

Badanie mechanizmu i funkcji asocjacji białka IE1 wirusa HCMV z chromatyną

STRESZCZENIE

Ludzki wirus cytomegalii (human cytomegalovirus - HCMV), podobnie jak wszystkie herpeswirusy, ustanawia długotrwałą utajoną (latentną) infekcję w komórkach gospodarza. Jednak mechanizmy molekularne zaangażowane w ustanawianie latencji HCMV pozostają w dużej mierze nieznane. W przypadku gamma-herpeswirusów (np. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus - KSHV), których latencja jest szeroko zbadana, genom wirusowy jest utrzymywany jako episom, kolistą cząsteczką DNA, związany z chromatyną gospodarza poprzez maintenance protein (MP), „białko utrzymujące” - w przypadku KSHV jest nim antygen jądrowy związany z latencją (latency-associated nuclear antygen - LANA). MP jednocześnie wiąże się z genomem wirusowym i chromatyną gospodarza, tym samym przyczepiając genom wirusowy do genomu komórkowego. Chociaż wykazano, że DNA HCMV utrzymuje się w komórkach zawierających latentny wirus, bardzo niewiele wiadomo na temat mechanizmu wiązania i długoterminowego utrzymywania się genomu w komórce. Wiadomo, że immediate early protein 1 (IE1) kodowane przez HCMV w metafazie pokrywa równomiernie („maluje”) chromosomy. Wykazano, że domena wiążąca chromatynę (chromatin tethering domain - CTD) białka IE1 jest odpowiedzialna za tę lokalizację poprzez oddziaływanie z histonami H2A i H2B. Jednak funkcjonalne znaczenie tej lokalizacji nie zostało jeszcze odkryte. Zaproponowano, że białko IE1x4, izoforma białka IE1, jest MP wirusa HCMV i funkcjonuje w sposób analogiczny do białka LANA. Ponadto wykazano, że genomy HCMV wiążą się do chromosomów gospodarza podczas infekcji litycznej, a białko IE1 jest zaangażowane w ten proces. Wyniki badań przedstawione w mojej pracy doktorskiej pokazują, że IE1x4 wiąże się z chromosomami mitotycznymi, jednak wzór lokalizacji IE1x4 nie zmienia się w obecności regionu TR genomu HCMV (domniemane miejsce inicjacji latentnej replikacji), co zaobserwowano np. w przypadku KSHV LANA. Co więcej, białko IE1x4 nie zostało wykryte podczas latencji w zakażonych komórkach T98G i KASUMI-3, dwóch znanych systemach latentnych. Ponadto, wykazałam, że oprócz wcześniej znanego wzoru lokalizacji „malowania chromosomów”, IE1 lokalizuje również w formie podwójnych punktów (określane jako CAS - chromosome-associated spots) na chromosomach mitotycznych. CAS IE1 można zaobserwować tylko w niektórych typach komórek nowotworowych. Tworzenie CAS jest zależne od domeny głównej (core domain) białka IE1 i co za tym idzie jest niezależne od CTD. IE1 lokalizuje w punktach w regionach otaczających

centromery chromosomów mitotycznych i rekrutuje PML do tych miejsc. Procent zakażonych komórek T98G wykazujących lokalizację IE1 w postaci CAS wzrasta, gdy infekcja przechodzi z fazy litycznej do fazy utajonej, co sugeruje rolę IE1 CAS w latencji lub ustanawianiu latencji. Lokalizacja IE1 w formie CAS przypomina rozmieszczenie na chromosomach białek E2 HPV8 i HPV5, pełniących funkcje białek zapewniających utrzymanie genomu wirusowego w komórce, w związku z czym stawiam hipotezę, że IE1 CAS mogą pośredniczyć w wiązaniu genomu HCMV do chromatyny w komórkach T98G.