

Received: 2013.10.23
Accepted: 2014.03.12
Published: 2014.05.06

Interferony: między strukturą a funkcją

Interferons: between structure and function

Katarzyna Bandurska*, Izabela Król*, Magdalena Myga-Nowak*

Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii, Instytut Chemii, Ochrony Środowiska i Biotechnologii, Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie

Streszczenie

Interferony to rodzina białek wytwarzanych przez różnorodne komórki, m.in. w odpowiedzi na infekcję wywołaną przez wirusy. Obecnie rozróżniamy trzy typy interferonów. Sklasyfikowano je na podstawie sekwencji nukleotydów, oddziaływań z określonymi receptorami, umiejscowienia chromosomowego, struktury oraz fizykochemicznych właściwości. Do typu I zaklasyfikowano następujące rodzaje interferonów: α , β , ω , κ , ϵ , ζ , τ , δ , ν . Rozpoznaje je i wiąże receptor utworzony przez dwa peptydy IFN- α R1 oraz IFN- α R2. Typ II interferonów to interferon γ , łączy się z receptorem, który tworzą podjednostki IFNGR-1 i IFNGR-2. Nową rodzinę interferonów typu III stanowią IFN- λ 1, IFN- λ 2 oraz IFN- λ 3. Oddziałują one z receptorami utworzonymi przez podjednostki IFN- λ R1 i IL-10R2.

Wysoki stopień ochrony przeciwwirusowej jest osiągnięty w wyniku działania IFN- α , IFN- β oraz IFN- λ . Działanie przeciwwirusowe interferonów polega na indukowaniu i regulowaniu wrodzonych i nabytych mechanizmów odpornościowych. Wiążąc się z receptorami transbłonowymi, IFN oddziałują na komórki docelowe aktywując głównie szlaki JAK-STAT, ale również inne szlaki sygnałowe. Powoduje to wzbudzenie i aktywację wielu swoistych czynników przeciwwirusowych, takich jak RNA-aktywowanej kinazy białkowej (PKR), kaskady z udziałem rybonukleazy 2-5A, białka Mx i kilku szlaków apoptotycznych. W wyniku ochronnego działania interferonów ulega zatrzymaniu wiązanie się wirusów z komórkami, wnikanie cząstek wirusa do ich wnętrza, zahamowanie uwalniania nukleokapsydu z osłonki. Zakłócają one procesy transkrypcji i translacji białek strukturalnych uniemożliwiających powstawanie wirionów lub pączkowanie wirusów, a w wyniku degradowania wirusowego mRNA, są uruchamiane procesy hamowania syntezy łańcuchów wirusowych białek i dalsze pobudzenie komórek układu odpornościowego.

Słowa kluczowe:

interferony typu I, II, III • receptory interferonów • ochrona antywirusowa

Summary

Interferons are a family of proteins that are released by a variety of cells in response to infections caused by viruses. Currently, we distinguish three types of interferons. They are classified based on the nucleotide sequence, interaction with specific receptors, chromosomal location, structure and physicochemical properties. The following interferons are classified as type I: α , β , ω , κ , ϵ , ζ , τ , δ , ν . They are recognized and bound by a receptor formed by two peptides, IFN- α R1 and IFN- α R2. Representative of type II interferons is interferon- γ . It binds to a receptor composed of chains IFNGR-1 and IFNGR-2. The recently classified type III interferons comprise IFN- λ 1, IFN- λ 2, and IFN- λ 3. They act on receptors formed by λ R1 IFN- and IL-10R2 subunits. A high level of antiviral protection is achieved by IFN- α , IFN- β and IFN- λ . Antiviral activity

*Autorki mają ten sam udział w przygotowaniu pracy

of interferons is based on the induction and regulation of innate and acquired immune mechanisms. By binding to transmembrane receptors, IFN interacts with target cells mainly by activating the JAK/STAT, but also other signaling pathways. This leads to induction and activation of many antiviral agents, such as protein kinase RNA-activated (PKR), ribonuclease 2-5A pathway, and Mx proteins, as well as numerous apoptotic pathways. As a result of the protective effect of interferons, the virus binding to cells and viral particles penetration into cells is stopped, and the release of the nucleocapsid from an envelope is suppressed. Disruption of transcription and translation processes of the structural proteins prevents the formation of virions or budding of viruses, and as a result degradation of the viral mRNA; the started processes inhibit the chain synthesis of viral proteins and therefore further stimulate the immune system cells.

Key words: interferons type I, II, III • interferon receptors • antiviral protection

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1101229>

Word count: 5196
Tables: 1
Figures: 2
References: 109

Adres autorki: dr Katarzyna Bandurska, Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii, Instytut Chemii, Ochrony Środowiska i Biotechnologii, Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie, al. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa; e-mail: k.bandurska@ajd.czest.pl

BUDOWA INTERFERONÓW

Interferony są białkami należącymi do grupy cytokin, syntetyzowanymi przez ssaki, ptaki, gady oraz ryby. Wytwarzane i uwalniane przez różne typy komórek chronią organizm przed infekcją wirusową [6]. Interferon został odkryty w 1957 r. przez Alicka Isaacs i Jeana Lindemanna. Zaobserwowali oni substancję wytwarzaną przez komórki łożyska kurzych embrionów poddanych ekspozycji na inaktywowany ciepłem wirus grypy. Nowo odkryty związek interferował zarówno z rozwojem wirusa, jak i z rozprzestrzenianiem się infekcji na inne komórki, dlatego nazwano go interferonem [53].

Interferony typu I

Do I typu zaklasyfikowano następujące rodzaje: α , β , ω , κ , ϵ , ζ , τ , δ , ν , są podobne w budowie oraz funkcjonowaniu i mogą być syntetyzowane w odpowiedzi na infekcję wirusową. Od pozostałych interferonów odróżniają je przede wszystkim typ pobudzanego receptora oraz wyjątkowe właściwości fizykochemiczne: zdolność do zachowania stabilności struktury w temperaturze 65°C oraz w pH równym 2 [14]. Organizm człowieka wytwarza przeważnie po jednym rodzaju interferonów, jedynie interferon α reprezentuje 13 rodzajów, określanych dodatkowo liczbą arabską. Początkowo IFN- α nazywano leukocytarnym a IFN- β fibroblastycznym, ponieważ głównym ich źródłem były właśnie leukocyty i fibroblasty. Obecnie wiadomo, że wytwarzać IFN- α i - β może większość typów komórek jądrowych [9,18].

Geny determinujące powstanie IFN typu I

W ludzkim genomie za kodowanie interferonów typu I jest odpowiedzialna rodzina wielu genów obejmująca 350 kb, umiejscowiona w krótkim ramieniu chromosomu 9, region 2, prążek 1 (9p21) [17,29,34,100,104]. Rodzina ta obejmuje trzynaście nieallelicznych genów IFN- α , co najmniej pięć pseudogenów oraz pojedyncze geny interferonów β , ω , κ i ϵ . Analiza sekwencji wykazała, że prawie wszystkie geny interferonów typu I występują razem w chromosomie dziewiątym między genem *ifnb* w pobliżu telomeru oraz genem *ifne* umiejscowionym bliżej centromeru [4,97]. Wyjątkiem jest *ifnk*, który jest umiejscowiony około 6,4 Mb od *ifne* bliżej centromeru, o jego odmienności stanowi także kierunek w jakim jest transkrybowany. Geny w obrębie grupy są umiejscowione w następującym porządku: *ifnb1*, *ifnw1*, *ifna21*, *ifnwp15* (pseudogen), *ifna16*, *ifna17*, *ifnwp5* (pseudogen), *ifna14*, *ifnap22* (pseudogen), *ifna55*, *klhl9* (kelch-like protein), *ifnwp20* (pseudogen), *ifna6*, *ifna13* i *ifna2*. Większość z nich jest transkrybowana w tym samym kierunku (w stronę telomeru), natomiast *ifna8*, *ifnwp2* (pseudogen), *ifna1*, *ifnwp19* (pseudogen), ma przeciwną orientację i transkrypcja zachodzi w stronę centromeru. Warto zaznaczyć, że gen *klhl9* nie koduje interferonu, ale bierze udział w istotnych procesach, takich jak: embriogeneza, rozwój tkanek, karcynogeneza, czy organizacja cytoskieletu [108,109].

Interferon typu I u myszy jest kodowany przez geny zgromadzone w czwartym chromosomie, obejmujące 450 kb. Ogólny rozkład genów jest podobny do układu zaobser-

wowanego u ludzi. Region ten zawiera trzy pseudogeny, czternaście funkcjonalnych genów *ifna* oraz pojedyncze geny *ifnb*, *ifnk*, *ifne* i *ifnz*. Początkowo odkryto obecność dwóch układów, a w dalszych analizach odkryto kolejne szesnaście prawie identycznych z genami *ifnz*. Grupę genów otwiera *ifnb* zlokalizowany bliżej telomeru, zamyka ją natomiast *ifne* umiejscowiony bliżej centromeru. Mysi gen *ifnk* jest natomiast oddalony od głównej grupy (od *ifnb*) o 52 Mbp, a jego transkrypcja odbywa się w kierunku centromeru. Część z genów kodujących różne rodzaje mysiego interferonu jest transkrybowanych w kierunku telomeru, pozostałe są zorganizowane tandemowo i charakteryzują się przeciwną orientacją, a ich transkrypcja odbywa się w kierunku centromeru [29,101]. Szczególną cechą ssaczy i ptasich interferonów typu I jest brak intronów. Podobnie jest w genach kodujących histony oraz białka receptorów sprzężonych z białkiem G [22]. Niedawno wykonane analizy genomów ludzi oraz innych organizmów eukariotycznych dowiodły, że występowanie genów pozbawionych intronów jest powszechniejszym zjawiskiem. Szacuje się, że prawie 12% genów człowieka składa się wyłącznie z eksonów. Nieobecność intronów w genach kodujących interferon może mieć pierwotne podłoże lub być rezultatem utraty intronów w procesie retrotranspozycji. To, że geny kodujące IFN- λ u ryb, a także region 3'UTR w IFN- κ , mają introny potwierdza drugą hipotezę. Brak intronów, struktura, lokalizacja chromosomowa, różnorodność oraz konserwatywność dowodzi, iż rodzina genów kodująca interferony typu I powstała w wyniku wielokrotnych duplikacji genów [87,88,89,90].

Pierwszorzędowa struktura białek interferonów typu I

Interferon α

U człowieka występuje trzynaście genów *ifna*, które kodują dwanaście różnych białek [104]. Wynikiem ekspresji genów *ifna1* oraz *ifna13* jest powstanie dwóch identycznych cytokin. Wszystkie rodzaje IFN- α składają się z dwóch części: hydrofobowego sygnałowego peptydu, złożonego z dwudziestu trzech aminokwasów oraz z właściwego 166-aminokwasowego łańcucha. Wyjątkiem pozostaje zbudowany ze 165 aminokwasów IFN- $\alpha 2$. Analiza sekwencji aminokwasów poszczególnych rodzajów tworzących mieszaninę interferonu α wykazała, że różnią się one nieznacznie, podobieństwo między nimi wynosi 76-99% [48]. Interferony alfa stanowią pierwszą linię obrony organizmu człowieka i są wytwarzane w odpowiedzi na infekcję wywołaną różnorodnymi mikroorganizmami, zwłaszcza wirusami. O tym, który z rodzajów będzie syntetyzowany decyduje charakter czynnika zakaźnego, a także rodzaj wytwarzającej go komórki [27,64,75].

Kwasolabilny interferon α – nietypowa postać interferonu

W przebiegu chorób autoimmunologicznych oraz w zaawansowanym, nieleczonym AIDS zaobserwowano patologicznie duże stężenia nietypowego interferonu w osoczu. Interferon ten jest neutralizowany przez przeciwciała anti-IFN- α , ale wykazuje kwasolabilność typową dla

IFN- γ , dlatego też nazwano go kwasolabilnym IFN- α (al-IFN- α). Nietypowe właściwości tego interferonu, w tym nagromadzenie się w osoczu, mogą być skutkiem wiązania się klasycznego IFN- α z substancjami występującymi u chorych osób [8,69,70].

Interferon β . Większość ssaków koduje tylko jeden rodzaj interferonu β . Jednak przeżuwacze oraz świnie, u których genomy zawierają więcej niż jedną kopię genu *ifnb*, stanowią odstępstwo od tej reguły [64]. Białko ludzkiego IFN- β jest zbudowane ze 166-aminokwasowego łańcucha i na poziomie sekwencji aminokwasów wykazuje 25-32% podobieństwa do ludzkich interferonów α . Tymczasem u myszy, interferon β w postaci 161-aminokwasowego białka, wykazuje podobieństwo do mysich IFN- α zaledwie w 19-23% [104]. Ekspresja IFN- β jest odpowiedzią na obecność wirusowego RNA, infekcje bakteryjne oraz obecność lipopolisacharydu (LPS). Prawdopodobnie synteza interferonu β odbywa się również podczas różnicowania komórek mieloidalnych [33].

Interferon ω . Interferon ω zaliczany do typu I interferonów różni się od IFN- α i β [30]. Wykazuje 55-60% podobieństwa do podtypów IFN- α . Ludzki genom zawiera wiele genów *ifnw*, ale tylko jeden z nich koduje funkcjonalne białko, natomiast pozostałe są pseudogenami. Ludzki IFN- ω to 172- i 174-aminokwasowe polipeptydy [2,20]. Białka te, podobnie jak ludzki IFN- β oraz myszy IFN- α ulegają N-glikozylacji w pozycji (Asn 78) [40].

Interferon κ . Grupa genów kodujących interferon κ jest odizolowana od reszty genów kodujących interferony. Podczas gdy geny IFN typu I zwykle nie zawierają intronów, IFN- κ jest wyjątkiem, ponieważ ma pojedynczy intron w sekwencji 3'-UTR, bezpośrednio za kodonem stop. Wydaje się to ważne, ze względu na regulację transkrypcji tego genu. Ten podtyp interferonu typu I to 180-aminokwasowe białko. Interferon κ jest wytwarzany przez keratynocyty oraz komórki odpowiadające za wrodzoną odporność, takie jak monocyty i komórki dendrytyczne. Podobnie jak IFN- β wykazuje duże powinowactwo do heparyny, a wiązanie się obu związków wspomaga utrzymanie dużej, miejscowej koncentracji IFN- κ [46,61].

Interferon ϵ . Pojedynczy gen kodujący IFN- ϵ wykazuje syntenę w genomach myszy, szczurów oraz ludzi. Gen *ifne* jest umiejscowiony na końcu centromerycznego regionu grupy ludzkich genów IFN na 9p21. Białko kodowane przez niego jest najbardziej podobne do IFN- β ze wszystkich podtypów interferonów typu I. Dojrzałe białko to 185-aminokwasowy polipeptyd, który zawiera wystający C-koniec, podobny do innych IFN typu I. Ludzki polipeptyd IFN- ϵ jest dłuższy od mysiego o 15 aminokwasów [29].

Interferon ζ . Interferon ζ występuje tylko u myszy [66,67]. W genomie szczurów zidentyfikowano pseudogen odpowiadający genowi *ifnz*. Ze względu na zdolność do ograniczonego wzrostu, jakie wykazywał, początkowo został nazwany limityną. Jednak dalsze analizy ujawniły, że białko to należy do rodziny interferonów typu I i zo-

stało określone terminem IFN- ζ [68]. Gen interferonu ζ zawiera dwie potencjalne otwarte ramki odczytu, które mogą kodować dwa różne białka. Aktywna biologicznie cytokina jest kodowana tylko przez jedną z nich (ATG). Ten podtyp interferonu składa się z dwóch elementów 21-aminokwasowego peptydu sygnałowego oraz 182-aminokwasowego funkcjonalnego białka. Zawiera ponadto jedno miejsce, w którym ulega N-glikozylacji (Asn 68) [65,66]. IFN- ζ jest wytwarzany przez limfocyty T i wykazuje bardzo dużą aktywność przeciwwirusową, immunomodulującą i przeciwnowotworową w porównaniu z IFN- α . Cechą odróżniającą go od pozostałych interferonów typu I jest zdolności do wywoływania gorączki i mielosupresji. Te wyjątkowe cechy pozwalają żywić nadzieję na zastosowanie IFN- ζ jako nowoczesnego preparatu terapeutycznego, niewywołującego działań niepożądanych w porównaniu z innymi interferonami [37,65].

Interferon τ . Oprócz powszechnie występujących interferonów, istnieją również takie, których występowanie stwierdzono u nielicznych gatunków. Przedstawicielem tego typu interferonów jest IFN- τ , pojawiający się u myszy i u parzystokopytnych przeżuwaczy (tj. bydła, owiec, kóz, jeleni, żyrafy). Białko to powoduje przedłużenie życia ciała żółtego, wytwarzającego progesteron i przygotowującego błonę śluzową macicy do przyjęcia zapłodnionego jaja. Synteza IFN- τ jest indukowana pojawieniem się embrionu [58]. W przeciwieństwie do innych interferonów jego ekspresja nie zachodzi pod wpływem infekcji wirusowej. Geny kodujące IFN- τ powstały w wyniku powielenia genu *ifnw* [84].

Interferon δ . Interferony wytwarzane w odpowiedzi na infekcję wirusową w swoich regionach promotorowych zawierają sekwencje, które wraz z wniknięciem wirusa umożliwiają ekspresję genu. Region promotorowy 5'ifnd nie zawiera takich obszarów, zatem synteza IFN- δ nie jest indukowana przez wirus. IFN- δ pojawia się w organizmie w czasie ciąży i koduje 149-aminokwasowe białko. W związku z jego małymi rozmiarami początkowo nazywano je spI INF (krótki świński interferon typu I). Wykazuje niski poziom homologii do trofoblastycznego interferonu przeżuwaczy [49].

Interferon v. Najpóźniej odkrytym i opisanym interferonem typu I jest IFN-v. Homologiczne geny, kodujące IFN-v występują u większości ssaków wyższych, np.: koty, myszy, psy, świnię, pawiany, szympansy oraz ludzie. Jednak tylko u kotów ekspresja genu *ifnv* wiąże się z powstaniem funkcjonalnego białka. W genomach pozostałych ssaków występują postaci pseudogenu. Funkcja IFN-v w organizmie kotów nie została jeszcze poznana [45].

Drugo- i trzeciorzędowa struktura interferonów typu I

Cechą ssacych interferonów α jest obecność pięciu wysoce konserwatywnych reszt prolinowych. Geny kodujące IFN- ω i - τ cechuje występowanie tylko czterech reszt prolinowych zawsze poprzedzonych konserwatywną cysteiną występującą w pozycji 139. Charakterystycznym elementem wszystkich podtypów IFN- α , decydującym

o ich aktywności są konserwatywne reszty lizyny umiejscowione na N-końcu oraz konserwatywne reszty tyrozyny ulokowane w pobliżu C-końca białka. Prawie wszystkie podtypy mają dwa konserwatywne disiarczkowe wiązania (Cys1-Cys99 oraz Cys29-Cys139), podczas gdy IFN- β ma jedynie pojedyncze wiązanie disiarczkowe, odpowiadające wiązaniu (Cys29-Cys139) w IFN- α . U większości ssacych interferonów (z wyjątkiem mysiego IFN- β i świńskiego IFN- δ) potwierdzono obecność charakterystycznych cysteinowych wzorców [105,106].

Potranslacyjna modyfikacja IFN- α i IFN- β

Ludzkie interferony α rzadko ulegają glikozylacji. IFN- α 2b jest O-glikozylowany w pozycji Thr106, natomiast IFN- α 14c jest N-glikozylowany w pozycji Asn72. W zakażonym organizmie człowieka białe krwinki oraz komórki limfoblastyczne wytwarzają IFN- α 2b w dwóch postaciach: w pełni glikozylowanej oraz zawierającej jedynie połowę łańcucha cukrowego. W przeciwieństwie do ludzkich, mysie podtypy IFN- α 2 mają jedno miejsce Asn78, które może ulegać glikozylacji [1,63].

Cząsteczka IFN- β syntetyzowana w organizmie człowieka ma trzy potencjalne miejsca glikozylacji w pozycji 26, 69 i 76, podczas gdy mysie IFN- β nie zawiera żadnego. Ludzki IFN- β jest glikozylowany w Asn80, na końcu helisy C. Dołączenie do IFN- β łańcuchów cukrowych jest korzystne, ponieważ przez wyeliminowanie dostępności hydrofobowych reszt ogranicza możliwość agregacji cząsteczek IFN- β . Glikozylacja zapewnia większą stabilność białka w podwyższonej temperaturze. Przeprowadzone badania wykazały, że glikozylowane postaci zarówno IFN- α 2b, jak i IFN- β wykazują znacznie większą (10-15 razy) aktywność biologiczną w porównaniu z nieglikozylowanymi [85].

Pozostałe rodzaje interferonów typu I mogą potencjalnie również ulegać reakcji glikozylacji. IFN- ω może być N-glikozylowany w pozycji Asn78 analogicznie jak w przypadku IFN- β . W krótkiej pętli BC IFN- ϵ występują dwa potencjalne miejsca N-glikozylacji w pozycjach Asn74 oraz Asn83, zatem przyłączanie łańcucha glikozylowanego odbywa się w tym samym regionie co i IFN- β i - ω . IFN- ζ także zawiera jedno potencjalne miejsce N-glikozylacji w Asn68 [67], podczas gdy IFN- δ jest N-glikozylowany w Asn79 [50].

Struktura interferonów typu I

Wykorzystując techniki spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) oraz rentgenografii badano wiele rodzajów interferonu m. in. ludzki IFN- α 2a [39,59], ludzki IFN- α 2b [81], mysie i ludzki IFN- β [36,93] oraz owczy IFN- τ [82]. Przeprowadzone analizy wykazały, że interferony typu I są zbudowane z pięciu α helis (oznaczonych literami od A do E) połączonych ze sobą długą pętlą (pętla AB) oraz trzema krótkimi pętlami (BC, CD i DE). Pętla AB składa się z trzech segmentów i otacza helisę E, z którą jest połączona za pomocą wiązania disiarczkowego. W większości podtypów IFN- α drugie wiązanie disiarczkowe łączy N-końiec białka z helisą C [36].

Istotne różnice strukturalne interferonu typu I można zaobserwować w rejonie pętli AB oraz na C-końcach helisy B i pętli BC. Sieć krystaliczna ludzkiego IFN- β składa się z dimerów połączonych ze sobą atomem cynku. Dimer budują dwie podjednostki A i B, które są względem siebie asymetryczne. Podobna dimeryzacja z udziałem cynku występuje w ludzkim IFN- α 2b, pierwiastek ten umożliwia symetryczne połączenie dwóch molekuł. Dimeryzacja interferonów występuje również u innych cytokin i w niektórych przypadkach ma związek ze zdolnością wiązania receptorów. Powstawanie postaci dwucząsteczkowych IFN- β nie ma żadnego związku z fizjologiczną aktywnością. Trzeciorzędowa struktura ludzkiego interferonu β jest właściwa dla IFN typu I. Helisy A i B są do siebie podobne, ale różne od helisy C, D i E. Fragmenty A i B są ułożone równolegle do siebie i zorientowane w tym samym kierunku, natomiast C i E w kierunku przeciwnym. Helisa D stanowi część długiej pętli łączącej helisy C i E. Gwarantem zachowania odpowiedniej struktury jest disiarczkowy mostek występujący między Cys31 pętli AB i Cys141 pętli DE. Dodatkowo ludzki IFN- β ulega glikozylacji w konkretnym miejscu Asn80 na końcu helisy C. Interferon β i α 2 to jedyne ludzkie interferony, które są naturalnie glikozylowane. Szczegółowe badania nad rolą glikozylacji w działaniu przeciwwirusowym, antyproliferacyjnym, immunomodulującym ujawniły, że glikozylowany IFN- β , w porównaniu z postacią nieglikozylowaną, charakteryzuje się 10-krotnie większą aktywnością we wszystkich aspektach. Najprawdopodobniej jest to spowodowane wysokim stopniem uporządkowania glikanu oraz polipeptydu. Glikan ludzkiego IFN- β jest bardziej zintegrowany z białkiem, niż w innych cytokinach. Wynika to z dodatkowych wiązań wodorowych tworzących się między α 1-6 fukozą a Gln23 helisy A oraz Asn86 helisy C. Glikozylacja cząsteczki interferonu odgrywa istotną rolę w jej stabilizacji [36,93].

Ludzki i mysz IFN- β wykazują jedynie około 50% podobieństwa sekwencji aminokwasów. Ponadto w białku, wytwarzanym przez myszy nie występuje disiarczkowe wiązanie, utworzone z udziałem reszt cysteiny, wiązanie takie jest obecne w ludzkim IFN- β . W mysim IFN- β zaobserwowano delecję pięciu aminokwasów w regionie pętli AB. Wydaje się, że ta różnica nieznacznie wpływa na trzeciorzędową strukturę, chociaż kryształki tych dwóch białek są bardzo podobne [36].

Badania mutagenetyczne wykazały, że pętla AB jest niezbędna do uzyskania wiązań, charakteryzujących się dużym powinowactwem. Jakikolwiek różnice w sekwencji aminokwasów w tym regionie są istotne dla tworzenia się i występowania podtypów interferonów. Zidentyfikowano trzy ważne segmenty w polipeptydzie IFN- β , które są ułożone przestrzennie blisko siebie i odpowiadają za wiązanie białek do receptora [55,56,94].

Analiza struktury białek IFN typu I wraz z ukierunkowaną mutagenezą i badaniami nad przyłączaniem do receptora, wykazała jak strukturalne różnice wpływają na aktywność biologiczną wszystkich podtypów. Aktywność

przeciwwirusowa IFN typu I jest podobna w następujących podtypach IFN- α 1, - α 2, - α 5, - α 6/8, - α 6T, - α 7/10, - α 9, - α 13 i - α 14, jednak IFN- α 4, - α 11, - α 12, IFN- β i - ζ wykazują 8-10-krotnie większą aktywność antywirusową. Obecność reszt Arg58 oraz Asp59 jest również związana z większą aktywnością IFN- α 4. Mysi IFN- α 11, - α 12, IFN- β i - ζ wykazują 100-krotny wzrost potencjału antyproliferacyjnego w porównaniu do IFN- α 1 [48].

Interferony typu I różnią się od siebie nieznacznie, jedynie sekwencją aminokwasów, mimo to wykazują różne działanie biologiczne. Bioaktywność tych cytokin jest determinowana przez ich duże powinowactwo do receptorów umiejscowionych na powierzchni różnych komórek (szczegółowo niżej).

Interferon typu II

Interferonem typu II określa się interferon γ . Jest również nazywany interferonem immunologicznym. Został odkryty w 1965 r. przez E. F. Wheelocka, który zaobserwował, że stymulowane fitohemaglutyniną ludzkie leukocyty wytwarzają związek o działaniu antywirusowym. Pierwotnie w związku z jego aktywnością nazywano go czynnikiem aktywacji makrofagów (MAF). W latach 80 ub.w. przyniosły wiadomości o jego innych właściwościach biologicznych [6,62,109]. IFN- γ charakteryzuje się przeciwwirusową, immunoregulacyjną i przeciwnowotworową aktywnością. Stymuluje transkrypcję ponad 30 genów warunkujących fizjologiczną i komórkową odpowiedź na różnorodne czynniki. Interferon gamma jest odpowiedzialny m.in. za: prezentację antygenów przez makrofagi, wzrost liczby enzymów lizujących w makrofagach, pobudzanie różnicowania się komórek Th1, inicjowanie ekspresji cząsteczek MHC klasy I, inicjowanie ekspresji cząsteczek MHC klasy II, aktywację komórek NK, aktywację syntazy tlenu azotu [92].

Podłoże genetyczne IFN- γ

Gen kodujący interferon gamma zidentyfikowano w organizmach ssaków, ptaków a nawet ryb. Synteza mRNA interferonu II typu jest indukowana przez wiele zewnątrzkomórkowych sygnałów np. cytokiny IL-2, -12, -15, -18. Wytwarzanie mRNA zapoczątkowuje również przyłączenie antygenów wirusowych do powierzchniowych receptorów CD3, CD16 i LY49 [19].

IFN- γ koduje pojedynczy gen, odkryty w latach 80 ub.w. [16,28,98]. W genomie ludzi znajduje się na chromosomie 12, a u myszy na chromosomie 10. Analiza genu IFN- γ wykazała, że jego struktura jest bardzo konserwatywna. Składa się z 4 eksonów i 3 intronów. Gen IFN gamma wydaje się tak konserwatywny ponieważ nie wykryto zmienności sekwencji u 265 osób. Wyniki te sugerują, że jest mało prawdopodobne aby mutacje genu IFN gamma mogły być istotną przyczyną dziedzicznej skłonności do astmy [31]. Sekwencja kodująca ludzki IFN- γ nie podlega zmianom, jednak w regionie promotorowym, intronie 1 oraz regionie 3'UTR opisano występowanie polimorfizmu

pojedynczego nukleotydu (SNP) [7,11,32,80]. W regionie promotorowym genu sekwencja DNA podlega zmienności przez transycję pojedynczego nukleotydu G na T w pozycji 179. Zjawisko to umożliwia syntezę IFN- γ w odpowiedzi na czynnik martwicy nowotworu (TNF- α) [7]. Innym przykładem różnic w DNA populacji jest polimorfizm sekwencji mikrosatelitarnych CA. Zjawisko to występuje w intronie 1. Gwarantuje ekspresję IFN- γ w wielu chorobach np. reumatoidalnym zapaleniu stawów [38].

Interferon typu III

Nową rodzinę interferonów typu III reprezentują IFN- λ 1, IFN- λ 2 i IFN- λ 3. Wcześniej oznaczano je jako IL-28A, IL-28B i IL-29 [95]. Aktywność przeciwwirusowa IFN- λ , zdolność do aktywacji ekspresji cząsteczek MHC klasy I, pobudzanie odporności komórek w odpowiedzi na infekcję wirusową oraz wytwarzanie w chwili wniknięcia wirusa lub dwuniciowego mRNA do organizmu jest typowa dla tej rodziny. IFN- λ ma identyczny mechanizm działania, co IFN- α , czy IFN- β , począwszy od aktywacji szlaku sygnałowego, po pobudzenie tych samych genów stanowiących o ochronie komórki przed wniknięciem wirusa. Cechą różniącą interferony typu III od interferonów typu I jest umiejscowienie genów warunkujących ich powstanie [102]. U człowieka geny wszystkich trzech członków rodziny IFN- λ są zgrupowane na chromosomie 19 (19q13.13), podczas gdy geny IFN typu I na chromosomie 9. O odrębności cytokin może świadczyć również to, że IFN- λ są kodowane przez gen zawierający 5 eksonów, a interferon typu I koduje pojedynczy ekson. Powyższe dane wykazują niezależność tej rodziny, a jednocześnie świadczą o podobieństwie (na poziomie genetycznym) do rodziny IL-10. Geny kodujące wszystkie trzy białka reprezentujące interferony typu III, zawierają 5 eksonów. Geny IFN- λ 2 i IFN- λ 3 mogą obejmować dodatkowy ekson 1a. W wyniku ekspresji genu, zawierającego dodatkowy fragment, powstaje interferon dłuższy od prawidłowego o 4 aminokwasy. Aminokwasy te są umieszczone na N-końcu IFN- λ 2 i IFN- λ 3 [41].

Aktywność biologiczna IFN- λ , jest podobna do aktywności interferonów typu I. Działania przeciwwirusowe cytokiny z tej rodziny jest wspomagane m.in przez: inicjację syntazy oligoizoadenylanowej, pobudzanie ekspresji latentnej endorybonukleazy-RNaza L, wzmoczoną syntezę kinazy białkowej R, ekspresję genu Mx. Interferony typu III wykazują również właściwości antyproliferacyjne w stosunku do komórek, w błonach których występuje znaczna liczba IFN- λ R1. IFN- λ pobudza ekspresję cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej MHC klasy I [43].

RECEPTORY INTERFERONÓW

Receptory IFN typu I

Receptor interferonów typu I tworzą dwie podjednostki białkowe IFN- α -R1 oraz IFN- α -R2. U ludzi geny kodujące białka, wchodzące w skład receptorów interferonów typu I zlokalizowano na chromosomie 21 (21q 22.1). Bada-

nia nad IFN- α i IFN- β doprowadziły do odkrycia podjednostki IFN- α R1. Dalsze, niezależnie prowadzone analizy pozwoliły odkryć drugą podjednostkę receptora IFN- α R2 [71]. Gen kodujący IFN- α R2 jest umiejscowiony na chromosomie 21 i w wyniku jego ekspresji mogą powstawać trzy warianty tego białka IFN- α R2a, IFN- α R2b, IFN- α R2c. Jeżeli transkrypcja wszystkich siedmiu eksonów przebiegała prawidłowo powstaje IFN- α R1c, będącym funkcjonalnym receptorem. Wariant IFN- α R2a powstaje, jeżeli 6 ekson genu nie został transkrybowany. Jest to białko zewnątrzkomórkowe, które podlega procesowi degradacji. IFN- α R2b powstaje, gdy 7 ekson nie uległ transkrypcji.

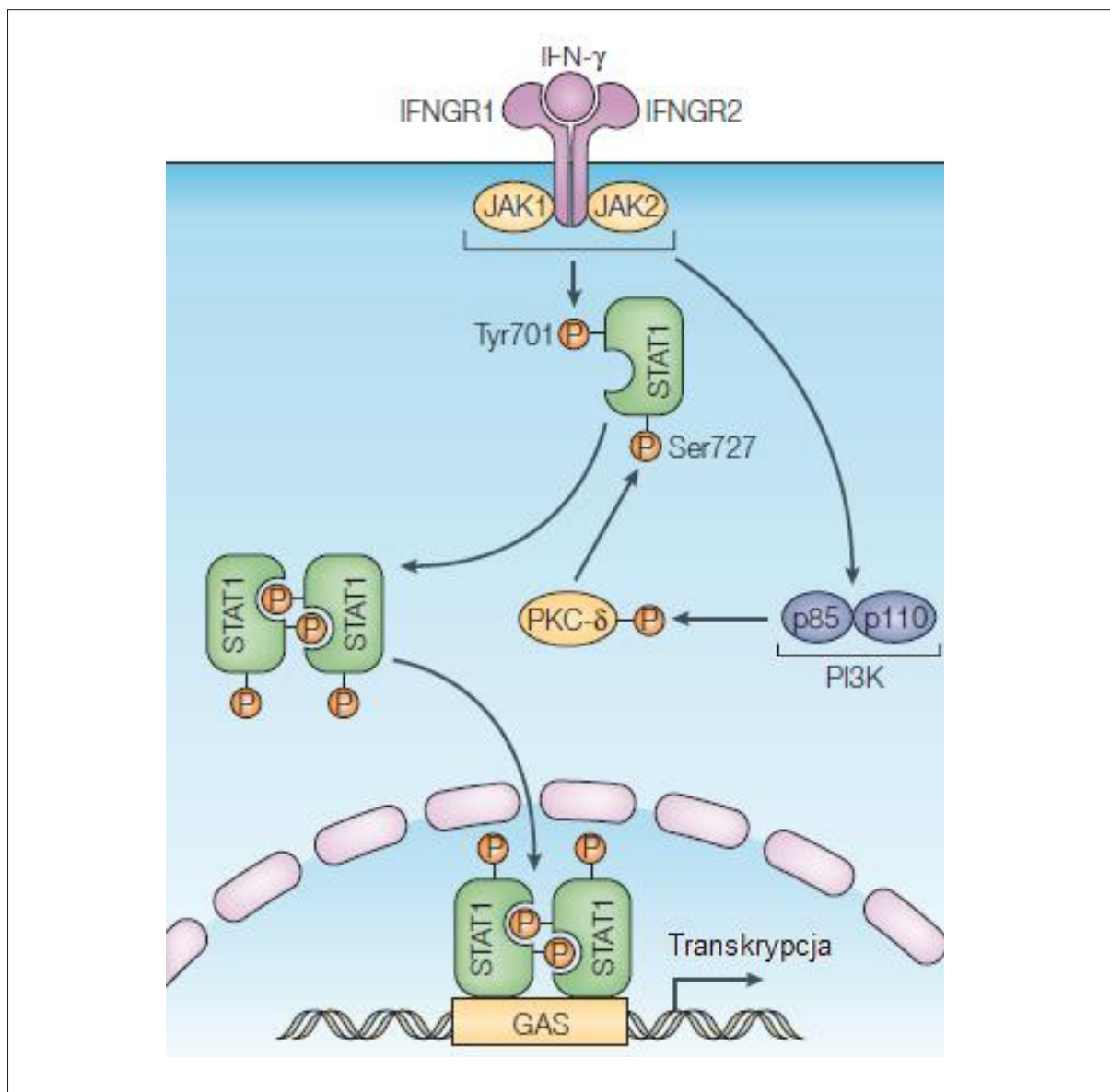
IFN- α R1 charakteryzuje się konserwatywną strukturą obejmującą dwie domeny fibronektynowe typu III. Każda z nich jest zbudowana z siedmiu 100-aminokwasowych łańcuchów, które tworzą układ β -harmonijki. Zewnątrzkomórkowe fragmenty IFN- α R1 tworzą 4 łańcuchy polipeptydowe SD1, SD2, SD3, SD4 uczestniczące w rozpoznaniu i wiązaniu interferonów typu I [13]. Pozostałe łańcuchy nie uczestniczą w wiązaniu interferonu [47]. IFN- α R1 wiąże się z helisami B i C IFN- α 2 oraz z helisami B, C, D i pętlą DE interferonu beta [76,77].

Receptory interferonu typu II

IFN- γ łączy się z receptorem, który tworzą podjednostki IFNGR-1 i IFNGR-2 [73]. Badania prowadzone nad receptorem zdolnym do wiązania IFN- γ doprowadziły do odkrycia genów, odpowiedzialnych za powstawanie jednej z podjednostek receptora interferonu typu II. Gen ten zlokalizowano na chromosomie 6 [83]. Hybrydowe komórki zawierające te geny z łatwością wiązały cząsteczki IFN- γ . Inne badania dostarczyły informacji o genie kodującym drugą podjednostkę receptora umiejscowionym na chromosomie 21 [35]. Obecnie wiadomo, że na receptor interferonu gamma składają się dwie podjednostki IFNGR1 oraz IFNGR2. Pierwsza z nich o masie cząsteczkowej 90 kDa wiąże ligand (cząsteczkę IFN- γ), druga (62 kDa) ma za zadanie przewodzenie sygnału do wnętrza komórki. O funkcjonalności IFNGR1 decydują dwa swoiste regiony. Za przewodzenie sygnału odpowiada fragment zawierający 5 reszt tyrozynowych (Tyr457). Analizy krystalograficzne dowiodły, że IFNGR1 jest zdolny do wiązania pojedynczej cząsteczki IFN- γ oraz jednej podjednostki IFNGR2 [103]. Z badań biochemicznych wynikało, że interferon II typu może być ligandem dla dwóch podjednostek IFNGR1. Zatem do wzbudzenia kaskady sygnałowej niezbędny jest homodimer IFN- γ , który wiąże się z dwoma łańcuchami IFNGR1. Każda cząsteczka IFNGR1 tworzy połączenie z jedną podjednostką IFNGR2 [21,44].

Receptory interferonów typu III

Interferony typu III, do których zalicza się IFN- λ 1, IFN- λ 2, IFN- λ 3, wiążą się do swojego dla nich receptora składającego się z dwóch podjednostek. Pierwsza podjednostka to receptor interferonu lambda R1 (IFN- λ R1), wcześniej nazywano go receptorem IL-28Ra. Drugą podjednostką jest łańcuch receptora IL-10R2 (określany również jako IL-

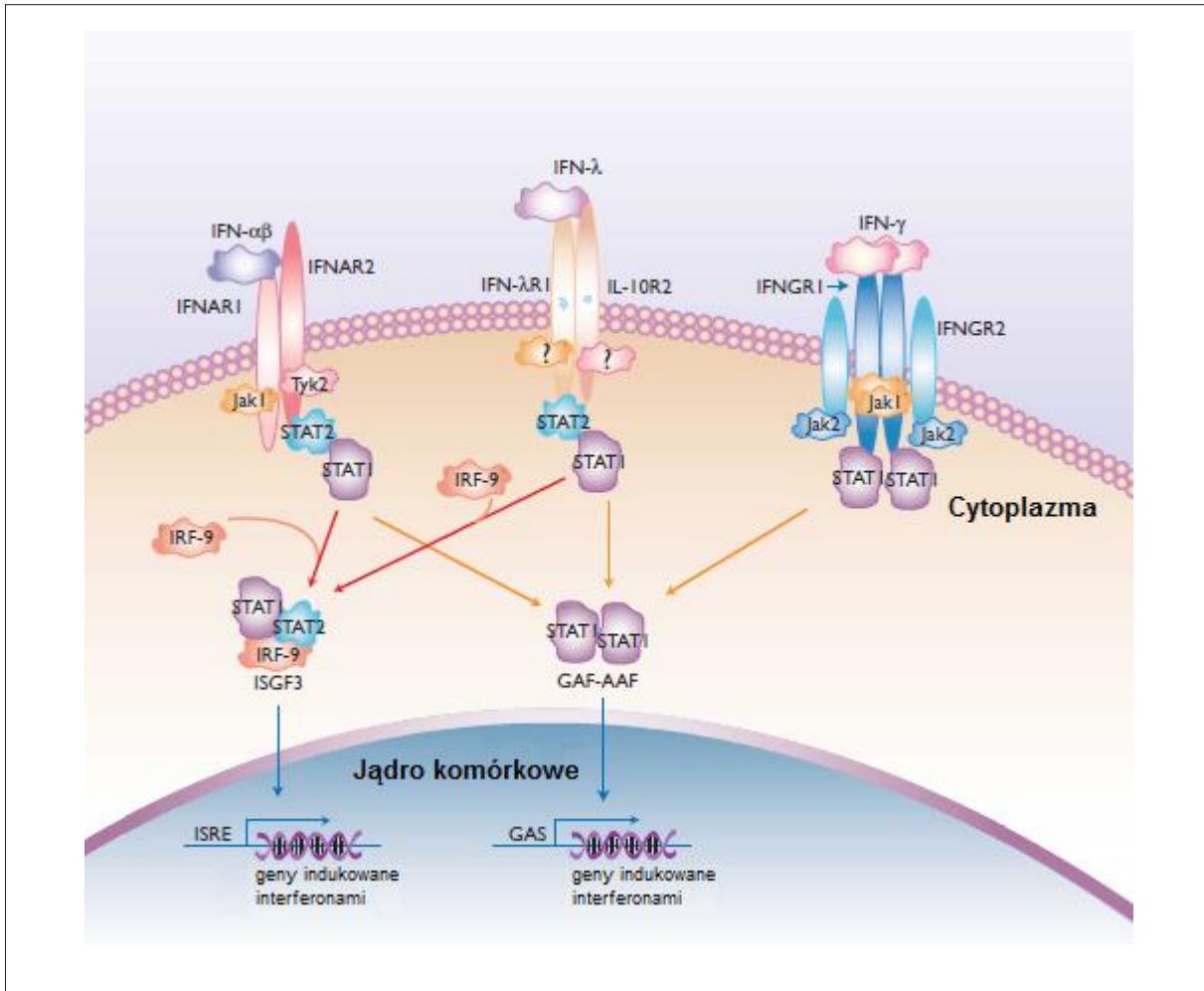


Ryc. 1. Szlaki sygnałowe interferonów typu II. Tradycyjny model ekspresji genów docelowych. Opis w tekście.
Zaadaptowano za zgodą Macmillan Publishers Ltd: ref [78], © 2005 Nature Publishing Group's; Licencja nr 3185271507422

10Rβ), który wchodzi także w skład receptorów mających zdolność do wiązania m. in. takich cytokin jak IL-22 [52].

Geny kodujące podjednostki IFN-λR1 i IL-10R2 u ludzi są umiejscowione na 1 i 21 chromosomie. Gen IFN-λR1 jest umiejscowiony blisko genu kodującego IL-22R1. Obydwa geny są odczytywane w kierunku telomeru. Gen kodujący IL-10R2 jest zgrupowany razem z pozostałymi genami zaliczanymi do rodziny cytokinowych receptorów typu II. Tak jak geny IFN-αR1 i IFN-αR2, gen IFN-γR2 jest na chromosomie 21. Ich transkrypcja zachodzi w tym samym kierunku, w stronę telomeru. Region kodujący IL-10R2 obejmuje 7 eksonów. Ekson 1 koduje fragment 5' UTR oraz peptyd sygnałowy. Eksony 2, 3, 4, i 5 dają początek zewnątrzkomórkowym domenom, natomiast 6 koduje

fragment domeny zewnątrzkomórkowej, domenę transmembranową i początek domeny wewnątrzkomórkowej. Ostatni 7 ekson koduje resztę wewnątrzkomórkowej domeny oraz fragment 3' UTR. W wyniku ekspresji genu kodującego IFN-λR1 mogą powstawać trzy warianty tego białka IFN-λR1a, IFN-λR1b, IFN-λR1c. Jeżeli transkrypcja wszystkich siedmiu eksonów przebiega prawidłowo powstaje IFN-λR1c, będący funkcjonalnym receptorem. Wariant IFN-λR1a powstaje, jeżeli 6 ekson genu nie został transkrybowany. Jest to białko zewnątrzkomórkowe, które podlega procesowi degradacji. IFN-λR1b powstaje, gdy 7 ekson nie ulega transkrypcji. Charakteryzuje się krótszą wewnątrzkomórkową domeną, nie jest zdolne do przekazywania sygnału do wnętrza komórki. Oba białka IFN-λR1a i IFN-λR1b są nieaktywne [42].



Ryc. 2. Porównanie szlaków sygnałowych interferonów alfa, lambda i gamma. Opis w tekście. Zaadaptowano za zgodą Macmillan Publishers Ltd: ref [102], © 2003 Nature Publishing Group's; Licencja nr 3185270173574

PRZEKAZYWANIE SYGNAŁU

IFN typu I

Klasyczny mechanizm działania interferonów poznano na przykładzie IFN- α i IFN- β . Wszystkie typy interferonów wiążą się z cytokinowymi receptorami klasy II, które aktywują kinazę tyrozynową JAK, pobudzając szlak sygnałowy JAK-STAT. W błonie komórkowej znajduje się receptor, który zewnątrzkomórkową domeną łączy się z cząsteczką interferonu. W wyniku związania się, za pośrednictwem podjednostki R1 receptora, dochodzi do fosforylacji tyrozynowych kinaz białkowych TYK2 i JAK1. Enzymy te mają zdolność do fosforylacji czterech różnych białek STAT: STAT1, STAT2, STAT3, STAT5. Po fosforylacji białka asocjują tworząc homo- lub heterodimery, które wnikają bezpośrednio do jądra komórkowego, gdzie inicjują transkrypcję genów docelowych. Różne kombinacje białek STAT pobudzają ekspresję konkretnego genu. W cytoplazmie komórki występują również białka STAT4 i STAT6, które mogą ulegać fosforylacji, w wyniku działania interferonów typu I, jednak ta aktywacja może zachodzić tylko

w nielicznych, konkretnych komórkach np. komórkach śródbłonna [78]. Należy zaznaczyć, iż w jądrze komórkowym dimery białek STAT łączą się z wieloma innymi czynnikami. Zespół STAT1-STAT2 wiąże się z białkiem IRF-9, formując w ten sposób czynnik transkrypcyjny nazwany czynnikiem 3 genów stymulowanych przez interferon (ISGF-3). Dojrzały kompleks ISGF-3 nie ulega fosforylacji tyrozynowej i łączy się z sekwencją kontrolującą ekspresję, powszechnie nazywaną regionem odpowiedzi stymulowanej przez interferon (ISRE). Obecność ISRE wykazano w regionach promotorowych wszystkich genów indukowanych przez interferon [60,78].

IFN typu II

Do wzbudzenia kaskady sygnałowej niezbędny jest homodimer IFN- γ , który wiąże się z dwoma łańcuchami IFNGR1. Każdy z IFNGR1 tworzy połączenie z jedną podjednostką IFNGR2. IFNGR2 ulega fosforylacji i fosforyluje związane z nim kinazy JAK 2. Te katalizują reakcję przyłączenia reszty fosforanowej do JAK1. Każda z kinaz ponownie fosforyluje region Tyr457 łańcucha IFNGR1, dzie-

Tabela 1 . Wybrane cechy ludzkich interferonów na podstawie [26,72]

Typ interfeonu	I	II	III
Rodzaje	α, β, ω, κ, ε, ζ, τ, δ, ν IFN-α (leukocytny) IFN-β (fibrocytny) Interferon ζ (limityna)	IFN-γ (immunologiczny)	IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 (IL-28A, IL-28B, IL-29)
Lokalizacja na chromosomie	chromosom 9, region 2, prążek 1 (9p21). w przypadku IFN-β3 (<i>IFNB3</i>) chromosom 2	chromosom 12 u człowieka (12q), chromosom 10 u myszy.	chromosom 19 (19q13.13)
Wiązanie z podjednostkami receptorów	IFNAR1 i IFNAR2	IFNGR1 i IFNGR2	IFN-λR1 i IL-10R2
Szlak przekazywania sygnału	Jak1, Tyk2, Stat1, Stat2, Stat3, Stat4, Stat5, PI3K, Akt, NFκB, MAPK, p53, PRMT1	Jak1, Jak2, Stat1, Stat3, Stat5, PI3K, Akt, NFκB, MAPK	Jak1, Tyk2, Stat1, Stat2, Stat3, Stat5
Występowanie	większość kręgowców (ssaki, niektóre ptaki i ryby)	niektóre ryby (np. rozdymka, ang. fugu fish), płazy, ptaki, ssaki	człowiek i inne ssaki
Czynnik indukujący	wirusy, bakterie, pasożyty	antygeny, mitogeny	wirusy

ki czemu może się przyłączyć STAT1-STAT1. Dimer ulega fosforylacji w pozycji 701 (Tyr701). Następnie odłącza się od podjednostek IFNGR2 i jako czynnik transkrypcyjny wnika do jądra komórkowego. Tam inicjuje ekspresję ISG. Geny stymulowane przez IFN-γ zawierają oprócz sekwencji ISRE również sekwencje określane mianem sekwencji aktywacji przez interferon gamma (GAS). Istnieje kilka sposobów na wzbudzenie szlaku sygnałowego JAK-STAT. Komórki, w których ścieżka JAK-STAT jest nieaktywna są nadal wrażliwe na IFN-γ pobudzający proliferację komórek oraz zapobiegający ich apoptozie. Świadczy to o tym, że szlak sygnałowy JAK-STAT nie jest jedynym wariantem inicjowania transkrypcji genów stymulowanych przez IFN-γ. Niezależna od kinaz JAK fosforylacja tyrozyny w STAT1 może zachodzić pod wpływem fosforylacji seryny w STAT1 w pozycji 727. Następuje ona w odpowiedzi na pojawienie się zapalnych cytokin (TNF-β i IL-1) lub wnikięcie do komórki lipopolisacharydu (LPS). Fosforylację seryny STAT1 inicjują również ścieżka sygnałowa MAPK, kinaza p42/ERK-2, białko δ kinazy C oraz czynnik AKT kinazy fosfatydyloinozytolu (PI3K). Alternatywne sposoby fosforylacji białka STAT1 inicjują oraz wspomagają ekspresję genów stymulowanych przez IFN-γ. Warto również wspomnieć o zdolności do fosforylacji białka STAT3 inicjowaną przez interferon typu II. Zwykle reakcja ta zachodzi rzadko, ponieważ STAT3 wykazuje antagonistyczne działanie względem STAT1. Jeżeli wykorzystanie białka STAT1 jest niemożliwe, wówczas jego funkcje przejmuje STAT3 (ryc. 1) [15,25,57,72,99].

IFN typu III

Mechanizm działania interferonów typu III nie poznano jeszcze dokładnie. W błonie komórkowej znajdują się

receptory, które są utworzone z dwóch podjednostek R1 i R2. R1 ma długą wewnątrzkomórkową domenę związaną z kinazą JAK1 [102]. IFN-λ1 oraz IFN-λ2 występują w postaci monomeru. W związku z tym jedna cząsteczka interferonu łączy się z podjednostkami IFN-λR1 i IL-10R2. Po związaniu się liganda z receptorem dochodzi do aktywacji kinaz JAK1 i TYK2. Enzymy te są zdolne do fosforylacji czterech różnych białek STAT: STAT1, STAT2, STAT3, STAT5. W kolejnym etapie białka STAT tworzą homo- lub heterodimery i wędrują do jądra komórkowego. Kinaza JAK aktywowana przez IFN-λ, może się przyczynić do powstania homodimeru STAT1, który jest czynnikiem inicjującym transkrypcję. Po wnikięciu do jądra STAT1-STAT1 wiąże się do DNA w swoistych sekwencjach GAS i inicjuje ekspresję genów stymulowanych przez interferon γ [3]. Identyczną sytuację możemy obserwować dla sygnału przekazywanego przez IFN-α i IFN-β (ryc. 2) [74].

PRZECIWWIRUSOWE DZIAŁANIA INTERFERONÓW

Interferony wykazują działanie przeciwwirusowe (tabela 1), które opiera się na kilku mechanizmach. W wyniku ochronnego działania interferonów ulega zatrzymaniu wiązanie się wirusów z komórkami, wnikanie cząstek wirusa do ich wnętrza, zahamowanie uwalniania nukleokapsydu z osłonki. Zakłócają one procesy transkrypcji i translacji białek strukturalnych uniemożliwiających powstawanie wirionów lub pączkowanie wirusów, a w wyniku degradowania wirusowego mRNA, uruchamiane są procesy hamowania syntezy łańcuchów wirusowych białek i w konsekwencji dalsze pobudzenie komórek układu odpornościowego [12,24,54].

Interferony inicjują syntetazę oligoizoadenylationową (2'-5'-OAS). Jest to grupa enzymów, charakteryzująca się

podobnym działaniem. W jej skład wchodzi trzy białka OAS1, OAS2 i OAS3. OAS1 to dwie izoformy o masie cząsteczkowej 40 i 46 kDa, które różnią się jedynie na C-końcu łańcucha. Polipeptydy o masie cząsteczkowej 69 i 71 kDa tworzą OAS2, a białko o masie 100 kDa to OAS3 [91].

Syntetaza oligoizoadenylnowa jest aktywowana w chwili pojawienia się w komórce dwuniciowego RNA. Aktywność 2'-5'-OAS polega na wytwarzaniu oligonukleotydów adenylanowych (2'-5'-oligoA). 2'-5'-oligoA to krótkie fragmenty zbudowane z piętnastu nukleotydów połączonych ze sobą wiązaniem 2'-5'-fosfodiesterowym. Oligonukleotydy adenylanowe inicjują ekspresję latentnej endorybonukleazy - RNaza L, która ma za zadanie rozkładać wirusowe mRNA i w ten sposób hamować rozwój infekcji wirusowej. RNaza L degradowa również komórkowy jednoniciowy kwas rybonukleinowy. Enzym ten utrzymuje się w komórce w postaci nieaktywnej do chwili pojawienia się oligonukleotydów adenylanowych inicjujących proces dimeryzacji endonukleazy [86,91].

Badania przeprowadzone na znokautowanych myszach, które nie wytwarzały prawidłowo zbudowanej RNazy L dowiodły, że jest ona odpowiedzialna również za apoptozę komórek. Enzym ten jest niezbędny do aktywowania kaskady sygnałowej angażującej JNK odpowiedzialnej za zaprogramowaną śmierć komórki. W związku z tym należy również uwzględnić to, że przeciwwirusowe działanie latentnej endorybonukleazy - RNaza L indukowanej przez interferony polega także na eliminowaniu zakażonych komórek. W komórkach traktowanych interferonem poziom ekspresji RNazy L i syntetazy oligoizoadenylnowej wzrasta 10-1000-krotnie [10].

W odpowiedzi na kaskadę sygnałów zainicjowanych przez IFN w zakażonej komórce rozpoczyna się wzmocniona synteza PKR (kinaza białkowa R). Komórka gospodarza gromadzi duże ilości nieaktywnego białka. Funkcjonalna postać enzymu składa się z białka oraz przyłączonego do niego fragmentu wirusowego dsRNA. Kinaza w wyniku autofosforylacji rozpoczyna fosforylację podjednostki α czynnika inicjującego syntezę (eIF-2 α), dlatego też wcześniej nazywana była kinazą eIF-2. Fosforylacja czynnika eIF-2 prowadzi do zahamowania translacji, a tym samym do syntezy białka wirusowego. Kinaza białkowa R jest zdolna do fosforylacji przynajmniej sześciu białek: samej siebie, podjednostki α czynnika inicjującego syntezę (eIF-2 α), czynnika hamującego transkrypcję I κ B, białka Tat kodowanego przez wirus HIV, białka NFAT oraz białka MPP4 [51,91].

Fosforylowany czynnik eIF-2 oddziałuje z czynnikiem wymiany nukleotydów guaniny eIF-2B blokując przemianę eIF-2-GDP w eIF-2-GTP, a tym samym hamuje proces translacji. Do prawidłowego działania kinazy R jest niezbędne dwuniciowe RNA, w związku z tym może hamować rozwój tylko niektórych wirusów. PKR odgrywa również istotną rolę w przekazywaniu sygnałów inicjowanych po-

jawieniem się dsRNA, ponieważ wpływa na prawidłowe funkcjonowanie czynników transkrypcji STAT-1, IRF-1 i białka p53 [96].

Działanie przeciwwirusowe interferonów przejawia się również w zwiększonej ekspresji deaminazy adenozykowej (ADAR). Enzym ten występuje w kilku izoformach. Ma ona za zadanie deaminować adenozynę występującą w dwuniciowych fragmentach RNA. Proces deaminacji powoduje powstanie inozyny. Deaminacji katalizowanej przez ADAR podlega adenozyzna przy węglu C6 rybozy budującej RNA. Przekształcenie adenozyminy w inozynę zakłóca tworzenie komplementarnych par zasad. Kwas rybonukleinowy przyjmuje charakter jednoniciowy, ponieważ pary uracylu i inozyny są mniej stabilne, niż pary uracylu i adenozyminy. W ten sposób dochodzi do zakłócenia procesu replikacji RNA, co uniemożliwia namnażanie się cząstek wirusa. Synteza deaminazy adenozykowej jest pobudzana przez IFN- α oraz IFN- γ . Występuje ona w dwóch postaciach, jednej o masie cząsteczkowej 150 kDa, która powstaje pod wpływem interferonu oraz drugiej 110 kDa, powstającej niezależnie od IFN. Białka te różnią się również umiejscowieniem w komórce, p150 może być w jądrze komórkowym oraz cytoplazmie, natomiast p110 wyłącznie w jądrze. Dodatkowe analizy dostarczyły wiadomości o jeszcze jednej postaci deaminazy, ADAR2. Jej masa cząsteczkowa wynosi 80 kDa i nie należy ona do białek, których synteza jest stymulowana przez interferony [23].

Aktywacja genu *Mx* to mechanizm antywirusowy związany z działaniem IFN- α i IFN- β . W przeciwieństwie do szerokiego zakresu działania kinazy białkowej R, syntetazy oligoizoadenylnowej, czy latentnej endorybonukleazy - RNaza L, ekspresja genu *Mx* inicjuje powstanie u myszy jednego, a u ludzi dwóch białek. U myszy ekspresja genu, nazywanego *mx1* powoduje powstanie białka charakteryzującego się zdolnością do hamowania replikacji wirusa grypy. Białko *Mx1* należy do nielicznej rodziny stymulowanych interferonem GTP-az, które biorą udział w zwalczaniu różnych wirusów, zawierających (-) ssRNA. Mechanizm działania białka *Mx* poznano w wyniku badań mysich komórek zakażonych wirusem grypy. Pod wpływem aktywacji interferonem w jądrze komórkowym gromadzi się białko, które zakłóca aktywność polimerazy wirusowej przez oddziaływanie z podjednostką PB2 enzymu. W ten sposób dochodzi do skutecznego zablokowania replikacji wirusa [79].

Enzymem, którego syntezę pobudza interferon jest syntetaza tlenu azotu (NOS). Syntetaza tlenu azotu występuje w trzech izoformach: pobudzonej IFN- γ NOS (iNOS, lub NOS2), neuronalnej NOS (nNOS lub NOS1) i śródbłonkowej NOS (eNOS lub NOS3). Stymulowane interferonem komórki NK wytwarzają enzym biorący udział w procesie przemiany argininy w cytrulinę. Produktem ubocznym tej reakcji jest tlenek azotu, który skutecznie hamuje replikację poks- i herpeswirusów. Związek ten działa pobudzająco na makrofagi, zatem wpływa na wtórną i pierwotną odpowiedź immunologiczną. Gen

kodujący NOS2 zawiera w swojej sekwencji promotorowej sekwencję GAS, w związku z tym jego ekspresja jest uzależniona od IFN- γ [91].

PODSUMOWANIE

W ciągu ostatnich 20 lat poznano strukturę wielu interferonów, opisano kodujące je geny oraz szlaki pośredniczące

w przekazywaniu sygnału. Znacznie poszerzyła się wiedza na temat immunomodulacyjnego i przeciwwirusowego działania tych cytokin. Pozwoliło to na wykorzystanie interferonów w terapii schorzeń związanych z zaburzeniami odpornościowymi, zakażeniami wirusowymi i zmianami nowotworowymi. Dalsze poznawanie właściwości interferonów pozwoli na precyzyjniejsze posługiwanie się nimi *in vitro* i *in vivo*.

PIŚMIENICTWO

- [1] Adolf G.R., Kalsner I., Ahorn H., Maurer-Fogy I., Cantell K.: Natural human interferon- α 2 is O-glycosylated. *Biochem J.*, 1991; 276: 511-518
- [2] Adolf G.R., Maurer-Fogy I., Kalsner I., Cantell K.: Purification and characterization of natural human interferon ω 1. Two alternative cleavage sites for the signal peptidase. *J Biol. Chem.*, 1990; 265: 9290-9295
- [3] Ank N., West H., Paludan S.R.: IFN- γ : novel antiviral cytokines. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2006; 26: 373-379
- [4] Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J., Wheeler D.L.: GenBank. *Nucleic Acids Res.*, 2005; 33: D34-D38
- [5] Billiau A.: Interferons: the pathways of discovery. II. Immunomodulatory, *in vivo* and applied aspects. *J. Clin. Virol.*, 2007; 39: 241-265
- [6] Bloom B.R., Bennett B.: Mechanism of a reaction *in vitro* associated with delayed-type hypersensitivity. *Science*, 1966; 153: 80-82
- [7] Bream J.H., Ping A., Zhang X., Winkler C., Young H.A.: A single nucleotide polymorphism in the proximal IFN-gamma promoter alters control of gene transcription. *Genes Immun.*, 2002; 3: 165-169
- [8] Capobianchi M.R., Mattana P., Mercuri F., Conciatori G., Ameglio F., Ankel H., Dianzani F.: Acidity is not an intrinsic property of interferon-alpha induced by HIV-infected cells. *J. Interferon Res.*, 1992; 12: 431-438
- [9] Cederblad B., Gobl A.E., Alm G.V.: The induction of interferon-alpha and interferon-beta mRNA in human natural interferon-producing blood leukocytes requires de novo protein synthesis. *J. Interferon Res.*, 1991; 11: 371-377
- [10] Chakrabarti A., Jha B.K., Silverman R.H.: New insights into the role of RNase L in innate immunity. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2011; 31: 49-57
- [11] Chevillard C., Henri S., Stefani F., Parzy D., Dessein A.: Two new polymorphisms in the human interferon gamma (IFN- γ) promoter. *Eur. J. Immunogenet.*, 2002; 29: 53-56
- [12] Choubey D., Moudgil K.D.: Interferons in autoimmune and inflammatory diseases: regulation and roles. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2011; 31: 857-865
- [13] Cutrone E.C., Langer J.A.: Identification of critical residues in bovine IFNAR-1 responsible for interferon binding. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 17140-17148
- [14] De Maeyer E., De Maeyer-Guignard J.: Type I interferons. *Int. Rev. Immunol.*, 1998; 17: 53-73
- [15] Dempoya J., Matsumiya T., Imaizumi T., Hayakari R., Xing F., Yoshida H., Okumura K., Satoh K.: Double-stranded RNA induces biphasic STAT1 phosphorylation by both type I interferon (IFN)-dependent and type I IFN-independent pathways. *J. Virol.*, 2012; 86: 12760-12769
- [16] Devos R., Cheroutre H., Taya Y., Fiers W.: Isolation and characterization of IFN-gamma mRNA derived from mitogen-induced human splenocytes. *J. Interferon Res.*, 1982; 2: 409-420
- [17] Díaz M.O., Pomykala H.M., Bohlander S.K., Maltepe E., Malik K., Brownstein B., Olopade O.I.: Structure of the human type-I interferon gene cluster determined from a YAC clone contig. *Genomics*, 1994; 22: 540-552
- [18] Feldman S.B., Ferraro M., Zheng H.M., Patel N., Gould-Fogerite S., Fitzgerald-Bocarsly P.: Viral induction of low frequency interferon- α producing cells. *Virology*, 1994; 204: 1-7
- [19] Flaishon L., Hershkoviz R., Lantner F., Lider O., Alon R., Levo Y., Flavell R.A., Shachar I.: Autocrine secretion of interferon γ negatively regulates homing of immature B cells. *J. Exp. Med.*, 2000; 192: 1381-1388
- [20] Flores I., Mariano T.M., Pestka S.: Human interferon omega (ω) binds to the α/β receptor. *J. Biol. Chem.*, 1991; 266: 19875-19877
- [21] Fountoulakis M., Zulauf M., Lustig A., Garotta G.: Stoichiometry of interaction between interferon γ and its receptor. *Eur. J. Biochem.*, 1992; 208: 781-787
- [22] Gentles A.J., Karlin S.: Why are human G-protein-coupled receptors predominantly intronless? *Trends Genet.*, 1999; 15: 47-49
- [23] George C.X., Gan Z., Liu Y., Samuel C.E.: Adenosine deaminases acting on RNA, RNA editing, and interferon action. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2011; 31: 99-117
- [24] George P.M., Badiger R., Alazawi W., Foster G.R., Mitchell J.A.: Pharmacology and therapeutic potential of interferons. *Pharmacol. Ther.*, 2012; 135: 44-53
- [25] Gibbs V.C., Takahashi M., Aguet M., Chuntharapai A.: A negative regulatory region in the intracellular domain of the human interferon- α receptor. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 28710-28716
- [26] Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W., Stokłosa T.: Immunologia. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2012
- [27] González-Navajas J.M., Lee J., David M., Raz E.: Immunomodulatory functions of type I interferons. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012; 12: 125-135
- [28] Gray P.W., Goeddel D.V.: Structure of the human immune interferon gene. *Nature*, 1982; 298: 859-863
- [29] Hardy M.P., Owczarek C.M., Jermini L.S., Ejdebäck M., Hertzog P.J.: Characterization of the type I interferon locus and identification of novel genes. *Genomics*, 2004; 84: 331-345
- [30] Hauptmann R., Swetly P.: A novel class of human type I interferons. *Nucleic Acids Res.*, 1985; 13: 4739-4749
- [31] Hayden C., Pereira E., Rye P., Palmer L., Gibson N., Palenque M., Hagel I., Lynch N., Goldblatt J., Lesouëf P.: Mutation screening of interferon-gamma (IFN γ) as a candidate gene for asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 1997; 27: 1412-1416
- [32] Henri S., Stefani F., Parzy D., Eboombou C., Dessein A., Chevillard C.: Description of three new polymorphisms in the intronic and 3'UTR regions of the human interferon gamma gene. *Genes Immun.*, 2002; 3: 1-4
- [33] Hertzog P.J., O'Neill L.A., Hamilton J.A.: The interferon in TLR signaling: more than just antiviral. *Trends Immunol.*, 2003; 24: 534-539

- [34] Humphray S.J., Oliver K., Hunt A.R., Plumb R.W., Loveland J.E., Howe K.L., Andrews T.D., Searle S., Hunt S.E., Scott C.E., Jones M.C., Ainscough R., Almeida J.P., Ambrose K.D., Ashwell R.I. i wsp.: DNA sequence and analysis of human chromosome 9. *Nature*, 2004; 429: 369-374
- [35] Jung V., Rashidbaigi A., Jones C., Tischfield J.A., Shows T.B., Pestka S.: Human chromosomes 6 and 21 are required for sensitivity to human interferon γ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987; 84: 4151-4155
- [36] Karpusas M., Nolte M., Benton C.B., Meier W., Lipscomb W.N., Goelz S.: The crystal structure of human interferon β at 2.2-Å resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 11813-11818
- [37] Kawamoto S., Oritani K., Asakura E., Ishikawa J., Koyama M., Miyano K., Iwamoto M., Yasuda S., Nakakubo H., Hirayama F., Ishida N., Ujiie H., Masaie H., Tomiyama Y.: A new interferon, limitin, displays equivalent immunomodulatory and antitumor activities without myelosuppressive properties as compared with interferon- α . *Exp. Hematol.*, 2004; 32: 797-805
- [38] Khani-Hanjani A., Lacaille D., Hoar D., Chalmers A., Horsman D., Anderson M., Balshaw R., Keown P.A.: Association between dinucleotide repeat in non-coding region of interferon-gamma gene and susceptibility to, and severity of, rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2000; 356: 820-825
- [39] Klaus W., Gsell B., Labhardt A.M., Wipf B., Senn H.: The three-dimensional high resolution structure of human interferon α -2a determined by heteronuclear NMR spectroscopy in solution. *J. Mol. Biol.*, 1997; 274: 661-675
- [40] Kontsek P.: Human type I interferons: structure and function. *Acta Virol.*, 1994; 38: 345-360
- [41] Kotenko S.V.: The family of IL-10-related cytokines and their receptors: related, but to what extent? *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2002; 13: 223-240
- [42] Kotenko S.V., Donnelly R.P.: Type III interferons: The Interferon- λ family. W: *The interferons. Characterization and application*. Meager A. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 2006; 141-163
- [43] Kotenko S.V., Gallagher G., Baurin V.V., Lewis-Antes A., Shen M., Shah N.K., Langer J.A., Sheikh F., Dickensheets H., Donnelly R.P.: IFN- λ s mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 69-77
- [44] Krause C.D., Mei E., Xie J., Jia Y., Bopp M.A., Hochstrasser R.M., Pestka S.: Seeing the light: preassembly and ligand-induced changes of the interferon γ receptor complex in cells. *Mol. Cell. Proteomics*, 2002; 1: 805-815
- [45] Krause C.D., Pestka S.: Evolution of the class 2 cytokines and receptors, and discovery of new friends and relatives. *Pharmacol. Ther.*, 2005; 106: 299-346
- [46] LaFleur D.W., Nardelli B., Tsareva T., Mather D., Feng P., Semenuk M., Taylor K., Buergin M., Chinchilla D., Roshke V., Chen G., Ruben S.M., Pitha P.M., Coleman T.A., Moore P.A.: Interferon- κ , a novel type I interferon expressed in human keratinocytes. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 39765-39771
- [47] Lamken P., Gavutis M., Peters I., Van der Heyden J., Uzé G., Piehler J.: Functional cartography of the ectodomain of the type I interferon receptor subunit ifnar1. *J. Mol. Biol.*, 2005; 350: 476-488
- [48] Lee N., Ni D., Brissette R., Chou M., Hussain M., Gill D.S., Liao M.J., Testa D.: Interferon-alpha 2 variants in the human genome. *J. Interferon Cytokine Res.*, 1995; 15: 341-349
- [49] Lefèvre F., Boulay V.: A novel and atypical type one interferon gene expressed by trophoblast during early pregnancy. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 19760-19768
- [50] Lefèvre F., Guillomot M., D'Andréa S., Battégay S., La Bonnardière C.: Interferon-delta: the first member of a novel type I interferon family. *Biochimie*, 1998; 80: 779-788
- [51] Li G., Xiang Y., Sabapathy K., Silverman R.H.: An apoptotic signaling pathway in the interferon antiviral response mediated by RNase L and c-JUN NH2-terminal kinase. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 1123-1131
- [52] Li M., Liu X., Zhou Y., Su S.B.: Interferon- λ s: the modulators of anti-virus, antitumor, and immune responses. *J. Leukoc. Biol.*, 2009; 86: 23-32
- [53] Lindenmann J., Burke D.C., Isaacs A.: Studies on the production, mode of action and properties of interferon. *Br. J. Exp. Pathol.*, 1957; 38: 551-562
- [54] Malmgaard L.: Induction and regulation of IFNs during viral infections. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2004; 24: 439-454
- [55] Matsuda S., Kawano G., Itoh S., Mitsui Y., Iitaka Y.: Crystallization and preliminary X-ray studies of recombinant murine interferon- β . *J. Biol. Chem.*, 1986; 261: 16207-16209
- [56] Matsuda S., Senda T., Itoh S., Kawano G., Mizuno H., Mitsui Y.: New crystal form of recombinant murine interferon- β . *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 13381-13382
- [57] Meager A.: *The Interferons. Characterization and Application*. Wiley-VHC Verlag GmbH & Co. KGaA 2006
- [58] Meyer M.D., Hansen P.J., Thatcher W.W., Drost M., Badinga L., Roberts R.M., Li J., Ott T.L., Bazer F.W.: Extension of corpus luteum lifespan and reduction of uterine secretion of prostaglandin $F_{2\alpha}$ of cows in response to recombinant interferon- τ . *J. Dairy Sci.*, 1995; 78: 1921-1931
- [59] Miller D.L., Kung H.F., Pestka S.: Crystallization of recombinant human leukocyte interferon A. *Science*, 1982; 215: 689-690
- [60] Nagarajan U.: Induction and function of IFN β during viral and bacterial infection. *Crit. Rev. Immunol.*, 2011; 31: 459-474
- [61] Nardelli B., Zaritskaya L., Semenuk M., Cho Y.H., LaFleur D.W., Shah D., Ullrich S., Girolomoni G., Albanesi C., Moore P.A.: Regulatory effect of IFN- κ , a novel type I IFN, on cytokine production by cells of the innate immune system. *J. Immunol.*, 2002; 169: 4822-4830
- [62] Nathan C.F., Murray H.W., Wiebe M.E., Ruben B.Y.: Identification of interferon- γ as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J. Exp. Med.*, 1983; 158: 670-689
- [63] Nyman T.A., Kalkkinen N., Tölö H., Helin J.: Structural characterisation of N-linked and O-linked oligosaccharides derived from interferon- α 2b and interferon- α 14c produced by Sendai-virus-induced human peripheral blood leukocytes. *Eur. J. Biochem.*, 1998; 253: 485-493
- [64] Ohlsson M., Feder J., Cavalli-Sforza L.L., von Gabain A.: Close linkage of α and β interferons and infrequent duplication of β interferon in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985; 82: 4473-4476
- [65] Oritani K., Hirota S., Nakagawa T., Takahashi I., Kawamoto S., Yamada M., Ishida N., Kadoya T., Tomiyama Y., Kincade P.W., Matsuzawa Y.: T lymphocytes constitutively produce an interferonlike cytokine limitin characterized as a heat- and acid-stable and heparin-binding glycoprotein. *Blood*, 2003; 101: 178-185
- [66] Oritani K., Kincade P.W., Tomiyama Y.: Limitin: an interferon-like cytokine without myeloerythroid suppressive properties. *J. Mol. Med.*, 2001; 79: 168-174
- [67] Oritani K., Medina K.L., Tomiyama Y., Ishikawa J., Okajima Y., Ogawa M., Yokota T., Aoyama K., Takahashi I., Kincade P.W., Matsuzawa Y.: Limitin: an interferon-like cytokine that preferentially influences B-lymphocyte precursors. *Nat. Med.*, 2000; 6: 659-666
- [68] Oritani K., Tomiyama Y.: Interferon-zeta/limitin: novel type I interferon that displays a narrow range of biological activity. *Int. J. Hematol.*, 2004; 80: 325-331
- [69] Piasecki E.: Human acid-labile interferon α . *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 1999; 47: 89-98
- [70] Piasecki E., Knysz B., Gasiorowski J., Gładysz A.: Decrease of enhanced interferon alpha levels in sera of HIV-infected and AIDS pa-

tients receiving combined antiretroviral therapy. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 1999; 47: 37-44

- [71] Pestka S.: The interferons: 50 years after their discovery, there is much more to learn. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 20047-20051
- [72] Pestka S., Kotenko S.V., Muthukumaran G., Izotova L.S., Cook J.R., Garotta G.: The interferon gamma (IFN-gamma) receptor: a paradigm for the multichain cytokine receptor. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 1997; 8: 189-206
- [73] Pestka S., Krause C.D.: Interferon and related receptors. W: The interferons. Characterization and application. Meager A. Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim 2006; 113-140
- [74] Pestka S., Krause C.D., Walter M.R.: Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol. Rev.*, 2004; 202: 8-32
- [75] Pestka S., Langer J.A., Zoon K.C., Samuel C.E.: Interferons and their actions. *Annu. Rev. Biochem.*, 1987; 56: 727-777
- [76] Piehler J., Roisman L.C., Schreiber G.: New structural and functional aspects of the type I interferon-receptor interaction revealed by comprehensive mutational analysis of the binding interface. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 40425-40433
- [77] Pitha P.M. (red.): Interferon: the 50th anniversary. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2007; 316
- [78] Platanius L.C.: Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat. Rev. Immunol.*, 2005; 5: 375-386
- [79] Pletneva L.M., Haller O., Porter D.D., Prince G.A., Blanco J.C.: Interferon-inducible Mx gene expression in cotton rats: cloning, characterization, and expression during influenza viral infection. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2006; 26: 914-921
- [80] Pravica V., Perrey C., Stevens A., Lee J.H., Hutchinson I.V.: A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN- γ gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN- γ production. *Hum. Immunol.*, 2000; 61: 863-866
- [81] Radhakrishnan R., Walter L.J., Hruza A., Reichert P., Trotta P.P., Nagabhushan T.L., Walter M.R.: Zinc mediated dimer of human interferon-alpha 2b revealed by X-ray crystallography. *Structure*, 1996; 4: 1453-1463
- [82] Radhakrishnan R., Walter L.J., Subramaniam P.S., Johnson H.M., Walter M.R.: Crystal structure of ovine interferon-tau at 2.1 Å resolution. *J. Mol. Biol.*, 1999; 286: 151-162
- [83] Rashidbaigi A., Langer J.A., Jung V., Jones C., Morse H.G., Tischfield J.A., Trill J.J., Kung H.F., Pestka S.: The gene for the human immune interferon receptor is located on chromosome 6. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 384-388
- [84] Roberts R.M., Ezashi T., Rosenfeld C.S., Ealy A.D., Kubisch H.M.: Evolution of the interferon tau genes and their promoters, and maternal-trophoblast interactions in control of their expression. *Reprod. Suppl.*, 2003; 61: 239-251
- [85] Runkel L., Meier W., Pepinsky R.B., Karpus M., Whitty A., Kimball K., Brickelmaier M., Muldowney C., Jones W., Goelz S.E.: Structural and functional differences between glycosylated and non-glycosylated forms of human interferon-beta (IFN-beta). *Pharm. Res.*, 1998; 15: 641-649
- [86] Sadler A.J., Williams B.R.: Interferon-inducible antiviral effectors. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 559-568
- [87] Sakharkar M.K., Chow V.T., Chaturvedi I., Mathura V.S., Shapshak P., Kanguane P.: A report on single exon genes (SEG) in eukaryotes. *Front. Biosci.*, 2004; 9: 3262-3267
- [88] Sakharkar M.K., Chow V.T., Kanguane P.: Distributions of exons and introns in the human genome. *In Silico Biol.*, 2004; 4: 387-393
- [89] Sakharkar M.K., Kanguane P.: Genome SEGE: a database for 'intronless' genes in eukaryotic genomes. *BMC Bioinformatics*, 2004; 5: 67
- [90] Sakharkar M.K., Kanguane P., Petrov D.A., Kolaskar A.S., Subbiah S.: SEGE: A database on 'intron less/single exonic' genes from eukaryotes. *Bioinformatics*, 2002; 18: 1266-1267
- [91] Samuel C.E.: Antiviral actions of interferons. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001; 14: 778-809
- [92] Schroder K., Hertzog P.J., Ravasi T., Hume D.A.: Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leukoc. Biol.*, 2004; 75: 163-189
- [93] Senda T., Saitoh S., Mitsui Y.: Refined crystal structure of recombinant murine interferon- β at 2.15 Å resolution. *J. Mol. Biol.*, 1995; 253: 187-207
- [94] Senda T., Shimazu T., Matsuda S., Kawano G., Shimizu H., Nakamura K.T., Mitsui Y.: Three-dimensional crystal structure of recombinant murine interferon- β . *EMBO J.*, 1992; 11: 3193-3201
- [95] Sheppard P., Kindsvogel W., Xu W., Henderson K., Schlutsmeyer S., Whitmore T.E., Kuestner R., Garrigues U., Birks C., Roraback J., Ostrander C., Dong D., Shin J., Presnell S., Fox B. i wsp.: IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 63-68
- [96] Siddiqui M.A., Malathi K.: RNase L induces autophagy via c-Jun N-terminal kinase and double-stranded RNA-dependent protein kinase signaling pathways. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 43651-43664
- [97] Stalker J., Gibbins B., Meidl P., Smith J., Spooner W., Hotz H.R., Cox A.V.: The Ensembl Web site: mechanics of a genome browser. *Genome Res.*, 2004; 14: 951-955
- [98] Taya Y., Devos R., Tavernier J., Cheroutre H., Engler G., Fiers W.: Cloning and structure of the human immune interferon- γ chromosomal gene. *EMBO J.*, 1982; 1: 953-958
- [99] Taylor K.E., Mossman K.L.: Recent advances in understanding viral evasion of type I interferon. *Immunology*, 2013; 138: 190-197
- [100] Trent J.M., Olson S., Lawn R.M.: Chromosomal localization of human leukocyte, fibroblast, and immune interferon genes by means of in situ hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982; 79: 7809-7813
- [101] van Pesch V., Lanaya H., Renauld J.C., Michiels T.: Characterization of the murine alpha interferon gene family. *J. Virol.*, 2004; 78: 8219-8228
- [102] Vilcek J.: Novel interferons. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 8-9
- [103] Walter M.R., Windsor W.T., Nagabhushan T.L., Lundell D.J., Lunn C.A., Zauodny P.J., Narula S.K.: Crystal structure of a complex between interferon-gamma and its soluble high-affinity receptor. *Nature*, 1995; 376: 230-235
- [104] Weissmann C., Weber H.: The interferon genes. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 1986; 33: 251-300
- [105] Wetzel R.: Assignment of the disulphide bonds of leukocyte interferon. *Nature*, 1981; 289: 606-607
- [106] Wetzel R., Perry L.J., Estell D.A., Lin N., Levine H.L., Slinker B., Fields F., Ross M.J., Shively J.: Properties of a human alpha-interferon purified from E. coli extracts. *J. Interferon Res.*, 1981; 1: 381-390
- [107] Wheelock E.F.: Interferon-like virus-inhibitor induced in human leukocytes by phytohemagglutinin. *Science*, 1965; 149: 310-311
- [108] Xu J., Gu S., Wang S., Dai J., Ji C., Jin Y., Qian J., Wang L., Ye X., Xie Y., Mao Y.: Characterization of a novel splicing variant of KLHL5, a member of the kelch protein family. *Mol. Biol. Rep.*, 2003; 30: 239-242
- [109] Yoshida K.: Identification and characterization of a novel kelch-like gene KLHL15 in silico. *Oncol. Rep.*, 2005; 13: 1133-1137

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.