

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Eva Fojtíková

Adaptorový protein STING a jeho role ve virových infekcích
Adaptor protein STING and his role in viral infections

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Lenka Horníková, PhD.

Praha, 2024

Poděkování

Děkuji své školitelce RNDr. Lence Horníkové, PhD. za odbornou pomoc, cenné rady a připomínky, vedení práce, a především za trpělivost.

Projekt Národní institut virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103)
– Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

Prohlášení

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

V Praze dne 30.7.2024

Podpis:
Eva Fojtíková

Abstrakt

Adaptorový protein STING hraje esenciální roli v signalizaci vrozené imunity. Jedná se o transmembránový protein, který je zakotven v membráně endoplasmatického retikula. Protein STING se vyskytuje v buňkách imunitního systému, v buňkách slinivky a v epitelových buňkách. Aktivován je cyklickými dinukleotidy, které indukují tvorbu polymeru proteinu STING. Ten následně translokuje do Golgiho aparátu, kde rekrutuje kinázu TBK1, která protein fosforyluje. Následně protein STING rekrutuje transkripční faktor IRF3, který je kinázou také fosforylován. Po fosforylaci se IRF3 odpojuje od komplexu, dimerizuje a translokuje do jádra, kde iniciuje transkripci interferonových genů. Protein STING je po signalizaci degradován autofagickou drahou, tím je jeho signalizace ukončena. Viry, jakožto vnitrobuněční parazité, potřebují modulovat signalizaci drah vrozené imunity pro své efektivní pomnožení v buňce. Protein STING může tedy sloužit jako cíl některých virových proteinů, které inhibují jím zprostředkovanou signalizaci, a tím se viry vyhýbají imunitnímu systému.

Klíčová slova: STING, interferon, autofágie, virus, vrozená imunita

Abstract

The adaptor protein STING plays an essential role in innate immune system signalling. This transmembrane protein is anchored in the membrane of the endoplasmic reticulum. The STING protein is expressed in the cells of the immune system, in epithelial cells and pancreatic cells. The STING protein is activated by binding to the cyclic dinucleotides which induce the polymer formation. Then, the STING protein translocates to the Golgi apparatus, where it recruits the kinase TBK1 which phosphorylates the STING protein. Subsequently the protein recruits the transcription factor IRF3 that is also phosphorylated by TBK1. Phosphorylated IRF3 detaches from the complex, forms a dimer and translocates to the nucleus where it initiates the transcription of interferon genes. After signalling the STING protein is degraded via the autophagic pathway, thus terminating its signalization. Viruses, as intracellular parasites, need to modulate the signalling pathways of innate immunity for their effective multiplication within the cell. Therefore, the STING protein can serve as a target for certain viral proteins that inhibit STING-mediated signalling, allowing the viruses to evade the immune system.

Key words: STING, interferon, autophagy, virus, innate immunity

Obsah

Úvod	1
1 Charakterizace proteinu STING, jeho struktura a význam	2
1.1 Objevení proteinu STING	2
1.2. Struktura proteinu STING	2
1.3 Lokalizace proteinu STING	5
1.4 Funkce proteinu STING.....	5
1.5 Vazba cyklických nukleotidů na protein STING.....	6
1.5.1 Vazba c-di-GMP na protein STING	6
1.5.2 Vazba cGAMP na protein STING.....	7
1.5.3 Vazba c-di-AMP na protein STING	9
1.5.4 Formace polymeru proteinu STING.....	9
2 Role proteinu STING v buněčné signalizaci	11
2.1 Role proteinu STING ve vrozené imunitě.....	11
2.2 Signální dráha cGAS-STING.....	11
2.2.1 Transport proteinu STING z ER do GA.....	13
2.2.2. Interakce TBK1 a IRF3 s proteinem STING.....	14
2.3 Role proteinu STING v autofágii	15
3 Role proteinu STING při virové infekci	17
3.1 Viry s DNA genomy.....	17
3.1.1 Herpesviry	17
3.1.2 Papilomaviry	20
3.2 Viry s RNA genomy.....	22
3.2.1 Flaviviry	24
3.2.2 Pikornaviry	25
3.2.3 Retroviry.....	26
Závěr	28
Seznam použité literatury	29

Seznam použitých zkratk

AIDS	acquired immunodeficiency syndrome	syndrom získané imunitní nedostatečnosti
Aly/REF	export factor Aly/REF	exportní faktor Aly/REF
AMP	adenosine monophosphate	adenosinmonofosfát
ATP	adenosine triphosphate	adenosintrifosfát
c-di-AMP	cyclic bis-(3'-5')-adenosine monophosphate	cyklický bis-(3'-5')-adenosin monofosfát
c-di-GMP	cyclic bis-(3'-5')-guanosine monophosphate	cyklický bis-(3'-5')-guanosin monofosfát
CA16	coxsackievirus 16	coxsackievirus 16
CD4	cluster of differentiation 4	diferenční klastr 4
cGAMP	cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate	cyklický guanosinmonofosfát-adenosinmonofosfát
cGAS	cyclic GMP-AMP synthase	syntáza cyklického GMP-AMP
Daxx	death domain-associated protein	doména proteinu asociovaná se smrtí
DENV	Dengue virus	virus Dengue
DNA	deoxyribonucleic acid	deoxyribonukleová kyselina
dsDNA	double stranded deoxyribonucleic acid	dvojřetězcová deoxyribonukleová kyselina
dsRNA	double stranded ribonucleic acid	dvojřetězcová ribonukleová kyselina
E	early genes/proteins	časné geny/proteiny
E2	early protein 2	časný protein 2

E7	early protein 7	časný protein 7
eIF-2 α	eukaryotic initiation factor 2 α	eukaryotický iniciační translační faktor 2 α
eIF3S5	eukaryotic initiation factor 3S5	eukaryotický iniciační translační faktor 3S5
EMCV	encephalomyocarditis virus	virus encefalomyokarditidy
ER	endoplasmic reticulum	endoplasmatické retikulum
ERGIC	endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment	přechodný kompartment mezi endoplasmatickým retikulem a Golgiho aparátem
ERIS	endoplasmic reticulum IFN stimulator	stimulátor interferonových genů endoplasmatického retikula
EV-A71	enterovirus 71	enterovirus 71
GA	Golgi apparatus	Golgiho aparát
GMP	guanosine monophosphate	guanosinmonofosfát
GTP	guanosine triphosphate	guanosintrifosfát
HCMV	human cytomegalovirus	lidský cytomegalovirus
HCV	hepatitis C virus	virus hepatitidy C
HIV	human immunodeficiency virus	virus lidské imunodeficiency
HPV	human papillomavirus	lidský papilomavirus
HR-HPV	high-risk human papillomavirus	vysoce rizikový lidský papilomavirus
HSV	herpesvirus	herpesvirus
ICP27	infected cell protein 27	protein infikované buňky 27

IE	immediate early genes/proteins	raně časné geny/proteiny
IFN	interferon	interferon
IKK	inhibitory κ B kinase	kináza inhibující jaderný faktor κ B
IRF3	interferon regulatory factor 3	interferonový regulační faktor 3
iRhom	inactive rhomboid protein 2	inaktivní rhomboid protein 2
ISD	interferon stimulatory DNA	DNA stimující expresi interferonů
L	late genes/proteins	pozdní geny/proteiny
LC3	microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3	lehký řetězec 3 proteinu 1A/1B asociovaného s mikrotubuly
LR-HPV	low risk human papillomavirus	nízko rizikový lidský papilomavirus
MAVS	mitochondrial antiviral-signaling protein	mitochondriální antivirový signalizační protein
MHC-I	major histocompatibility complex I	hlavní histokompatibilní komplex I
MITA	mediator of IRF3 activation	mediátor aktivace IRF3
mPTP	mitochondrial permeability transition pore	mitochondriální pór přechodné propustnosti
MPYS	stimulator of interferon genes, equivalent to STING	stimulátor interferonových genů, ekvivalent STING
mRNA	messenger ribonucleic acid	mediátorová DNA
mtDNA	mitochondrial deoxyribonucleic acid	mitochondriální DNA
NF- κ B	nuclear factor κ light-chain-enhancer of activated B cells	jaderný faktor κ lehkého řetězce aktivovaných B buněk
NLRX1	nucleotide-binding oligomerization domain, leucine rich repeat containing X1	oligomerizační doména vázající nukleotidy bohatá na leucinové repetice obsahující X1

NS2B3	nonstructural protein 2B3	nestrukturní protein 2B3
NS4B	nonstructural protein 4B	nestrukturní protein 4B
p6	protein 6	protein 6
PAMPs	pathogen-associated molecular patterns	molekulární motivy asociované s výskytem patogenu
poly(dA:dT)	Poly(deoxyadenylic-deoxythymidylic) acid	poly(deoxyadenylová-deoxythymidylová) kyselina, DNA bohatá na AT páry
poly(dC:dG)	poly(deoxyguanylic-deoxycytidylic) acid	poly(deoxyguanylová-deoxycytidylová) kyselina, DNA bohatá na CG páry
PP1	protein phosphatase 1	protein fosfatáza 1
pp71	phosphoprotein 71	fosfoprotein 71
PPRs	pattern-recognition receptors	receptory rozpoznávající vzory
pRb	retinoblastoma protein	retinoblastomový protein
RIG-1	retinoic acid-inducible gene 1	indukovatelný gen kyselinou retinovou
RNA	ribonucleic acid	ribonukleová kyselina
RRM	RNA recognition motif	RNA rozpoznávající motiv
SAVI	STING-associated vasculopathy with onset in infancy	vaskulopatie asociovaná s proteinem STING s časným nástupem
ssRNA	single stranded ribonucleic acid	jednovláknová ribonukleová kyselina
STING	stimulator of interferon genes	stimulátor interferonových genů
TANK	TRAF family member-associated NF- κ B activator	aktivátor jaderného faktoru κ B asociovaný s členem rodiny TRAF

TAP/NFX1	transporter associated with antigen processing/nuclear RNA export factor 1	transportér asociovaný s prezentací antigenu/jaderný exportní faktor pro RNA 1
TBK1	TANK-binding kinase	TANK-vazebná kináza 1
TGN	trans-Golgi network	trans-golgiho síť
TLRs	Toll-like receptors	Toll-like receptory
TM	transmembrane domain	transmembránová doména
TMEM173	transmembrane protein 173	transmembránový protein 173
TRAP β	β subunit of translocon-associated protein complex	β podjednotka proteinu asociovaného s translokázou
TRIM32	tripartite motif containing 32	protein obsahující tripartitní motif 32
TTL	tubulin tyrosine ligase-like enzyme	tubulin-tyrosin kináza-like enzym
VISA	virus-induced signaling adaptor	adaptor pro signalizaci indukovanou virem
WIPI2	WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 2	protein 2 obsahující WD opakující doménu a interagující s fosfoinositidy

Úvod

Složky vrozené imunity stojí v první linii obrany v boji proti patogenům, v čemž spočívá jejich nezpochybnitelná důležitost. Přítomnost patogenu v buňce prozrazují molekuly asociované s patogenem (PAMPs), které detekují receptory rozpoznávající patogeny (PRR). Mezi PAMPs se řadí bakteriální sekundární metabolity, virové nukleové kyseliny aj. Po detekci přítomnosti patogenu je spuštěna řada signálních drah a procesů, jejichž cílem je nepřítele buď zneškodnit, či mu zabránit v reprodukci. Odpověď imunitního systému je však spuštěna i při detekci DNA v cytoplasmě, což je buď známkou infekce, nebo to značí narušení jaderné membrány buňky nebo narušení membrány organely, která obsahuje vlastní DNA. Jednou z klíčových komponent signalizace vrozené imunity je protein STING (stimulátor interferonových genů). Tento transmembránový protein je ukotven v membráně endoplasmatického retikula, kde ve struktuře dimeru čeká na svou aktivaci.

Adaptorový protein STING je aktivován vazbou cyklických dinukleotidů, kterými jsou bakteriální sekundární metabolity c-di-GMP a c-di-AMP a buněčný dinukleotid cGAMP. Po vazbě protein STING rekrutuje kinázu TBK1 a transkripční faktor IRF3. Kináza fosforyluje protein STING i IRF3. Fosforylovaný transkripční faktor je nyní aktivní, odpoutává se od komplexu a translokuje do jádra, kde iniciuje transkripci interferonů a jiných cytokinů. Interferony hrají roli při obraně před virovými infekcemi a cytokiny jsou regulátory imunitního systému.

Viry jsou obligátní intracelulární parazité, které jsou schopny manipulovat buňkou tak, aby ji přiměly produkovat virové komponenty. Kromě toho ovlivňují i signalizaci imunitního systému, aby předešly detekci a mohly se replikovat. Řada virů kóduje proteiny, jejichž cílem je právě adaptorový protein STING a inhibice signalizace zprostředkované právě tímto adaptorovým proteinem.

Prvním cílem této práce bylo představit protein STING, vysvětlit jeho strukturu, funkci, objasnit mechanismy jeho aktivace a popsat signální dráhy, jichž se protein STING účastní. Druhým cílem této práce bylo u vybraných zástupců virových čeledí, které cílí na protein STING, objasnit, jakými mechanismy dochází k inhibici signalizace tohoto proteinu.

Kapitola 1

Charakterizace proteinu STING, jeho struktura a význam

1.1 Objevení proteinu STING

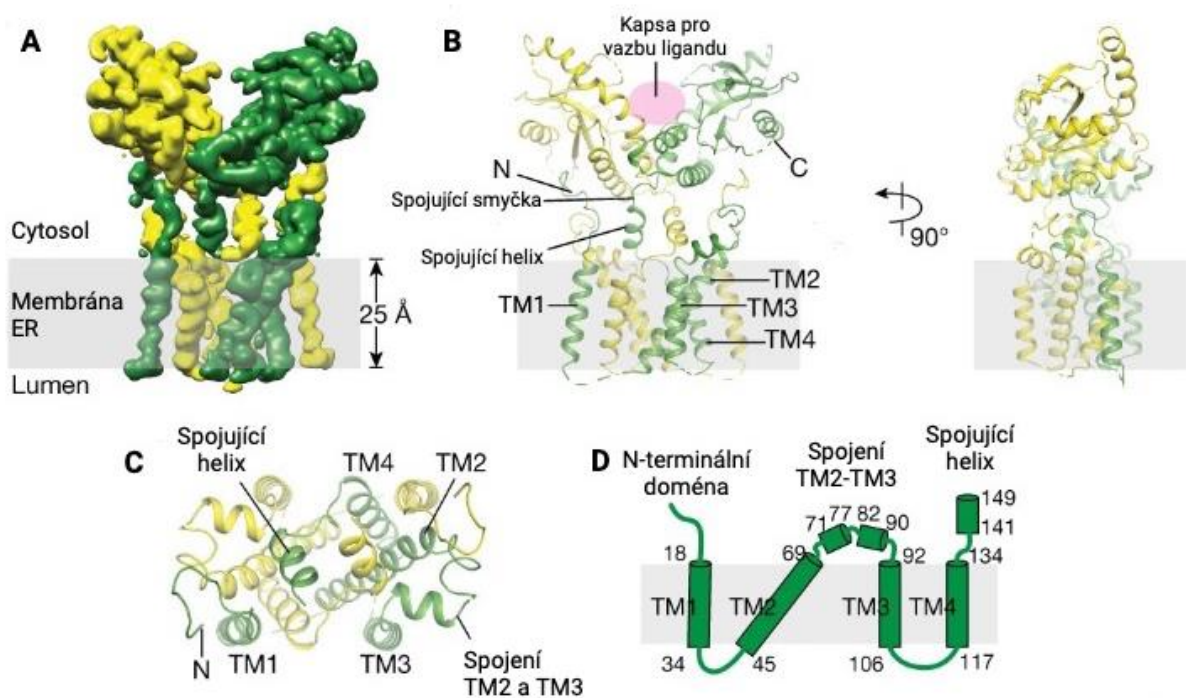
Dvojice autorů H. Ishikawa a G. N. Barber se roku 2008 prvně zmiňuje o molekule, která dosud nebyla charakterizována. Jedná se o protein čítající 379 aminokyselin v lidských buňkách, v myších pak o jednu aminokyselinu méně, jenž má čtyři transmembránové motivy. Po bližším zkoumání docházejí k závěru, že protein je nezbytný pro efektivní signalizační procesy vrozené imunity. Dále zjišťují, že dokáže regulovat indukci interferonů typu I a podle této funkce jej pojmenovali stimulant interferonových genů (z angl. stimulator of interferon genes, STING) (Ishikawa a Barber 2008).

Tato laboratoř však nebyla jediná, která s objevením této významné molekuly přišla. Řada dalších výzkumných týmů přispěla svými poznatky o proteinu a signalizačních procesech, s nimiž je spojený. Nicméně k objevům došlo téměř současně, a tak se můžeme setkávat kromě názvu STING i s MPYS (Jin et al. 2008), ERIS (stimulant interferonových genů endoplasmatického retikula) (Sun et al. 2009), TMEM173 (transmembránový protein 173) či MITA (mediátor aktivace IRF3) (Zhong et al. 2008). Ve vědecké literatuře je protein většinou označován jako STING, proto tak bude dále nazýván i v této práci.

1.2. Struktura proteinu STING

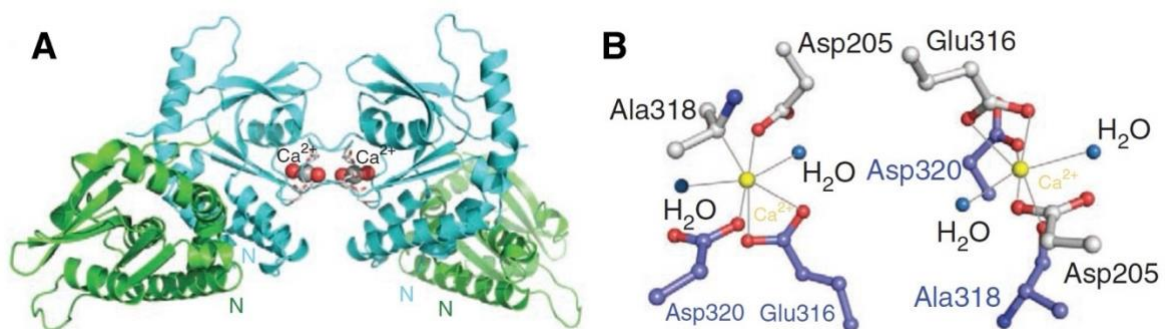
Terciární struktura proteinu STING v jeho plné délce byla dlouho záhadou. Lidská varianta proteinu STING čítá 379 aminokyselin. Skládá se z aminové koncové domény (1.-138. aminokyselinový zbytek, dále aa) (Ouyang et al. 2012), domény vázající ligand (139.-336. aa) a karboxylové koncové domény (od 337. aa po 379. aa) (viz obrázek 1.1). N-koncová doména, kterou tvoří celkem čtyři transmembránové segmenty, vytváří spolu s ligand-vazebnou doménou hydrofobní a elektrostatické interakce, jež jsou důležité z hlediska stability a správné funkce proteinu (Shang et al. 2019). C-koncová doména je cytosolická, skládá se z pětivláknového β -listu, jenž je obklopen pěti helixy (Shang et al. 2012).

V buňce se protein STING vyskytuje ve formě dimeru, nezávisle na přítomnosti ligandu (Burdette et al. 2011; Huang et al. 2012; Sun et al. 2009; Zhong et al. 2008) a nezávisle na signálu (Ouyang et al. 2012). V této formě je jeho molekulární hmotnost přibližně 80 kDa, ve formě monomeru pak 42 kDa (Burdette et al. 2011; Shang et al. 2019; Sun et al. 2009). Dimer vzniká díky hydrofobním interakcím mezi transmembránovými doménami, první transmembránová doména homodimerického proteinu STING se zabalí s druhou, třetí a čtvrtou transmembránovou doménou druhého homodimeru STING proteinu. Tímto spojením se uspořádají do dvou vrstev, kdy se v centru nachází druhé a čtvrté transmembránové domény z obou homodimerů, na okraji se pak nachází první a třetí domény. Takto uspořádaný protein STING připomíná tvarem motýla. Jednotlivé dimery proteinu STING spolu mohou interagovat a vytvářet tetramery až oligomery tím, že se jednotlivé dimery skládají lineárně vedle sebe (Shang et al. 2019). Tyto struktury hrají roli v aktivaci proteinu STING a v jeho signální transdukci (Li et al. 2024). Znalost struktury proteinu STING je nedílnou součástí pochopení jeho důležité funkce, kterou v buňkách má.



Obrázek 1.1 Vyobrazení struktury lidské varianty proteinu STING v jeho plné délce. A) Pohled na vyobrazený protein z boku ve 3D. Dvě podjednotky dimeru jsou prezentovány žlutou a zelenou barvou. ER – endoplasmatické retikulum B) Boční pohled na protein se znázorněnými helixy. C) Pohled na transmembránovou doménu (TM) dimeru z cytosolické strany. D) Topologický diagram transmembránové domény. Převzato, upraveno a přeloženo z Shang et al. 2019.

Během tvorby dimerické struktury proteinu STING se uplatňuje řada nezbytných interakcí. Monomery spolu interagují rozsáhlými hydrofobními interakcemi. V helixu $\alpha 1$ jsou tyto interakce zprostředkovány aa Val155, Leu157, Trp161 a Ile165, na rozhraní mezi helixy $\alpha 2$ a $\alpha 3$ pak aa Ala270, Met271, Ala277. Mezi postranními řetězci fenolových skupin Tyr164 a Tyr274 se vytváří dva vodíkové můstky (Shu et al. 2012). Helix $\alpha 1$ interaguje se zbytkem proteinu, zejména pak s helixy $\alpha 3$ a $\alpha 4$, proto je pro tvorbu dimeru zásadní. Jeho zkrácení vede k nesprávnému složení, což má za následek nerozpustnost proteinu STING (Huang et al. 2012; Shu et al. 2012). Nedílnou součástí interakcí mezi dvěma dimery tohoto proteinu jsou vápenaté ionty, neboť jsou významnými regulátory jeho funkce. Vazebná místa pro dva vápenaté ionty se nalézají ve smyčce mezi řetězci $\beta 1$ a $\beta 2$ a ve smyčce mezi řetězcem $\beta 5$ a helixem $\alpha 4$. Postranní řetězce Glu316 a Asp320 z jedné molekuly proteinu STING, karboxylová skupina Ala318 a postranní řetězec Asp205 druhé molekuly proteinu, která je s první symetricky spojená, a dvě molekuly vody koordinují s oběma vápenatými ionty. Tato interakce vytváří geometrii oktaedru (Shu et al. 2012), (viz obrázek 1.2). Protein STING bez navázaných vápenatých iontů je hyperaktivnější a spontánně indukuje expresi interferonů i při nízkých hladinách transfekce, dokonce přestává reagovat na vazbu cyklického diguanosinmonofosfátu (c-di-GMP) (Burdette et al. 2011). Pro správné složení proteinu, jeho lokalizaci a funkci je tedy nezbytná celá řada různých interakcí, bez nichž by protein STING nebyl schopen správně působit během odpovědi imunitního systému.



Obrázek 1.2 Detailní pohled na vazebné místo vápenatých iontů. Šedou barvou jsou znázorněny aa jednoho monomeru proteinu STING, fialovou barvou pak aa symetricky orientovaného druhého monomeru. Žlutou barvou jsou znázorněny vápenaté ionty, modrou barvou molekuly rozpouštědla. Převzato z Shu et al. 2012.

1.3 Lokalizace proteinu STING

STING je transmembránový protein lokalizovaný na membráně endoplasmatického retikula (ER). Aminokyselinový motiv RXR je jedním z motivů nacházejících se u proteinů vyskytujících se v ER (Zerangue et al. 1999). Sekvence proteinu STING obsahuje dva tyto motivy: mezi druhou a třetí transmembránovou doménou se nalézá motiv RYR (aminokyseliny 76-78) a hned za čtvrtým transmembránovým segmentem se nalézá motiv RIR (aminokyseliny 178-180) (Sun et al. 2009). Protein STING je exprimovaný zejména v imunitních buňkách, jako jsou například monocyty nebo lymfoblasty, ale i v dalších buněčných typech (v buňkách epitelu či slinivky) (Sun et al. 2009). Z tohoto lze usuzovat, že hraje roli v imunitní odpovědi organismu.

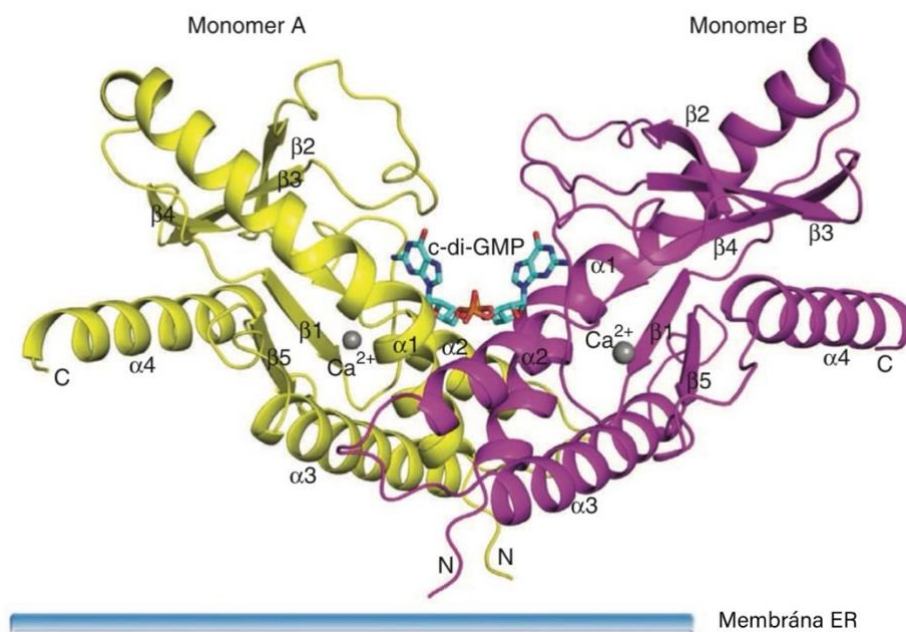
1.4 Funkce proteinu STING

Protein STING má hned dvě funkce – je to adaptorový protein, který je aktivován buněčnými senzory (např. syntázou cyklického GMP-AMP, zkráceně cGAS), které detekují přítomnost nukleových kyselin cizího původu, a je přímým imunosenzorem pro cyklické dinukleotidy (Burdette et al. 2011; Huang et al. 2012; Shang et al. 2012; Sun et al. 2009). Hraje esenciální roli v časně odpovědi vrozené imunity na přítomnost patogenů. Jakmile dojde k detekci cyklického dinukleotidu či k aktivaci proteinu STING buněčným senzorem, STING aktivuje TANK vazebnou kinázu (TBK1) a transkripční faktor IRF3 (IFN-regulační faktor 3), což vede k produkci cytokinů, konkrétně jsou produkovány interferony typu I (IFN-I) (Burdette et al. 2011). IFN-I jsou nedílnou součástí odpovědi imunitního systému, neboť aktivují řadu jeho dalších složek. Nepostradatelnou roli hrají i v boji imunitního systému s virovou infekcí (Sun et al. 2009). Signalizační dráhy rozpoznání nukleových kyselin a cyklických dinukleotidů jsou odděleny, obě dráhy pouze sdílí STING jako společnou signální molekulu. Důvodem může být evoluce buněčné signalizace. STING byl totiž pravděpodobně původně přímý senzor cyklických dinukleotidů, a až poté získal schopnost odpovídat na detekci nukleových kyselin jinými senzorickými proteiny (Burdette et al. 2011). Nicméně je již zcela jisté, že STING stojí v první linii obrany, neboť tím, že zprostředkovává signalizaci vrozené imunity v raných fázích infekce chrání buňku, potažmo celý organismus, před řadou patogenů.

1.5 Vazba cyklických nukleotidů na protein STING

1.5.1 Vazba c-di-GMP na protein STING

Cyklické dinukleotidy jsou bakteriální sekundární poslové a jsou významné v mnoha fyziologických procesech bakterií (shrnuto v: Jenal a Malone 2006). Na C-terminální doméně proteinu STING (aa 140-379) se nalézá vazebné místo cyklického bis-(3'-5')-dimerického guanosinmonofosfátu (c-di-GMP). c-di-GMP se váže do spodní části styčné plochy dimeru proteinu, která připomíná tvar "V", c-di-GMP rovněž zaujímá obdobný tvar (obrázek 1.3) (Huang et al. 2012; Shu et al. 2012). Vazba c-di-GMP na protein nijak významně neovlivňuje jeho celkovou konformaci, dochází pouze k rotaci jednoho monomeru proteinu STING o 20° nad vazbu c-di-GMP, což napomáhá silnější interakci mezi dvěma monomery v rámci dimeru (Huang et al. 2012).



Obrázek 1.3 Struktura lidské varianty proteinu STING v komplexu s c-di-GMP. Diagram C-terminální domény proteinu STING s navázaným c-di-GMP. Monomer A je znázorněn žlutou barvou, monomer B purpurovou barvou. Znázorněné jsou C a N terminální domény, vápenaté ionty jsou označeny šedými koulemi a c-di-GMP je vyobrazen v trubičkovém modelu jehož uhlíky jsou znázorněny modrou barvou. Převzato a přeloženo z Shang et al. 2012.

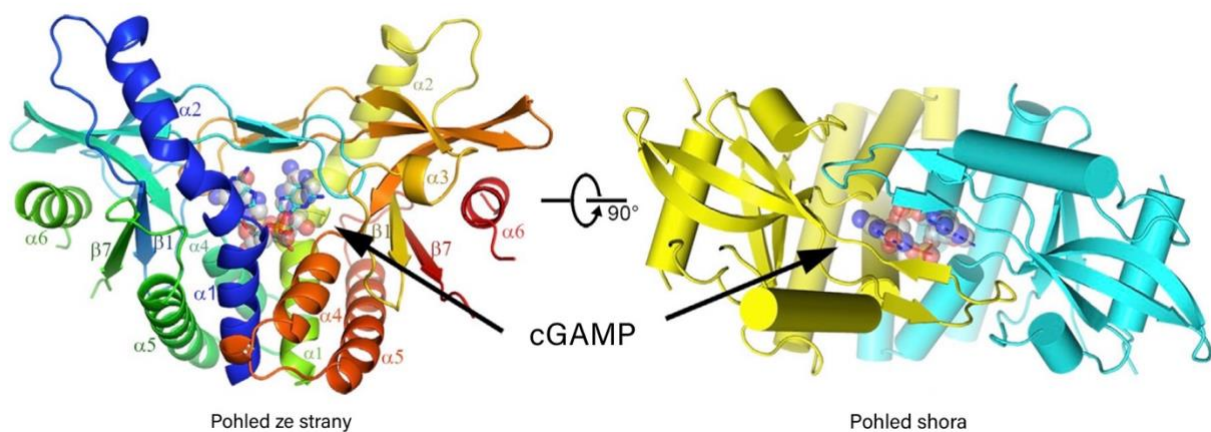
Během vazby proteinu STING na c-di-GMP se uplatňují především patrové („stacking“) interakce a vodíkové můstky. Většina vodíkových můstků je vytvářena aa 224-245, tato oblast bývá nazývána jako víčko (Huang et al. 2012). Podstatnou roli hraje Gly166, umožňuje totiž c-di-GMP, aby se přiblížil k vazebnému místu, což následně dovoluje guaninu, aby se jeho kruh a fenolový kruh Tyr167 naskládaly nad sebe, tj. vytváří

se patrová interakce. Tyr167 interaguje přes vodíkový můstek i s Glu260, což rovněž umožňuje správné umístění fenolového kruhu Tyr167 a tvorbu patrových interakcí. Pro264 napomáhá správnému umístění Tyr263 a Thr267, aby interagovaly s c-di-GMP. Právě s Tyr263 tvoří guanin c-di-GMP přímý vodíkový můstek. Guaninová báze dále tvoří vodíkové můstky, které jsou zprostředkované rozpouštědlem, s páteřní aminovou a karbonylovou skupinou Ser267, s postranním řetězcem hydroxylové skupiny Tyr163 a karbonylové skupiny Tyr261. Ser162, Thr267 a řada dalších rozpustných molekul vytváří hydrofilní polštář, který se přizpůsobí ribóze a fosfátovému kruhu c-di-GMP. (Shu et al. 2012). Jeden z kyslíků (O4 nebo O10) fosfátové skupiny c-di-GMP interaguje s hydroxylovými skupinami Ser162 a Thr267 přes vodíkové můstky. Jak Ser162, tak Thr267 jsou konzervovány v molekule proteinu STING napříč různými živočišnými druhy. Při vazbě proteinu STING na c-di-GMP se uplatňuje řada dalších interakcí. (Huang et al. 2012). Zároveň vlivem vazby c-di-GMP na protein STING dochází k uvolnění C-terminálního konce proteinu, který slouží jako autoinhibitor, neboť skrývá styčnou plochu neaktivního proteinu STING. Uvolněním C-terminální domény po vazbě c-di-GMP na protein STING je tato styčná plocha odhalena, a může dojít k vazbě jiného proteinu STING, jinými slovy je umožněna polymerizace proteinu STING, což je dalším nezbytným krokem pro jeho aktivaci (Ergun et al. 2019; Yin et al. 2012). Uvolněním C-terminální domény se protein STING váže na TBK1, aktivuje ji, a ta následně fosforyluje IRF3 (Tanaka a Chen 2012). Vazbou c-di-GMP na protein STING dochází k zaujetí uzavřenější konformace proteinu a uvolnění C-terminální domény, což nadále umožňuje tvorbu polymeru a aktivaci proteinu STING, která zprostředkovává následnou signalizaci.

1.5.2 Vazba cGAMP na protein STING

Na doménu vázající ligand proteinu STING se dále váže cyklický guanosinmonofosfát-adenosinmonofosfát (cGAMP). cGAMP je produktem cyklické GMP-AMP syntázy, jejíž funkcí v buňce je detekovat deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) v cytosolu. Molekula cGAMP je sekundární posel živočichů, v savčích buňkách obsahuje dvě fosfodiesterové vazby: první je mezi 2'-OH GMP a 5'-fosfátem AMP, druhá je mezi 3'-OH AMP a 5'-fosfátem AMP. Tato molekula byla pojmenována 2'3'-cGAMP a na protein STING se váže s daleko vyšší afinitou než ostatní izomery, které mají fosfodiesterové vazby na jiných místech (2'2'-cGAMP; 3'2'-cGAMP; 3'3'-cGAMP). Vazba cGAMP na protein STING rovněž doprovází jeho konformační změny, které mohou být základem pro aktivaci proteinu. Dochází

k rotacím dvou monomerů v dimeru, čímž vzniká uzavřenější uspořádání. Vzniká hlubší kapsa, která cGAMP obejmě. cGAMP vazebné místo je přiklopeno víčkem, které je tvořeno čtyřřetězcovými antiparalelními β -listy a spojovacími smyčkami, ty jsou tvořeny aa 219-249 z obou monomerů (viz obrázek 1.4). Zejména pak aminokyseliny z β -listu (Arg232, Arg238 a Val239) hrají důležitou roli nejen ve vazbě cGAMP, ale i ve tvorbě víčka a v regulaci aktivace proteinu STING. Důvodem vyšší afinity cGAMP k proteinu STING je řada rozsáhlých interakcí. Glu260, Thr263 a Val239 interagují s guaninovou bází GMP. Ser162 interaguje s volnou 3'-OH skupinou GMP, což dokládá, proč je ligand s fosfodiesterovou vazbou mezi 2'-OH skupinou GMP a 5'-fosfátem AMP tak afinitní. Ač se 2'3'-cGAMP váže na protein STING daleko snáze ve srovnání s ostatními izomery cGAMP, všechny čtyři izomery jsou schopny aktivovat protein STING, čímž dojde k indukci exprese interferonů β (IFN β). 2'3'-cGAMP se pravděpodobně vyskytuje i v nižších organismech, což by mohlo být příčinou vysoce afinitní vazby k proteinu STING (Zhang et al. 2013). Vazba cGAMP na protein STING doprovází uvolnění C-terminální domény proteinu, čímž umožňuje tvorbu polymeru, stejně jako tomu je v případě vazby c-di-GMP na protein STING (Ergun et al. 2019). Aktivaci proteinu STING předchází vazba cGAMP, kterou doprovází konformační změny proteinu, které vyvolávají ještě uzavřenější konformaci, než jakou vyvolala vazba c-di-GMP.



Obrázek 1.4 Struktura proteinu STING s navázaným cGAMP. Znázorněna je molekula 2'3'-cGAMP navázaná na C terminální doménu proteinu STING. Vyobrazeny jsou dva pohledy na strukturu. Převzato a přeloženo z Zhang et al. 2013.

1.5.3 Vazba c-di-AMP na protein STING

Další molekulou, která je schopna vázat se na protein STING, indukovat jeho konformační změny a tím jej aktivovat, je cyklický bis-(3'-5')-adenosinmonofosfát (c-di-AMP). Váže se do stejné vazebné kapsy jako c-di-GMP, tedy na C-terminální doménu tvořenou aa 140-379. Vazbou rovněž vyvolá uzavření dimerického proteinu STING, nicméně změna konformace proteinu se více podobá navázanému cGAMP. Rozdíl ve vazbě c-di-AMP na protein STING oproti vazbě c-di-GMP na molekulu STING spočívá na druhé pozici uhlíku v adeninu, kde není navázána žádná další skupina atomů (v guaninu je zde navázán dusík). Tím dochází ke ztrátě interakce s Glu260, čímž je afinita c-di-AMP na STING snížena. Nicméně jelikož je adenin také purinová báze, vytváří s Tyr167 proteinu STING patrové interakce (Yin et al. 2012). Molekula c-di-AMP se dokáže navázat na protein STING a tím jej aktivovat, leč k vazbě dochází vlivem jeho nižší afinity k proteinu až při vysokých koncentracích c-di-AMP v buňce.

Na protein STING se žádný jiný cyklický nukleotid, který by vyvolal aktivaci proteinu STING, neváže. Důvodem jsou tři strukturní rysy, které musí ligand splňovat, aby se do vazebného místa proteinu STING mohl navázat: musí se jednat o cyklický nukleotid, musí se jednat o purin, aby bylo možné vytvořit patrovou interakci s Tyr167. Guanin má výhodu nad adeninem vlivem přítomnosti dusíku na druhé pozici, což umožňuje interakci s Glu260 (Yin et al. 2012). Proto se na protein STING vážou c-di-GMP, cGAMP a c-di-AMP.

1.5.4 Formace polymeru proteinu STING

Navázáním cyklických nukleotidů na protein STING dochází k řadě konformačních změn proteinu a k jeho následné aktivaci. Dimery proteinů STING formují lineární polymer, kdy řada volných C-terminálních konců vytváří lešení pro dimerizaci a aktivaci transkripčního faktoru IRF3, což je dalším krokem signalizace. Mezi proteinem STING bez navázaného cGAMP a proteinem STING v komplexu s cGAMP je výraznější strukturní rozdíl, kvůli čemuž nemohou vzájemně interagovat a dále předávat signál. Je-li tedy na protein STING navázán cGAMP, dochází k tvorbě polymeru pouze s dalším proteinem STING, který je v komplexu s cGAMP. Oproti tomu protein STING s navázanou molekulou c-di-GMP může polymerizovat s proteinem STING bez navázaného ligandu, což následně zvyšuje afinitu proteinu STING k c-di-GMP. Oproti tomu protein STING s navázaným cGAMP nemůže

tvořit polymer s proteinem STING v komplexu s c-di-GMP. Důvodem je odlišný úhel mezi těmito dvěma dimery. Molekula c-di-GMP se tedy pravděpodobně může chovat jako kompetitivní inhibitor cGAMP signalizace (Ergun et al. 2019).

Kapitola 2

Role proteinu STING v buněčné signalizaci

2.1 Role proteinu STING ve vrozené imunitě

Většina mnohobuněčných organismů si v průběhu své existence vyvinula několik obranných mechanismů proti škále nejrůznějších patogenů. Typickým příkladem formy hostitelovy obrany je vrozená imunita. Dokáže rozpoznat přítomnost řady patogenů pomocí tzv. receptorů rozpoznávajících vzory (z angl. pattern recognition receptors, PRRs), které detekují konzervované molekuly a molekulární motivy asociované s výskytem patogenů (z angl. pathogen associated molecular patterns, PAMPs), ale které může hostitel snadno rozpoznat. PRRs následně aktivují signalizační dráhy, jejichž úkolem je regulovat expresi řady genů vrozené imunity (shrnuto z: Medzhitov a Janeway 2000).

Příkladem PRR jsou Toll-like receptory (TLRs), které rozpoznávají řadu PAMPs. Existují však TLRs, které specificky rozpoznávají nukleové kyseliny (např. TLR3, TLR7, TLR8, TLR9). Nachází se zejména v endosomálních kompartmentech, kde je snižená šance, že detekují DNA hostitele. Po detekci nukleové kyseliny vyvolávají odpověď v podobě produkce cytokinů, jejichž součástí jsou prozánětlivé molekuly, které jsou produkovány převážně makrofágy a myeloidními dendritickými buňkami, a interferony prvního typu (IFN-I), které jsou ve velkém množství produkovány plasmacytoidními dendritickými buňkami (shrnuto z: Blasius a Beutler 2010). Mezi PRR může být řazen i protein STING, který detekuje přítomnost bakterie v buňce tím, že váže její sekundární posly, c-di-GMP a c-di-AMP. Vazbou těchto cyklických dinukleotidů, které je možno definovat jako PAMPs, je aktivován a spouští signalizační kaskádu, která vede k produkci interferonů a dalších cytokinů.

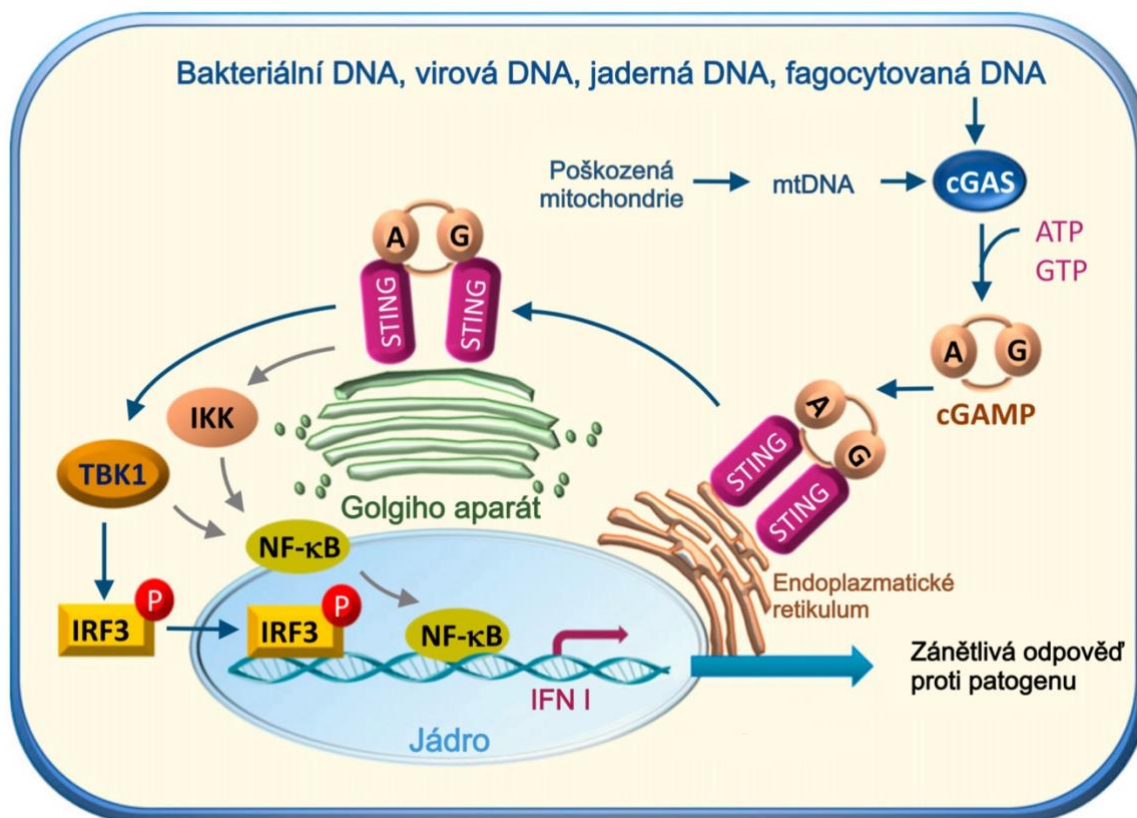
2.2 Signální dráha cGAS-STING

Detekce cyklických dinukleotidů však není jediná funkce proteinu STING. Účastní se totiž unikátní signalizační kaskády, kterou je dráha cGAS-STING. Cyklická GMP-AMP syntáza (cGAS) je označení pro protein, který je přítomen v cytoplazmě a v jádře (Liu et al. 2018).

Mezi jeho funkce patří rozpoznání a vazba DNA (Bai a Liu 2019), buněčná senescence (Kerur et al. 2018) a další. Přítomnost DNA v cytoplasmě značí buď infekci patogeny, jakými jsou bakterie či viry, nebo hostitelskou DNA pocházející z jádra či mitochondrie, což poukazuje na poškození buňky. Protein cGAS rozpoznává řadu dvojřetězcových DNA (dsDNA), mezi něž patří DNA bohatá na AT páry (poly(dA:dT)), CG páry (poly(dG:dC)) a DNA simulující expresi interferonů (ISD).

Vazba dsDNA na cGAS vyvolá konformační změny proteinu, jeho oligomerizaci a následnou aktivaci. Aktivovaný protein syntetizuje cGAMP z adenosintrifosfátu (ATP) a guanosintrifosfátu (GTP). cGAS nejprve katalyzuje tvorbu intermediátu, kdy je mezi GTP a ATP vytvořena 2'5'-fosfodiesterová vazba a následně dojde k syntéze 2'3'-cGAMP (Gao et al. 2013; Li et al. 2013). cGAMP je sekundární posel, který se váže na protein STING, čímž dojde k aktivaci proteinu a produkci IFN-I a dalších cytokinů (Wu et al. 2013). Molekuly cGAS jsou tedy cytosolickými senzory dsDNA, které po vazbě DNA katalyzují produkci molekul cGAMP, které dále aktivují protein STING (obrázek 2.1). cGAS je nedílnou součástí signálních drah vrozené imunity pro detekci patogenní DNA.

Za určitých patofyziologických podmínek však může dojít k uvolnění vlastní DNA hostitele do cytoplasmy. K tomuto nežádoucímu jevu dochází například při mitochondriálním stresu, nestabilitě nebo poškození DNA, prasknutím mikrojader aj. Uvolněná DNA, mitochondriální i jaderná, rovněž aktivuje cGAS-STING signální kaskádu a vede k zánětlivé reakci. cGAS totiž rozpozná jakoukoli dsDNA, která se vyskytuje v cytoplasmě, neohledě na její sekvenci (shrnutí z: Bai a Liu 2019).



Obrázek 2.1 Schematické vyobrazení cGAS-cGAMP-STING signální dráhy. Protein cGAS je aktivován dsDNA, načež produkuje cGAMP, který se váže na protein STING. Ten je vazbou aktivován a translokuje do Golgiho aparátu, kde se na něj váže TBK1 a IRF3, IRF3 je fosforylován a translokuje do jádra, kde iniciuje transkripci interferonových genů (převzato a přeloženo z Bai a Liu 2019).

2.2.1 Transport proteinu STING z ER do GA

Po detekci přítomnosti patogenu v buňce buď přímou vazbou bakteriálních sekundárních posílů c-di-GMP a c-di-AMP, nebo vazbou cGAMP, produktu proteinu cGAS, na protein STING jsou umožněny další části signální kaskády, které vedou k produkci cytokinů. Po stimulaci cyklickými dinukleotidy translokuje protein STING z ER do Golgiho aparátu (GA) (Mukai et al. 2016). K translokaci potřebuje sestavení translokačního komplexu, který tvoří dva proteiny: translokonově asociovaný protein β (z angl. translocon associated protein β , TRAP β) a inaktivní rhomboid protein 2 (iRhom2) (Luo et al. 2016). TRAP β je součástí TRAP komplexu, který zprostředkovává sekreci hormonů a jiných látek z ER (Hartmann et al. 1993; Jaskolowski et al. 2023). Protein TRAP β asociuje s proteinem STING (Ishikawa a Barber 2008). Protein iRhom2 napomáhá vazbě TRAP β na protein STING, tento komplex stabilizuje a následně umožňuje transport proteinu STING do perinukleárních oblastí. iRhom2 funguje i jako adaptorový protein, kdy umožňuje rekrutování eukaryotického translačního iniciačního faktoru (eIF3S5), který má

deubiquitinázovou aktivitu. Deubiquitináza eIF3S5 zabraňuje degradaci proteinu STING proteasomovou drahou a tím podporuje jeho signalizaci. Deubiquitinace proteinu STING probíhá především v raných fázích infekce (Luo et al. 2016). Protein STING je tedy dopraven z ER do GA díky translokačnímu komplexu, podstatnou roli zde hraje protein iRhom2, který zároveň zabraňuje degradaci proteinu STING.

2.2.2. Interakce TBK1 a IRF3 s proteinem STING

V GA se odehrává nejzásadnější část signalizace proteinu STING. V pozdních kompartmentech GA, které zahrnují i trans-golgi-network (TGN) dochází k palmitoylaci proteinu STING, která je nedílnou součástí aktivace tohoto proteinu a je vyžadována pro odpověď imunitního systému pomocí IFN-I. Palmitoylace umožňuje, aby protein STING tvořil klastry v lipidových raftech TGN (lipidové rafty TGN jsou speciální membránové domény obohacené o sfingomyelin a cholesterol), což napomáhá přiblížení TBK1 a IRF3 blíže k sobě. Právě v GA dochází k aktivaci TBK1 a IRF3 (Mukai et al. 2016). TBK1 je serin/threonin kináza a hraje významnou roli v řadě buněčných procesů, mezi něž patří signální dráhy vrozené imunity, ale i v patologických procesech jako je nekontrolovatelná buněčná proliferace vedoucí k nádorové transformaci (shrnuto z: Helgason et al. 2013). IRF3 je transkripční faktor, který zprostředkovává antivirovou odpověď vrozeného imunitního systému na přítomnost viru v buňce (Collins et al. 2004). Přímo na protein STING se váže TBK1, konkrétně se váže z vrchu cytosolické domény vázající ligand, transembránová doména se interakce s TBK1 pravděpodobně neúčastní. TBK1-vazebný motiv tvoří aa 369-377, vazba je mezi těmito dvěma molekulami flexibilní (Zhang et al. 2019).

TBK1 se na protein STING váže za účelem fosforylace tohoto proteinu. TBK1 fosforyluje protein na Ser366, který se nachází v konsenzus motivu cLxIS (c značí nabitý zbytek, x je označení pro jakýkoli zbytek). Fosforylovaný protein STING rekrutuje IRF3, který je také fosforylován TBK1. Fosforylovaný IRF3 je aktivovaný, odpojuje se od komplexu a tvoří dimer. Následně translokuje do jádra, kde aktivuje transkripci genů, které kódují INF-I a prozánětlivé cytokiny (Liu et al. 2015). Protein STING rekrutuje i cytosolickou kinázu inhibující jaderný faktor κ B (IKK), která aktivuje transkripční jaderný faktor κ lehkého řetězce aktivovaných B buněk (NF- κ B). NF- κ B translokuje do jádra, kde spolu s IRF3 indukují transkripci interferonových genů a cytokinů (Wu et al.

2013). Protein STING je po signalizaci následně degradován v lysosomu (Gonugunta et al. 2017). Interakce kináz TBK1 a IKK a transkripčních faktorů IRF3 a NF- κ B s proteinem STING je pro aktivaci imunitní odpovědi nezbytná.

2.3 Role proteinu STING v autofágii

Autofágie je důležitým buněčným procesem, při němž dochází k degradaci materiálu uvnitř buňky organelou zvanou autofagosóm. Buňka se takto zbavuje nepotřebného materiálu. Jedná se například o poškozené mitochondrie, proteinové agregáty, nebezpečný odpad, patogeny, nadbytečné ribozomy aj. Dojde-li k hladovění, buňka získává díky autofágii potřebnou energii pro procesy nezbytné pro život. Autofágie je v běžných případech velmi benefitní, avšak při poškození kontrolních systémů tohoto „sebe pojídání“ dochází k rozvoji řady chorob, konkrétněji vede k rozvoji neurodegenerativních onemocnění (např. Alzheimerovy choroby), infekcím či několika typů rakovin (shrnuto v: Hurley a Young 2017).

Protein STING aktivuje jednu z řady drah vedoucí k autofágii. Poté co je aktivován cGAMP, translokuje STING do perinukleární oblasti do přechodného kompartmentu mezi ER a GA (z angl. ER-Golgi intermediate compartment, ERGIC) a odtud translokuje do GA. Právě v ERGIC dochází k autofágii indukované proteinem STING, neboť ERGIC obsahující protein STING slouží jako zdroj membrán pro lipidaci lehkého řetězce 3 proteinu 1A/1B asociovaného s mikrotubuly (z angl. microtubule-associated protein 1A/1B light-chain 3, LC3) (Gui et al. 2019). Součástí tvorby autofagosómu je přímá interakce proteinu STING s proteinem 2 obsahujícím WD opakující doménu (z angl. WD repeat protein interacting with phosphoinositides 2, WIPI2). Tato interakce umožňuje proteinu WIPI2 zacílit váčky obsahující protein STING, aby došlo k lipidaci LC3 (Wan et al. 2023). STING přímo interaguje i s LC3 díky LC3-vazebným oblastem (z angl. LC3-interacting region, LIR) (Liu et al. 2019). Tímto klíčovým krokem je započata tvorba autofagosómu, která je pro ukončení signalizace proteinu STING a odstranění cytosolické DNA nezbytná. Protein STING je dopraven přes autofagosom do endosomu a nakonec do lysosomu, kde je degradován. (Gui et al. 2019; Wan et al. 2023). Protein STING je aktivován cyklickými dinukleotidy, interaguje s TBK1 a IRF3, což spouští produkci cytokinů a interferonů, a poté protein translokuje do ERGIC, kde interaguje s proteiny WIPI2 a LC3, což zahajuje tvorbu

autofagosómu a ukončuje signalizaci proteinu STING. Protein STING je nakonec degradován v lysosomu.

Kapitola 3

Role proteinu STING při virové infekci

3.1 Viry s DNA genomy

Řada virů, jejichž genom tvoří DNA musí být nejprve dopraveny do jádra buňky, kde probíhá jejich replikace. K transportu do buněčného jádra využívají buď jaderné lokalizační signály, nebo se vážou přímo na jaderný pór, nebo mohou čekat v cytosolu na rozpad jaderné membrány při buněčném dělení (Liu 2014). Jakmile se virová DNA nechráněná virovou kapsidou ocitá v cytoplasmě, může být rozpoznána proteinem cGAS, který spouští produkci cGAMP, jenž aktivuje protein STING a dochází k iniciaci aktivace antivirových genů. Tímto je virové replikaci zabráněno. Aby se virus skryl před detekcí a mohl se replikovat, využívá proteinů, které cílí na buněčné proteiny, které spouští odpověď imunitního systému, a různými mechanismy je inhibují. Cílem řady virových proteinů inhibujících antivirovou odpověď je právě protein STING.

3.1.1 Herpesviry

3.1.1.1 Lidský cytomegalovirus

Lidský cytomegalovirus (HCMV) je obalený virus s lineárním dsDNA genomem, který je řazen do čeledi *Herpesviridae*, podčeledi *Betaherpesvirinae*. Efektivně infikuje většinu lidské populace. Za běžných okolností navozuje latentní infekci, tedy zůstává v buňce, aniž by se množil. V této fázi nevyvolává žádné onemocnění. U imunokompromitovaných osob (osoby s imunodeficientním onemocněním nebo po orgánové transplantaci) hrozí reaktivace infekce, která může být smrtelná (shrnuto v: Landolfo et al. 2003). Mezi virovým obalem a kapsidou se u virů z čeledi *Herpesviridae* nachází vrstva zvaná tegument, která obsahuje především transkripční faktory a jiné proteiny, které pomáhají v rozvoji časné fáze infekce. Proteiny v tegumentu zajišťují iniciaci virové infekce, stabilitu virové částice a její složení (Jones a Lee 2004; Lorz et al. 2006; Munger et al. 2006; Penkert a Kalejta 2010; Silva et al. 2003).

3.1.1.1.1 Protein pp71

Mezi proteiny tegumentu patří i fosfoprotein 71 (pp71, produkt genu UL82), který je pro virovou replikaci nezbytný. Ihned po vstupu viru do buňky je dopraven do jádra (Hensel et al. 1996), kde se váže na domény buněčných proteinů asociovaných se smrtí (z angl. Death associated protein, Daxx) a na retinoblastomový protein (pRb) a zprostředkovává jejich degradaci (Hofmann et al. 2002; Ishov et al. 2002; Kalejta a Shenk 2003a, 2003b; Saffert a Kalejta 2006) což napomáhá expresi bezprostředně časných (immediate early, IE) a časných (early, E) genů (Bresnahan a Shenk 2000; Cantrell a Bresnahan 2005). Proteiny Daxx i pRb slouží jako inhibitory transkripce (Stiegler et al. 1998; Yang et al. 1997), proto jsou cílem degradace proteinu pp71. V pozdních fázích infekce se účastní skládání kapsidy a následně pomáhá jejímu transportu přes jadernou membránu (Hensel et al. 1996).

Protein pp71 cílí i na protein STING, aby zabránil expresi interferonových genů. Střední část proteinu pp71 (aa 194-372) interaguje přímo s C-terminální doménou proteinu STING (aa 151-379). Protein pp71 tak zabraňuje tvorbě translokačního komplexu STING-iRhom2-TRAP β , což znemožňuje dopravu proteinu STING do perinukleárních oblastí. Zároveň je přímou interakcí proteinu pp71 s proteinem STING zabráněno vazbě TBK1 na protein STING, tedy nedochází k fosforylaci proteinu STING, proto nemůže rekrutovat IRF3 (Fu et al. 2017). Tímto je efektivně zabráněno transkripci interferonových genů a HCMV se tak elegantně vyhýbá odpovědi imunitního systému.

Avšak interakci virového proteinu pp71 s proteinem STING lze zabránit kovalentním připojením oxidu dusnatého na redukovanou síru cysteinu, tzv. S-nitrosylací (Stamler et al. 1992). Tato posttranslační modifikace má obecně vliv na stabilitu proteinu, jeho lokalizaci a celkovou funkci, tedy ovlivňuje i protein-proteinové interakce (shrnuto v: Gould et al. 2013). S-nitrosylace dokáže inhibovat funkce pp71. Nitrosylován je Cys228 proteinu pp71, čímž je limitován jeho inhibiční vliv, který na protein STING má (Nukui et al. 2020). Pokud je pp71 S-nitrosylován, pak dochází k iniciaci produkce interferonů vyvolané proteinem STING. S-nitrosylace je tedy reakce buňky na inhibici proteinu STING virovým proteinem pp71.

3.1.1.2 Herpes simplex virus 1

Herpes simplex virus 1 (HSV-1) patří do čeledi *Herpesviridae* a podčeledi *Alphaherpesvirinae*. Jedná se o obalený virus, jehož genom tvoří lineární dsDNA. Tento virus se přenáší slinami a je původcem oparů v oblasti hlavy a krku. Ve vzácných případech může způsobit i meningitidu nebo herpetickou encefalitidu. Dokážou navodit latentní infekci, následně se reaktivovat a v oblasti počáteční infekce způsobit léze. HSV-1 je velmi rozšířený napříč lidskou populací a jejich primární infekce jsou bezpříznakové, reaktivují se hlavně během imunodeficience či při napadení jiným patogenem.

3.1.1.2.1 Protein ICP27

HSV-1 skrývá mezi svými zbraněmi před imunitním systémem protein infikované buňky 27 (z angl. infected cell protein 27, ICP27)., jenž patří do skupiny IE proteinů. Mezi jeho kompetence spadá regulace transkripce pozdních genů či export virové mRNA z jádra (Liu 2014; Rice a Knipe 1990). Jedná se o jaderný protein (Mears a Rice 1998), vstup do jádra je zprostředkovaný importinem β (Koffa et al. 2001). Obsahuje několik jaderných lokalizačních signálů, např. v oblasti aa 110-137 nebo na C-terminální doméně v oblasti aa 140-512 (Mears et al. 1995). Protein ICP27 se váže na Aly/REF protein, což je exportní faktor, který váže mRNA a napomáhá jejímu exportu z jádra do cytoplasmy (shrnuto v: Zhao et al. 2024). Protein ICP27 se na RNA-rozpoznávací motiv (RRM) Aly/REF váže třemi aa: W105, R107 a L108 (Tian et al. 2013). Aly/REF následně funguje jako adaptorový protein a navádí virový protein ICP27 s navázanou virovou mRNA k jadernému exportnímu receptoru TAP/NFX1 (jaderný exportní faktor pro RNA 1). Tato interakce zvyšuje efektivitu exportu virových mRNA z jádra do cytoplasmy hostitelské buňky (Tian et al. 2013). Protein ICP27 napomáhá exportu virové mRNA z jádra interakcemi s buněčnými komponentami a usnadňuje tak virovou replikaci.

Virový protein ICP27 se s navázanou virovou mRNA ocitá v cytoplasmě. Virová mRNA je translatována do virových proteinů, zatímco ICP27 zabraňuje expresi interferonových genů. Dokáže se vázat na komplex proteinu STING s TBK1, a tím zabraňuje rekrutování IRF3. IRF3 tedy nemůže být fosforylován, nedojde tak k jeho aktivaci a tím je produkce interferonů inhibována. Protein ICP27 je v rámci celého rodu

herpes simplex konzervován, a předpokládá se tedy, že i u ostatních virů z tohoto rodu/této podčeledi je schopen inhibovat produkci interferonů (Christensen et al. 2016; Ponnuraj et al. 2019).

3.1.1.2.2 Produkt genu $\gamma_1 34.5$

Gen $\gamma_1 34.5$ se v genomu HSV-1 nachází v oblasti invertovaných repetit a během pozdní fáze infekce je jeho produkt detekován v jádře i cytoplasmě (Ackermann et al. 1986). Mezi jeho hlavní funkce patří inhibice autofágie, kdy tvoří komplex s protein fosfatázou 1 α (PP1) a defosforyluje α podjednotku iniciačního translačního faktoru eukaryot 2 (eIF-2 α). Faktor eIF-2 α následně nedokáže zastavit translaci, což umožňuje efektivní virovou replikaci (He et al. 1997). Další podstatnou rolí produktu genu $\gamma_1 34.5$ je inhibice produkce interferonů. Svou N-koncovou doménou se váže na protein STING, a tím zabraňuje jeho translokaci z ER do GA. Protein STING není schopen vázat TBK1 a zprostředkovat fosforylaci IRF3 kinázy (Pan et al. 2018). Další studie nicméně poukazují, že produkt genu $\gamma_1 34.5$ cílí i na TBK1, aby zabránil fosforylaci IRF3 (Verpooten et al. 2009). Produkt genu $\gamma_1 34.5$ má tedy v hostitelské buňce řadu funkcí, které viru usnadňují replikaci.

3.1.2 Papilomaviry

Lidské papilomaviry (HPV) patří do čeledi neobalených virů s genomem tvořeným dvouřetězcovou cirkulární molekulou DNA. Vlivem drobných zranění napadají kmenové buňky epitelu a sliznice a jsou původci benigních lézí v případě tzv. low-risk HPV (LR-HPV), např. HPV 6 a 11, v případě infekce tzv. high-risk HPV (HR-HPV) může dojít k rozvoji maligního onemocnění, jakým je např. karcinom děložního čípku. Mezi HR-HPV patří nejvíce prostudované HPV 16 a 18. Papilomaviry ovlivňují buněčný cyklus a buněčnou diferenciaci, jelikož k jejich replikaci dochází právě během diferenciaci.

3.1.2.1 Protein E2

Jedná se o konzervovaný protein napříč celou čeledí papilomavirů. Skládá se z C-terminální DNA-vazebné domény a N-terminální transaktivační domény (shrnuto v: Hegde 2002). Je exprimován v raných fázích infekce, patří tedy mezi časné proteiny (Ustav a Stenlund 1991). V buňce zastává řadu rolí – reguluje expresi virových genů (Cripe

et al. 1987; Steger a Corbach 1997), zajišťuje integraci virového genomu do genomu hostitelské buňky, resp. do mitotických chromosomů (Oliveira et al. 2006), ovlivňuje diferenciaci keratinocytů přímou interakcí s promotorem integrinu $\beta 4$ (Oldak et al. 2004, 2010) a podpořit rozvoj karcinomu (Mole et al. 2009).

Virový protein E2 dále dokáže regulovat signální dráhy vrozené imunity. U keratinocytů exprimujících protein E2 viru HSV-16 nebo HSV-18 dochází k potlačení exprese proteinu STING a inhibici produkce IFN- κ . Pro tuto regulaci genů proteinu STING a IFN- κ byla nezbytná N-terminální transaktivační doména proteinu E2 (Sunthamala et al. 2014), nicméně přesný mechanismus zatím není zcela objasněn. IFN- κ je další typ interferonů, který je exprimován v keratinocytech v závislosti na virové infekci (LaFleur et al. 2001). Protein E2 papilomavirů zastává tedy celou škálu funkcí, včetně regulace odpovědi imunitního systému.

3.1.2.2 Protein E5

Protein E5 je dalším zástupcem časných proteinů HPV, jehož funkce ve virové replikaci však není doposud detailně charakterizována, protein E5 dokáže narušit funkci imunoproteasomu (Miyachi et al. 2023). Imunoproteasom je typ aktivovaného proteasomu, který vystavuje antigenní peptidy na molekulu hlavního histokompatibilního komplexu I (major histocompatibility complex I, MHC-I) (shrnuto v : Kloetzel 2001). Tím je snížena prezentace antigenů, a tedy dochází k potlačení imunitní odpovědi. Protein E5 se přímo váže i na protein STING, tím je snížena fosforylace IRF3 a proto je produkce interferonů významně nižší u buněk, které exprimují protein E5 (Miyachi et al. 2023). Z lidských papilomavirů kóduje protein E5 např. HPV-16 (Genther et al. 2003), který má díky tomuto proteinu dvojitou ochranu před odhalením imunitním systémem.

3.1.2.3 Protein E7 HPV-16

Inhibítorem imunitní signalizace zprostředkované proteinem STING je i protein E7 HPV-16. Virový protein E7 urychluje obrát proteinu STING tím, že se naváže na oligomerizační doménu proteinu vázajícího nukleotidy (nucleotide-binding oligomerization domain, leucine-rich repeat containing X1, NLRX1). NLRX1 slouží jako negativní regulátor vrozené imunity a v komplexu s proteinem E7 destabilizuje protein STING, dojde k zahájení

autofágie a to vede k degradaci proteinu STING (Luo et al. 2020). NLRX1 je mitochondriální protein, který hraje roli ve stresové signalizaci ER, která zahajuje autofági (Lei et al. 2016). Protein E7 tedy inhibuje signalizaci vrozené imunity unikátním způsobem, kdy zprostředkovává degradaci proteinu STING a tím inhibuje produkci interferonů.

3.1.2.4 Protein E7 HPV-18

Protein E7 HPV-18 inhibuje protein STING jedinečným mechanismem. Protein E7 inhibuje fosforylaci transkripčního faktoru NF- κ B, nikoli však IRF3. Způsob, jakým k inhibici dochází je prostý: E7 se váže na protein STING do oblasti aa 318-343, což je oblast, kam se za běžných okolností váže NF- κ B. E7 se chová jako antagonist, zamezí vazbě NF- κ B na protein STING, což zabrání fosforylaci NF- κ B a tím je zabráněno produkci interferonů. Proteiny E7 jiných typů papilomavirů se nedokáží vázat na protein STING. Zajímavá je i skutečnost, že E7 inhibuje fosforylaci NF- κ B, zatímco jiné proteiny jiných virů (např. virový interferon-regulující faktor 1 herpesviru asociovaným s Kaposiho sarkomem) inhibují fosforylaci IRF3, což je pravděpodobně způsobeno místem vazby inhibičního virového proteinu na protein STING (Lou et al. 2023).

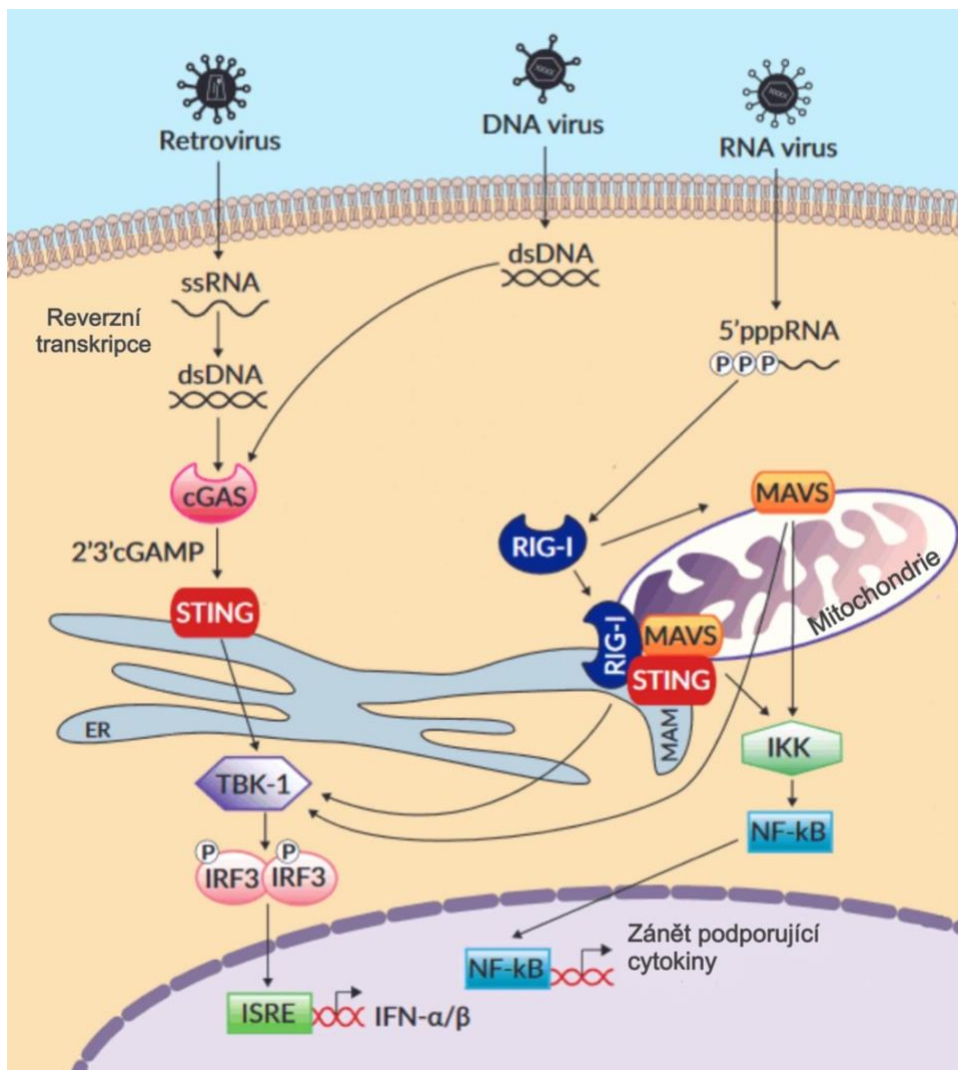
3.2 Viry s RNA genomy

Molekula ribonukleové kyseliny (RNA) v genomu virů může být ve formě jednoho vlákna nebo dvojlákna. Viry s ssRNA genomem se dále dělí na viry s negativním, nekódujícím, vláknem RNA (-ssRNA), na viry s pozitivním, kódujícím, vláknem RNA (+ssRNA) a ambisense viry (mají proteiny kódované jak v + tak i - orientaci). Výhodou +ssRNA virů je, že jejich genomová RNA slouží jako mRNA a po vstupu viru do buňky je translatována do virových proteinů. Viry s -ssRNA a viry s ambisense genomy musí nejprve zajistit transkripci genomové RNA do mRNA z kterých jsou translatovány virové proteiny. Viry s dvojřetězcovou RNA (dsRNA) v genomu transkribují mRNA v kapsidě a až syntetizovaná mRNA je transportovaná do cytosolu (Liu 2014). V životních cyklech všech těchto virů se vyskytuje dsRNA, která je pro buňku jasnou známkou infekce patogenem a okamžitě dojde k aktivaci signalizačních drah vedoucích k navození produkce interferonů a antivirového stavu buňky.

Protein STING není schopen přímo detekovat infekci RNA virem, nicméně RNA viry mohou způsobit poškození membrány mitochondrií, čímž se mitochondriální DNA (mtDNA) dostává do cytoplasmy a aktivuje cGAS-STING signální kaskádu (Aguirre et al. 2017).

Protein STING je však schopen interakce s mitochondriálním antivirovým signálním proteinem (z angl. mitochondrial antiviral-signaling protein, MAVS). Adaptorový protein MAVS (označovaný také jako Cardif, VISA (adaptor pro signalizaci indukovanou virem) nebo IPS-1) má v signální dráze, která je indukována přítomností virové RNA, obdobnou roli jako protein STING v signální dráze reagující na přítomnost virové DNA. Virová RNA se váže na receptor genu indukovatelného kyselinou retinovou 1 (retinoic acid-inducible gene 1-like receptor, RIG-1), jehož signální doména CARD tvoří homooligomery, které interagují s proteinem MAVS. MAVS je následně fosforylován kinázami TBK1 a kinázou inhibující jaderný faktor κ B (z angl. inhibitory κ B kinase, IKK), fosforylovaný MAVS rekrutuje IRF3 a NF- κ B, které jsou fosforylovány. Obě kinázy následně translokují do jádra, kde indukují transkripci interferonových genů (Liu et al. 2015). Protein STING a MAVS mohou společně interagovat a následně rekrutovat RIG-1, což umocňuje produkci interferonů díky společné signalizaci a STING se tak nepřímo účastní odpovědi imunitního systému na přítomnost RNA v cytoplasmě (viz obr. 3) (Zhong et al. 2008).

Pro viry nesoucí molekulu RNA v kapsidě není tedy „životně“ nutné, aby cílily na protein STING a inhibovaly jeho signalizaci, nicméně existují zástupci, jejichž proteiny cílí na tento protein a negativně regulují jeho funkci.



Obrázek 3 Schéma signalizačních drah cGAS-STING a RIG-I-MAVS. Signalizační kaskáda cGAS-STING je aktivována pouze, vyskytne-li se v cytoplasmě DNA. RIG-I-MAVS signalizační dráha je aktivována v přítomnosti RNA v cytoplasmě. Protein STING se rovněž může účastnit signalizace RIG-I-MAVS. Obě tyto dráhy vedou k produkci cytokinů. Převzato, upraveno a přeloženo z The RIG-I and STING alliance, 2018.

3.2.1 Flaviviry

3.2.1.1 Virus hepatitidy C

Virus hepatitidy C patří do čeledi *Flaviviridae*. Jeho genom tvoří +ssRNA, přenáší se tělními tekutinami, pohlavním stykem či z matky na potomka při porodu. Napadá zejména hepatocyty. Infekce je většinou asymptomatická, avšak pokud dojde k rozvoji chronické hepatitidy a nedojde k zahájení léčby včas, dochází k poškození jater, může dojít k rozvoji jaterní cirhózy nebo k rakovině jater. Jedná se o onemocnění vyskytující se po celém světě, nakažena jsou přibližně 2 % celosvětové lidské populace (Liu 2014).

3.2.1.1.1 Protein NS4B

Protein NS4B je v rámci čeledi *Flaviviridae* konzervovaný a zastává řadu funkcí, jako je například tvorba replikačního komplexu HCV (Egger et al. 2002), nebo sestavení virových částic po replikaci (Jones et al. 2009). Další rolí virového proteinu NS4B je inhibice produkce cytokinů. Svou N-terminální doménou se váže na protein STING, což zabraňuje interakci proteinu STING s proteinem MAVS, a tím je inhibována produkce interferonů (Nitta et al. 2013).

3.2.1.2 Virus Dengue a jeho protein NS2B3

Virus Dengue (DENV) je taktéž součástí čeledi *Flaviviridae*. Je původcem horečky dengue, a je přenášen komáry rodu *Aedes* (Liu 2014). Protein NS2B3 slouží k tomu, aby zabránil imunitnímu systému detekovat DENV. Jedná se o proteázu. Virové proteázy katalyzují štěpení virových polyproteinových prekurzorů na jednotlivé funkční proteiny, což je nezbytnou součástí virové replikace. Mimo to ale zajišťují i štěpení buněčných proteinů, jako právě proteáza NS2B3, která detekuje protein STING na základě sekvence aminokyselin a degraduje jej. STING je terčem proteázy, neboť virus Dengue poškozuje mitochondrie, čímž dochází k uvolnění mtDNA do cytoplasmy, a to vede k aktivaci cGAS-STING dráhy. (Aguirre et al. 2012). Proteáza NS2B3 viru Dengue efektivně eliminuje protein STING, a tím předchází produkci cytokinů, což zabezpečuje virovou replikaci.

3.2.2 Pikornaviry

Další skupinou virů s RNA genomem jsou pikornaviry. Pikornaviry jsou neobalené viry, jejichž genom tvoří +ssRNA. Jedná se především o viry menší velikosti (z názvu piko: jednotka velikosti 10^{-12}), avšak nemalého významu. Viry z této čeledi infikují především savce a ptáky, napadají centrální mozkový systém, kůži, horní cesty dýchací, srdce, gastrointestinální trakt či játra. Tato čelad' zahrnuje řadu virových rodů, jako například enterovirus, senecavirus, aphtovirus (virus slintavky a kulhavky), rhinovirus, hepatovirus, cardiovirus (virus encefalomyokarditidy) aj. Během infekce dochází k uvolnění mitochondriální DNA do cytoplasmy přes mitochondriální pór přechodné propustnosti (mPTP). Přítomnost mtDNA v cytoplasmě následně aktivuje cGAS-STING signální dráhu. Pikornaviry modifikují a inhibují signální dráhy imunitního systému, a tím si zajišťují svou replikaci (Liu et al. 2023).

3.2.2.1 Protein 2C

Pikornavirový protein nesoucí název 2C je konzervovaný a skrývá několik strukturních domén včetně centrální ATPázové domény. Jeho role ve virovém infekčním cyklu dosud není plně pochopena, hraje však klíčovou roli během celé virové replikace. Zajišťuje například vazbu na buněčnou membránu, vazbu RNA či únik před imunitním systémem (shrnutí v: Wang et al. 2020). Protein 2C enteroviru 71 (EV-A71), coxasckieviru A16 (CA16) a viru encefalomyokartitidy (EMCV) se váže aa Tyr a Ser na proteinu STING. Tato vazba brání proteinu STING navázat kinázu TBK1, nedochází tak ani k fosforylaci IRF3, a tedy ani k produkci interferonů. Protein 2C senecaviru je schopen zahájit odklizení proteinu cGAS autofagickou drahou (Liu et al. 2023). Pikornavirový protein 2C je tedy schopen významně inhibovat signalizaci vrozené imunity.

3.2.3 Retroviry

Retroviry jsou speciální skupinou obalených virů, jejichž genom tvoří dvě molekuly +ssRNA. Ta je po vstupu do buňky přepsána do dsDNA enzymem reverzní transkriptázou a v této podobě je integrována do genomu hostitelské buňky. Cílí zejména na proliferující buňky, jelikož po inkorporaci do jejich genomu se replikují spolu s buňkou. Do této čeledi patří také lidský virus imunitní nedostatečnosti (Human imunodeficiency virus, HIV). Virus je přenášen pohlavním stykem, do buněk se dostává díky buněčnému receptoru CD4, který je vystaven na povrchu buněk imunitního systému, jako jsou T lymfocyty, gliové buňky a monocyty. Bez léčby onemocnění po několika letech přechází do stadia, které se nazývá syndrom získané imunitní nedostatečnosti (z angl. Acquired immune deficiency syndrome, AIDS) které končí smrtí (Liu 2014). Kvůli reverzní transkripci, a tím pádem i přítomnosti virové genomové DNA, RNA a jejich hybridů vzniklých během reverzní transkripce, je potřeba, aby retroviry pozměňovaly buněčné signální dráhy, jinak by byly velice rychle odhaleny imunitním systémem.

3.2.3.1 Protein p6

Virus HIV má velmi efektivní strategie, jak se vyhnout imunitnímu systému. Součástí této strategie je i virem kódovaný protein p6, který se zdržuje u plasmatické membrány

a zajišťuje uvolnění virionů z hostitelské buňky (Göttlinger et al. 1991). Kromě toho má důležitou roli v úniku před imunitním systémem v makrofázích a CD4+ lymfocytech. Protein p6 je glutamylován na Glu6 enzymem TTL (tubulin tyrosine ligase-like protein). Tato posttranslační úprava proteinu p6 napomáhá snížit indukci interferonů. Protein p6 totiž interaguje oblastí aa 13-35 s dimerizační doménou proteinu STING (aa 155-180), čímž zabraňuje adaptorovému proteinu tvořit dimer, tak potlačuje jeho aktivaci. Zároveň N-terminální oblast (aa 1-12) proteinu p6 inhibuje ubiquitinaci proteinu STING na K337 tím, že zabraňuje interakci proteinu STING s E3 ligázou (Qian et al. 2023). Protein obsahující tripartitní motiv 32 (tripartite motif containing 32 protein, TRIM32) připojuje na K337 proteinu STING řetězce ubiquitinů vázané přes K63, takto spojený ubiquitinový řetězec není označením k degradaci, nýbrž naopak, výrazně zesiluje indukci IFN-I (Zhang et al. 2012). Jelikož proteinu STING je vlivem glutamylovaného proteinu p6 zabráněno v dimerizaci, není protein STING schopen rekrutovat TBK1, a proto nedochází k aktivaci IRF3. Protein p6 viru HIV tedy hraje roli negativního regulátoru odpovědi vrozené imunity, která je indukována přítomností dsDNA v cytoplasmě.

Glutamylylaci proteinu p6 lze zabránit použitím chloridu kobaltnatého (CoCl_2), Léčba touto látkou zabraňuje glutamylovanému proteinu p6 inhibovat produkci interferonů, zachovává dimerizaci proteinu STING, který je následně schopen vykonávat svou funkci. Tento experiment byl však proveden na buňkách pouze od třech dárců, pro širší využití tohoto léčebného postupu je tedy zapotřebí dalších studií (Qian et al. 2023).

Závěr

Adaptorový protein STING je nedílnou součástí signalizace vrozené imunity. Umožňuje přiblížení kinázy TBK1 a transkripčního faktoru IRF3 tak, aby kináza mohla fosforylovat IRF3. Fosforylovaný IRF3 se od komplexu odpojuje, vytváří dimer a translokuje do jádra, kde iniciuje transkripci interferonových genů. Interferony jsou glykoproteiny, které hrají roli v antivirové imunitní reakci. Protein STING slouží jako cíl některých virových proteinů, které inhibují jim zprostředkovanou signalizaci, a tím se viry vyhýbají imunitnímu systému.

K objevu proteinu STING došlo teprve nedávno a za tu dobu bylo o tomto adaptorovém proteinu odhaleno mnohé, avšak jsou zde oblasti, které by další bádání vyžadovaly. Výzkum by se dále mohl zabývat využitím proteinu STING v medicíně. Jeho role je nezbytná při vakcinaci, mohl by pomoci při rakovinné imunoterapii. Výsledky studie, která se zabývala využitím CoCl_2 jakožto inhibitoru replikace viru HIV vypadají velice slibně, nicméně je nutné experiment zopakovat na vícero vzorcích.

Mutace v proteinu STING vede k rozvoji vaskulopatie asociované s proteinem STING s časným nástupem (STING-associated vasculopathy with onset in infancy, SAVI), autoinflamatorního onemocnění, na které zatím neexistuje účinná terapie (shrnutí v: Wang et al., 2021). Nevhodná aktivita proteinu STING vede k rozvoji závažných chorob, proto je vhodné se tímto proteinem zabývat.

Zároveň by se výzkum mohl detailněji zabývat virovými proteiny, které inhibují proteinem STING-zprostředkovanou signalizaci, aby byly virové infekce efektivněji léčitelné. Jistě existuje ještě řada virových proteinů, které ovlivňují protein STING, došlo-li by k jejich objevení a objasnění mechanismu inhibice proteinu STING, bylo by snazší virové choroby léčit či jim předcházet antivirotiky nebo vakcinací.

Protein STING skrývá jistě veliký potenciál pro využití v medicíně a v molekulární biologii, proto je jistě vhodné pokračovat ve výzkumu tohoto adaptorového proteinu.

Seznam použité literatury

- Ackermann, M., J. Chou, M. Sarmiento, R. A. Lerner, a B. Roizman. 1986. „Identification by antibody to a synthetic peptide of a protein specified by a diploid gene located in the terminal repeats of the L component of herpes simplex virus genome". *Journal of Virology* 58(3):843–50. doi: 10.1128/jvi.58.3.843-850.1986.
- Aguirre, Sebastian, Priya Luthra, Maria T. Sanchez-Aparicio, Ana M. Maestre, Jenish Patel, Francise Lamothe, Anthony C. Fredericks, Shashank Tripathi, Tongtong Zhu, Jessica Pintado-Silva, Laurence G. Webb, Dabeiba Bernal-Rubio, Alexander Solovyov, Benjamin Greenbaum, Viviana Simon, Christopher F. Basler, Lubbertus C. F. Mulder, Adolfo García-Sastre, a Ana Fernandez-Sesma. 2017. „Dengue Virus NS2B Protein Targets cGAS for Degradation and Prevents Mitochondrial DNA Sensing during Infection". *Nature Microbiology* 2(5):1–11. doi: 10.1038/nmicrobiol.2017.37.
- Aguirre, Sebastian, Ana M. Maestre, Sarah Pagni, Jenish R. Patel, Timothy Savage, Delia Gutman, Kevin Maringer, Dabeiba Bernal-Rubio, Reed S. Shabman, Viviana Simon, Juan R. Rodriguez-Madoz, Lubbertus C. F. Mulder, Glen N. Barber, a Ana Fernandez-Sesma. 2012. „DENV Inhibits Type I IFN Production in Infected Cells by Cleaving Human STING". *PLOS Pathogens* 8(10):e1002934. doi: 10.1371/journal.ppat.1002934.
- Bai, Juli, a Feng Liu. 2019. „The cGAS-cGAMP-STING Pathway: A Molecular Link Between Immunity and Metabolism". *Diabetes* 68(6):1099–1108. doi: 10.2337/dbi18-0052.
- * Blasius, Amanda L., a Bruce Beutler. 2010. „Intracellular Toll-like Receptors". *Immunity* 32(3):305–15. doi: 10.1016/j.immuni.2010.03.012.
- Bresnahan, Wade A., a Thomas E. Shenk. 2000. „UL82 virion protein activates expression of immediate early viral genes in human cytomegalovirus-infected cells". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97(26):14506–11.
- Burdette, Dara L., Kathryn M. Monroe, Katia Sotelo-Troha, Jeff S. Iwig, Barbara Eckert, Mamoru Hyodo, Yoshihiro Hayakawa, a Russell E. Vance. 2011. „STING Is a Direct Innate Immune Sensor of Cyclic Di-GMP". *Nature* 478(7370):515–18. doi: 10.1038/nature10429.
- Cantrell, Stacy R., a Wade A. Bresnahan. 2005. „Interaction between the Human Cytomegalovirus UL82 Gene Product (Pp71) and hDaxx Regulates Immediate-Early Gene Expression and Viral Replication". *Journal of Virology* 79(12):7792–7802. doi: 10.1128/JVI.79.12.7792-7802.2005.
- Collins, Susan E., Ryan S. Noyce, a Karen L. Mossman. 2004. „Innate Cellular Response to Virus Particle Entry Requires IRF3 but Not Virus Replication". *Journal of Virology* 78(4):1706–17. doi: 10.1128/JVI.78.4.1706-1717.2004.

- Cripe, T. P., T. H. Haugen, J. P. Turk, F. Tabatabai, P. G. Schmid, M. Dürst, L. Gissmann, A. Roman, a L. P. Turek. 1987. „Transcriptional regulation of the human papillomavirus-16 E6-E7 promoter by a keratinocyte-dependent enhancer, and by viral E2 trans-activator and repressor gene products: implications for cervical carcinogenesis." *The EMBO Journal* 6(12):3745–53.
- Egger, Denise, Benno Wölk, Rainer Gosert, Leonardo Bianchi, Hubert E. Blum, Darius Moradpour, a Kurt Bienz. 2002. „Expression of Hepatitis C Virus Proteins Induces Distinct Membrane Alterations Including a Candidate Viral Replication Complex". *Journal of Virology* 76(12):5974–84. doi: 10.1128/jvi.76.12.5974-5984.2002.
- Ergun, Sabrina L., Daniel Fernandez, Thomas M. Weiss, a Lingyin Li. 2019. „STING Polymer Structure Reveals Mechanisms for Activation, Hyperactivation, and Inhibition". *Cell* 178(2):290-301.e10. doi: 10.1016/j.cell.2019.05.036.
- Fu, Yu-Zhi, Shan Su, Yi-Qun Gao, Pei-Pei Wang, Zhe-Fu Huang, Ming-Ming Hu, Wei-Wei Luo, Shu Li, Min-Hua Luo, Yan-Yi Wang, a Hong-Bing Shu. 2017. „Human Cytomegalovirus Tegument Protein UL82 Inhibits STING-Mediated Signaling to Evade Antiviral Immunity". *Cell Host & Microbe* 21(2):231–43. doi: 10.1016/j.chom.2017.01.001.
- Gao, Pu, Manuel Ascano, Yang Wu, Winfried Barchet, Barbara L. Gaffney, Thomas Zillinger, Artem A. Serganov, Yizhou Liu, Roger A. Jones, Gunther Hartmann, Thomas Tuschl, a Dinshaw J. Patel. 2013. „Cyclic [G(2',5')pA(3',5')p] Is the Metazoan Second Messenger Produced by DNA-Activated Cyclic GMP-AMP Synthase". *Cell* 153(5):1094–1107. doi: 10.1016/j.cell.2013.04.046.
- Genther, Sybil M., Stephanie Sterling, Stefan Duensing, Karl Münger, Carol Sattler, a Paul F. Lambert. 2003. „Quantitative Role of the Human Papillomavirus Type 16 E5 Gene during the Productive Stage of the Viral Life Cycle". *Journal of Virology* 77(5):2832–42. doi: 10.1128/jvi.77.5.2832-2842.2003.
- Gonugunta, Vijay K., Tomomi Sakai, Vladislav Pokatayev, Kun Yang, Jianjun Wu, Nicole Dobbs, a Nan Yan. 2017. „Trafficking-Mediated STING Degradation Requires Sorting to Acidified Endolysosomes and Can Be Targeted to Enhance Anti-Tumor Response". *Cell Reports* 21(11):3234–42. doi: 10.1016/j.celrep.2017.11.061.
- Göttlinger, H. G., T. Dorfman, J. G. Sodroski, a W. A. Haseltine. 1991. „Effect of mutations affecting the p6 gag protein on human immunodeficiency virus particle release." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88(8):3195–99. doi: 10.1073/pnas.88.8.3195.
- * Gould, Neal, Paschalis-Thomas Doulias, Margarita Tenopoulou, Karthik Raju, a Harry Ischiropoulos. 2013. „Regulation of Protein Function and Signaling by Reversible Cysteine S-Nitrosylation". *The Journal of Biological Chemistry* 288(37):26473–79. doi: 10.1074/jbc.R113.460261.

- Gui, Xiang, Hui Yang, Tuo Li, Xiaojun Tan, Peiqing Shi, Minghao Li, Fenghe Du, a Zhijian J. Chen. 2019. „Autophagy Induction via STING Trafficking Is a Primordial Function of the cGAS Pathway". *Nature* 567(7747):262–66. doi: 10.1038/s41586-019-1006-9.
- Hartmann, Enno, Dirk Görlich, Susanne Kostka, Albrecht Otto, Regine Kraft, Signe Kne-
spel, Elke Bürger, Tom A. Rapoport, a Siegfried Prehn. 1993. „A Tetrameric
Complex of Membrane Proteins in the Endoplasmic Reticulum". *European Journal
of Biochemistry* 214(2):375–81. doi: 10.1111/j.1432-1033.1993.tb17933.x.
- He, Bin, Martin Gross, a Bernard Roizman. 1997. „The γ 134.5 protein of herpes simplex
virus 1 complexes with protein phosphatase 1 α to dephosphorylate the α subunit
of the eukaryotic translation initiation factor 2 and preclude the shutoff of protein
synthesis by double-stranded RNA-activated protein kinase". *Proceedings of the
National Academy of Sciences* 94(3):843–48. doi: 10.1073/pnas.94.3.843.
- * Hegde, Rashmi S. 2002. „The Papillomavirus E2 Proteins: Structure, Function, and Bio-
logy". *Annual Review of Biophysics* 31(Volume 31, 2002):343–60. doi:
10.1146/annurev.biophys.31.100901.142129.
- * Helgason, Elizabeth, Qui T. Phung, a Erin C. Dueber. 2013. „Recent Insights into the
Complexity of Tank-Binding Kinase 1 Signaling Networks: The Emerging Role of
Cellular Localization in the Activation and Substrate Specificity of TBK1". *FEBS
Letters* 587(8):1230–37. doi: 10.1016/j.febslet.2013.01.059.
- Hensel, Gabriele M., Hemmo H. Meyer, Inga Buchmann, Diamanto Pommerehne, Susanne
Schmolke, Bodo Plachter, Klaus Radsak, a Horst F. Kern. 1996. „Intracellular
localization and expression of the human cytomegalovirus matrix
phosphoprotein pp71 (ppUL82): evidence for its translocation into the nucleus".
Journal of General Virology 77(12):3087–97. doi: 10.1099/0022-1317-77-12-
3087.
- Hofmann, Heike, Hilde Sindre, a Thomas Stamminger. 2002. „Functional Interaction
between the pp71 Protein of Human Cytomegalovirus and the PML-Interacting
Protein Human Daxx". *Journal of Virology* 76(11):5769–83. doi:
10.1128/JVI.76.11.5769-5783.2002.
- Huang, Yi-He, Xiang-Yu Liu, Xiao-Xia Du, Zheng-Fan Jiang, a Xiao-Dong Su. 2012. „The
Structural Basis for the Sensing and Binding of Cyclic Di-GMP by STING". *Nature
Structural & Molecular Biology* 19(7):728–30. doi: 10.1038/nsmb.2333.
- * Hurley, James H., a Lindsey N. Young. 2017. „Mechanisms of Autophagy Initiation". *An-
nual review of biochemistry* 86:225–44. doi: 10.1146/annurev-biochem-061516-
044820.

- Christensen, Maria H., Søren B. Jensen, Juho J. Miettinen, Stefanie Luecke, Thaneas Prabhakaran, Line S. Reinert, Thomas Mettenleiter, Zhijian J. Chen, David M. Knipe, Rozanne M. Sandri-Goldin, Lynn W. Enquist, Rune Hartmann, Trine H. Mogensen, Stephen A. Rice, Tuula A. Nyman, Sampsa Matikainen, a Søren R. Paludan. 2016. „HSV-1 ICP27 Targets the TBK1-Activated STING Signaling to Inhibit Virus-Induced Type I IFN Expression". *The EMBO Journal* 35(13):1385–99. doi: 10.15252/embj.201593458.
- * InvivoGen (2018): The RIG-I and STING Alliance, <https://www.invivogen.com/review-rig-i-and-sting-alliance> (cit. 29. 7. 2024)
- Ishikawa, Hiroki, a Glen N. Barber. 2008. „STING Is an Endoplasmic Reticulum Adaptor That Facilitates Innate Immune Signalling". *Nature* 455(7213):674–78. doi: 10.1038/nature07317.
- Ishov, Alexander M., Olga V. Vladimirova, a Gerd G. Maul. 2002. „Daxx-Mediated Accumulation of Human Cytomegalovirus Tegument Protein pp71 at ND10 Facilitates Initiation of Viral Infection at These Nuclear Domains". *Journal of Virology* 76(15):7705–12. doi: 10.1128/JVI.76.15.7705-7712.2002.
- Jaskolowski, Mateusz, Ahmad Jomaa, Martin Gamerdinger, Sandeep Shrestha, Marc Leibundgut, Elke Deuerling, a Nenad Ban. 2023. „Molecular Basis of the TRAP Complex Function in ER Protein Biogenesis". *Nature Structural & Molecular Biology* 30(6):770–77. doi: 10.1038/s41594-023-00990-0.
- * Jenal, Urs, a Jacob Malone. 2006. „Mechanisms of Cyclic-Di-GMP Signaling in Bacteria". *Annual Review of Genetics* 40(Volume 40, 2006):385–407. doi: 10.1146/annurev.genet.40.110405.090423.
- Jin, Lei, Paul M. Waterman, Karen R. Jonscher, Cindy M. Short, Nichole A. Reisdorph, a John C. Cambier. 2008. „MPYS, a Novel Membrane Tetraspanner, Is Associated with Major Histocompatibility Complex Class II and Mediates Transduction of Apoptotic Signals". *Molecular and Cellular Biology* 28(16):5014–26. doi: 10.1128/MCB.00640-08.
- Jones, Daniel M., Arvind H. Patel, Paul Targett-Adams, a John McLauchlan. 2009. „The Hepatitis C Virus NS4B Protein Can trans-Complement Viral RNA Replication and Modulates Production of Infectious Virus". *Journal of Virology* 83(5):2163–77. doi: 10.1128/jvi.01885-08.
- Jones, Thomas R., a Shi-Wu Lee. 2004. „An Acidic Cluster of Human Cytomegalovirus UL99 Tegument Protein Is Required for Trafficking and Function". *Journal of Virology* 78(3):1488–1502. doi: 10.1128/JVI.78.3.1488-1502.2004.
- Kalejta, Robert F., a Thomas Shenk. 2003a. „Proteasome-Dependent, Ubiquitin-Independent Degradation of the Rb Family of Tumor Suppressors by the Human Cytomegalovirus Pp71 Protein". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(6):3263–68. doi: 10.1073/pnas.0538058100.

- Kalejta, Robert F., a Thomas Shenk. 2003b. „The Human Cytomegalovirus UL82 Gene Product (Pp71) Accelerates Progression through the G1 Phase of the Cell Cycle". *Journal of Virology* 77(6):3451–59. doi: 10.1128/jvi.77.6.3451-3459.2003.
- Kerur, Nagaraj, Shinichi Fukuda, Daipayan Banerjee, Younghee Kim, Dongxu Fu, Ivana Apicella, Akhil Varshney, Reo Yasuma, Benjamin J. Fowler, Elmira Baghdasaryan, Kenneth M. Marion, Xiwen Huang, Tetsuhiro Yasuma, Yoshio Hirano, Vlad Serbulea, Meenakshi Ambati, Vidya L. Ambati, Yuji Kajiwara, Kameshwari Ambati, Shuichiro Hirahara, Ana Bastos-Carvalho, Yuichiro Ogura, Hiroko Terasaki, Tetsuro Oshika, Kyung Bo Kim, David R. Hinton, Norbert Leitinger, John C. Cambier, Joseph D. Buxbaum, M. Cristina Kenney, S. Michal Jazwinski, Hiroshi Nagai, Isao Hara, A. Phillip West, Katherine A. Fitzgerald, Srinivas R. Sadda, Bradley D. Gelfand, a Jayakrishna Ambati. 2018. „cGAS Drives Noncanonical-Inflammasome Activation in Age-Related Macular Degeneration". *Nature Medicine* 24(1):50–61. doi: 10.1038/nm.4450.
- * Kloetzel, Peter-M. 2001. „Antigen Processing by the Proteasome". *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2(3):179–88. doi: 10.1038/35056572.
- Koffa, Maria D., J. Barklie Clements, Elisa Izaurrealde, Sarah Wadd, Stuart A. Wilson, Iain W. Mattaj, a Scott Kuersten. 2001. „Herpes simplex virus ICP27 protein provides viral mRNAs with access to the cellular mRNA export pathway". *The EMBO Journal* 20(20):5769–78. doi: 10.1093/emboj/20.20.5769.
- LaFleur, David W., Bernardetta Nardelli, Tatiana Tsareva, Don Mather, Ping Feng, Mark Semenuk, Kara Taylor, Markus Buergin, Diana Chinchilla, Viktor Roshke, Guoxian Chen, Steven M. Ruben, Paula M. Pitha, Timothy A. Coleman, a Paul A. Moore. 2001. „Interferon- κ , a Novel Type I Interferon Expressed in Human Keratinocytes". *Journal of Biological Chemistry* 276(43):39765–71. doi: 10.1074/jbc.M102502200.
- * Landolfo, Santo, Marisa Gariglio, Giorgio Gribaudo, a David Lembo. 2003. „The human cytomegalovirus". *Pharmacology & Therapeutics* 98(3):269–97. doi: 10.1016/S0163-7258(03)00034-2.
- Lei, Yu, Benjamin A. Kansy, Jing Li, Linhai Cong, Yang Liu, Sumita Trivedi, Haitao Wen, Jenny P. Y. Ting, Hongjiao Ouyang, a Robert L. Ferris. 2016. „EGFR-targeted mAb therapy modulates autophagy in head and neck squamous cell carcinoma through NLRX1-TUFM protein complex". *Oncogene* 35(36):4698–4707. doi: 10.1038/onc.2016.11.

- Li, Jie, Stephen M. Canham, Hua Wu, Martin Henault, Lihao Chen, Guoxun Liu, Yu Chen, Gary Yu, Howard R. Miller, Viktor Hornak, Scott M. Brittain, Gregory A. Michaud, Antonin Tutter, Wendy Broom, Mary Ellen Digan, Sarah M. McWhirter, Kelsey E. Sivick, Helen T. Pham, Christine H. Chen, George S. Tria, Jeffery M. McKenna, Markus Schirle, Xiaohong Mao, Thomas B. Nicholson, Yuan Wang, Jeremy L. Jenkins, Rishi K. Jain, John A. Tallarico, Sejal J. Patel, Lianxing Zheng, Nathan T. Ross, Charles Y. Cho, Xuewu Zhang, Xiao-Chen Bai, a Yan Feng. 2024. „Activation of Human STING by a Molecular Glue-like Compound". *Nature Chemical Biology* 20(3):365–72. doi: 10.1038/s41589-023-01434-y.
- Li, Xin, Chang Shu, Guanghui Yi, Catherine T. Chaton, Catherine L. Shelton, Jiasheng Diao, Xiaobing Zuo, C. Cheng Kao, Andrew B. Herr, a Pingwei Li. 2013. „Cyclic GMP-AMP Synthase Is Activated by Double-Stranded DNA-Induced Oligomerization". *Immunity* 39(6):1019–31. doi: 10.1016/j.immuni.2013.10.019.
- Liu, Dong, Hao Wu, Chenguang Wang, Yanjun Li, Huabin Tian, Sami Siraj, Sheikh Arslan Sehgal, Xiaohui Wang, Jun Wang, Yingli Shang, Zhengfan Jiang, Lei Liu, a Quan Chen. 2019. „STING Directly Activates Autophagy to Tune the Innate Immune Response". *Cell Death & Differentiation* 26(9):1735–49. doi: 10.1038/s41418-018-0251-z.
- Liu, Haipeng, Haiping Zhang, Xiangyang Wu, Dapeng Ma, Juehui Wu, Lin Wang, Yan Jiang, Yiyang Fei, Chenggang Zhu, Rong Tan, Peter Jungblut, Gang Pei, Anca Dorhoi, Qiaoling Yan, Fan Zhang, Ruijuan Zheng, Siyu Liu, Haijiao Liang, Zhonghua Liu, Hua Yang, Jianxia Chen, Peng Wang, Tianqi Tang, Wenxia Peng, Zhangsen Hu, Zhu Xu, Xiaochen Huang, Jie Wang, Haohao Li, Yilong Zhou, Feng Liu, Dapeng Yan, Stefan H. E. Kaufmann, Chang Chen, Zhiyong Mao, a Baoxue Ge. 2018. „Nuclear cGAS Suppresses DNA Repair and Promotes Tumorigenesis". *Nature* 563(7729):131–36. doi: 10.1038/s41586-018-0629-6.
- Liu, Huisheng, Zixiang Zhu, Qiao Xue, Fan Yang, Zongqiang Li, Zhaoning Xue, Weijun Cao, Jijun He, Jianhong Guo, Xiangtao Liu, Andrew E. Shaw, Donald P. King, a Haixue Zheng. 2023. „Innate Sensing of Picornavirus Infection Involves cGAS-STING-Mediated Antiviral Responses Triggered by Mitochondrial DNA Release". *PLoS Pathogens* 19(2):e1011132. doi: 10.1371/journal.ppat.1011132.
- Liu, Lin. 2014. „Fields Virology, 6th Edition". *Clinical Infectious Diseases* 59(4):613–613. doi: 10.1093/cid/ciu346.
- Liu, Siqi, Xin Cai, Jiayi Wu, Qian Cong, Xiang Chen, Tuo Li, Fenghe Du, Junyao Ren, You-Tong Wu, Nick V. Grishin, a Zhijian J. Chen. 2015. „Phosphorylation of Innate Immune Adaptor Proteins MAVS, STING, and TRIF Induces IRF3 Activation". *Science (New York, N.Y.)* 347(6227):aaa2630. doi: 10.1126/science.aaa2630.

- Lorz, Kerstin, Heike Hofmann, Anja Berndt, Nina Tavalai, Regina Mueller, Ursula Schlötzer-Schrehardt, a Thomas Stamminger. 2006. „Deletion of Open Reading Frame UL26 from the Human Cytomegalovirus Genome Results in Reduced Viral Growth, Which Involves Impaired Stability of Viral Particles". *Journal of Virology* 80(11):5423–34. doi: 10.1128/JVI.02585-05.
- Lou, Meng, Dingbo Huang, Zhenbang Zhou, Xinyu Shi, Miaowei Wu, Yajuan Rui, Jiaming Su, Wenwen Zheng, a Xiao-Fang Yu. 2023. „DNA Virus Oncoprotein HPV18 E7 Selectively Antagonizes cGAS-STING-Triggered Innate Immune Activation". *Journal of Medical Virology* 95(1):e28310. doi: 10.1002/jmv.28310.
- Luo, Wei-Wei, Shu Li, Chen Li, Huan Lian, Qing Yang, Bo Zhong, a Hong-Bing Shu. 2016. „IRhom2 Is Essential for Innate Immunity to DNA Viruses by Mediating Trafficking and Stability of the Adaptor STING". *Nature Immunology* 17(9):1057–66. doi: 10.1038/ni.3510.
- Luo, Xiaobo, Christopher R. Donnelly, Wang Gong, Blake R. Heath, Yuning Hao, Lorenza A. Donnelly, Toktam Moghbeli, Yee Sun Tan, Xin Lin, Emily Bellile, Benjamin A. Kansy, Thomas E. Carey, J. Chad Brenner, Lei Cheng, Peter J. Polverini, Meredith A. Morgan, Haitao Wen, Mark E. Prince, Robert L. Ferris, Yuying Xie, Simon Young, Gregory T. Wolf, Qianming Chen, a Yu L. Lei. 2020. „HPV16 Drives Cancer Immune Escape via NLRX1-Mediated Degradation of STING". *The Journal of Clinical Investigation* 130(4):1635–52. doi: 10.1172/JCI129497.
- Mears, W. E., V. Lam, a S. A. Rice. 1995. „Identification of Nuclear and Nucleolar Localization Signals in the Herpes Simplex Virus Regulatory Protein ICP27." *Journal of Virology* 69(2):935. doi: 10.1128/jvi.69.2.935-947.1995.
- Mears, Wendy E., a Stephen A. Rice. 1998. „The Herpes Simplex Virus Immediate-Early Protein ICP27 Shuttles between Nucleus and Cytoplasm". *Virology* 242(1):128–37. doi: 10.1006/viro.1997.9006.
- * Medzhitov, R., a C. Janeway. 2000. „Innate Immune Recognition: Mechanisms and Pathways". *Immunological Reviews* 173:89–97. doi: 10.1034/j.1600-065x.2000.917309.x.
- Miyauchi, Sayuri, Sangwoo S. Kim, Riley N. Jones, Lin Zhang, Kripa Guram, Sonia Sharma, Stephen P. Schoenberger, Ezra E. W. Cohen, Joseph A. Califano, a Andrew B. Sharabi. 2023. „Human Papillomavirus E5 Suppresses Immunity via Inhibition of the Immunoproteasome and STING Pathway". *Cell Reports* 42(5). doi: 10.1016/j.celrep.2023.112508.
- Mole, S., M. McFarlane, T. Chuen-Im, S. G. Milligan, D. Millan, a S. V. Graham. 2009. „RNA splicing factors regulated by HPV16 during cervical tumour progression". *The Journal of pathology* 219(3):383–91. doi: 10.1002/path.2608.

- Mukai, Kojiro, Hiroyasu Konno, Tatsuya Akiba, Takefumi Uemura, Satoshi Waguri, Toshihide Kobayashi, Glen N. Barber, Hiroyuki Arai, a Tomohiko Taguchi. 2016. „Activation of STING Requires Palmitoylation at the Golgi". *Nature Communications* 7(1):11932. doi: 10.1038/ncomms11932.
- Munger, Joshua, Dong Yu, a Thomas Shenk. 2006. „UL26-Deficient Human Cytomegalovirus Produces Virions with Hypophosphorylated pp28 Tegument Protein That Is Unstable within Newly Infected Cells". *Journal of Virology* 80(7):3541–48. doi: 10.1128/JVI.80.7.3541-3548.2006.
- Nitta, Sayuri, Naoya Sakamoto, Mina Nakagawa, Sei Kakinuma, Kako Mishima, Akiko Kusano-Kitazume, Kei Kiyohashi, Miyako Murakawa, Yuki Nishimura-Sakurai, Seishin Azuma, Megumi Tasaka-Fujita, Yasuhiro Asahina, Mitsutoshi Yoneyama, Takashi Fujita, a Mamoru Watanabe. 2013. „Hepatitis C Virus NS4B Protein Targets STING and Abrogates RIG-I-Mediated Type I Interferon-Dependent Innate Immunity". *Hepatology (Baltimore, Md.)* 57(1):46–58. doi: 10.1002/hep.26017.
- Nukui, Masatoshi, Kathryn L. Roche, Jie Jia, Paul L. Fox, a Eain A. Murphy. 2020. „Protein S-Nitrosylation of Human Cytomegalovirus Pp71 Inhibits Its Ability To Limit STING Antiviral Responses". *Journal of Virology* 94(17):e00033-20. doi: 10.1128/JVI.00033-20.
- Oldak, Monika, Radoslaw B. Maksym, Tanya Sperling, Moshe Yaniv, Hans Smola, Herbert J. Pfister, Jacek Malejczyk, a Sigrun Smola. 2010. „Human Papillomavirus Type 8 E2 Protein Unravels JunB/Fra-1 as an Activator of the β 4-Integrin Gene in Human Keratinocytes". *Journal of Virology* 84(3):1376–86. doi: 10.1128/jvi.01220-09.
- Oldak, Monika, Hans Smola, Monique Aumailley, Francisco Rivero, Herbert Pfister, a Sigrun Smola-Hess. 2004. „The Human Papillomavirus Type 8 E2 Protein Suppresses β 4-Integrin Expression in Primary Human Keratinocytes". *Journal of Virology* 78(19):10738–46. doi: 10.1128/jvi.78.19.10738-10746.2004.
- Oliveira, Jaquelline G., Leremy A. Colf, a Alison A. McBride. 2006. „Variations in the association of papillomavirus E2 proteins with mitotic chromosomes". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103(4):1047–52. doi: 10.1073/pnas.0507624103.
- Ouyang, Songying, Xianqiang Song, Yaya Wang, Heng Ru, Neil Shaw, Yan Jiang, Fengfeng Niu, Yanping Zhu, Weicheng Qiu, Kislav Parvatiyar, Yang Li, Rongguang Zhang, Genhong Cheng, a Zhi-Jie Liu. 2012. „Structural Analysis of the STING Adaptor Protein Reveals a Hydrophobic Dimer Interface and Mode of Cyclic Di-GMP Binding". *Immunity* 36(6):1073–86. doi: 10.1016/j.immuni.2012.03.019.
- Pan, Shuang, Xing Liu, Yijie Ma, Youjia Cao, a Bin He. 2018. „Herpes Simplex Virus 1 Γ 134.5 Protein Inhibits STING Activation That Restricts Viral Replication". *Journal of Virology*. doi: 10.1128/jvi.01015-18.

- Penkert, Rhiannon R., a Robert F. Kalejta. 2010. „Nuclear Localization of Tegument-Delivered pp71 in Human Cytomegalovirus-Infected Cells Is Facilitated by One or More Factors Present in Terminally Differentiated Fibroblasts". *Journal of Virology* 84(19):9853–63. doi: 10.1128/JVI.00500-10.
- Ponnuraj, Nagendraprabhu, Yung-Tien Tien, Widaliz Vega-Rodriguez, Andrea Krieter, a Keith W. Jarosinski. 2019. „The Herpesviridae Conserved Multifunctional Infected-Cell Protein 27 (ICP27) Is Important but Not Required for Replication and Oncogenicity of Marek's Disease Alphaherpesvirus". *Journal of Virology* 93(4). doi: 10.1128/JVI.01903-18.
- Qian, Gui, Yihua Zhang, Yinan Liu, Manman Li, Bowen Xin, Wenyi Jiang, Wendong Han, Yu Wang, Xian Tang, Liuyan Li, Lingyan Zhu, Tao Sun, Bo Yan, Yongtang Zheng, Jianqing Xu, Baoxue Ge, Zheng Zhang, a Dapeng Yan. 2023. „Glutamylolation of an HIV-1 Protein Inhibits the Immune Response by Hijacking STING". *Cell Reports* 42(5):112442. doi: 10.1016/j.celrep.2023.112442.
- Rice, S. A., a D. M. Knipe. 1990. „Genetic Evidence for Two Distinct Transactivation Functions of the Herpes Simplex Virus Alpha Protein ICP27". *Journal of Virology* 64(4):1704–15. doi: 10.1128/JVI.64.4.1704-1715.1990.
- Saffert, Ryan T., a Robert F. Kalejta. 2006. „Inactivating a Cellular Intrinsic Immune Defense Mediated by Daxx Is the Mechanism through Which the Human Cytomegalovirus pp71 Protein Stimulates Viral Immediate-Early Gene Expression". *Journal of Virology* 80(8):3863–71. doi: 10.1128/JVI.80.8.3863-3871.2006.
- Shang, Guijun, Conggang Zhang, Zhijian J. Chen, Xiao-chen Bai, a Xuewu Zhang. 2019. „Cryo-EM Structures of STING Reveal Its Mechanism of Activation by Cyclic GMP-AMP". *Nature* 567(7748):389–93. doi: 10.1038/s41586-019-0998-5.
- Shang, Guijun, Deyu Zhu, Ning Li, Junbing Zhang, Chunyuan Zhu, Defen Lu, Cuilan Liu, Qian Yu, Yanyu Zhao, Sujuan Xu, a Lichuan Gu. 2012. „Crystal Structures of STING Protein Reveal Basis for Recognition of Cyclic Di-GMP". *Nature Structural & Molecular Biology* 19(7):725–27. doi: 10.1038/nsmb.2332.
- Shu, Chang, Guanghui Yi, Tylan Watts, C. Cheng Kao, a Pingwei Li. 2012. „Structure of STING Bound to Cyclic Di-GMP Reveals the Mechanism of Cyclic Dinucleotide Recognition by the Immune System". *Nature Structural & Molecular Biology* 19(7):722–24. doi: 10.1038/nsmb.2331.
- Silva, Maria C., Qian-Chun Yu, Lynn Enquist, a Thomas Shenk. 2003. „Human Cytomegalovirus UL99-Encoded Pp28 Is Required for the Cytoplasmic Envelopment of Tegument-Associated Capsids". *Journal of Virology* 77(19):10594–605. doi: 10.1128/jvi.77.19.10594-10605.2003.

- Stamler, J. S., D. I. Simon, J. A. Osborne, M. E. Mullins, O. Jaraki, T. Michel, D. J. Singel, a J. Loscalzo. 1992. „S-Nitrosylation of Proteins with Nitric Oxide: Synthesis and Characterization of Biologically Active Compounds". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89(1):444–48. doi: 10.1073/pnas.89.1.444.
- Steger, G., a S. Corbach. 1997. „Dose-dependent regulation of the early promoter of human papillomavirus type 18 by the viral E2 protein". *Journal of Virology* 71(1):50–58. doi: 10.1128/jvi.71.1.50-58.1997.
- Stiegler, P., A. De Luca, L. Bagella, a A. Giordano. 1998. „The COOH-Terminal Region of pRb2/P130 Binds to Histone Deacetylase 1 (HDAC1), Enhancing Transcriptional Repression of the E2F-Dependent Cyclin A Promoter". *Cancer Research* 58(22):5049–52.
- Sun, Wenxiang, Yang Li, Lu Chen, Huihui Chen, Fuping You, Xiang Zhou, Yi Zhou, Zhonghe Zhai, Danying Chen, a Zhengfan Jiang. 2009. „ERIS, an endoplasmic reticulum IFN stimulator, activates innate immune signaling through dimerization". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(21):8653–58. doi: 10.1073/pnas.0900850106.
- Sunthamala, Nuchsupha, Francoise Thierry, Sebastien Teissier, Chamsai Pientong, Bunkerd Kongyingyoes, Thumwadee Tangsiriwatthana, Ussanee Sangkomkamhang, a Tipaya Ekalaksananan. 2014. „E2 Proteins of High Risk Human Papillomaviruses Down-Modulate STING and IFN- κ Transcription in Keratinocytes". *PLoS ONE* 9(3):e91473. doi: 10.1371/journal.pone.0091473.
- Tanaka, Yasuo, a Zhijian J. Chen. 2012. „STING Specifies IRF3 phosphorylation by TBK1 in the Cytosolic DNA Signaling Pathway". *Science signaling* 5(214):ra20. doi: 10.1126/scisignal.2002521.
- Tian, Xiaochen, Gayathri Devi-Rao, Alexander P. Golovanov, a Rozanne M. Sandri-Goldin. 2013. „The Interaction of the Cellular Export Adaptor Protein Aly/REF with ICP27 Contributes to the Efficiency of Herpes Simplex Virus 1 mRNA Export". *Journal of Virology* 87(13):7210–17. doi: 10.1128/JVI.00738-13.
- Ustav, M., a A. Stenlund. 1991. „Transient replication of BPV-1 requires two viral polypeptides encoded by the E1 and E2 open reading frames." *The EMBO Journal* 10(2):449–57.
- Verpooten, Dustin, Yijie Ma, Songwang Hou, Zhipeng Yan, a Bin He. 2009. „Control of TANK-Binding Kinase 1-Mediated Signaling by the Γ 134.5 Protein of Herpes Simplex Virus 1". *Journal of Biological Chemistry* 284(2):1097–1105. doi: 10.1074/jbc.M805905200.

- Wan, Wei, Chuying Qian, Qian Wang, Jin Li, Hongtao Zhang, Lei Wang, Maomao Pu, Yewei Huang, Zhengfu He, Tianhua Zhou, Han-Ming Shen, a Wei Liu. 2023. „STING Directly Recruits WIPI2 for Autophagosome Formation during STING-Induced Autophagy". *The EMBO Journal* 42(8):e112387. doi: 10.15252/embj.2022112387.
- * Wang, Shao-Hua, Kuan Wang, Ke Zhao, Shu-Cheng Hua, a Juan Du. 2020. „The Structure, Function, and Mechanisms of Action of Enterovirus Non-Structural Protein 2C". *Frontiers in Microbiology* 11:615965. doi: 10.3389/fmicb.2020.615965.
- * Wang, Yan, Fan Wang, a Xiaolei Zhang. 2021. „STING-associated vasculopathy with onset in infancy: a familial case series report and literature review". *Annals of Translational Medicine* 9(2): 176. doi:10.21037/atm-20-6198
- Wu, Jiayi, Lijun Sun, Xiang Chen, Fenghe Du, Heping Shi, Chuo Chen, a Zhijian J. Chen. 2013. „Cyclic-GMP-AMP Is An Endogenous Second Messenger in Innate Immune Signaling by Cytosolic DNA". *Science (New York, N.Y.)* 339(6121):10.1126/science.1229963. doi: 10.1126/science.1229963.
- Yang, Xiaolu, Roya Khosravi-Far, Howard Y. Chang, a David Baltimore. 1997. „Daxx, a Novel Fas-Binding Protein That Activates JNK and Apoptosis". *Cell* 89(7):1067–76.
- Yin, Qian, Yuan Tian, Venkataraman Kabaleeswaran, Xiaomo Jiang, Daqi Tu, Michael J. Eck, Zhijian J. Chen, a Hao Wu. 2012. „Cyclic di-GMP Sensing via the Innate Immune Signaling Protein STING". *Molecular Cell* 46(6):735–45. doi: 10.1016/j.molcel.2012.05.029.
- Zerangue, Noa, Blanche Schwappach, Yuh Nung Jan, a Lily Yeh Jan. 1999. „A New ER Trafficking Signal Regulates the Subunit Stoichiometry of Plasma Membrane KATP Channels". *Neuron* 22(3):537–48. doi: 10.1016/S0896-6273(00)80708-4.
- Zhang, Conggang, Guijun Shang, Xiang Gui, Xuewu Zhang, Xiao-chen Bai, a Zhijian J. Chen. 2019. „Structural Basis of STING Binding with and Phosphorylation by TBK1". *Nature* 567(7748):394–98. doi: 10.1038/s41586-019-1000-2.
- Zhang, Jing, Ming-Ming Hu, Yan-Yi Wang, a Hong-Bing Shu. 2012. „TRIM32 Protein Modulates Type I Interferon Induction and Cellular Antiviral Response by Targeting MITA/STING Protein for K63-Linked Ubiquitination". *The Journal of Biological Chemistry* 287(34):28646–55. doi: 10.1074/jbc.M112.362608.
- Zhang, Xu, Heping Shi, Jiayi Wu, Xuewu Zhang, Lijun Sun, Chuo Chen, a Zhijian J. Chen. 2013. „Cyclic GMP-AMP Containing Mixed Phosphodiester Linkages Is An Endogenous High-Affinity Ligand for STING". *Molecular Cell* 51(2):226–35. doi: 10.1016/j.molcel.2013.05.022.

* Zhao, Yan, Cheng Xing, a Hongling Peng. 2024. „ALYREF (Aly/REF export factor): A potential biomarker for predicting cancer occurrence and therapeutic efficacy". Life Sciences 338:122372. doi: 10.1016/j.lfs.2023.122372.

Zhong, Bo, Yan Yang, Shu Li, Yan-Yi Wang, Ying Li, Feici Diao, Caoqi Lei, Xiao He, Lu Zhang, Po Tien, a Hong-Bing Shu. 2008. „The Adaptor Protein MITA Links Virus-Sensing Receptors to IRF3 Transcription Factor Activation". Immunity 29(4):538–50. doi: 10.1016/j.immuni.2008.09.003.

Sekundární citace (review) jsou označeny *