

Szegedi Tudományegyetem
Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar
Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

**A Caviid gammaherpesvirus 1
transzkriptom profiljának feltárása
hosszú leolvasásokat adó szekvenálás
alkalmazásával**



PhD Tézisfüzet

Dörmő Ákos

Témavezetők: Dr. habil. Tombácz Dóra és prof. Dr.
Boldogkői Zsolt

Szeged,
2026

Tézishez közvetlenül kapcsolódó publikációk

1. Torma Gábor ; Dörmő Ákos*; Fülöp Ádám ; Tombácz Dóra ; Mizik Máté ; Pretory Amanda M. ; Lee See-Chi ; Toth Zsolt** ;Boldogkői Zsolt
Long-read transcriptomics of caviid gammaherpesvirus 1: compiling a comprehensive RNA atlas
MSYSTEMS 10: 3 Paper: e0167824 , 19 p. (2025)
Folyóirat szakterülete: Scopus - Ecology, Evolution, Behavior and Systematics SJR indikátor: D1

Rövidítések listája

ncRNA	Nem Kódoló RNS
EBV	Eppstein-Barr Vírus
KSHV	Kaposi-Szarkóma- asszociált HerpeszVírus
ORF	Nyitott Leolvasási Keret (Open Reading Frame)
CaGHV-1	Caviid GammaHerpesVirus-1
MHV-68	Murine gammaHerpesVirus 68
ONT	Oxford Nanopore Technologies
TSS	Transzkripció Start Hely
TES	Transzkripció Vég Hely
RTA	Replikációs és TranszAktivátor
raRNA	Replikációs origóhoz Kapcsolódó RNS

Bevezetés

A vírusok a Földön leggyakrabban előforduló¹ nem osztódással szaporodó nem sejtes felépítésű obligát intracelluláris mikroorganizmusok². Ebbe a kategóriába tartoznak a herpeszvírusok is, melyeknek már megközelítőleg 130 különböző vírushajt azonosítottak, amelyeket három családba soroltak, az *Orthoherpesviridae*, *Alloherpesviridae* és a *Malacoherpesviridae*³⁻⁵.

Az *Orthoherpesviridae* család tagjai nagy, burokkal és lineáris kétszálú DNS-el rendelkezik, melyek genom mérete ~125-241kb nagyságú is lehet, amely 70-170 gént tartalmaz^{3,5-9}. Három alcsalád tartozik ide, az *Alphaherpesvirinae*, a *Betaherpesvirinae* és a *Gammaherpesvirinae*^{3,8,10}. Ezek között jelenleg kilenc olyan herpeszvírus van, amely humán patogén. Az emberiség ~90%-a fertőzött valamilyen herpeszvírussal. Minden herpeszvírusokra jellemző a lítikus és látens ciklus^{8,10,11}.

A *Gammaherpesvirinae* alcsaládba tartozó vírusok, élethosszig tartó látens fertőzést hoznak létre¹². A latencia kialakulása, valamint a nem kódoló RNS-ek (ncRNAs) lítikus és látens infekcióra mért hatásának vizsgálata egy dinamikus és gyorsan növekedett kutatási terület volt, amely a gammaherpeszvírusok fennmaradását vizsgálja human populációban. Ide tartozik a két onkogén human patogén gammaherpeszvírus a lymphocryptovírusok közé tartozó *Eppstein-Barr vírus* (EBV, vagy HHV4), valamint a rhadinovírusokhoz tartozó *Kaposi-szarkóma-asszociált herpeszvírus* (KSHV, vagy HHV8)^{13–15}. Világszerte több mint 200,000 új rákos megbetegedésért felelősek, ezért a WHO elsőszámú rákkeltő vírusai^{16–18}. Terjedésük, elsődlegesen nyál útján, orálisan terjed¹⁷.

A KSHV egy onkogén gammaherpeszvírus, amely háromféle neoplasztikus betegséggel volt összekapcsolva¹⁹. Nagyjából ~165 kb hosszúságú nagy kétszálú DNS genomja körülbelül 90 nyitott leolvasási kerettel (ORF) rendelkezik, amely a B limfociták fertőzése után élethosszig tartó fertőzést alakít ki. A többi herpeszvírushoz hasonlóan a KSHV is egy lítikus és egy

látens életciklusból áll²⁰⁻²⁴. Jelenleg nincs megfelelő állatmodell a vírus ellen, sem tökéletes modell az emberi vírusokra, mindössze a betegség egy aspektusát képesek csak bemutatni. Ezért fontos létrehozni egy olcsó és könnyen manipulálható modellt, ami segít megérteni a patogenezist és lehetővé tenni a vírusellenes terápia fejlesztését²⁵.

A *Caviid gammaherpesvirus 1*-et (CaGHV-1) korábbi nevén tengerimalac herpeszvírust (GPHLV) 2-es törzsű tengerimalacokból izolálták, melyeknél spontán akut lymphoblastoid leukémia alakult ki²⁶⁻²⁸. Az idő teltével sikerült szélesíteni a vírus gazdatropizmusát, azonban a *Murine gammaherpesvirus 68* (MVH-68, *Murid gammaherpesvirus 4*) megjelenése felváltotta és ez lett az új modellorganizmus a gammaherpeszvírusok kutatására^{26,29}. Azonban Stanfield és mtsai, feltárták a CaGHV-1 genomját és meghatározták a filogenetikai hovatartozását.

A vírus genom megszekvenálása és az adatok bioinformatikai feldolgozása után a filogenetikai vizsgálatok kimutatták, hogy a *Gammaherpesvirinae*

alcsalád *Rhadinovirus* nemzetségébe tartozó vírusról van szó. A de novo genom összeállítás után meghatározták, hogy a genom mérete 103,374 bp, 75 ORF-je van, valamint 35,45%-os GC tartalommal bír. A 75 nyitott leolvasási keretből 63 ORF szekvencia homológiát mutatott a humán patogén KSHV-val. Továbbá azt is bebizonyították, hogy filogenetikailag a CaGHV-1 közelebb áll a KSHV-hoz, mint az MHV-68, ezért indokolt a CaGHV-1 molekuláris mechanizmusainak további kutatása, mint releváns modellorganizmus²⁶.

Az RNS szekvenálást ma már rutinszerűen használják. A transzkriptomikában betöltött szerepe nagyon fontos, azonban a rövid leolvasásokat adó szekvenálási technikák nem alkalmazhatóak megfelelően a transzkriptom összeállítására, splice izoformák és új gének annotálására, a méretkorlátok miatt³⁰. Ezeknek a torzításoknak és a hibáknak a legyőzésére jelentek meg a hosszú leolvasású szekvenálási technikák, mint az Oxford Nanopore Technologies (ONT). A megszekvenált readok hossza több, mint 30kb^{30–32}. Ezt a szekvenálási technológiát használták már vírusok transzkriptom vizsgálatában is³³.

Új komplexitásokat tárt fel, azonosítva a transzkript izoformákat, beleértve a splice variánsokat és transzkripció átfedéseket^{34,35}.

Célkitűzések

A CaGHV-1 transzkriptomját korábban még nem jellemezték, csak a genomját, ezért-e tanulmány célja volt a transzkriptom feltérképezése, valamint a virális génszabályozó régiók azonosítása, ezzel támogatva a *Caviid gammaherpeszvirus 1*-et, mint lehetséges modellorganizmust a humán gammaherpeszvírusok vizsgálatában.

A célkitűzések a következők voltak:

1. A CaGHV-1 vírus natív RNS és direkt cDNS szekvenálása, hosszú leolvasások adó szekvenálási platformon
2. Transzkripció start helyek (TSS), valamint transzkripció vég helyek (TES) azonosítása és a virális génexpressziót szabályozó elemek meghatározása nukleotid pontos felbontásban.
3. A leggyakrabban előforduló (kanonikus) transzkriptek, antiszensz RNS-ek, nem kódoló RNS-ek, komplex transzkriptek és transzkripció átfedések annotálása

4. ORF50 gén által kódolt replikációs és transzkripció aktivátor (RTA) transzkripció aktivitásának vizsgálata, valamint annak meghatározása, hogy a CaGHV-1 ORF50 promótere aktiválható-e más gammaherpeszvírusokból származó RTA fehérjék által

Anyagok és módszerek

Tengeri malac embrionális szövetből származó fibroblaszt 104C1 sejtek CaGHV-1 vírussal való fertőzés nyolc különböző időpontban volt leállítva. Totál RNS izolálás és poly(A) szelekciót követően, a natív RNS szekvenáló könyvtárhoz, minden időpont minden párhuzamosa egyenlő arányban volt összekeverve és az Oxford Nanopore Technologies (ONT) Promethion P2 Solo eszközén volt megszekvenálva. A direkt cDNS könyvtáraknál a minták, a szekvenálás során az egymástól való elkülönítés miatt kaptak egy egyedi vonalkódot, emiatt a könyvtárkészítési lépésnél egy protokoll váltás volt alkalmazva, ugyanis a gyártó a direkt cDNS szekvenálási protokollhoz nem biztosított barcode lépést. Ezt követően a korai első két időpont párhuzamosai az ONT MinION platformján volt megszekvenálva az késői időpontok pedig a Promethion P2 Solo-n az esetleges barcode ugrás jelenségének elkerülése miatt.

A CaGHV-1 ORF50 fehérje kódoló szekvenciáját expressziós vektorba klónozták. Az N-terminálisan

3xFLAG-tagged CaGHV-1 RTA-t HEK239T sejtekbe transzfektálták. Ezt követően a korábban ORF50 promóter fragmenseket luciferáz riporter vektorokba klónozták, majd a riporter plazmidot transzfektálták az RTA expressziós plazmiddal.

A szekvenálásból kapott nyers readok a mininap2 program segítségével voltak a referencia genomra térképezve. A direkt cDNS adatokból származó transzkriptek annotálására a LoRTIA szoftver volt használva. A direkt RNS-ből kapott transzkriptek kvantitálásra a NAGATA szoftver volt alkalmazva és a vizualizációért az IGV program volt használva.

Eredmények

A kapott eredmények alapján 162 kanonikus transzkripciós kezdőhely (TSS) volt azonosítva. Ezen kívül 92 potenciális TATA boks, valamint 18 feltételezett CAAT boks és 5 lehetséges GC boks volt annotálva. Voltak olyan promóter elemek, melyek többsége TATTWAA motívumot tartalmazó TATA boks szekvenciát tartalmaz, melyet már korábban kimutattak a KSHV vírusban is. Rendkívül magas transzkripciós állapotot jelzett, miszerint több mint 1,5 millió read erősítette meg a PAN nem kódoló RNS TSS-ét. 140 kanonikus transzkripciós végpont (TES) volt azonosítva, melyből 131 poliadenilációs szignálkhoz (PAS) kapcsolódott. A transzkripciós kezdő és végpontokból végül 278 kanonikus transzkript volt azonosítva. A vírus transzkriptom splicing környezetének feltárása érdekében a direkt RNS adatok alapján 56 intron volt azonosítva, melyet a direkt cDNS szekvenálási adatok is megerősítettek. Két gén az ORF50 és az ORF57 kódoló régiókban is azonosítva voltak intronok, amelyek szerkezete konzervált és a megegyezett a KSHV-val

homológ génjeivel. Továbbá 54 monocisztronos, 60 multigénus, valamint a 108 komplex transzkript volt azonosítva, amely nagyfokú transzkripció komplexitásra utalt, főként az átfedő transzkriptek és az alternatív splicing eseményei miatt.

A nem kódoló RNS-el intergenikus transzkripteket (PAN), antiszensz transzkripteket és valószínűleg több hosszú 5' UTR mRNS variánst tartalmaztak. 44 antiszensz RNS volt annotálva, melyből 26-ban TATA boxok voltak azonosítva, ezek közül is 15 tartalmazva a KSHV vírus késői gén promótereire jellemző TATTWAA motívumot. A nem kódoló RNS-ek között egy külön kategóriát képviselnek a replikációs origóhoz kapcsolódó RNS-ek (raRNS-ek). Több olyan RNS is azonosítva volt, amelyek promóter régiói közvetlenül az OriLyt-R-hez, valamint olyan hosszú komplex RNS-ek voltak detektálva a régióban, amik teljesen átfedték a lítikus origót.

Magasfokú transzkripció komplexitás jellemezte a vírus genomját, hiszen számos konvergens, divergens és tandem transzkripció átfedések jellemzik a genomot. Hasonló kiterjedt átfedéseket figyeltek meg a KSHV-ban is.

Az elemzések során az volt találva, hogy a CaGHV-1 ORF50 gén leggyakoribb mRNS-ei két szomszédos transzkripció TSS-ről indultak, valamint négy exont tartalmaztak. Az eredmények azt is mutatták, hogy a replikációs és transzkripció aktivátor (RTA) hatékonyan indukálta a CaGHV-1 ORF promótert mindkét sejtvonalon, addig a többi gammaherpeszvírus RTA a két sejtvonalban eltérő promóter aktivációt mutatott. Összefoglalva, az RTA funkcionális hasonlóságot mutatott a gammaherpeszvírusok homológjaival a saját gén promóterének indukálására való képességet tekintve.

Diszkusszió

Ebben a tanulmányban a CaGHV-1 transzkriptomjának feltérképezéséhez az ONT direkt RNS és direkt cDNS szekvenálásból származó adatok, valamint a LoRTIA és NAGATA bioinformatikai szoftverek voltak alkalmazva. Nagy számú kanonikus monocisztronos, multigénés és komplex transzkript volt azonosítva. Ide tartoztak továbbá az intergenikus (PAN) és nem kódoló RNS-ek, csonkolt ORF-eket tartalmazó RNS-ek, antiszensz RNS-ek és replikációs origóhoz kapcsolódó RNS-ek.

Számos TSS-ben ki lett mutatva TATTWAA motívum, melyet már más béta és gammaherpeszvírusokban is kimutattak³⁶. A TES-ek nagy hányada tartalmazta az eukarióta mRNS-ekre jellemző AAUAA konszenzus szekvenciát, melyet már más herpeszvírus alcsaládban is kimutattak.

A CaGHV-1 OriLyt-L és OriLyt-R régiójában is azonosítottak raRNS-eket. Ezek között voltak olyanok, amelyek közvetlenül a replikációs origóból származtak. Azonosítottak raRNS-eket, amelyek átfedésben voltak az

Ori régiójával. Érdekes jelenség, hogy a késői gének átírásához szükséges TATTWAA konszenzus szekvencia jelen van az OriLyt-R régióban, amely a DNS replikáció és transzkripció szabályozás kölcsönhatásaira mutatott. Számos intron volt detektálva az mRNS-ek kódoló UTR régiójában, valamint a nem kódoló RNS-ekben. A KSHV-hoz és az MHV-68-hoz hasonló mintázat fordult elő a spliceolt transzkriptekben, mint a látens ciklusból a lítikusba való átlépésért felelős ORF50, és az ORF64³⁷⁻³⁹. Valamint a LANA-t kódoló ORF73-ben nagymértékű izoforma sokszínűség volt azonosítva, mely gén expressziója az egyik legfontosabb szerepet vállalja a fertőzést követően a latencia kialakulásában, valamint annak fenntartásában⁴⁰. Sok multigénikus és komplex transzkript volt azonosítva, amely gének nagy részei átfedtek a genomon ezzel is megerősítve annak komplexitását.

A CaGHV-1 ORF50 promótert aktiválta a CaGHV-1 RTA és más gammaherpeszvírusokból származó RTA-ak is indukálták a CaGHV-1 ORF 50 promóterét, ami funkcionális hasonlóságra utalt a transzkripció

elősegítésében. A gammaherpeszvírusokra jellemző transzkripció mechanizmusok, amit a vírusfehérjék, valamint a nem kódoló RNS-ek közvetítettek, evolúciósan konzerváltak és ezek kulcsfontosságú szerepet játszottak a gammaherpeszvírusok biológiai sajátosságainak és folyamatainak kialakításában. Ilyen a KSHV lítikus ciklusa alatt is nagy abundanciában kifejeződött PAN nem kódoló RNS, amely fontos szerepet tölt be a vírus génexpresszió szabályozásában, amit már más gammaherpeszvírusokban is kimutattak, mint RRV és EHV-2⁴¹⁻⁴³. Rendkívül fontos, hogy mivel az MHV-68-ból hiányzik a PAN, azonban a CaGHV-1 kódolta, alkalmat biztosított, hogy elsőként lehessen vizsgálni a biológiai jelentőségét, patogenezisét, mint esetleges modellorganizmus.

A CaGHV-1 génjeinek és génszabályozó régióinak feltárása, valamint a tumorképző képessége remek lehetőséget adna, mint leendő modellorganizmus a humán gammaherpeszvírusok fertőzések patogenitásának vizsgálatában.

Referenciák

1. Nayfach, S. *et al.* CheckV assesses the quality and completeness of metagenome-assembled viral genomes. *Nat Biotechnol* **39**, 578–585 (2021).
2. Takács, M. A vírusok kémiai összetétele és szerkezete. in *Orvosi Virologia 3* (Medicina Könyvkiadó Zrt., 2022).
3. Dotto-Maurel, A., Arzul, I., Morga, B. & Chevignon, G. Herpesviruses: overview of systematics, genomic complexity and life cycle. *Viol J* **22**, 155 (2025).
4. Fu, M., Deng, R., Wang, J. & Wang, X. Whole-genome phylogenetic analysis of herpesviruses. *Acta Virol* **52**, 31–40 (2008).
5. Gatherer, D. *et al.* ICTV Virus Taxonomy Profile: Herpesviridae 2021. *J Gen Virol* **102**, 001673 (2021).
6. Davison, A. J. *et al.* The order Herpesvirales. *Arch Virol* **154**, 171–177 (2009).

7. Connolly, S. A., Jardetzky, T. S. & Longnecker, R. The structural basis of herpesvirus entry. *Nat Rev Microbiol* **19**, 110–121 (2021).
8. Gruffat, H., Marchione, R. & Manet, E. Herpesvirus Late Gene Expression: A Viral-Specific Pre-initiation Complex Is Key. *Front. Microbiol.* **7**, (2016).
9. Morissette, G. & Flamand, L. Herpesviruses and chromosomal integration. *J Virol* **84**, 12100–12109 (2010).
10. Carneiro, V. C. de S., Pereira, J. G. & de Paula, V. S. Family Herpesviridae and neuroinfections: current status and research in progress. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **117**, e220200 (2022).
11. Houldcroft, C. J. Human Herpesvirus Sequencing in the Genomic Era: The Growing Ranks of the Herpetic Legion. *Pathogens* **8**, 186 (2019).
12. Sorel, O. & Dewals, B. G. The Critical Role of Genome Maintenance Proteins in Immune Evasion During Gammaherpesvirus Latency. *Front. Microbiol.* **9**, 3315 (2019).

13. Weed, D. J. & Damania, B. Pathogenesis of Human Gammaherpesviruses: Recent Advances. *Curr Clin Micro Rpt* **6**, 166–174 (2019).
14. Jha, H., Banerjee, S. & Robertson, E. The Role of Gammaherpesviruses in Cancer Pathogenesis. *Pathogens* **5**, 18 (2016).
15. Blake, N. Immune evasion by gammaherpesvirus genome maintenance proteins. *Journal of General Virology* **91**, 829–846 (2010).
16. Münz, C. Human γ -Herpesvirus Infection, Tumorigenesis, and Immune Control in Mice with Reconstituted Human Immune System Components. *Front. Immunol.* **9**, 238 (2018).
17. Böni, M., Rieble, L. & Münz, C. Co-Infection of the Epstein–Barr Virus and the Kaposi Sarcoma-Associated Herpesvirus. *Viruses* **14**, 2709 (2022).
18. Guzha, B. T. *et al.* The impact of DNA tumor viruses in low-to-middle income countries (LMICS): A literature review. *Tumour Virus Res* **18**, 200289 (2024).

19. Sin, S.-H. *et al.* The complete Kaposi sarcoma-associated herpesvirus genome induces early-onset, metastatic angiosarcoma in transgenic mice. *Cell Host Microbe* **32**, 755-767.e4 (2024).
20. Wen, K. W. & Damania, B. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (KSHV): molecular biology and oncogenesis. *Cancer Lett* **289**, 140–150 (2010).
21. Yu, C. J. & Damania, B. Molecular Mechanisms of Kaposi Sarcoma-Associated Herpesvirus (HHV8)-Related Lymphomagenesis. *Cancers (Basel)* **16**, 3693 (2024).
22. Ganem, D. KSHV and the pathogenesis of Kaposi sarcoma: listening to human biology and medicine. *J Clin Invest* **120**, 939–949 (2010).
23. Broussard, G. & Damania, B. Regulation of KSHV Latency and Lytic Reactivation. *Viruses* **12**, 1034 (2020).
24. Prazsák, I. *et al.* KSHV 3.0: a state-of-the-art annotation of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus transcriptome using cross-platform sequencing. *mSystems* **9**, e0100723 (2024).

25. Dittmer, D. P., Damania, B. & Sin, S.-H. Animal models of tumorigenic herpesviruses--an update. *Curr Opin Virol* **14**, 145–150 (2015).
26. Stanfield, B. A., Ruiz, E., Chouljenko, V. N. & Kousoulas, K. G. Guinea pig herpes like virus is a gamma herpesvirus. *Virus Genes* **60**, 148–158 (2024).
27. Hsiung, G. D. & Kaplow, L. S. Herpeslike virus isolated from spontaneously degenerated tissue culture derived from leukemia-susceptible guinea pigs. *J Virol* **3**, 355–357 (1969).
28. Hsiung, G. D., Kaplow, L. S. & Booss, J. Herpesvirus infection of guinea pigs. I. Isolation, characterization and pathogenicity. *Am J Epidemiol* **93**, 298–307 (1971).
29. Rhim, J. S. Malignant transformation of rat embryo cells by a herpesvirus isolated from L2C guinea pig leukemia. *Virology* **82**, 100–110 (1977).
30. Oikonomopoulos, S. *et al.* Methodologies for Transcript Profiling Using Long-Read Technologies. *Front Genet* **11**, 606 (2020).

31. Wongsurawat, T., Jenjaroenpun, P., Wanchai, V. & Nookaew, I. Native RNA or cDNA Sequencing for Transcriptomic Analysis: A Case Study on *Saccharomyces cerevisiae*. *Front Bioeng Biotechnol* **10**, 842299 (2022).
32. Udaondo, Z. *et al.* Comparative Analysis of PacBio and Oxford Nanopore Sequencing Technologies for Transcriptomic Landscape Identification of *Penaeus monodon*. *Life (Basel)* **11**, 862 (2021).
33. Boldogkői, Z., Moldován, N., Balázs, Z., Snyder, M. & Tombácz, D. Long-Read Sequencing – A Powerful Tool in Viral Transcriptome Research. *Trends in Microbiology* **27**, 578–592 (2019).
34. Moldován, N. *et al.* Third-generation Sequencing Reveals Extensive Polycistronism and Transcriptional Overlapping in a Baculovirus. *Sci Rep* **8**, 8604 (2018).
35. Shekhar, R., McMahon, S., Tibbetts, S. A., Flemington, E. K. & Renne, R. Cross-Species Insights Into Gamma Herpesvirus Transcriptomes: Long-Read and Multi-Omics Perspectives. *J Med Virol* **98**, e70802 (2026).

36. Dremel, S. E. & Didychuk, A. L. Better late than never: A unique strategy for late gene transcription in the beta- and gammaherpesviruses. *Semin Cell Dev Biol* **146**, 57–69 (2023).
37. O’Grady, T. *et al.* Genome-wide Transcript Structure Resolution Reveals Abundant Alternate Isoform Usage from Murine Gammaherpesvirus 68. *Cell Rep* **27**, 3988–4002.e5 (2019).
38. Purushothaman, P., Uppal, T. & Verma, S. C. Molecular biology of KSHV lytic reactivation. *Viruses* **7**, 116–153 (2015).
39. Shekhar, R. *et al.* High-density resolution of the Kaposi’s sarcoma associated herpesvirus transcriptome identifies novel transcript isoforms generated by long-range transcription and alternative splicing. *Nucleic Acids Res* **52**, 7720–7739 (2024).
40. Allen, R. D., Dickerson, S. & Speck, S. H. Identification of spliced gammaherpesvirus 68 LANA and v-cyclin transcripts and analysis of their expression in vivo during latent infection. *J Virol* **80**, 2055–2062 (2006).

41. Tycowski, K. T., Shu, M.-D., Borah, S., Shi, M. & Steitz, J. A. Conservation of a triple-helix-forming RNA stability element in noncoding and genomic RNAs of diverse viruses. *Cell Rep* **2**, 26–32 (2012).
42. Borah, S., Darricarrère, N., Darnell, A., Myoung, J. & Steitz, J. A. A viral nuclear noncoding RNA binds re-localized poly(A) binding protein and is required for late KSHV gene expression. *PLoS Pathog* **7**, e1002300 (2011).
43. Rossetto, C. C., Tarrant-Elorza, M., Verma, S., Purushothaman, P. & Pari, G. S. Regulation of viral and cellular gene expression by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus polyadenylated nuclear RNA. *J Virol* **87**, 5540–5553 (2013).