodzi między dwie cząsteczki receptora, formując kompleks w kształcie litery M. RNA w tym kompleksie oddziałuje z obydwoma monomerami

TLR3, a w wiązanie liganda są zaangażowane m.in. histydyny, które w kwaśnym środowisku endosomu są naładowane dodatnio i mogą łatwo oddziaływać z ujemnie naładowanym szkieletem RNA. Wiązanie liganda przez TLR3 powoduje utworzenie wiązań wodorowych między C-końcowymi domenami LRR, zmianę konformacji białka, a co za tym idzie dimeryzację domen TIR i przekazanie sygnału na białko adaptorowe TRIF [15,43].

Jak już wspomniano, przekazywanie sygnału aktywacji TLR3, w przeciwieństwie do pozostałych receptorów należących do grupy TLR, nie zależy od białka adaptorowego MyD88, a analogiczną funkcję pełni białko TRIF. Najczęściej zaktywowane białko TRIF rekrutuje TRAF3, które uruchamia proces przekazywania sygnału na kolejne białka TBK1 i IKK ϵ , powodując aktywację czynnika transkrypcyjnego IRF-3 i ekspresję genu dla IFN typu I [28,52,72]. W przypadku zależnej od TRIF aktywacji kompleksu Rip1-TRAF6 dochodzi do aktywacji czynników transkrypcyjnych NF- κ B i AP1 oraz indukcji mRNA dla cytokin prozapalnych [2].

TLR7/8

TLR7 i TLR8 są ważnymi receptorami zaangażowanymi w prawidłową odpowiedź organizmu na jednoniciowy



RNA głównie pochodzenia wirusowego. Do komórek charakteryzujących się wysokim poziomem ekspresji TLR7 należą: plazmocytoidalne komórki dendrytyczne (pDC-Plasmacytoid Dendritic Cells) oraz makrofagi. Jego obecność potwierdzono również w limfocytach B oraz w monocytach. TLR8 jako funkcjonalny receptor jest obecny jedynie w komórkach ludzkich, głównie w monocytach [23,30].

Główną cechą wspólną kwasu nukleinowego rozpoznawanego przez TLR7 i TLR8 jest jego jednoniciowa struktura. Wykazano, że sekwencje bogate w urydynę wydajnie aktywują odpowiedź odpornościową za pośrednictwem tych receptorów. Różnice w sekwencji oraz strukturze drugorzędowej ssRNA również wpływają na poziom indukowanej odpowiedzi. Trudno przewidzieć, która cząsteczka RNA będzie zdolna do stymulacji TLR7/8, a która będzie traktowana jak cząsteczka endogenna [19,23,69]. Na immunogenność cząsteczki ssRNA wpływają także modyfikacje budujących go nukleotydów, a wśród nich metylacja. Potwierdzono, że jest czynnikiem znacznie obniżającym zdolność rozpoznania RNA przez TLR7/8, a liczba metylowanych zasad jest odwrotnie proporcjonalna do zdolności RNA do aktywacji odpowiedzi odpornościowej. Innym przykładem modyfikacji jest syntetyczny LNA (Locked Nucleic Acid), RNA zbudowany z nukleotydów ze zmodyfikowaną rybozą, w której tlen w pozycji 2' tworzy dodatkowe wiązanie z węglem w pozycji 4'. Charakteryzuje się znacznie obniżoną zdolnością do wywołania odpowiedzi odpornościowej [69].

W warunkach laboratoryjnych do badań nad TLR7/8 bardzo często są wykorzystywane ligandy syntetyczne, m.in. imidazochinolina (R848, Gardiquimod), tiazochinolina, które nie wykazują swoistości gatunkowej. Kolejną grupą ligandów są analogi zasad adeniny, guanozyny (loxorybina) oraz analog pirymidyn (bropirymina) czy homodimery tymidyny (Poly(dT)), które wydajnie aktywują odpowiedź odpornościową zależną od TLR7/8 [25,32,33].

Dotychczas potwierdzono udział TLR7/8 w odpowiedzi na różnego pochodzenia infekcje wirusowe. Receptory te są zaangażowane przede wszystkim w rozpoznawanie wirusowego ssRNA pochodzącego m.in. z retrovirusów, na przykład HIV-1, HFV (*Human Foamy Virus*) i mysiego gammaretrowirusa [8,64], a także pochodzącego od pikornawirusów, np. HPeV (*Human Parechovirus*) [79]. Udowodniono również udział TLR7 w rozpoznawaniu DNA pochodzenia wirusowego, np. z MCMV (*Murine Cytomegalovirus*) [90]. Pojawiają się także doniesienia o zaangażowaniu tych receptorów w rozpoznanie RNA pochodzenia bakteryjnego *Helicobacter* i *Borelia*, a nawet pasożytniczych pierwotniaków z rodzaju *Plasmodium* [3,13]. Badania wykazały, że w monocytach (linia komórkowa THP-1) receptory TLR7 i TLR8 są zaangażowane w odpowiedź przeciwbakteryjną. Wykazano, że fagocytoza *Helicobacter pylori* czy *Borelia burgdorferi* prowadzi do aktywacji receptorów TLR7/8, a w jej wyniku do wytwarzania IFN- β [23]. Zaobserwowano również powiązanie

polimorfizmu genu kodującego TLR8 z podatnością na zakażenia *Mycobacterium bovis*. Przez pomiar wytwarzania IFN typu I, IL-12 oraz IFN- γ wykazano zdolność receptora TLR7 do regulacji odpowiedzi przeciw *Plasmodium chabaudi* i *P. falciparum* [13].

TLR7 i TLR8 są zakotwiczone w błonie endosomu, co umożliwia im rozpoznawanie RNA niezależnie od replikacji patogenów. Domena N-terminalna, odpowiedzialna za wiązanie odpowiedniego PAMP, znajduje się w świetle endosomu, natomiast C-terminalna domena TIR, przekazująca sygnał na kolejne białka szlaku sygnałowego, w cytoplazmie [31]. Kompletna struktura krystalograficzna receptorów TLR7/8 nie jest jak dotąd poznana, wykazano jednak, że w obrębie domeny N-terminalnej TLR7/8 znajduje się region łącznikowy, podatny na trawienie proteolityczne. Jego cięcie tworzy strukturę w kształcie łuku, która jest funkcjonalna i pozwala na rozpoznawanie liganda i rekrutację białka adaptorowego MyD88. Przypuszcza się również, że podobnie jak w przypadku receptorów TLR o dokładnie scharakteryzowanej budowie, również TLR7/8 tworzy w endosomie homodimery [6,31,82].

Szlak sygnałowy uruchamiany po wiązaniu liganda przez TLR7/8 wymaga białka adaptorowego MyD88. Zaangażowane jest w rekrutację i przekazanie sygnału z receptora na kinazę IRAK4, która razem z IRAK2 oraz TRAF6 tworzą kompleks oddysocjujący od TLR7/8. IRAK/TRAF aktywują TAK1, która pośredniczy w przekazaniu sygnału na kompleks NEMO/IKK α /IKK β , prowadząc do translokacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B do jądra komórkowego, co uruchamia wytwarzanie cytokin prozapalnych w komórce. Alternatywna bądź równoległa droga sygnalizacyjna, aktywowana przez TLR7, prowadzi do indukcji ekspresji interferonu typu I. W szlaku tym, sygnał od receptora jest przekazywany na kompleks złożony z białek IRAK4, IRAK1 oraz TRAF6. Następnie z udziałem kinazy IKK α zostaje aktywowany czynnik transkrypcyjny IRF7, który tworzy homodimer i aktywuje transkrypcję IFN typu I [4,19,23,58,79].

TLR13

Odkryty w ostatnich latach TLR13 charakteryzuje się wysokim poziomem ekspresji w konwencjonalnych komórkach dendrytycznych (cDC) śledziny. Ten nowo scharakteryzowany, umiejscowiony w endosomie receptor jest zaangażowany w rozpoznawanie ssRNA tworzącego podjednostkę 23S bakteryjnego rybosomu [57].

Szlak sygnałowy aktywowany przez TLR13 nie jest jeszcze dobrze scharakteryzowany. Wiadomo, że sygnał przekazywany jest za pośrednictwem białka MyD88 i kinazy TAK1, następnie uaktywnia NF- κ B [73]. Badania wykazały, że makrofagi zawierające TLR13, a pozbawione genów kodujących pozostałe receptory z grupy TLR, były zdolne do aktywacji odpowiedzi odpornościowej przeciw inaktywowanym termicznie *Staphylococcus aureus* (itSa), a preinkubacja itSa z rybonukleazą A znosiła tę odpo-

wiedź. Potwierdzono również, że TLR13 rozpoznaje zdefiniowaną sekwencję w rybosomalnym RNA, której konsensus ustalono na CGGAAAGACC [57].

Receptor TLR 13 wydaje się ważnym komórkowym sensorem bakteryjnego ssRNA. Wiadomo, że sekwencja rozpoznawana przez ten receptor znajduje się na pętli przenoszącej peptyd w podjednostce 23S rRNA, która jest również miejscem działania antybiotyków z grupy MLS (makrolidy, linkozamidy, streptograminy B). Zatem nieprawidłowa terapia antybiotykowa, powodująca powstanie opornych szczepów bakterii, może spowodować powstanie bakterii nierozpoznawanych przez receptor TLR13 [57,74].

Potwierdzono również udział TLR13 w odpowiedzi na infekcję wirusową i wytwarzanie IFN typu I za pośrednictwem IRF7. Nie ustalono jednak, które komponenty wirusowe są odpowiedzialne za pobudzenie TLR13 [73].

RECEPTORY RIG-I PODOBNE

Jak już wspomniano grupę receptorów RLR tworzą trzy białka: RIG-I, MDA5 oraz LGP2. Należą do rodziny helikaz zawierających motyw DEAD/DEAH (kwas asparaginowy-kwas glutaminowy-alanina-kwas asparaginowy/kwas asparaginowy-kwas glutaminowy-alanina-histydyna). W organizmach istnieje wiele helikaz zawierających motyw DEAD. Są to enzymy zdolne do rozplatania RNA, zaangażowane w bardzo różnorodne procesy w komórce, takie jak np. transkrypcja, translacja, wycinanie intronów, degradacja RNA oraz jak obserwuje się w RLR udział w mechanizmach odpowiedzi odpornościowej [5].

Geny kodujące receptory RLR ulegają ekspresji w większości typów tkanek. Obserwuje się ich stałą ekspresję na niskim poziomie w komórkach szpiku kostnego, nabłonka oraz ośrodkowego układu nerwowego. Przykładami mogą być komórki pDC, MEF (mysie fibroblasty płodowe) lub linii A549 (linia komórek nowotworowych płuc), ale również komórki mózgu, takie jak mikroglej i astrocyty, w których poziom ekspresji mRNA dla RLR jest podwyższony w następstwie kontaktu z wirusowym dsRNA oraz poly(I:C) [34,88,89].

Receptory RLR mają znaczny udział w nieswoistej odpowiedzi odpornościowej. Wynika to ze zdolności tych białek do rozpoznawania i wiązania wirusowego dsRNA, a następnie przekazywania sygnału, który prowadzi do wytwarzania IFN i/lub cytokin prozapalnych.

RLR, jako cytoplazmatyczny receptor wykrywający RNA musi być zdolny do odróżnienia kwasu rybonukleinowego komórki gospodarza od obcego. Dlatego RNA wytwarzane w komórce przez polimerazy RNA jest „niewidoczne” dla RLR. RIG-I rozpoznaje 5'pppRNA w cytoplazmie, odróżniając je od RNA syntetyzowanego przez polimerazę I oraz polimerazę III ze względu na obecność pojedynczej reszty fosforanowej na 5' końcu, a także od cząsteczki RNA wytwarzanej przez polimerazę II, która

ma czapkę z 7-metylo-guanozyną (Cap) przyłączoną do reszty fosforanowej na 5' końcu. Jednak w komórkach eukariotycznych jest obecne także endogenne RNA zawierające trzy reszty fosforanowe [18]. Przykładem może być 7 SL RNA, wchodzące w skład cząstki rozpoznającej sygnał (SRP RNA, Signal Recognition Particle RNA), rybonukleoproteiny odpowiedzialnej za wiązanie peptydu sygnałowego białek wydzielniczych oraz kierowanie rybosomu do ER. Cząsteczki 7 SL RNA są powszechnie obecne w komórce, jednak nie wiążą się z RIG-I, co wskazuje, że musi istnieć dodatkowy mechanizm zapobiegający aktywacji receptorów RLR przez endogenne RNA [49]. Może nim być modyfikacja zasad w RNA, np. 2'-O-metylacja. Modyfikacje zasad mogą spowodować zmiany w konformacji i/lub ładunku elektrostatycznym, które uniemożliwiają rozpoznanie RNA przez receptor RLR. Ponieważ wszystkie modyfikacje nukleotydów wchodzących w skład RNA odbywają się w obrębie jądra komórkowego, powoduje to, że endogenne, niemodyfikowane cząsteczki nie mają styczności z receptorami. Wszystkie procesy, którym podlega egzogenne RNA zachodzą w cytoplazmie, dlatego nie pozwala to na jego modyfikacje przez enzymy jądrowe i tym samym ukrycie przed receptorami RLR [18].

Wszystkie trzy białka z grupy receptorów RLR (RIG-I, MDA5 i LGP2) w swojej strukturze mają dwie domeny helikazy zawierające motyw DEAD, które od N-końca są zorganizowane w następujący sposób: pierwsza domena HEL1 ma za sobą mniejszą domenę HEL2i, za którą znajduje się druga domena helikazy HEL2. Domeny odpowiadają za wiązanie nici RNA. RIG-I oraz MDA5, w N-końcowej części białka, zawierają dwie domeny CARD1 i CARD2 (Caspase Activation and Recruitment Domains, domeny rekrutujące i aktywujące kasapazę) odpowiadające za przekazanie sygnału z receptora na białko adaptorowe MAVS (Mitochondrial Antiviral-Signaling Protein), które w komórce jest umiejscowione głównie na błonach mitochondrialnych [87]. Wykazano również, wykorzystując RNA Tar (Trans-Activation Response Element, element transaktywujący) wirusa HIV, że możliwe jest umiejscowienie białka MAVS na powierzchni peroksysomów [20]. Białka RIG-I oraz LGP2 zawierają w C-końcowej części domenę CTD (C-Terminal Domain, C-końcowa domena) wiążącą reszty fosforanowe na 5'-końcu dsRNA [87].

RIG-I

RIG-I jest receptorem wiążącym krótkie, do 1000 pz odcinki dsRNA. W warunkach laboratoryjnych używa się fragmentów złożonych z 19-24 pz mających tzw. tępe końce. W obu przypadkach cząsteczki dsRNA, które dodatkowo na 5'-końcu zawierają trzy reszty fosforanowe (5'pppdsRNA) wydajniej aktywują odpowiedź odpornościową [7]. Wykazano, że nie tylko 5'pppdsRNA, ale również 5'pppssRNA jest zdolny do oddziaływania z RIG-I, a następnie do aktywacji odpowiedzi odpornościowej. W znacznie słabszym stopniu, ale wystarczającym do pobudzenia kaskady sygnałowej, do aktywacji



RIG-I jest zdolny także 5'ppdsRNA. Jednoniciowy RNA z dwiema resztami fosforanowymi na 5'-końcu (5'ppsRNA) nie pobudza jednak odpowiedzi odpornościowej. Natomiast 5'pdsRNA jest niezdolny do aktywacji odpowiedzi odpornościowej za pośrednictwem RIG-I. Pozwala to wnioskować, że RIG-I silnie oddziałuje z resztami fosforanowymi w pozycji α oraz β , a oddziaływanie z resztą fosforanową w pozycji γ nie jest niezbędne [27].

Wiązanie liganda przez RIG-I odbywa się z udziałem trzech domen HEL1, HEL2 oraz CTD. Polega na licznych oddziaływaniach grup 2'hydroksylowymi RNA z grupami amidowymi białka znajdującymi się w łańcuchu głównym oraz bocznym konserwatywnie zachowywanych aminokwasów, takich jak asparagina i glutamina. Na wiązanie liganda wpływają jeszcze elektrostatyczne oddziaływania między tlenem na resztach fosforanowych RNA a dodatnio naładowanymi aminokwasami jak lizyna. Molekularny wzór oddziaływania RIG-I i RNA wskazuje na brak wpływu pH na to wiązanie oraz sugeruje większą swoistość receptora względem dsRNA. RIG-I zdolny jest również do wiązania dłuższych sekwencji dsRNA między 200 pz a 2000 pz, niemających reszt fosforanowych, lecz bez wywołania odpowiedzi odpornościowej [47]. Wykazano, że RIG-I rozpoznaje materiał genetyczny lub produkty pośrednie replikacji wirusów, m.in. z rodziny *Flaviviridae*, *Paramyxoviridae*, *Ortomyxoviridae*, *Rhabdoviridae* oraz *Reoviridae* [46].

Receptor RIG-I w komórce, w której nie ma wirusowego 5'pppdsRNA występuje w postaci nieaktywnej, domeny helikaz są w luźnej konformacji i mają niewielkie powinowactwo do ATP oraz dsRNA. W tym stanie domeny CARD są zablokowane przez bezpośrednie oddziaływanie CARD2 z HEL2i, co uniemożliwia wiązanie ubikwityny do domen CARD, a dodatkowo blokuje domenom helikaz dostęp do RNA [47]. W stanie autorepresji domena CTD jest dodatnio naładowana i luźno wystaje poza główną strukturę białka, umożliwia to rozpoznanie trzech reszt fosforanowych znajdujących się na 5' końcu RNA. Domena CTD ma bardzo duże powinowactwo do 5'pppdsRNA, wiążąc ligand zwiększa miejscowe stężenie RNA w obrębie receptora, które prowadzi do zmian konformacji helikaz. Zmiany te umożliwiają wiązanie ATP przez helikazy i zwiększenie ich powinowactwa do RNA. Wywołuje to dalsze zmiany konformacyjne i uwalnia domenę CARD, która uzyskuje możliwość luźnego usytuowania się poza główną strukturą receptora, natomiast RNA, związane z domeną CTD, tworzy bardzo silne oddziaływanie z helikazami. Uwolniona domena CARD ma teraz wolny dostęp do K63-ubikwityny, która po przyłączeniu się do RIG-I umożliwia przekazanie sygnału na białko adaptorowe MAVS [39]. Ubikwitynacja RIG-I jest przeprowadzana głównie przez E3 ligazę ubikwityny TRIM25. Do aktywacji RIG-I przez ubikwitynę jest potrzebny łańcuch złożony, z co najmniej czterech cząsteczek K63-ubikwityny [22]. W tej konformacji RIG-I zyskuje również aktywność hydrolazy ATP. Wydaje się, że hydroliza ATP pozwala na przemieszczanie się receptora po cząsteczce RNA oraz ułatwia tworzenie

tetramerów RIG-I, w celu zwielokrotnienia siły sygnału pochodzącego z jednej cząsteczki RNA [55]. RIG-I może inicjować odpowiedź odpornościową tak długo, jak długo jest ubikwitynowane (ryc. 2). Nawet po hydrolizie ATP i dysocjacji RNA od domeny helikaz, białko RIG-I nie może wrócić do postaci nieaktywnej. Dopiero po utracie łańcucha ubikwitynowego i całkowitym odłączeniu się RNA od RIG-I, receptor może zostać skierowany do degradacji lub zostać wykorzystany ponownie [39,47].

Istnieje również możliwość wiązania białka RIG-I do dłuższych cząsteczek dsRNA pozbawionych 5'ppp reszt fosforanowych, lecz proces ten zachodzi ze znacznie mniejszym powinowactwem i jest niezależny od domeny CTD [39].

MDA5

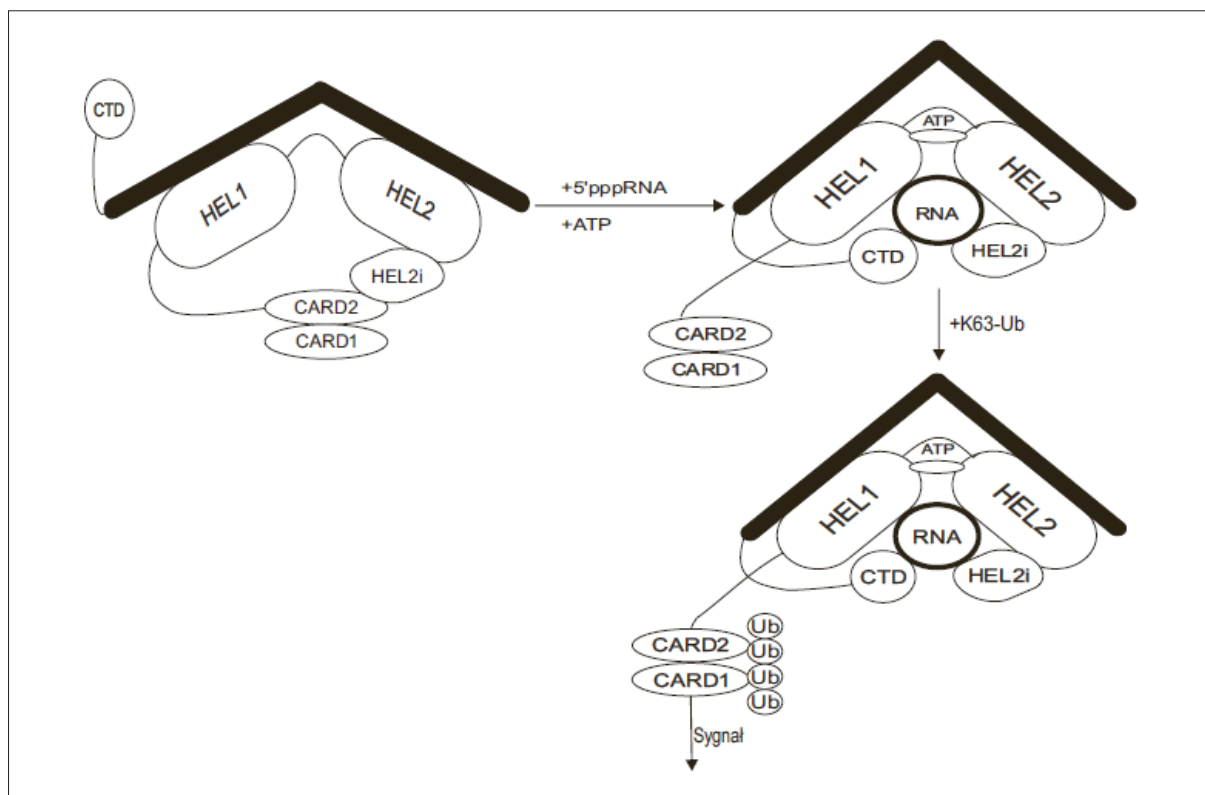
MDA5 jest kolejnym białkiem grupy RLR, które rozpoznaje dsRNA. Do aktywacji odpowiedzi odpornościowej przez MDA5 konieczny jest długi, dwuniciowy RNA składający się z ponad 1000 pz, przy czym niepotrzebna jest obecność reszt fosforanowych na 5'-końcu RNA [36]. Do badań *in vitro* nad receptorem MDA5 najczęściej jest wykorzystywany syntetyczny analog dsRNA poly(I:C). Uważa się, że jest możliwe rozpoznawanie przez ten receptor struktur wyższego rzędu obecnych w wirusowym RNA, na przykład swoistego regionu mRNA wirusa PIV5 (*Parainfluenza virus 5*) kodującego białko L (Large Protein). Wykazano, że receptor MDA5 jest najsilniej stymulowany przez wirusy z rodziny *Picornaviridae* [46,65].

Jak już wspomniano białko MDA5 jest pozbawione domeny CTD, dlatego nie może rozpoznawać dsRNA na podstawie reszt fosforanowych na 5'-końcu. MDA5 wydajnie wiąże się do długich odcinków dsRNA bogatych w zasady A i U. Po związaniu się do dsRNA, białko MDA5 tworzy na powierzchni RNA długie, helikalnie skręcone filamenty, złożone co najmniej z jedenastu cząsteczek receptora. Rozpoznawanie przez MDA5 sekwencji dsRNA bogatych w adeninę i uracyl jest związane ze zmniejszonym poziomem hydrolizy ATP, a więc ze zmniejszoną translokacją receptora na powierzchni RNA. Ułatwia to tworzenie polimerów przez MDA5.

LGP2

Trzecim z grupy receptorów RLR jest LGP2, receptor zdolny do oddziaływania i wiązania dsRNA o podobnej strukturze do tego wiązanej przez RIG-I. W przypadku LGP2 nie obserwuje się aktywacji odpowiedzi odpornościowej, a jedynie modulację działania RIG-I. Do hamowania RIG-I przez LGP2 dochodzi najprawdopodobniej z powodu konkurencji o ten sam ligand, mogącej doprowadzić do sekwestracji 5'pppRNA i uniemożliwieniu jego rozpoznania przez RIG-I [61,88].

W szlaku sygnałowym aktywowanym przez receptor MDA5 białko LGP2 pełni rolę regulatora pozytywnego. Wiążąc się do dsRNA ułatwia jego rozpoznanie przez



Ryc. 2. Sposób rozpoznawania cząsteczki 5'pppRNA przez receptor RIG-I. Receptor wiąże RNA za pomocą domeny CTD następnie uwalniane w wyniku tego wiązania domeny CARD są ubikwitynowane i przekazują sygnał na białko adaptorowe

receptor MDA5. Wsuwa się hipotezę, że białko LGP2 wpływa na równowagę między odpowiedziami inicjującymi przez receptory MDA5 i RIG-I [14,18].

W przypadku białka LGP2, które jest pozbawione domeny CARD, rozpoznanie cząsteczki RNA przebiega w podobny sposób jak w białku RIG-I. Brak domeny CARD jednak uniemożliwia przekazywanie sygnału z LGP2 na MAVS, dlatego proponuje się udział białka LGP2 w regulacji szlaków sygnałowych pozostałych receptorów RLR [68,70].

Szlak sygnałowy zależny od RLR

Sygnał, który powstaje po związaniu RNA przez receptory z grupy RLR jest przekazywany na białko adaptorowe MAVS. Tworzenie polimerów MDA5 na cząsteczce RNA i/lub wiązanie RNA z RIG-I powoduje składanie kompleksów MAVS na powierzchni mitochondrium, co umożliwia wydajniejsze odbieranie sygnału przez białko adaptorowe MAVS [84,86].

Wykazano, że synteza białek RLR zwiększa się po stymulacji komórek interferonem i w następstwie infekcji wirusowej. Szlak sygnałowy aktywowanego receptora RLR powoduje aktywację ligazy ubikwitynowej TRAF3, która tworzy kompleks z białkiem NAP1, umożliwiając fosforylację białka TANK. Następnym krokiem jest fosforylacja kompleksu kinaz TBK1 oraz IKKe. Sygnał jest przenoszony na czynniki transkrypcyjne IRF3 oraz IRF7,

które dimeryzują i są translokowane z cytoplazmy do jądra komórkowego. W jądrze IRF3/7 aktywuje ekspresję genu dla IFN typu I [45,59,89].

Inna ścieżka sygnałowa aktywowana po związaniu RNA przez receptor RLR pobudza ekspresję cytokin prozapalnych. Szlak rozpoczyna się od białka TRAF2, które umożliwia aktywację TAK1, co ostatecznie doprowadza do translokacji NF- κ B do jądra komórkowego. Możliwa jest również fosforylacja kompleksu kinaz białkowych IKK γ , α oraz β skutkująca fosforylacją i degradacją I κ B α oraz aktywacją czynnika transkrypcyjnego NF- κ B [45,54,89].

Wyniki doświadczeń potwierdzają, że komórki MEF RIG-I^{-/-} oraz pDC RIG-I^{-/-} poddane stymulacji syntetycznym 5'pppdsRNA lub infekowane wirusami SeV (*Sendai virus*), VSV (*Vesicular stomatitis virus*) lub JEV (*Japanese encephalitis*) czy wirusem grypy typu A nie wykazują wzrostu poziomu ekspresji IFN typu I w odpowiedzi na stymulację [27,40,63,65]. W przypadku komórek Huh7 traktowanych HIV Tar, który jest cząsteczką wirusowego RNA biorącą udział w aktywacji wirusowych promotorów oraz replikacji ich genomów, obserwuje się zwiększone wytwarzanie IP-10, podczas gdy w komórkach z inaktywowanym genem RIG-I ekspresja tej cytokiny jest zahamowana [9].

W podobnych badaniach przeprowadzonych na mysich homozygotach z delecją genu kodującego RIG-I obserwo-



wano obniżony poziom IFN- α w surowicy. W komórkach MEF i pDC z inaktywowanym genem MDA5 zauważono również obniżenie poziomu syntezy IFN typu I po stymulacji genomowym RNA wirusa EMCV. Te same linie komórkowe poddane stymulacji poly(I:C) charakteryzują się brakiem syntezy IFN- α/β oraz obniżonym poziomem syntezy IL-6 oraz IL-12. W obydwu receptorach wykazano, że do wywołania odpowiedzi odpornościowej przeciw wirusowej, konieczna jest obecność w komórce cząstek wirusowych zdolnych do replikacji, gdyż w czasie infekcji wirusami inaktywowanymi światłem ultrafioletowym nie obserwowano aktywacji ścieżki sygnałowej receptora RLR [24,37].

Aktywacja receptora RLR może być kontrolowana przez fosforylację zależną od kinaz PKC α/β . Przy braku obecności obcego RNA w komórce, RIG-I jest fosforylowany na Ser8 oraz Tre170, natomiast MDA5 na Ser88, co powoduje utrzymanie receptorów w postaci nieaktywnej. W chwili pojawienia się egzogennej RNA w komórce receptory RLR są defosforylowane przez fosfatazy białkowe PP1 α/γ , umożliwiając prawidłowe działanie receptorów [48,83].

Wiele wirusów wykształciło mechanizmy swojej dezaktywacji receptorów RLR lub sygnału następującego po ich aktywacji. Przykładem może być białko US11, pochodzące z wirusa *Herpes simplex virus*, które wiąże się do receptorów RLR w domenie helikaz, uniemożliwiając oddziaływanie receptora z RNA wirusa [85]. Podobnie białka NS1 i NS2 wirusa RSV oddziałują z RLR, przy czym wykazano, że NS2 wiąże się do domeny CARD receptora RIG-I, uniemożliwiając przekazanie sygnału na białko MAVS [42]. Inne wirusy, takie jak: *Poliowirus*, *Rhinowirus*, *Echovirus* czy *Encephalomyocarditisvirus* kodują proteazy C3 tnące receptor RIG-I. Istnieją również białka wirusowe E3L (*Vaccina virus*), VP35 (*Ebola virus*) oraz TRS1 czy m142/m143 (*Human cytomegalovirus*), które wiążą się do dsRNA, zapobiegając jego wykryciu przez receptor RLR [12,21,62].

PKR

PKR jest kinazą serynowo-treoninową wiążącą dsRNA. Podlega konstytutywnej ekspresji w większości rodzajów komórek, przy czym poziom ekspresji jest najwyższy w komórkach grasicy, śledziony oraz szpiku kostnego, może też być indukowany na skutek ekspozycji komórek na IFN typu I [44,53]. Głównym substratem PKR w komórce jest podjednostka α eukariotycznego czynnika inicjacji translacji (eIF2 α). Fosforylacja eIF2 α uniemożliwia jego działanie i hamuje inicjację translacji w komórce, a tym samym zatrzymuje syntezę wszystkich białek, zarówno endogennych, jak i wirusowych [67]. Oprócz procesów związanych z odpowiedzią przeciw wirusową kinaza jest zaangażowana w regulację procesu wzrostu komórki oraz jej różnicowania [44].

Wykazano, że stymulacja komórek poly(I:C) prowadzi do wzrostu poziomu postaci ufosforylowanej oraz całkowitej

też ilości PKR. W następstwie stymulacji poly(I:C) dochodzi także do aktywacji ścieżki sygnałowej p38 MAPK oraz wytwarzania IL-8 [75]. Zastosowanie inhibitora PKR, 2-aminopuryny (2-AP), powoduje zahamowanie aktywacji p38 oraz znaczące obniżenie wytwarzania IL-8 [81]. Obserwacje te sugerują, że działanie PKR w układzie odpornościowym nie ogranicza się jedynie do zahamowania translacji białek. Potwierdza to również, że obserwowano bezpośrednie oddziaływanie PKR z MKK6, która jest aktywatorem p38 [75].

Jak już wspomniano, poziom ekspresji PKR w komórce może być regulowany przez IFN typu I. W czasie infekcji wirusem PKR rozpoznaje i wiąże się do dsRNA patogenu za pomocą N-końcowego motywu wiążącego RNA [16]. Po związaniu kinazy do RNA następuje jej autofosforylacja i dimeryzacja, które powodują powstanie aktywnej postaci PKR. Udowodniono, że dsRNA krótszy niż 30 pz nie jest rozpoznawane przez PKR, a dłuższe fragmenty dsRNA mają większą zdolność do aktywacji PKR. Spowodowane jest to tym, że umożliwiają one dimeryzację kinazy na jednym fragmencie dsRNA [56].

Podczas infekcji wirusem HCV (*Hepatitis C virus*, wirus zapalenia wątroby typu C) dochodzi do fosforylacji PKR i wzrostu fosforylacji eIF2 α o 50% oraz do obniżenia ekspresji białka NS5A (niestrukturalne białko 5A wirusa HCV) o 40%. Wyciszenie ekspresji PKR za pomocą siRNA zwiększa wytwarzanie białek wirusowych [35]. W wyniku infekcji wirusem odry pozbawionym białka C (MeVc^{-/-}), którego dsRNA gromadzi się w komórce, dochodzi do akumulacji PKR w miejscu replikacji wirusa. W pobliżu obserwuje się również granule stresowe (SG), które formują się po aktywacji eIF2 α , tam również występuje wzmożona fosforylacja PKR i IRF3 [60].

Tabela 1. Receptory rozpoznające egzogenne RNA i przykłady patogenów w odpowiedzi przeciwko którym biorą udział

Receptor	Rozpoznawane RNA	Rozpoznawany patogen
TLR3	dsRNA	<i>Orthomyxoviridae</i>
		<i>Retroviridae</i>
TRL7/8	ssRNA	<i>Picornaviridae</i>
		<i>Herpesviridae</i>
		<i>Helicobacter</i>
		<i>Borelia</i>
		<i>Plasmodium</i>
TLR13	ssRNA	<i>Staphylococcus</i>
PKR	dsRNA	<i>Flaviviridae</i>
		<i>Orthomyxoviridae</i> <i>Paramyxoviridae</i>
RIG-I	dsRNA	<i>Flaviviridae</i>
		<i>Paramyxoviridae</i> <i>Orthomyxoviridae</i>
		<i>Rhabdoviridae</i>
		<i>Reoviridae</i>
MDA5	dsRNA	<i>Picornaviridae</i>
LGP2	dsRNA	<i>Paramyxoviridae</i>

Eksperymenty z wirusem SFV na komórkach z inaktywowanym genem kodującym PKR wykazały znaczny spadek wytwarzania IFN- β przy jednoczesnym braku obniżenia poziomu mRNA dla IFN- β . Sugeruje to udział PKR w posttranskrypcyjnej regulacji ekspresji genu dla IFN typu I [71].

PODSUMOWANIE

Rozpoznanie egzogennych kwasów nukleinowych przez komórkę jest istotnym elementem obrony organizmu przed drobnoustrojami. Duża różnorodność rozpoznawanych cząsteczek wymusiła na organizmach wyższych wyształcenie, w toku ewolucji, wiele wyspecjalizowanych receptorów zdolnych do wykrywania obcego RNA i DNA, co umożliwiło im skuteczną obronę przed wieloma rodzajami patogenów (tab.1). Proces rozróżnienia własnego i obcego kwasu nukleinowego jest złożony, ale można wyodrębnić w nim dwa główne etapy. W pierwszym etapie dochodzi do prezentacji egzogennych kwasów nukleinowych określonym receptorom, a następnie do aktywacji systemów wrodzonej odpowiedzi odpornościowej. W dalszych etapach, w zależności od rodzaju aktywowanego receptora, dochodzi do pobudzenia swo-

istej odpowiedzi komórek na atakujący patogen. W świetle przedstawionych danych na temat mechanizmów rozpoznawania RNA pochodzenia egzogennej najważniejszym elementem wydaje się współpraca między różnego typu receptorami oraz wzajemne przenikanie się mechanizmów rozpoznawania poszczególnych komponentów bakteryjnych i wirusowych, np.: kwasów nukleinowych, lipopolisacharydów czy białek wirusowych. Ważnym kierunkiem badań powinny więc być próby dogłębnego zrozumienia mechanizmów, w wyniku których poszczególne grupy receptorów regulują procesy odpornościowe. Wiadomo jednak, że mikroorganizmy wyształciły wiele mechanizmów adaptacyjnych i są zdolne do wytwarzania czynników hamujących receptory rozpoznające ich materiał genetyczny oraz maskujących obecność ich RNA w komórce. Badania powinny również zmierzać w kierunku identyfikacji konkretnych rodzajów, sekwencji i struktur RNA rozpoznawanych przez receptory komórkowe podczas infekcji. Określenie ich właściwości, jako naturalnych ligandów oraz wpływu na wrodzone i nabyte procesy odpornościowe może doprowadzić do identyfikacji nowych środków terapeutycznych wspomagających eliminację czynników chorobotwórczych z organizmu.

PIŚMIENICTWO

- [1] Akira S., Hemmi H.: Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. *Immunol. Lett.*, 2003; 85: 85-95
- [2] Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R., Flavell R.A.: Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3. *Nature*, 2001; 413: 732-738
- [3] Baccarella A., Fontana M.F., Chen E.C., Kim C.C.: Toll-like receptor 7 mediates early innate immune responses to malaria. *Infect. Immun.*, 2013; 81: 4431-4442
- [4] Bao M., Liu Y.J.: Regulation of TLR7/9 signaling in plasmacytoid dendritic cells. *Protein Cell*, 2013; 4: 40-52
- [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. Toxicol.*, 2009; 124: 219-234
- [6] Bauer S., Pigisch S., Hangel D., Kaufmann A., Hamm S.: Recognition of nucleic acid and nucleic acid analogs by Toll-like receptors 7, 8 and 9. *Immunobiol.*, 2008; 213: 315-328
- [7] Baum A., Sachidanandam R., Garcia-Sastre A.: Preference of RIG-I for short viral RNA molecules in infected cells revealed by next-generation sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 16303-16308
- [8] Beignon A.S., McKenna K., Skoberne M., Manches O., DaSilva I., Kavanagh D.G., Larsson M., Gorelick R.J., Lifson J.D., Bhardwaj N.: Endocytosis of HIV-1 activates plasmacytoid dendritic cells via Toll-like receptor-viral RNA interactions. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 3265-3275
- [9] Berg R.K., Melchjorsen J., Rintahaka J., Diget E., Soby S., Horan K.A., Gorelick R.J., Matikainen S., Larsen C.S., Ostergaard L., Paludan S.R., Mogensen T.H.: Genomic HIV RNA induces innate immune responses through RIG-I-dependent sensing of secondary-structured RNA. *PLoS One*, 2012; 7: e29291
- [10] Berke I.C., Li Y., Modis Y.: Structural basis of innate immune recognition of viral RNA. *Cell. Microbiol.*, 2013; 15: 386-394
- [11] Bianchi M.E.: DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J. Leukoc. Biol.*, 2007; 81: 1-5
- [12] Cardenas W.B., Loo Y.M., Gale M. Jr., Hartman A.L., Kimberlin C.R., Martinez-Sobrido L., Saphire E.O., Basler C.F.: Ebola virus VP35 protein binds double-stranded RNA and inhibits a/b interferon production induced by RIG-I signaling. *J. Virol.*, 2006; 80: 5168-5178
- [13] Cervantes J.L., Weinerman B., Basole C., Salazar J.C.: TLR8: the forgotten relative revindicated. *Cell. Mol. Immunol.*, 2012; 9: 434-438
- [14] Childs K.S., Randall R.E., Goodbourn S.: LGP2 plays a critical role in sensitizing mda-5 to activation by double-stranded RNA. *PLoS One*, 2013; 8: e64202
- [15] Choe J., Kelker M.S., Wilson I.A.: Crystal structure of human Toll-like receptor 3 (TLR3) ectodomain. *Science*, 2005; 309: 581-585
- [16] Cole J.L.: Activation of PKR: an open and shut case? *Trends Biochem. Sci.*, 2007; 32: 57-62
- [17] Creagh E.M., O'Neill L.A.J.: TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends Immunol.*, 2006; 27: 352-357
- [18] Deddouche S., Goubau D., Rehwinkel J., Chakravarty P., Begum S., Maillard P.V., Borg A., Matthews N., Feng Q., van Kuppeveld F.J., Reis e Sousa C.: Identification of an LGP2-associated MDA5 agonist in picornavirus-infected cells. *Elife*, 2014; 3: e01535
- [19] Diebold S.S., Kaisho T., Hemmi H., Akira S., Reis e Sousa C.R.: Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*, 2004; 303: 1529-1531
- [20] Dixit E., Boulant S., Zhang Y., Lee A.S., Odendall C., Shum B., Hachen N., Chen Z.J., Whelan S.P., Franssen M., Nibert M.L., Superti-Furga G., Kagan J.C.: Peroxisomes are signaling platforms for antiviral innate immunity. *Cell*, 2010; 141: 668-681
- [21] Gack M.U., Albrecht R.A., Urano T., Inn K-S., Huang I.C., Carnero E., Farzan M., Inoue S., Jung J.U., Garcia-Sastre A.: Influenza A virus NS1



- targets the ubiquitin ligase TRIM25 to evade recognition by the host viral RNA sensor RIG-I. *Cell Host Microbe*, 2009; 5: 439-449
- [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] Gantier M.P., Tong S., Behlke M.A., Xu D., Phipps S., Foster P.S., Williams B.R.: TLR7 is involved in sequence-specific sensing of single-stranded RNAs in human macrophages. *J. Immunol.*, 2008; 180: 2117-2124
- [24] 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
- [25] Gorden K.B., Gorski K.S., Gibson S.J., Kedl R.M., Kieper W.C., Qiu X.H., Tomai M.A., Alkan S.S., Vasilakos J.P.: Synthetic TLR agonists reveal functional differences between human TLR7 and TLR8. *J. Immunol.*, 2005; 174: 1259-1268
- [26] Goubau D., Deddouche S., Reis e Sousa C.: Cytosolic sensing of viruses. *Immunity*, 2013; 38: 855-869
- [27] Goubau D., Schlee M., Deddouche S., Pruijssers A.J., Zillinger T., Goldeck M., Schuberth C., Van der Veen A.G., Fujimura T., Rehwinkel J., Iskarpatyoti J.A., Barchet W., Ludwig J., Dermody T.S., Hartmann G., Reis e Sousa C.: Antiviral immunity via RIG-I-mediated recognition of RNA bearing 5', -diphosphates. *Nature*, 2014; 514: 372-375
- [28] Guillot L., Le Goffic R., Bloch S., Escriu N., Akira S., Chignard M., Si-Tahar M.: Involvement of toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza A virus. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 5571-5580
- [29] Hornung V., Ablasser A., Charrel-Dennis M., Bauernfeind F., Horvath G., Caffrey D.R., Latz E., Fitzgerald K.A.: AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*, 2009; 458: 514-518
- [30] Hornung V., Rothenfusser S., Britsch S., Krug A., Jahrsdorfer B., Giese T., Endres S., Hartmann G.: Quantitative expression of Toll-like receptor 1-10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides. *J. Immunol.*, 2002; 168: 4531-4537
- [31] Jin M.S., Lee J.O.: Structures of the toll-like receptor family and its ligand complexes. *Immunity*, 2008; 29: 182-191
- [32] Jurk M., Heil F., Vollmer J., Schetter C., Krieg A.M., Wagner H., Lipford G., Bauer S.: Human TLR7 or TLR8 independently confer responsiveness to the antiviral compound R-848. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 499
- [33] Jurk M., Kritzler A., Schulte B., Tluk S., Schetter C., Krieg A.M., Vollmer J.: Modulating responsiveness of human TLR7 and 8 to small molecule ligands with T-rich phosphorothiate oligodeoxynucleotides. *Eur. J. Immunol.*, 2006; 36: 1815-1826
- [34] Kang D.C., Gopalkrishnan R.V., Lin L., Randolph A., Valerie K., Pestka S., Fisher P.B.: Expression analysis and genomic characterization of human melanoma differentiation associated gene-5, *mda-5*: a novel type I interferon-responsive apoptosis-inducing gene. *Oncogene*, 2004; 23: 1789-1800
- [35] Kang J.I., Kwon S.N., Park S.H., Kim Y.K., Choi S.Y., Kim J.P., Ahn B.Y.: PKR protein kinase is activated by hepatitis C virus and inhibits viral replication through translational control. *Virus Res.*, 2009; 142: 51-56
- [36] Kato H., Takeuchi O., Mikamo-Sato E., 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
- [37] 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
- [38] Kawai T., Akira S.: The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int. Immunol.*, 2009; 21: 317-337
- [39] Kowalinski E., Lunardi T., McCarthy A.A., Louber J., Brunel J., Grigorenko B., Gerlier D., Cusack S.: Structural basis for the activation of innate immune pattern-recognition receptor RIG-I by viral RNA. *Cell*, 2011; 147: 423-435
- [40] Koyama S., Ishii K.J., Kumar H., Tanimoto T., Coban C., Uematsu S., Kawai T., Akira S.: Differential role of TLR – and RLR-signaling in the immune responses to influenza A virus infection and vaccination. *J. Immunol.*, 2007; 179: 4711-4720
- [41] Lafon M., Megret F., Lafage M., Prehaud C.: The innate immune facet of brain – human neurons express TLR-3 and sense viral dsRNA. *J. Mol. Neurosci.*, 2006; 29: 185-194
- [42] Ling Z., Tran K.C., Teng M.N.: Human respiratory syncytial virus nonstructural protein NS2 antagonizes the activation of beta interferon transcription by interacting with RIG-I. *J. Virol.*, 2009; 83: 3734-3742
- [43] Liu L., Botos I., Wang Y., Leonard J.N., Shiloach J., Segal D.M., Davies D.R.: Structural basis of toll-like receptor 3 signaling with double-stranded RNA. *Science*, 2008; 320: 379-381
- [44] Liu X., Bennett R.L., Cheng X., Byrne M., Reinhard M.K., May W.S.Jr.: PKR regulates proliferation, differentiation, and survival of murine hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood*, 2013; 121: 3364-3374
- [45] Loo Y.M., Fornek J., Crochet N., Bajwa G., Perwitasari O., Martinez-Sobrido L., Akira S., Gill M.A., Garcia-Sastre A., Katze M.G., Gale M. Jr.: Distinct RIG-I and MDA5 signaling regulation by RNA viruses in innate immunity. *J. Virol.*, 2008; 82: 335-345
- [46] Loo Y.M., Gale M. Jr.: Immune signaling by RIG-I-like receptors. *Immunity*, 2011; 34: 680-692
- [47] Luo D., Ding S.C., Vela A., Kohlway A., Lindenbach B.D., Pyle A.M.: Structural insights into RNA recognition by RIG-I. *Cell*, 2011; 147: 409-422
- [48] Maharaj N.P., Wies E., Stoll A., Gack M.U.: Conventional protein kinase C- α (PKC- α) and PKC- β negatively regulate RIG-I antiviral signal transduction. *J. Virol.*, 2012; 86: 1358-1371
- [49] Marcotrigiano J., Gingras A.C., Sonenberg N., Burley S.K.: Cocystal structure of the messenger RNA 5' cap-binding protein (eIF4E) bound to 7-methyl-GDP. *Cell*, 1997; 89: 951-961
- [50] Marsh M., Helenius A.: Virus entry: open sesame. *Cell*, 2006; 124: 729-740
- [51] Matsumoto M., Kikkawa S., Kohase M., Miyake K., Seya T.: Establishment of a monoclonal antibody against human Toll-like receptor 3 that blocks double-stranded RNA-mediated signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002; 293: 1364-1369
- [52] Matsumoto M., Seya T.: TLR3: Interferon induction by double-stranded RNA including poly(I:C). *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008; 60: 805-812
- [53] Meurs E., Chong K., Galabru J., Thomas N.S., Kerr I.M., Williams B.R., Hovanessian A.G.: Molecular cloning and characterization of the human double-stranded RNA-activated protein kinase induced by interferon. *Cell*, 1990; 62: 379-390
- [54] Meylan E., Curran J., Hofmann K., Moradpour D., Binder M., Bartenschlager R., Tschoop J.: Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature*, 2005; 437: 1167-1172
- [55] Myong S., Cui S., Cornish P.V., Kirchofer A., Gack M.U., Jung J.U., Hopfner K.P., Ha T.: Cytosolic viral sensor RIG-I is a 5'-triphosphate-dependent translocase on double-stranded RNA. *Science*, 2009; 323: 1070-1074
- [56] Norden R., Nystrom K., Olofsson S.: Activation of host antiviral RNA-sensing factors necessary for herpes simplex virus type 1-acti-

vated transcription of host cell fucosyltransferase genes FUT3, FUT5, and FUT6 and subsequent expression of sLe(x) in virus-infected cells. *Glycobiology*, 2009; 19: 776-788

[57] Oldenburg M., Kruger A., Ferstl R., Kaufmann A., Nees G., Sigmund A., Bathke B., Lauterbach H., Suter M., Dreher S., Koedel U., Akira S., Kawai T., Buer J., Wagner H., Bauer S., Hochrein H., Kirschning C.J.: TLR13 recognizes bacterial 23S rRNA devoid of erythromycin resistance-forming modification. *Science*, 2012; 337: 1111-1115

[58] Opitz C.A., Litzenburger U.M., Lutz C., Lanz T.V., Tritschler I., Koppel A., Tolosa E., Hoberg M., Anderl J., Aicher W.K., Weller M., Wick W., Platten M.: Toll-like receptor engagement enhances the immunosuppressive properties of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells by inducing indoleamine-2,3-dioxygenase-1 via interferon- β and protein kinase R. *Stem Cells*, 2009; 27: 909-919

[59] Paz S., Sun Q., Nakhaei P., Romieu-Mourez R., Goubau D., Julkunen I., Lin R., Hiscott J.: Induction of IRF-3 and IRF-7 phosphorylation following activation of the RIG-I pathway. *Cell Mol. Biol.*, 2006; 52: 17-28

[60] Pfaller C.K., Radeke M.J., Cattaneo R., Samuel C.E.: Measles virus C protein impairs production of defective copyback double-stranded viral RNA and activation of protein kinase R. *J. Virol.*, 2014; 88: 456-468

[61] Plumet S., Duprex W.P., Gerlier D.: Dynamics of viral RNA synthesis during measles virus infection. *J. Virol.*, 2005; 79: 6900-6908

[62] Powers C., DeFilippis V., Malouli D., Frueh K.: Cytomegalovirus immune evasion. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2008; 325: 333-359

[63] Rehwinkel J., Tan C.P., Goubau D., Schulz O., Pichlmair A., Bier K., Robb N., Vreede F., Barclay W., Fodor E., Reis e Sousa C.: RIG-I detects viral genomic RNA during negative-strand RNA virus infection. *Cell*, 2010; 140: 397-408

[64] Rua R., Lepelley A., Gessain A., Schwartz O.: Innate sensing of foamy viruses by human hematopoietic cells. *J. Virol.*, 2012; 86: 909-918

[65] Runge S., Sparrer K.M., Laessig C., Hembach K., Baum A., Garcia-Sastre A., Söding J., Conzelmann K.K., Hopfner K.P.: In vivo ligands of MDA5 and RIG-I in measles virus-infected cells. *PLoS Pathog.*, 2014; 10: e1004081

[66] Rutz M., Metzger J., Gellert T., Luppa P., Lipford G.B., Wagner H., Bauer S.: Toll-like receptor 9 binds single-stranded CpG-DNA in a sequence- and pH-dependent manner. *Eur. J. Immunol.*, 2004; 34: 2541-2550

[67] Sadler A.J., Williams B.R.: Structure and function of the protein kinase R. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2007; 316: 253-292

[68] 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

[69] Sarvestani S.T., Stunden H.J., Behlke M.A., Forster S.C., McCoy C.E., Tate M.D., Ferrand J., Lennox K.A., Latz E., Williams B.R., Gantier M.P.: Sequence-dependent off-target inhibition of TLR7/8 sensing by synthetic microRNA inhibitors. *Nucleic Acids Res.*, 2015; 43: 1177-1188

[70] 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

[71] Schulz O., Pichlmair A., Rehwinkel J., Rogers N.C., Scheuner D., Kato H., Takeuchi O., Akira S., Kaufman R.J., Reis e Sousa C.: Protein kinase R contributes to immunity against specific viruses by regulating interferon mRNA integrity. *Cell Host Microbe*, 2010; 7: 354-361

[72] Sen G.C., Sarkar S.N.: Transcriptional signaling by double-stranded RNA: role of TLR3. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2005; 16: 1-14

[73] Shi Z., Cai Z., Sanchez A., Zhang T., Wen S., Wang J., Yang J., Fu S., Zhang D.: A novel Toll-like receptor that recognizes vesicular stomatitis virus. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 4517-4524

[74] Signorino G., Mohammadi N., Patane F., Buscetta M., Venza M., Venza I., Mancuso G., Midiri A., Alexopoulou L., Teti G., Biondo C., Be-

linati C.: Role of Toll-like receptor 13 in innate immune recognition of group B streptococci. *Infect. Immun.*, 2014; 82: 5013-5022

[75] Silva A.M., Whitmore M., Xu Z., Jiang Z.F., Li X.X., Williams B.R.: Protein kinase R (PKR) interacts with and activates mitogen-activated protein kinase kinase 6 (MKK6) in response to double-stranded RNA stimulation. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 37670-37676

[76] Sun L., Wu J., Du F., Chen X., Chen Z.J.: Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science*, 2013; 339: 786-791

[77] Takada E., Okahira S., Sasai M., Funami K., Seya T., Matsumoto M.: C-terminal LRRs of human Toll-like receptor 3 control receptor dimerization and signal transmission. *Mol. Immunol.*, 2007; 44: 3633-3640

[78] Tolle L.B., Standiford T.J.: Danger-associated molecular patterns (DAMPs) in acute lung injury. *J. Pathol.*, 2013; 229: 145-156

[79] Triantafilou K., Vakakis E., Orthopoulos G., Ahmed M.A., Schumann C., Lepper P.M., Triantafilou M.: TLR8 and TLR7 are involved in the host's immune response to human parechovirus 1. *Eur. J. Immunol.*, 2005; 35: 2416-2423

[80] Vercammen E., Staal J., Beyaert R.: Sensing of viral infection and activation of innate immunity by toll-like receptor 3. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2008; 21: 13-25

[81] Vijay-Kumar M., Gentsch J.R., Kaiser W.J., Borregaard N., Offermann M.K., Neish A.S., Gewirtz A.T.: Protein kinase R mediates intestinal epithelial gene remodeling in response to double-stranded RNA and live rotavirus. *J. Immunol.*, 2005; 174: 6322-6331

[82] Wei T., Gong J., Jamitzky F., Heckl W.M., Stark R.W., Roessle S.C.: Homology modeling of human Toll-like receptors TLR7, 8, and 9 ligand-binding domains. *Protein Sci.*, 2009; 18: 1684-1691

[83] Wies E., Wang M.K., Maharaj N.P., Chen K., Zhou S., Finberg R.W., Gack M.U.: Dephosphorylation of the RNA sensors RIG-I and MDA5 by the phosphatase PP1 is essential for innate immune signaling. *Immunity*, 2013; 38: 437-449

[84] 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

[85] 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

[86] Xu H., He X., Zheng H., Huang L.J., Hou F., Yu Z., de la Cruz M.J., Borkowski B., Zhang X., Chen Z.J., Jiang Q.X.: Structural basis for the prion-like MAVS filaments in antiviral innate immunity. *Elife*, 2014; 3: e01489

[87] Yoneyama M., Fujita T.: Structural mechanism of RNA recognition by the RIG-I-like receptors. *Immunity*, 2008; 29: 178-181

[88] 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

[89] 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

[90] Zucchini N., Bessou G., Traub S., Robbins S.H., Uematsu S., Akira S., Alexopoulou L., Dalod M.: Cutting edge: Overlapping functions of TLR7 and TLR9 for innate defense against a herpesvirus infection. *J. Immunol.*, 2008; 180: 5799-5803

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

