

Niektóre nowe dane dotyczące wirusologii, prionów i immunologii

ZDZISŁAW LARSKI

Olsztyn

Larski Z.

Some new data concerning virology, prions and immunology

Summary

The new drug in hepatitis C virus infection with a potent clinical effect, is an inhibitor of HCV nonstructural protein NS5A, essential component of the viral RNA amplification machinery. Therapeutic vaccines aim to treat HIV infected people by boosting ravaged immune system. They modestly but significantly reduced viral levels in the blood of patients. The species barrier in prion transmission. Prion isolates, strains and types – propagated in cell cultures show the hallmarks of Darwinian evolution. Tumor-targeted inhibition of nonsense-mediated mRNA decay (NMD), a new approach to stimulate protective anti-tumor immunity. Identification of new mechanism by which tumors escape the immune system. Chemokine CCL21-secreting tumors shift the host immune response from immunogenic to tolerogenic.

Keywords: new drug in HCV infection, therapeutic vaccines, prions, tumor immunology.

Najlepszym sposobem podnoszenia swoich kwalifikacji zawodowych jest udział w kursach, a szczególnie specjalistyczne studia podyplomowe, łączące teorię i praktykę, ale wszystkim przydatna jest droga samokształcenia – wzbogacanie swej wiedzy przez lekturę książek i czasopism. Pewnym niedostatkiem tych pierwszych może być to, że nawet najnowsze ich wydania ukazujące się co kilka, a nawet więcej lat, mogą zawierać treści częściowo dezaktualizowane, zwłaszcza teraz, gdy lawinowy rozwój nauk przynosi nowe informacje niekiedy korygujące poprzednie. Dlatego hasło „Niech starzy ludzie czytają nowe książki, Ty czytaj czasopisma” (2) słusznie podkreśla wartość tych drugich jako źródła najnowszych danych.

Coraz trudniej jednak wyszukać w masie publikacji te związane nawet bardzo luźno z naszym zawodem, a zarazem ujęte w sposób zrozumiały. Najczęściej jest to niemożliwe bez dostatecznej znajomości biologii i genetyki molekularnej. Dla niespecjalistów przydatne są artykuły przeglądowe – albo obszerne, poświęcone jednemu zagadnieniu, albo, jak ten, omawiający skrótowo kilka spraw dotyczących dyscyplin wymienionych w tytule.

Nowy lek przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby typu C (HCV)

Jest on wynikiem pracy 18-osobowego zespołu Gao i wsp. (7) skomentowanej przez Murray i Rice'a (10). Chroniczne zakażenie tym wirusem, odkrytym w 1989 r.,

dotyczy obecnie prawie 200 mln ludzi na świecie. Jego następstwem mogą być uszkodzenia wątroby – zwłóknienie, marskość i rak, co stanowi główną przyczynę transplantacji tego narządu. Nie ma szczepionki przeciw HCV, a leki – interferon i rybawiryne – mają ograniczoną wartość, często są nieskuteczne, a do tego źle tolerowane przez pacjentów.

W pracach nad lekami przeciwwirusowymi standardem jest poszukiwanie sposobów zahamowania enzymów potrzebnych do replikacji wirusa. Gao i wsp. odeszli od takiego standardu, a ich strategia skupiła się na identyfikacji związków funkcjonalnie odmiennych od tych działających na tradycyjne cele badań przeciwwirusowych. W hodowlach komórek przebadali ponad milion związków z kolekcji Bristol-Myers Squibb. Równocześnie z HCV oceniali replikację spokrewnionego z nim flawiwirusa biegunki bydła (BVDV) i cytotoksyczność dla komórek gospodarza jako wydajny sposób wstępnej eliminacji związków bez swoistości dla HCV.

Wyizolowany słaby inhibitor BMS-858, swoisty dla replikacji HCV, stworzył podstawę do licznych dalszych chemicznych ulepszeń, ukierunkowanych na wzmoczenie jego aktywności przeciwwirusowej, rozszerzenie aktywności do objęcia genotypu HCV 1a, optymalizacji możliwości doustnego podawania oraz trwałości właściwości farmakokinetycznych. Po tych zabiegach, których szczegóły będą przedmiotem odrębnych publikacji, lek ten oznaczono jako BMS-

-790052. Hamuje on swoiście w bardzo niskich stężeniach wszystkie badane genotypy HCV, co kwalifikuje go jako najlepszy dotąd opisany inhibitor replikacji tego wirusa. Wykazano, że celem działania BMS-790052 jest jedno z białek HCV – NS5A o nieznannej funkcji enzymatycznej. Wiadomo, że jest ono zasadniczym komponentem amplifikacyjnej maszynarii wirusowego RNA oraz głównym czynnikiem formowania się wiriona. Ponieważ nie znamy enzymatycznej aktywności NS5A, mechanizm jego działania w czasie cyklu życiowego HCV pozostaje niejasny. Gao i wsp. zakładają, że dimeryczna struktura BMS-790052 umożliwia rozerwanie oligomerów NS5A, inicjując konformacyjne zaburzenia, co mogłoby tłumaczyć nadzwyczajną siłę działania BMS-790052.

W losowych testach podwójnej ślepej próby podano zdrowym niezakażonym HCV osobom BMS-790052 doustnie w dawkach od 1 do 200 mg. Związek okazał się bezpiecznym i dobrze tolerowanym nawet w tej najwyższej. W pierwszej klinicznej fazie podanie pacjentom chronicznie zakażonym HCV pojedynczej dawki 100 mg BMS-790052 spowodowało, mierzona po 24 godzinach, redukcję miana wirusa we krwi o 3,3 log, tj. dwutysiącrotną, utrzymującą się przez dodatkowe 120 h u dwu pacjentów zakażonych genotypem 1b wirusa.

Terapeutyczne szczepionki w zakażeniu HIV

Celem normalnych szczepionek jest zapobieganie zakażeniom, lecz takiej przeciw AIDS wciąż nie udało się uzyskać (4). Natomiast celem szczepionek terapeutycznych ma być leczenie osób już zakażonych, przez wzmocnienie wyczerpanego układu immunologicznego. Próby takie, podejmowane w latach 1990., nie dały oczekiwanych wyników i przestały być wtedy przedmiotem naukowego zainteresowania, a teraz perspektywy ich użycia, zaprezentowane na Międzynarodowej Konferencji AIDS we Wiedniu, omawia Abbott (1).

Główną metodą leczenia pacjentów z HIV jest stosowanie kombinacji leków, które nie powstrzymują całkowicie choroby, a pozostawiają u pacjentów pewien poziom szkodliwej immunologicznej aktywacji, która powoduje przedwczesne starzenie się. Zdaniem jednego z czołowych specjalistów AIDS, szczepionki terapeutyczne mogłyby okazać się pomocne przez modyfikację odpowiedzi immunologicznej, nawet jeśli nigdy nie zastąpią całkowicie leków.

Wszystkie takie szczepionki opracowane przez kilka małych firm biotechnologicznych redukują umiarkowanie, lecz wyraźnie poziomy wirusa w krwi pacjentów przez miesiące, a nawet lata. W niektórych przypadkach zwiększały poziom limfocytów CD4⁺T, niezbędnych komórek układu immunologicznego, niszczone przez HIV. Szczepionki te wymagały teoretycznie podawania co kilka miesięcy.

Próby referowane na konferencji dotyczyły polepszenia sprawności komórek dendrytycznych układu

odpornościowego, prezentujących obce antygeny, w tym przypadku białka HIV, limfocytom T, które dzięki temu rozpoznają i eliminują patogena. W pierwszej, opracowanej przez laboratorium Genetic Immunity z Budapesztu, użyto nanocząsteczek zawierających wybrane odcinki RNA wirusa HIV. Preparat ten stosowano w postaci plastrów na skórę, uprzednio lekko uszkodzoną w celu przyciągnięcia prekursorów komórek dendrytycznych, eksponując je na 15 białek HIV przepisanych z RNA. Druga metoda, stosowana przez firmę Argos Therapeutics of Durham, polega na użyciu szczepionek dostosowanych dla każdego pacjenta oddzielnie. Autorzy pobierali od pacjentów komórki dendrytyczne i RNA, a następnie te połączone komponenty wprowadzali temu samemu pacjentowi.

Badania skuteczności szczepionek terapeutycznych wykonywano na pacjentach otrzymujących leki, a aby uniknąć wpływu leku na wyniki, stosowano kilkumiesięczną przerwę w ich pobieraniu. Fińska firma Biotech of Tampere wykonała takie badania na 60 pacjentach nigdy nieleczonych. Jej szczepionka składała się z genowych fragmentów ukierunkowanych na uodpornienie pacjenta na sześć białek wirusa. U około 80% pacjentów tak leczonych nastąpiła supresja wirusa, a poziomy CD4⁺T utrzymywały się przez dwa lata od rozpoczęcia leczenia.

Wyniki tych badań są szczególnie ważne dla takich krajów, jak Południowa Afryka, gdzie żyje 5,7 mln zakażonych HIV, a pacjenci nie mają łatwego dostępu do leków. Na razie jednak specjaliści ds. AIDS ostrożnie wypowiadają się w sprawie dotychczasowych wyników. Ocena wartości takich szczepionek będzie możliwa po trzeciej fazie bardziej licznych prób w ciągu najbliższych kilku lat. Uważa się, że szczepionki takie spełnią rolę u pacjentów leczonych we wczesnej fazie zakażenia, mających mały ładunek wirusa lub u których jego poziom we krwi został obniżony dzięki lekowi.

Osiągnięcia w badaniach nad prionami

Duże zaniepokojenie z lat 1990., związane z zagrożeniem zdrowia ludzkiego przez priony gąbczastej encefalopatii bydła (BSE) zmalało znacznie, jednak badania nad tymi niekonwencjonalnymi zakaźnymi patogenami są nadal prowadzone w wielu ośrodkach. Stan wiedzy i najnowsze osiągnięcia podają dwa artykuły przeglądowe (5, 6) i dwie oryginalne prace badawcze (3, 9), z których tu w skrócie najważniejsze informacje, łatwiejsze w odbiorze przez niespecjalistów.

Wiadomo, że priony składają się wyłącznie z zakaźnego, błędnie sfałdowanego białka gospodarza w postaci izoformy PrP^{Sc}, która indukuje konformacyjną przemianę normalnego komórkowego białka PrP^C w kolejne PrP^{Sc}. W tym procesie fragmentacja wydłużających się włókienek PrP^C prowadzi do autokatalicznej wykładniczej amplifikacji prionów PrP^{Sc}.

Kluczową sprawą dla zrozumienia namnażania się prionów pozostaje wyjaśnienie zagadki, jak wyłącz-

nie białkowy czynnik zakaźny, bez DNA i RNA, może kodować informację potrzebną do ekspresji odrębnych chorobowych fenotypów, a także bariery gatunkowej. Jest ona uwarunkowana różnicami pierwotnej struktury PrP dawcy i biorcy. Transgeniczne myszy dające ekspresję chemicznego PrP są, w odróżnieniu od normalnych myszy, wysoce wrażliwe na priony chemiczne, jednakże typ szczepu prionowego ma wpływ na łatwość jego przeniesienia na inny gatunek biorcy, na przykład prionu BSE, na szereg innych gatunków, lecz zachowującego swe biologiczne cechy przy pasażu przez gatunek o odmiennej pierwotnej strukturze PrP. Szczególnie wyraźny przykład dotyczy przeniesienia ludzkich chorób prionowych. Transmisja prionów klasycznej CJD na konwencjonalne myszy jest trudna lub niemożliwa, natomiast łatwa na transgeniczne myszy dające ekspresję ludzkich PrP (brak bariery gatunkowej). Z drugiej strony, priony vCJD, mimo posiadania pierwotnej struktury PrP identycznej z prionami klasycznej CJD, przechodzą znacznie łatwiej na konwencjonalne myszy, podczas gdy transmisja na humanizowane myszy jest niewydajna. Dwa szczepy namnażane w tym samym gospodarzu mogą wykazywać zupełnie różne bariery dla obecnego gatunku. Dlatego bardziej stosowny jest termin „bariera transmisji”, a nie „gatunkowa”.

Tak więc strukturalna kompatybilność białek PrP dawcy i biorcy decyduje o udanym jego przeniesieniu. Może ono też nastąpić u tych z odmiennymi PrP^C w przypadku znacznego ich pokrywania się; jeżeli jest ono nieznaczne lub brak go, wtedy pojawia się bariera transmisji. To ostatnie może również wystąpić w obrębie gatunków gospodarzy w przypadku polimorfizmów PrP. Powszechny ludzki polimorfizm PrP drastycznie wpływa na selekcję szczepów, co decyduje o wrażliwości człowieka na chorobę prionową. Ważny polimorfizm PrP stwierdzono także u owiec i innych gatunków.

Niekiedy jednak priony nie zachowują swej identyczności i w nowym gospodarzu zmieniają swe właściwości. Nowo powstały dzięki temu szczep może być bardziej lub mniej patogenny dla nowego gospodarza niż wyjściowy, co stwarza potencjalne konsekwencje dla zdrowia ludzi i zwierząt.

Izolowane liczne odrębne szczepy prionów trzęsawki, BSE i zakaźnej encefalopatii nerek (TME – transmissible mink encephalopathy) można namnażać w liniach wsobnych myszy i różnicować na podstawie długości okresu inkubacji oraz obrazu zmian neurodegeneracyjnych. Taka metoda różnicowania wymaga obserwacji zakażonych myszy przez miesiące, a nawet lata. Li i wsp. (9) wykorzystali do tego celu hodowlę czterech linii komórek (dwu neuroblastomalnych, neuronalnej i fibroblastycznej), co pozwoliło łatwo odróżnić cztery szczepy prionów w ciągu około dwu tygodni. Stwierdzili, że biologicznie sklonowane populacje prionów stopniowo stawały się heterogenne dzięki wzrostowi „mutantów”. Priony przeniesio-

ne z mózgu do hodowli komórek „adaptowane do komórek” wypierały (outcompeted) priony „adaptowane do mózgu”. Odwrotne zjawisko stwierdzono, gdy priony przeniesiono z hodowli komórek do mózgu. Nie wchodząc w dalsze szczegóły tych prac, w których wykazano ponadto wpływ inhibitora na selekcję opornego podszczeptu prionu, widać, jak duże możliwości dalszych badań prionów stwarza użycie hodowli komórek. Zdaniem autorów pracy, te patogeny, mimo braku genomu kwasu nukleinowego, wykazują cechy darwinowskiej ewolucji – są przedmiotem mutacji (dziedziczne zmiany ich fenotypowych cech) i selektywnej amplifikacji (pojawianie się odrębnych populacji w zróżnicowanych środowiskach).

Collinge i Clarke (6) zastanawiają się nad mechanizmami śmierci komórek w prionowej neurodegeneracji. Utrata funkcji PrP^C nie stanowi wystarczającej przyczyny, ponieważ PrP-zerowe myszy zachowują się normalnie. Czy PrP^{Sc} są neurotoksyczne? Pewne badania wykazały to *in vitro*, ale nie *in vivo*. Być może, sam PrP^{Sc} nie wywiera takiego działania, a toksyczność mieści się w małych, nietrwałych oligomerycznych PrP oznaczonych jako PrP^L (lethal – śmiertelny), powstających jako produkt pośredni lub uboczny w czasie namnażania się prionów. Neurotoksyczność może wystąpić przy stężeniu PrP^L osiąganym w czasie pełnego zakażenia, natomiast w podklinicznym ich poziom może być za niski.

W odróżnieniu od poznanej różnorodności szczepów prionów u owiec, bydła i norek, brak było takich danych dotyczących chronicznej wyniszczającej choroby CWD (chronic wasting disease) jeleni i łosi. Jest ona szeroko rozpowszechniona w kilku stanach USA, a stwierdzono ją także w Kanadzie oraz Południowej Korei, co powoduje obawy, że podobnie jak BSE, może stwarzać zagrożenie dla człowieka. Badania w kierunku różnorodności prionów CWD podjęli Angers i wsp. (3). Przenieśli duży zbiór izolatów CWD na transgeniczne myszy dające ekspresję PrP jelenia. Przy użyciu standardowych kryteriów – lokalizacji i nasilenia zmian neuropatologicznych oraz czasu inkubacji choroby zidentyfikowali dwa wyraźnie odmienne szczepy, oznaczone jako CWD1 i CWD2. Mimo ich biologicznego zróżnicowania składały się z PrP^{Sc} o biochemicznie nie dających się odróżnić cechach. Chociaż priony CWD nie indukowały choroby u transgenicznych myszy dających ekspresję ludzkiego PrP, jednak ryzyko ekspozycji na priony z różnych zakażonych materiałów zaleca nadawać tym badaniom charakter priorytetowy. Tu warto też nawiązać do badań Heinkenwaldera i wsp. (8) dowodzących, że główny tropizm prionów do tkanek nerwowych może ulec rozszerzeniu na inne narządy objęte chronicznym limfocytarnym zapaleniem. Wykazano to na mysich modelach zapaleń nerki, trzustki i wątroby, w narządach normalnie wolnych od prionów. Znajomość możliwości takiego ich rozmieszczenia w zakażonym gospodarzu ma podstawowe znaczenie dla ochrony konsumenta.

Szczególnie ważne jest też znaczenie badań prionopodobnych mechanizmów, przydatnych w pracach nad ludzkimi chorobami neurodegeneracyjnymi, takimi jak Alzheimer i Parkinsona. Nagromadzenie się w nich błędnie sfałdowanych białek gospodarza i rozsiana agregacja białek mogą przyczynić się do wyjaśnienia przyczyn i szerzenia się procesu patologicznego.

Nowa koncepcja indukowania ochronnej odporności przeciwnowotworowej

Próbie taką podjęli Pastor i wsp. (11). Główną przyczyną braku skutecznego nadzoru immunologicznego nad onkogenezą jest fakt, że nowotwory nie dają ekspresji mocnych antygenów odrzucania komórek guza – TRAs (tumor rejection antigens), wywodzących się z naszych własnych tkanek; zazwyczaj nie są uznawane za „obce”. Celem stosowanych obecnie szczepionek przeciwnowotworowych jest pobudzenie lub wzmocnienie tych słabych antygenów, także przy użyciu adiuwantów, mających pomóc w rozwoju dobrej i długotrwałej odpowiedzi immunologicznej. Alternatywnym do szczepień podejściem mogłoby być spowodowanie ekspresji nowych, tym samym mocnych, antygenów w komórkach nowotworowych *in situ*. Rozwój takiej strategii nie był dotąd możliwy z powodu braku sposobu wywołania ekspresji nowych antygenów tylko w rozsianych zmianach nowotworowych, lecz nie w normalnych tkankach.

Pastor i wsp. znaleźli takie rozwiązanie, w którym ekspresję nowych mocnych antygenów w komórkach nowotworowych indukuje hamowanie degradacji nonsensownie mediowanego informacyjnego RNA – NMD (nonse-mediated messenger RNA decay). NMD jest ewolucyjnie zachowanym mechanizmem nadzoru NMD w komórkach eukariotycznych, zapobiegającym ekspresji mRNAs zawierających kodon przedwczesnego zakończenia (PTC – premature termination codon).

Hamowanie NMD w ludzkich hodowlach linii komórkowych przy użyciu siRNAs (siRNA – small interfering RNA) pozwoliło uzyskać kilka nowych produktów. Niektóre z nich zawierały nowe peptydy nie indukujące tolerancji. Pastor i wsp. założyli, że hamowanie NMD w komórkach nowotworowych wywoła odpowiedź immunologiczną przeciw niektórym takim nowym produktom i że ta odpowiedź odpornościowa zahamuje wzrost nowotworu. Przy użyciu małych interferujących RNA (siRNA), w bardzo złożonych metodach laboratoryjnych, trudnych do popularnego ich przedstawienia, autorom udało się uzyskać w komórkach nowotworowych ekspresję nowych determinant antygenowych i ich immunologiczne odrzucenie.

W modelowych badaniach na myszach podskórnych i przerzutowych nowotworów, donowotworowe podanie swoistych dla NMD siRNA sprzężonych z aptamerowymi ligandami powodowało wyraźniejsze hamowanie wzrostu nowotworowego niż po zastosowaniu szczepienia. Tu krótka dygresja dotycząca stosunko-

wo jeszcze rzadko stosowanego terminu aptamer. Jest to kilkunasto- lub kilkudziesięciunukleotydowa sekwencja RNA lub DNA pełniąca rolę ligandu wiążącego swoiście inne molekuly. Bliższe dane znajdują zainteresowani w artykule Szpechcińskiego i wsp. (13) omawiającym liczne zastosowania aptamerów.

W podsumowaniu pracy Pastor i wsp. piszą, że ukierunkowane na nowotwór hamowanie NMD stwarza podstawę prostego, dającego się szeroko stosować oraz klinicznie przydatnego podejścia do zwiększenia antygenowości rozsianych nowotworów, prowadzącego do ich immunologicznego rozpoznania i odrzucenia. Metoda opisana w tym badaniu jest prosta, składa się z pojedynczego reagenta, który można syntetyzować w wolnym od komórek procesie chemicznym. Może ona znaleźć szerokie zastosowanie, ponieważ jest ukierunkowana na procesy wspólne dla wszystkich nowotworów. Zapewne pierwsza generacja koniugatów aptamer-siRNA oraz dawka i harmonogram ich stosowania ulegną dalszej optymalizacji. Interesującym celem przyszłych badań będzie wyjaśnienie, czy antygeny indukowane przez NMD wykazują krzyżową reaktywność między różnymi nowotworami, a jeśli tak, to identyfikacja dominujących antygenów indukowanych przez hamowanie NMD.

Unikanie nadzoru immunologicznego przez nowotwory

Poznane dotąd mechanizmy tego zjawiska omawiają Zindl i Chaplin (14). Wiele typów ludzkich nowotworów może powodować supresję układu immunologicznego, aby zwiększyć swe przeżycie. Niektóre unikają immunologicznego wykrycia przez obniżenie ekspresji pewnych białek prezentujących antygeny na swojej powierzchni, wskutek czego stają się „niewidoczne” dla cytotoksycznych limfocytów T. Częściej nowotwory wydzielają białka hamujące efektorową odpowiedź limfocytów T, a wspomagające powstawanie regulatorowych limfocytów (Treg), powodujących supresję odpowiedzi odpornościowych. Jeszcze jeden mechanizm, dzięki któremu nowotwory mogą oszukać układ immunologiczny, zidentyfikowali Shields i wsp. (12).

Autorzy ci badali mechanizmy indukowanej przez nowotwór tolerancji immunologicznej, wykazującej podobieństwa do tolerancyjnych funkcji zrębu węzła chłonnoego. W jego strefie przykrowej wyspecjalizowane komórki zrębowe, fibroblastyczne komórki siateczkowe wydzielają chemokinę CCL21. Ponieważ autorzy wykazali w poprzednich badaniach, że nowotworowe inwazyjne komórki również ją wydzielają, zachodziło pytanie, czy ekspresja tej endogennej chemokiny może wpływać na odpowiedź immunologiczną gospodarza. Stwierdzono, że implantowane myszom czerniaki wydzielające dużą ilość CCL21 wykazują znacznie większy wzrost niż dające ekspresję małej jej ilości.

Łącznie ujęte wyniki badań sugerują, że sekrecja CCL21 przez nowotwory spowodowała powstanie to-

lerogennego dla nich mikrośrodowiska o cechach zrębowych przypominających te w strefie przykorowej węzła chłonного. Zgodnie z aktualnymi danymi, że sam zrąb odgrywa ważną rolę w sprzyjaniu tolerancji na własne antygeny, autorzy wysuwają hipotezę, iż spowodowane przez CCL21 naśladowanie zrębu węzła pobudza zmianę odpowiedzi gospodarza, z immunogennej na tolerogenną, ułatwiającą rozwój nowotworu. Ekspresja CCL21 u myszy z nowotworem czerniaka spowodowała immunotolerancję, a u myszy z niedoborem CCL21 guz ten indukował antygenowo swoistą odporność.

Uzyskane dane mają znaczenie terapeutyczne szczególnie w odniesieniu do strategii szczepionek przeciwnowotworowych oraz pojawiających się prób immunoterapii przy użyciu chemokin, w tym CCL21. Zidl i Chaplin sądzą, że poznanie indukowanego przez nowotwór stopnia rozwoju struktur tkanki limfoidalnopodobnej umożliwi wyjaśnienie, czy blokowanie CCL21 i/lub funkcji komórek LTi (induktorów tkanki limfoidalnej) może przerwać immunologiczną tolerancję struktur indukowanych przez nowotwór, a tym samym realizację odporności gospodarza w eliminacji złośliwych komórek.

Piśmiennictwo

1. Abbott A.: Therapeutic HIV vaccines show promise. *Nature* 2010, 466, 539.
2. Ambrus J. L.: Let the old people read new books, you read the papers. *Karger Gazette* 1970, 32, 3-4.

3. Angers R. C., Kang H. E., Napier D., Browning S., Seward T., Mathiason C., Balachander A., McKenzie D., Castilla J., Soto C., Jewell J., Graham C., Hoover E. A., Telling G. C.: Prion strain mutation determined by prion protein conformational compatibility and primary structure. *Science* 2010, 328, 1154-1158.
4. Barouch D. H.: Challenges in the development of an HIV-1 vaccine. *Nature* 2008, 455, 613-619.
5. Collinge J.: Prion strain mutation and selection. *Science* 2010, 328, 1111-1112.
6. Collinge J., Clarke A. R.: A general model of prion strains and pathogenicity. *Science* 2007, 318, 930-936.
7. Gao M., Nettles R. E., Belema M., Snyder L. B., Nguyen V. N., Fridell R. A., Serrano-Wu M. H., Langley D. R., Sun J.-H., O'Boyle D. R., Lemm J. A., Wang C., Knipe J. O., Chien C., Colonno R. J., Grasela D. M., Meanwell N. A., Hamann L. G.: Chemical genetics strategy identifies an HCV NS5A inhibitor with a potent clinical effect. *Nature* 2010, 465, 96-100.
8. Heinkenwalder M., Zeller N., Seeger H., Prinz M., Klöhn P. C., Schwarz P., Ruddle N. H., Weissmann C., Aguzzi A.: Chronic lymphocytic inflammation specifies the organ tropism of prions. *Science* 2005, 307, 1107-1109.
9. Li J., Browning S., Mahal S. P., Oelschlegel A. M., Weissmann C.: Darwinian evolution of prions in cell culture. *Science* 2010, 237, 869-872.
10. Murray C. L., Rice C. M.: An unsuspected drug target. *Nature* 2010, 465, 42-44.
11. Pastor F., Kolonias D., Giangrande P. H., Gilboa E.: Induction of tumour immunity by targeted inhibition of nonsense-mediated mRNA decay. *Nature* 2010, 465, 227-230.
12. Shields J. D., Kourtis I. C., Tomei A. A., Roberts J. M., Swartz M. A.: Induction of lymphoidlike stroma and immune escape by tumors that express the chemokine CCL21. *Science* 2010, 328, 749-752.
13. Szpechciński A., Stępień A., Izdebska M., Grzanka A., Jaśkowski J. M.: Zastosowanie aptamerów w diagnostyce encefalopatii gąbczastych zwierząt. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 1159-1162.
14. Zindl C. L., Chaplin D. D.: Tumor immune evasion. *Science* 2010, 328, 697-698.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Larski, ul. Puszkińska 8/10, 10-294 Olsztyn