

Marcin Kołodziej, Justyna Joniec, Michał Bartoszcze, Tomasz Mirski, Romuald Gryko

PEPTYDY – NOWE MOŻLIWOŚCI ZWALCZANIA ZAKAŻEŃ WIRUSOWYCH

PEPTIDES – A NEW STRATEGY FOR COMBATING VIRAL INFECTIONS

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

STRESZCZENIE

W ostatnich latach przedmiotem zainteresowania naukowców stały się peptydy wykazujące aktywność wobec bakterii, grzybów i pasożytów. Najnowsze badania dowodzą, że peptydy posiadają również właściwości przeciwwirusowe. Stwierdzono, że mogą one bezpośrednio inaktywować cząstki wirusowe, utrudniać adsorpcję wirusów do powierzchni komórek gospodarza lub zaburzać wewnątrzkomórkowe procesy replikacji. Wobec ograniczonej skuteczności stosowanych leków przeciwwirusowych i pojawiającej się oporności wirusów peptydy przeciwwirusowe stanowią obiecującą alternatywę w zwalczaniu infekcji wirusowych.

Słowa kluczowe: *peptydy przeciwwirusowe, wirusy otoczkowe, adsorpcja, replikacja*

ABSTRACT

The efficiency of peptides against many species of bacteria, fungi and parasites has been widely described. Recent studies on peptides have also demonstrated their antiviral activity. Some peptides exhibit direct virucidal activity, others disturb attachment of virus particles to the cell membrane surface or interfere with intracellular replication of virus. Due to limited effectiveness of commonly used drugs and emerging resistance of viruses, antiviral peptides may have the potential to be developed as putative therapeutic agents.

Key words: *antiviral peptides, enveloped viruses, attachment, replication*

WSTĘP

Rosnące znaczenie zakażeń wirusowych u ludzi, ograniczona ilość i efektywność dostępnych leków, efekty uboczne towarzyszące ich stosowaniu, a także coraz częściej pojawiająca się oporność wirusów na leki stwarzają konieczność poszukiwania skutecznych i tanich preparatów przeciwwirusowych. Wśród aktualnych kierunków badań na szczególną uwagę zasługują prace poświęcone peptydom.

Peptydy są krótkimi łańcuchami aminokwasów (15-40 aminokwasów, < 10 kDa), które w zależności od swojej sekwencji i struktury przestrzennej posiadają różnorodne właściwości biologiczne, wśród nich także zdolność do hamowania zakażeń wirusowych. Naturalne peptydy przeciwwirusowe pozyskuje się z różnych źródeł (1, 2). Przykładem substancji roślinnych jest peptyd otrzymany z nasion sorgo (3), a peptydami pochodzenia zwierzęcego są pochodne kazeiny czy α -laktoalbuminy mleka (2) oraz pochodne magainin i dermaseptyn, wydzielanych przez skórę płazów (4). Peptydy przeciwwirusowe syntetyzowane są też przez bakterie, np. *Enterococcus mundtii* (5). Prowadzi się również badania nad związkami całkowicie syntetycznymi (6, 7). Peptydy przeciwwirusowe mogą interfe-

rować na każdym etapie infekcji wirusowej. Niektóre z nich wykazują bezpośrednią aktywność wirusobójczą – powodują upłynnienie otoczek i całkowitą dezintegrację cząstek wirusowych zanim nastąpi ich kontakt z komórką docelową (8, 9). Inne maskują istotne białka otoczkowe lub utrudniają adsorpcję i wnikanie wirusa do komórki gospodarza (10, 11, 12, 13, 14). Peptydy mogą także modyfikować powierzchnię błony komórkowej gospodarza, co utrudnia adsorpcję i fuzję cząstek wirusowych (15). Niektóre z nich wykazują zdolność do wnikania do wnętrza komórki i zaburzania cyklu replikacyjnego wirusów (7, 16).

BEZPOŚREDNIA INAKTYWACJA CZĄSTEK WIRUSOWYCH

Aktywność przeciwwirusowa peptydów może przejawiać się poprzez bezpośrednie oddziaływanie na cząstki wirusów i ich inaktywację. Najczęściej dotyczy wirusów otoczkowych, u których dochodzi do dezintegracji otoczki, niezbędnej w procesie fuzji wirusa z komórką gospodarza. Przykładem może być ludzki neutrofilowy peptyd-1 (HNP-1) z grupy α -defensyn, który neutralizuje wirus opryszczki (*herpes simplex virus 1*, HSV-1) zależnie od czasu, temperatury i pH. Poprzedzająca zakażenie

inkubacja HSV-1 z HNP-1 redukowała zakaźność wirusa nawet o 98 %, podczas gdy wcześniejsze traktowanie komórek peptydem nie dało żadnego efektu hamującego. Mimo że peptyd nie konkuruje z białkami otoczki o wiązanie z receptorami komórkowymi, zapobiega wnikaniu wirusa do komórki (1).

Inaktywację wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (*vesicular stomatitis virus*, VSV) obserwowano przy poprzedzającej zakażenie inkubacji wirusa z tachyplezyną-1 lub z jej izopeptydami. Dzięki mikroskopii elektronowej wykazano, że oddziałuje ona bezpośrednio na otoczkę wirusową, prowadząc do uszkodzenia wirusa. Podobny, choć słabszy efekt zaobserwowano wobec wirusa grypy A/H1N1, podczas gdy HSV-1, HSV-2, adenowirus 1, reowirus 2 oraz wirus polio okazały się odporne na ten peptyd (17).

Do substancji działających destabilizująco na wiriony należą też pochodne magainin. Magaininy to duża rodzina kationowych, amfipatycznych peptydów, pierwotnie wyizolowanych ze skóry afrykańskiej żaby *Xenopus laevis* (4, 10). Posiadają one szeroki zakres aktywności przeciwko bakteriom, grzybom i pierwotniakom. Mechanizm ich działania polega na tworzeniu kanałów jonowych, powodujących zakłócenia potencjału błonowego i lizę komórek bakteryjnych. Ponieważ otoczka wirusa nie pełni typowych funkcji życiowych błon plazmatycznych, przeciwwirusowe działanie magainin opiera się na innym mechanizmie. W badaniach kilku pochodnych magainin wykazano, że niektóre z nich znacznie redukowały PFU HSV w hodowli komórek Vero. Efekt ten był silniejszy, gdy wirus był poddany działaniu peptydów przed zakażeniem komórek, co sugeruje, że ich aktywność jest związana z bezpośrednią degradacją otoczki wirusa. Właściwości dezintegrujące wobec membran wirusowych potęgowało wprowadzenie do cząsteczek peptydów reszt lizynowych oraz grup oktanolowych (10).

Właściwości inaktywujące i hamujące rozprzestrzenianie się wirusa HIV-1 w hodowli komórkowej stwierdzono również w przypadku dermaseptyny S4, pochodnej dermaseptyn wydzielanych przez skórę południowoamerykańskiej żaby *Phyllomedusa sauvagei* (4). Modyfikacje chemiczne natywnych cząsteczek doprowadziły do zmniejszenia cytotoksyczności tych peptydów (9).

Stwierdzono, że C5A, 18-aminokwasowy, amfipatyczny i α -helikalny peptyd destabilizuje otoczkę wirusa zapalenia wątroby typu C (*hepatitis C virus*, HCV) (8). Infekcje HCV są poważnym problemem zdrowotnym – szacuje się, że 3 % światowej populacji zakażone jest tym wirusem. Do tej pory nie opracowano jednak skutecznej szczepionki przeciw HCV a jedyną akceptowaną terapią jest podawanie interferonu i rybowiryny. Cheng i wsp. (8) zbadali syntetyczny peptyd C5A, będący fragmentem wirusowego białka NS5A

(białko niestrukturalne, niezbędne w procesie replikacji wirusa). Zapobiegał on zakażeniu HCV *de novo* oraz hamował trwającą już infekcję przez inaktywację zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych wirionów. Wywołując lizę otoczki, C5A doprowadza do naruszenia integralności cząstki wirusowej, uwolnienia kapsydu i odsłonięcia wirusowego genomu, degradowanego następnie przez egzonukleazy komórkowe. W badaniach nad różnymi wariantami tego związku stwierdzono, że dla aktywności przeciwwirusowej peptydu kluczowe są amfipatyczność i α -helikalna struktura, zaś pierwszorzędowa sekwencja aminokwasowa ma mniejsze znaczenie. Hamującą aktywność C5A potwierdzono również wobec innych flawiwirusów (wirus Zachodniego Nilu i wirus dengue 2) oraz paramyksowirusów (wirus odry, RSV) (8).

ODDZIAŁYWANIE NA OTOCZKĘ WIRUSOWĄ

Inny mechanizm działania peptydów przeciwwirusowych opiera się na ich powinowactwie do białek otoczki wirusa. Oddziaływania te utrudniają adsorpcję wirusów na powierzchni komórki i wnikanie do jej wnętrza. 2-kDa peptyd otrzymany z nasion *Sorghum bicolor* hamuje zakażenie HSV-1 i HSV-2 w hodowlach komórkowych. Okazał się on skuteczny zarówno przy podawaniu go do hodowli po zakażeniu, jak i w przypadku poprzedzającej infekcję inkubacji wirusa z peptydem. Słabszą aktywność hamującą zaobserwowano, gdy peptyd wprowadzany był do hodowli komórkowej przed zakażeniem. Badania wobec bezotoczkowego wirusa polio wykazały słabą aktywność przeciwwirusową wspomnianego peptydu, co sugeruje, że jego przeciwwirusowa aktywność jest wynikiem interakcji z otoczką (3).

Θ -defensyna (retrocyklina 2) oddziałuje z glikoproteiną powierzchniową HSV-2, chroniąc komórki przed zakażeniem tym wirusem. Pokrewna tym peptydom retrocyklina-1 wiąże białko gp120 wirusa HIV z wysokim powinowactwem, ale tylko wówczas gdy otoczka wirusa jest glikozylowana. Analog T22 polifemuzyny hamuje fuzję otoczki wirusa HIV z błoną komórek gospodarza, dzięki specyficznemu wiązaniu otoczkowego białka gp120 oraz powierzchniowego białka CD4 limfocytów T (1).

Zapobieganie adsorpcji i penetracji wirusa może być atrakcyjną strategią przeciwwirusową, która prowadzi do neutralizacji wirusa we wczesnych fazach infekcji i blokowania jego rozprzestrzeniania się z komórki do komórki. W przypadku wirusa grypy, w wiązaniu z powierzchnią komórki istotną rolę pełnią receptory komórkowe. Poprzez oddziaływanie hemaglutyniny (HA) – wirusowej glikoproteiny z kwasem

siałowym, występującym na powierzchni komórek układu oddechowego (tj. receptorem), a następnie dzięki endocytozie wirus grypy przenika do wnętrza komórek. W HA występują dwa ważne regiony: pierwszy, obecny w domenie HA₁, odpowiadający za adsorpcję wirusa do komórek gospodarza oraz drugi – w domenie HA₂, związany z penetracją wirusa do wnętrza komórek, przy czym ich funkcje są od siebie niezależne (13). Po wnikięciu wirusa do komórek następuje uwolnienie rybonukleoprotein do cytoplazmy a następnie ich transport do jądra. Otrzymany drogą selekcji z biblioteki przypadkowych peptydów przy użyciu fagów peptyd P1 wykazywał zdolność hamowania zakażenia wirusem grypy A/H9N2 przez blokowanie jego adsorpcji na powierzchni komórek gospodarza w wyniku związania się z HA. W badaniach tych jako marker namnażania się wirusa wykorzystano jedno z wirusowych białek ulegających wczesnej ekspresji. W wyniku interakcji peptydu P1 z HA nie dochodziło do syntezy białka, co wskazywało na zahamowanie infekcji wirusowej (18).

ODDZIAŁYWANIE NA BŁONĘ KOMÓRKOWĄ

Hamowanie infekcji wirusowych może również odbywać się na zasadzie interakcji peptydów z błoną komórkową gospodarza i ewentualnej modyfikacji jej powierzchni. Duże znaczenie przypisuje się oddziaływaniu peptydów z siarczanem heparanu (SH) – glikozaminoglikanem, występującym na powierzchni komórek zwierzęcych (19). Na tej zasadzie działają pochodne α -laktoalbuminy. α -laktoalbumina jest niskocząsteczkową (14,2 kDa), kwaśną białkiem, pełniącą istotną rolę w syntezie laktozy i uczestniczącą w naturalnej obronie organizmu. Peptydy będące produktami trawienia α -laktoalbuminy, po poddaniu ich chemicznym modyfikacjom z użyciem bezwodnika 3-hydroksyftalowego (3-HP), wykazują aktywność wobec HIV i HSV-1. Poza wysoką skutecznością przeciwwirusową cechuje je bardzo niska cytotoksyczność. Przeciwwirusowe właściwości pochodnych 3-HP α -laktoalbuminy wynikają z kompetycyjnego wobec receptorów wirusowych wiązania się z cząsteczkami siarczanu heparanu. Ten proteoglikan, nadający błonom komórkowym ładunek ujemny bierze udział w wiązaniu się z powierzchnią błon wielu kationów, enzymów, czynników wzrostowych, cytokin, a także wirusów (2). Stwierdzono, że kationowe pochodne α -laktoalbuminy skutecznie zapobiegają wiązaniu SH przez wirusy. Podobny mechanizm działania wykazują również inne peptydy pozyskiwane z mleka (20). Znana ze swoich właściwości przeciwbakteryjnych laktoferyna w wyniku trawienia pepsyną uwalnia aktywny przeciwwirusowo peptyd – laktoferynę (2). Badania wykazały, że o jej

swoistej aktywności hamującej wobec różnych wirusów decydują naładowane dodatnio grupy reszt aminokwasowych (wynik sekwencji, struktury drugorzędowej peptydu oraz modyfikacji chemicznych), które wiążą się z błonowymi glikozaminoglikanami, uczestniczącymi w adsorpcji wirusów na powierzchni komórki (1).

Ochronny wpływ peptydów polegać może również na ich wiązaniu się z obecnymi na powierzchni komórek receptorami swoistymi dla wirusów, co powoduje zaburzenia w adsorpcji i uniemożliwia ich penetrację do wnętrza komórki. W wiązaniu wirusa HIV z powierzchnią limfocytów T biorą udział swoiste komórkowe receptory CD4 oraz kompleks gp120/41 obecny na otoczce wirusowej (2, 21). Strategia zapobiegania infekcji HIV przez peptydy polega na blokowaniu receptorów CD4, co potwierdzono testami kompetycyjnymi z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych (22).

Do hamowania zakażenia T-tropicznym wirusem HIV-1 zastosowano pochodne SDF-1, będącego naturalnym ligandem komórkowego receptora chemokinowego CXCR4. Przetestowano serie peptydów (każdy zawierający pełną sekwencję SDF-1 α) pod kątem ich zdolności do hamowania infekcji HIV-1 i wykazano, że peptydy te efektywnie konkurują z przeciwciałami monoklonalnymi o wiązanie z CXCR4. Sugeruje to, że ich aktywność przeciwwirusowa może być efektem oddziaływania na receptor komórkowy (23).

Lombardi i wsp. (24) zbadali *in vitro* syntetyczne peptydy otoczki glikoproteinowej wirusa powodującego zespół nabytego niedoboru immunologicznego kotów (*feline immunodeficiency virus*, FIV) pod kątem ich właściwości przeciwwirusowych. Peptydy składały się z 20-23 aminokwasów i zawierały sekwencję glikoprotein otoczkowych szczepu Petaluma FIV. Uzyskane wyniki sugerują, że wspomniane peptydy mogą działać na zasadzie interakcji z receptorami na powierzchni błony komórkowej, uczestniczącymi w rozwoju infekcji wirusowej.

Carriel-Gomes i wsp. (25) przebadali 9 peptydów o różnej budowie i pochodzeniu w kierunku aktywności wobec HSV-1, adenowirusa AdV-5 i rotawirusa RV-SA11. Mimo że większość z nich działała przeciwwirusowo w dawkach bliskich stężeniu toksycznemu, to sądzi się, że dalsze modyfikacje struktury peptydów mogą poprawić ich skuteczność i prowadzić do zmniejszenia cytotoksyczności. Na efekt hamujący zakażenie miał wpływ czas podania związków (inkubacja wirusa z peptydem przed zakażeniem, symultaniczne podanie peptydu i wirusa lub traktowanie peptydem zakażonej hodowli). Spekuluje się, że aktywność przeciwwirusowa peptydów może być związana z ich współzawodniczeniem z wirusem o miejsca wiążące na powierzchni komórek gospodarza.

Grypa należy do chorób, która stanowi stale duże zagrożenie dla zdrowia publicznego. Zmienność wiru-

sa (antygenowy *shift* i antygenowy *drift*), duża liczba krążących w populacji szczepów oraz zróżnicowanie poziomu odporności u ludzi na zakażenia wymusza coroczne opracowywanie szczepionek zawierających aktualnie występujące szczepy wirusa. W zwalczaniu grypy stosowane są inhibitory wirusowego białka kanałowego M2 (amantadyna i rymantadyna) oraz inhibitory neuraminidazy, tj. oseltamivir i zanamivir (13). Niestety, rutynowe stosowanie tych leków wpłynęło na pojawienie się mutacji warunkujących oporność wirusów na leki (np. mutacja N274Y w genie kodującym neuraminidazę). Wyjątkowe właściwości wirusa grypy sprawiają, że jego zwalczanie jest trudne i wymaga niestandardowego podejścia. Ostatnio odkryto, że rekombinowane białko fuzyjne DAS181 posiada właściwości zapobiegania zakażeniu wirusem grypy. Składa się ono z dwóch komponentów: domeny katalitycznej sialidazy bakterii *Actinomyces viscosus* oraz domeny zagnieżdżającej ludzkiej amfireguliny. Jego działanie polega na usuwaniu z powierzchni komórek układu oddechowego reszt kwasu sialowego, uczestniczących w adsorpcji cząstek wirusa grypy. Triana-Baltzer i wsp. (15) prowadzili badania nad aktywnością DAS181 wobec krążących w ostatnich latach szczepów wirusów grypy, w tym opornych na inhibitory neuraminidazy, uzyskując obiecujące wyniki. Proteina ta nie wykazywała przy tym cytotoksyczności i była dobrze tolerowana przez zwierzęta laboratoryjne, u których potwierdzono jej skuteczność. Białko podane przez inhalację uchroniło myszy przed zakażeniem i łagodziło przebieg grypy.

DZIAŁANIE WEWNĄTRZ KOMÓRKI ORAZ INTERAKCJE Z KWASAMI NUKLEINOWYMI

Niektóre obronne peptydy gospodarza, jak np. PR39 i LL-37 mogą przenikać przez błony lipidowe, w tym plazmatyczne i jądrowe, podczas gdy inne mogą być zlokalizowane w formie prekursorów w wakuolach komórkowych, co daje im możliwość oddziaływania na wewnątrzkomórkowe procesy związane z ekspresją genów i syntezą białek (1). Znaną zdolność peptydów do łączenia się z DNA można wykorzystać do hamowania syntezy wirusowych kwasów nukleinowych. Peptydy wykazujące aktywność immunomodulacyjną, jak interferony czy chemokiny, mogą w pośredni sposób działać przeciwwirusowo poprzez stymulację systemów obronnych komórki. Wewnątrzkomórkowo wobec wirusa argentyńskiej gorączki krwotocznej Junin (*Junin virus*, JV) działa α -helikalna cekropina A, która zaburza procesy dojrzewania i uwalniania potomnych wirionów, bez hamowania syntezy białek komórkowych. Oddziaływanie to było swoiste i nie zachodziło w przypadku

HSV, którego uwalnianie z komórki odbywa się inną drogą (26).

Otwarta ramka odczytu UL84 wirusa cytomegalii (*cytomegalovirus*, HCMV) koduje istotne wielofunkcyjne białko regulatorowe, które m.in. indukuje lityczną replikację wirusa w jądrze komórkowym. Transport białkowego produktu ORF UL84 – pUL84 do wnętrza jądra zachodzi przy udziale nośnika importyny- α . Mechanizm wiązania się pUL84 z importyną- α (ważną rolę odgrywa w nim specyficzna domena NLF wirusowej proteiny) jest odmienny od klasycznego dojądrowego transportu białek, co może być wykorzystane dla potrzeb terapeutycznych. Z biblioteki przypadkowych peptydów wyselekcjonowano aptamery o zdolności swoistego łączenia się z domeną NLS białka pUL84. Eksperyment z użyciem zrekombinowanego ludzkiego cytomegalowirusa, produkującego zielone fluorescencyjne białko, wykazał 50-60 % hamowanie replikacji wirusa w ludzkich fibroblastach w obecności swoistych dla pUL84 aptamerów. Zaobserwowano ponadto 50-70 % redukcję liczby lysinek oraz 70-90 % zahamowanie uwalniania się wirusa. Dzięki zastosowaniu immunofluorescencji (IF) odkryto także zaburzenie transportu pUL84 z cytoplazmy do jądra, występujące w obecności aptamerów (6).

Głównym składnikiem kompleksu replikacyjnego wirusa krowianki (7) jest białko A20, które wiąże się z polimerazą DNA E9, uracyl-DNA glikozylazą D4 oraz primazą/helikazą D5 – trzema białkami niezbędnymi dla syntezy wirusowego DNA. Identyfikacja cząsteczek, zdolnych do interakcji z kompleksem replikacyjnym i hamujących jego aktywność może być obiecującą strategią w opracowywaniu nowych leków antyortopokswirusowych (7). Z biblioteki rekombinacyjnej udało się wyselekcjonować pięć aptamerów peptydowych wiążących się z A20. Najwyższą skuteczność wykazywał aptamer 72, który wiązał się z centralną domeną A20, odgrywającą kluczową rolę w replikacji wirusowego DNA. Upośledzenie syntezy DNA wirusa krowianki w komórkach traktowanych peptydowym aptamerem 72 przemawia za tym, że aptamer ten może być użytecznym narzędziem dla projektowania nowych związków, swoście hamujących replikację pokswirusów (7).

Mimetyczne peptydy, zdolne do wybiórczego zakłócania interakcji białko-białko, mają duży potencjał terapeutyczny, który można wykorzystać do hamowania niektórych enzymów wirusowych i komórkowych. Odkryto np., że peptyd YAGAVVNDL, analogiczny do 9-aminokwasowego końca karboksylowego małej podjednostki reduktazy rybonukleotydowej wirusa HSV, hamował swoście *in vitro* wspomniany enzym wirusowy. Wykazano przy tym, że nietoksyczna podjednostka B ciepłowrażliwej enterotoksyny *Escherichia coli* może być użyta jako rekombinowany nośnik do przenoszenia YAGAVVNDL do komórek zakażonych wirusem. Po-

wstałe dzięki temu białko fuzyjne hamowało swoiście aktywność reduktazy rybonukleotydowej a w konsekwencji replikację wirusa HSV-1 w komórkach Vero (27).

JEV (*Japanese encephalitis virus*, JEV) jest przyczyną ostrego wirusowego zapalenia mózgu u ludzi (16). Genomowe ssRNA(+) niezbędne do translacji i syntezy RNA(-) oraz komplementarne RNA(-) zawierają sekwencje i motywy struktury drugorzędowej konserwatywne dla flawiwirusów. Stanowią one mogą miejsca docelowe dla czynników antysensownych. Yoo i wsp. (16) użyli kwasu peptydonukleinowego (PNA), czyli cząsteczek o strukturze bliskiej DNA, w której wiązania fosfodiesterowe między nukleozydami zastąpiono wiązaniami peptydowymi. Zbadano przeciwwirusowy efekt PNAs (koniugatów z peptydowymi nośnikami o zdolności wnikania do wnętrza komórki – *cell penetrating peptides*, CPPs), ukierunkowanych na wspomniane regiony stabilne i stwierdzono, że 17-merowy PNA okazał się wyjątkowo skuteczny w hamowaniu replikacji wirusa. Testy *in vitro* i badania elektroforetycznej ruchliwości wykazały, że PNA konkuruje z wirusową RNA-zależną polimerazą RNA RdRp o wiązanie się z niemi RNA(-) i RNA(+), hamując przy tym propagację JEV. Aptamery o zdolności do blokowania interakcji RNA-białka i RNA-RNA skupiają obecnie uwagę wielu badaczy opracowujących nowe strategie farmaceutyczne.

W badaniach nad lekami działającymi wewnątrzkomórkowo kluczową kwestią jest opracowanie skutecznej metody dostarczenia związku do miejsca docelowego. Właściwości fizyczne cząsteczek preparatu, np. wielkość lub hydrofilność, często utrudniają ich przenikanie przez błony lipidowe do wnętrza komórki. W takich przypadkach rolę nośnika pełnić mogą peptydy (*cell penetrating peptides*, CPPs). Odkryto szereg peptydów o zdolności swobodnego przenikania przez membrany komórkowe, jak np. peptyd *tet* pochodzący z białkowego aktywatora transkrypcji wirusa HIV-1 czy peptyd *inv3* z białka ściennego *Mycobacterium tuberculosis*. Znaczenie CPPs w tym aspekcie jest ogromne, gdyż umożliwiają one wprowadzanie białek, kwasów nukleinowych lub innych dużych cząsteczek do komórek różnych tkanek. Zastosowanie peptydowych nośników pozwoli na transbłonową dystrybucję cząsteczek 200 razy większych od znanych do tej pory (28).

Wyniki badań wskazują, że peptydy poza działaniem przeciwbakteryjnym (29), posiadają duży potencjał w hamowaniu infekcji wirusowych, dzięki czemu mogą być istotną alternatywą dla znanych leków przeciwwirusowych (30), zwłaszcza że ich produkcja nie jest kosztowna.

PIŚMIENNICTWO

1. Jenssen H, Hamill P, Hancock REW. Peptide Antimicrobial Agents Clin. Microb Rev 2006; 19(3):491-511.
2. Pellegrini A, Engels M. Antiviral Compounds Derived from Naturally Occuring Proteins Cur Med Chem 2005; 4:55-66.
3. Camargo Filho I, Cortez AG, Ueda-Nakamura T, i in. Antiviral activity and mode of action of a peptide isolated from *Sorghum bicolor*. Phytomedicine 2008; 15:202-208.
4. Zairi A, Tangy F, Bouassida K, i in. Dermaseptins and Magainins: Antimicrobial Peptides from Frogs' Skin New Sources for a Promising Spermicides Microbicides – A Mini Review. J Biomed Biotech. 2009, Article ID 452567
5. Todorov S D, Wachsmann M B, Knoetze H, i in. An antibacterial and antiviral peptide produced by *Enterococcus mundtii* ST4V isolated from soya beans Int J Antimicrob Agents 2005; 25:508-513.
6. Kaiser N, Lischka P, Wagenknecht N, i in. Inhibition of Human Cytomegalovirus Replication via Peptide Aptamers Directed against the Nonconventional Nuclear Localization Signal of the Essential Viral Replication Factor pUL84. J Virol 2009; 83(22):11902-11913.
7. Saccucci L, Crance J-M, Colas P, i in. Inhibition of vaccinia virus replication by peptide aptamers. Antiviral Res 2009; 82:134-140.
8. Cheng G, Montero A, Gastaminza P, i in. A virocidal amphipathic α -helical peptide that inhibits hepatitis C virus infection in vitro Proc Natl Acad Sci 2008; 105(8):3088-3093.
9. Lorin C, Saidi H, Belaid A, i in. The antimicrobial peptide Dermaseptin S4 inhibits HIV-1 infectivity in vitro. Virology 2005;334:264-275.
10. Egal M, Conrad M, MacDonald DL, i in. Antiviral effects of synthetic membrane-active peptides on Herpes Simplex Virus, Type 1. Int J Antimicrob Agents 1999; 13:57-60.
11. Belaid A., Aouni M, Khelifa R, i in. In vitro antiviral activity of dermaseptins against herpes simplex virus type 1 J Med Virol 2002; 66:229-234.
12. Bai F, Town T, Pradhan D, i in. Antiviral Peptides Targeting the West Nile Virus Envelope Protein. J Virol 2007;81(4): 2047-2055.
13. Rajik M, Jahanshiri F, Omar A R, i in. Identification and characterization of a novel antiviral peptide against avian influenza virus H9N2. Virol J 2009;6(74).
14. Delcroix-Genête D, Quan P-L, Roger M-G, i in. Antiviral properties of two trimeric recombinant gp41 proteins. Retrovirology 2006; 3(16)
15. Triana-Baltzer G B, Gubareva L, V, Klimov A. I, i in. Inhibition of Neuraminidase Inhibitor-Resistant Influenza Virus by DAS181, a Novel Sialidase Fusion Protein. PLoS ONE, 2009; 4(11).
16. Yoo J-S, Kim C-M, Kim J-H, i in. Inhibition of Japanese encephalitis virus replication by peptide nucleic acids targeting *cis*-acting elements on the plus- and minus-strands of viral RNA Antiviral Res 2009; 82:122-133.
17. Murakami T, Niwa M, Tokunaga F, i in. Direct virus inactivation of tachyplesin 1 and its isopeptides from horseshoe crab Chemotherapy 1991; 37(5):327-334

18. Rajik M, Omar AR, Ideris A, i in. A novel peptide inhibits the influenza virus replication by preventing the viral attachment to the host cells” *Int. J. Biol. Sci.* 2009; 5(6):543-548
19. Spillmann, D. Heparan sulfate: anchor for viral intruders? *Biochimie* 2001; 83:811-817
20. Andersen JH, Jenssen H., Gutteberg T J. Lactoferrin and lactoferricin inhibit Herpes simplex 1 and 2 infection and exhibit synergy when combined with acyclovir. *Antivir Res* 2003;58:209-215.
21. Kopeć-Szłęzak J. Peptydy przeciwwirusowe. *Acta Haematol Pol* 2009; 40(3):585–591
22. Neurath A R, Debnath A K, Strick N, i in. Blocking of CD4 cell receptors for the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) by chemically modified bovine milk proteins: potential for AIDS prophylaxis. *J Mol Recogn* 1995;8: (304).
23. Tamamura H, Xu Y, Hattori T, in. A low-molecular-weight inhibitor against the chemokine receptor CXCR4: a strong anti-HIV peptide T140. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 253(3):877-882.
24. Lombardi S, Massi C, Indino E, i in. Inhibition of Feline Immunodeficiency Virus Infection *in Vitro* by Envelope Glycoprotein Synthetic Peptides. *Virology* 96; 220:274-284.
25. Carriel-Gomes M C, Müller Kratz J, Barracco M A, i in. In vitro antiviral activity of antimicrobial peptides against herpes simplex virus 1, adenovirus, and rotavirus. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007;102(4) :469-72.
26. Albiol Matanic V C, Castilla V. Antiviral activity of antimicrobial cationic peptides against Junin virus and herpes simplex virus. *Int. J Antimicrob Agents* 2004; 23(4):382-389.
27. Marcello A, Loregian A, Cross A, i in. Specific inhibition of herpes virus replication by receptor-mediated entry of an antiviral peptide linked to Escherichia coli enterotoxin B subunit” *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91:8994-8998.
28. Delcroix M, Riley L W Cell penetrating peptides for antiviral drug development. *Drugs* 2010;3:448-470.
29. Mirski T, Gryko R, Bartoszcze M, i in Peptydy przeciwdrobnoustrojowe – nowe możliwości zwalczania infekcji u ludzi i zwierząt. *Med. Wet* 2011;67(8):517-521.
30. Kwiatek M, Kocik J, Bartoszcze M. Substancje przeciwwirusowe aktywne dla wirusa grypy. Możliwości i perspektywy zastosowania. *Przeegl Epidemiol* 2009;63:487-494.

Otrzymano: 4.05.2011 r.

Zaakceptowano do druku: 21.06.2011 r.

Adres do korespondencji:

Marcin Kołodziej

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

Ośrodek Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych

ul. Lubelska 2, 24-100 Puławy

tel./fax 81 551 98 54

e-mail: wihe@wihe.pulawy.pl