

УДК 575.21

ПРИОНЫ ДРОЖЖЕЙ КАК МОДЕЛЬ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ АМИЛОИДОВ ЧЕЛОВЕКА

© 2011 г. С. Г. Инге-Вечтомов

Санкт-Петербургский государственный университет,
СПб Филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9,
E-mail: ingevectomov@gmail.com

Поступила в редакцию 21.09.2010 г.
Окончательный вариант получен 14.10.2010 г.

Ряд нейродегенеративных заболеваний человека (т.н. болезней зрелого возраста) связан с образованием белковых агрегатов — амилоидов. Прионные заболевания: куру, болезни Кройтцфельда-Якоба, Гершмана-Штрасслера-Шайнкера, смертельная семейная бессонница и др. — примеры инфекционных амилоидозов. Благодаря открытию прионов у дрожжей, разработана модельная система для изучения механизмов амилоидогенеза и его инфекционной природы. Существование прионных сетей, т.е. взаимодействия между разными прионами, обнаруженное у дрожжей, находит в последнее время подтверждение и в форме взаимодействия различных амилоидов у человека. Потенциальная опасность амилоидозов заложена в самой структуре практически любых белков в виде участков, образующих β -слои, которые будучи экспонированными приводят к агрегации белков. Вместе с тем известно несколько ярких примеров адаптивной ценности амилоидных агрегатов: фактор цитоплазматической несовместимости *Podospora anserina*, паутина пауков, цитоплазматическая стресс-гранулы в клетках млекопитающих, прионная форма белка СРЕВ *Aplisia*, ответственная за регуляцию активности нейронов и др. Все эти факты следует учитывать при поисках антиамилоидных препаратов. Открытие белковой наследственности у низших эукариот изменяет наши представления о роли матричного принципа в биологии, дополняя его идеей конформационных матриц (матриц II рода), вовлеченных в воспроизведение пространственной структуры надмолекулярных комплексов клетки.

Ключевые слова: амилоиды, прионы, нейродегенеративные заболевания, дрожжи, белковая наследственность.

1. Амилоиды и амилоидозы

Многие нейродегенеративные заболевания человека и других млекопитающих сопровождается образованием внутриклеточных и внеклеточных амилоидных тяжей и бляшек, представляющих собой агрегаты различных белков. Предшественниками амилоидов служат нормальные клеточные белки или их фрагменты (Prusiner, 2001). Амилоидозы и соответственно амилоиды подразделяют на инфекционные и неинфекционные (см. табл. 1). К инфекционным амилоидозам относят: куру, болезнь Кройтцфельда-Якоба (СJD), болезнь Гершмана-Штрасслера-Шайнкера, смертельную семейную бессонницу у человека, а также бычью губчатую энцефалопатию (“Коровье бешенство”), скрэпи (овец,

коз, оленей) и аналогичные заболевания других животных. Все остальные амилоидозы считаются неинфекционными.

Открытие инфекционных амилоидов вызвало сенсацию в свое время. Впервые инфекционность экстрактов мозга овец, больных скрэпи была показана в 1962 г. (Parry, 1962). Позже С. Прузинер разработал концепцию “protein only”, подразумевавшую, что именно белок-прион представляет собой инфекционное начало в случае прионных заболеваний (они же инфекционные амилоидозы). За эти работы в 1997 г. С. Прузинер был удостоен Нобелевской Премии (Prusiner, 1998). Вскоре были опубликованы данные нескольких лабораторий, осуществивших белковую трансформацию, в результате которой обычный клеточный белок был превращен в прион. Этот результат получен с использованием модельного объекта — дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, у которых также обнаружены белки-прионы (см.: Fink, 2005).

¹ Работа получила финансовую поддержку программы Президиума РАН “Происхождение и эволюция биосферы”, грантов НШ-6455.2010.4, ГК 02.740.11.0 698. НИР проводили в рамках реализации ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009 – 2013 годы (П799).

Таблица 1. Наиболее распространенные инфекционные и неинфекционные амилоидозы человека и др. млекопитающих (по: Prusiner, 2001)

Неинфекционные:

Болезнь Альцгеймера
Болезнь Паркинсона
Болезнь Хантингтона и спиноцеребральная атаксия (поли Q)
Фронтотемпоральная деменция
Болезнь Пика
Прогрессирующий супрануклеарный паралич
Амиотрофный латеральный склероз

Инфекционные:

Куру
Болезнь Кройцфельда-Якоба (CJD)
Болезнь Гершмана-Штрасслера-Шайнкера
Смертельная семейная бессонница
Бычья губчатая энцефалопатия (“Коровье бешенство”)
Скрэпи (овцы, козы, олени)

До сих пор нет четкого представления о том, чем отличаются инфекционные и неинфекционные амилоиды. В обоих случаях структурную основу амилоидов представляют собой белки, обогащенные β-слоями, посредством которых происходит их взаимодействие, приводящее к образованию амилоидных агрегатов (Prusiner, 1998, 2001). Для прионов млекопитающих показано, что прионизация белка PrP сопровождается обогащением молекулы β-слоями, которые образуются из неорганизованной части полипептидной цепи, а, возможно, также из α-спиральных участков (см. рис. 1). Некоторые исследователи высказывают точку зрения, согласно которой неинфекционные амилоиды могут превращаться в прионы, т.е. в инфекционные амилоиды (Riek, 2006; см также: Brundin, 2010).

“Сенсация” о возможности репликации белков как инфекционных агентов просуществовала недолго. Вскоре был идентифицирован эволюционно-консервативный ген млекопитающих *PRNP* – структурный ген белка PrP – предшественника прионов (рис. 2). Функция белка – предшественника приона начинает проявляться только сейчас. В 2009 г. А. Агуцци и его коллеги показали, что этот белок нужен для образования миелиновых оболочек периферических нейронов. Делеция соответствующего гена у мышей приводила к проявлению болезни, известной как полиневропатия хронической демиелинизации (Bremer et al., 2010).

2. Прионы грибов

Серьезный прогресс в изучении амилоидов и амилоидогенеза достигнут благодаря открытию прионов у низших эукариот, преимущественно у дрожжей-сахаромицетов – модельного объекта с хорошо разработанной частной и молекулярной генетикой, геномикой. Жизненный цикл дрожжей представлен на рис. 3. Особую роль в этих исследованиях сыграло то, что у дрожжей прионы представляют собой нехромосомные наследственные факторы белковой природы, что позволяет применять логику генетического анализа к их исследованию. К 2010 г. было известно 9 прионов у дрожжей-сахаромицетов и 1 у гриба *Podospora anserina* (табл. 2).

Подробнее других разработана система: ген *SUP35* – прион [*PSI*⁺]. *SUP35* (Инге-Вечтомов, 1964, Инге-Вечтомов, Андрианова, 1970) кодирует фактор терминации трансляции eRF3 (Zhouravleva et al. 1995), способный переходить в прионное состояние – цитоплазматический детерминант [*PSI*⁺], описанный Б. Коксом еще в 1965 г. (Cox, 1965). Гипотеза о его прионной природе была высказана Р. Викнером в 1994 г. (Wickner, 1994). Структурно-функциональная организация гена *SUP35* и кодируемого им белка представлены на рис. 4. Мутации в

Таблица 2. Прионы грибов

[Прион] (фенотип, продукт)	Структурный ген	Вид	Источник
[<i>PSI</i> ⁺] (нонсенс-супрессия)	<i>SUP35</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cox, 1965; Wickner, 1994
[<i>URE3</i>] (усвоение уреидо-сукцината)	<i>URE2</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Wickner, 1994
[<i>PIN</i> ⁺] (инициация [<i>PSI</i>])	<i>RNQ1</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Derkatch et al., 2001
[<i>Het-s</i>] (фактор несовместимости)	<i>HET-s</i>	<i>Podospora anserina</i>	Coustou et al., 1997
[<i>ISP</i> ⁺] (фактор транскрипции Sfp1)	<i>SFP1</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Rogoza et al., 2010
[<i>SWT</i> ⁺] (регуляция хроматина)	<i>SWI1/SNF5</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Du et al., 2008
[<i>OCT</i> ⁺] (фактор транскрипции)	<i>CYC8/SSN6</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Patel et al., 2009
[<i>MCA</i>] (метакаспаза)	<i>MCA1</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Nemecek et al., 2009
[<i>MOT3</i>] (фактор транскрипции)	<i>MOT3</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Alberly et al., 2009
[<i>GAR</i> ⁺] (устойчивость к глюкозной репрессии)	<i>PMA1, STD1</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Brown, Lindquist, 2009

Превращение PrP^C → PrP^{Sc}

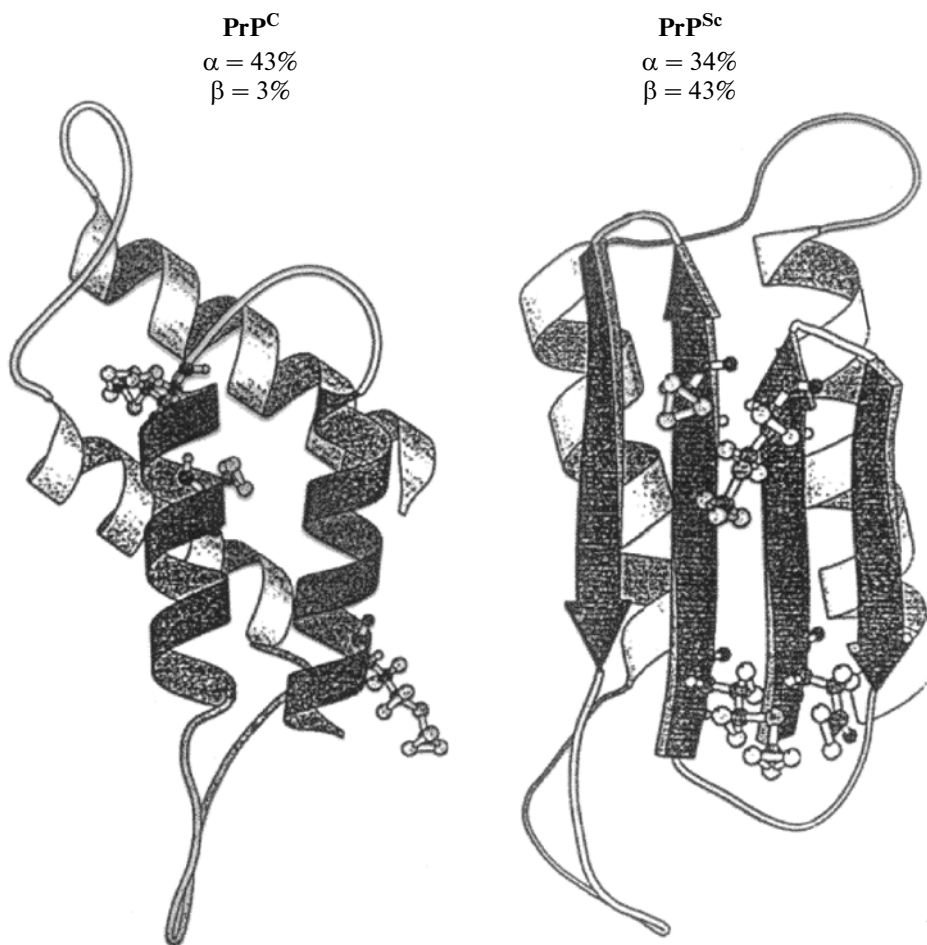


Рис. 1. Превращение PrP^C → PrP^{Sc} (Prusiner, 1998).
 PrP^C – клеточный (C – cellular) белок. PrP^{Sc} – белок в прионной форме (Sc – от Scrapy).

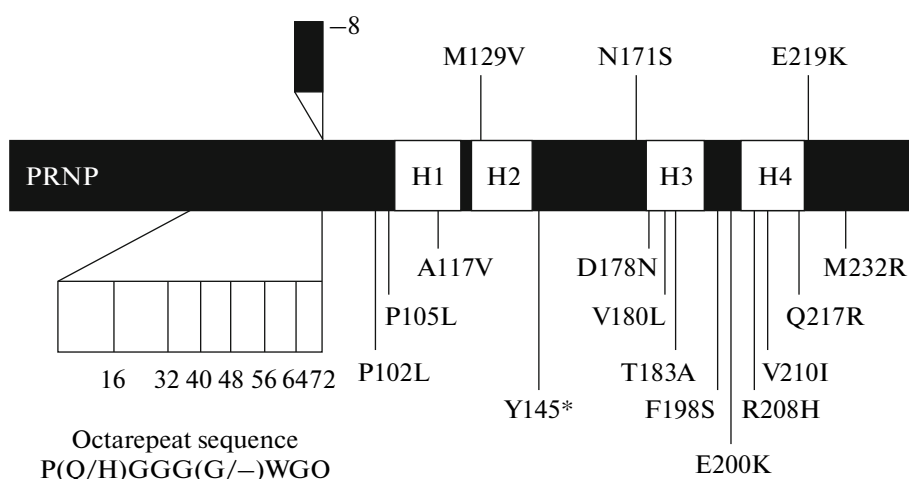


Рис. 2. Схематическое изображение гена *PRNP* человека (по: Prusiner, 1998).
 Сверху – примеры нормального полиморфизма PrP^C; буквы – обозначения аминокислотных остатков, цифры – положение в полипептидной цепи. Снизу – мутационные изменения в первичной структуре белка, приводящие к нейродегенеративным заболеваниям. В левой нижней части аминокислотная последовательность, повторяющаяся в N-терминальной части белка.

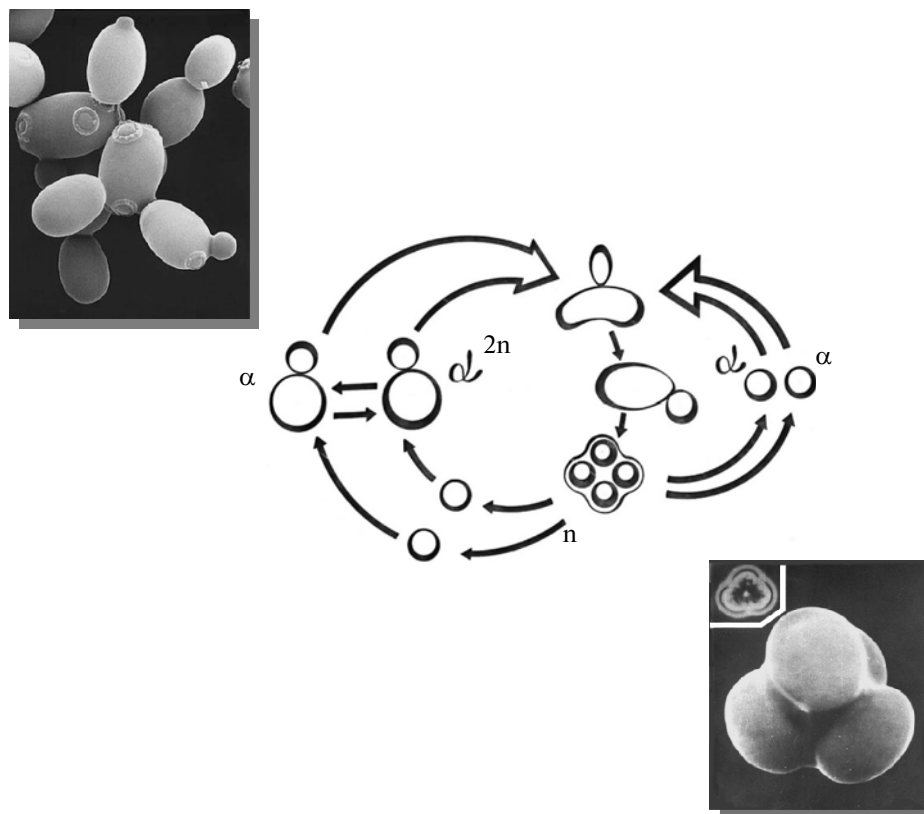


Рис. 3. Жизненный цикл дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

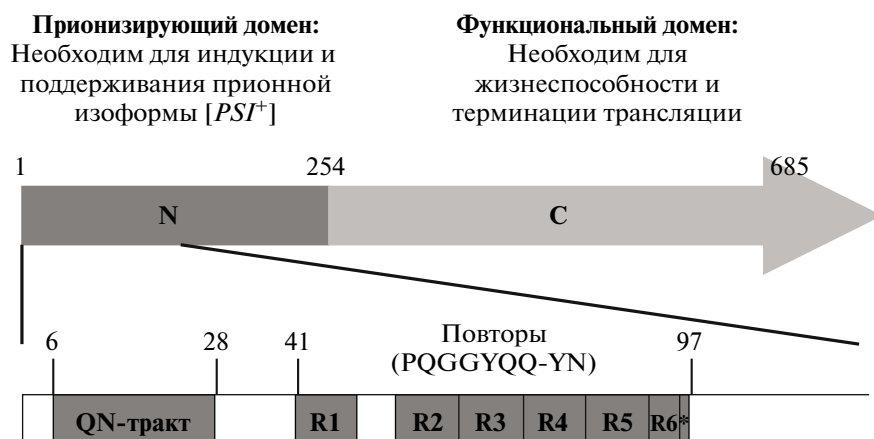


Рис. 4. Структурно-функциональная организация белка Sup35 (фактора терминации трансляции eRF3).

этом гене приводят к так называемой omnipotentной нонсенс-супрессии, т.е. к осмыслению всех трех стоп-кодонов. К такому же эффекту приводит и прионизация белка eRF3 (его инактивация вследствие включения в нерастворимые агрегаты-амилоиды) с той лишь разницей, что в первом случае эффект рецессивен, а во втором — доминантен. Ампли-

фикация *SUP35* или усиление его экспрессии приводит к индукции фактора [*PSI*⁺], о чем можно судить по проявлению нонсенс-супрессии, имея соответствующие нонсенс-аллели в других генах (Чернов и др., 1988, Chernoff et al., 1993). Сходство фенотипического проявления мутации структурного гена и усиления синтеза кодируемого им белка служит

одним из критериев при идентификации новых прионов (Wickner, 1994).

N-терминальный фрагмент белка Sup35 (eRF3), включающий повторяющиеся аминокислотные последовательности, обогащенные аспарагином и глутамином (и соответствующий участок структурного гена), необходим для прионизации белка. Это — прионизирующий пептид. Усиление экспрессии только этого участка гена при наличии в геноме полноразмерной копии *SUP35* индуцирует прион [*PSI*⁺] с большей эффективностью, чем усиление экспрессии всего гена (Ter-Avanesyan et al., 1993). Прионизирующий пептид и кодирующий его участок гена могут быть делетированы без ущерба для жизнеспособности клетки. При этом терминация трансляции происходит с повышенной эффективностью (Volkov et al., 2007). С-терминальная (большая) часть гена и соответственно белка Sup35 обеспечивают терминацию трансляции. Делеция этой части гена летальна (см. рис. 4).

Образование дрожжевого приона может происходить вне клетки — в бесклеточном растворе (Glover J.R. et al., 1997). М.Д. Тер-Аванесян и др. показали, что, если в экстракт из клеток, не содержащих фактора [*PSI*⁺], добавить очень небольшое количество экстракта из клеток, содержащих этот дрожжевой прион, то количество белка-приона быстро нарастает. Далее в качестве затравки можно взять немного материала из этой смеси и вновь добавить его в экстракт из клеток без [*PSI*]-фактора. Результат будет тем же самым. И это можно повторять бесконечно (Paushkin et al., 1997).

Для прионизации и поддержания приона вне клетки достаточно только фрагмента белка, содержащего упоминавшийся уже прионизирующий пептид (King et al., 1997). Характерная черта этого пептида — обогащенность глутамином и аспарагином — стала основой для поиска потенциально прионогенных белков с использованием компьютерных баз данных. Так появился знаменитый “список Вейсмана”, содержащий 107 белков, что составляет около 2% дрожжевого протеома. У дрозофилы таких белков 472 (3.5% протеома) (Michelitsch, Weissman, 2000). Для некоторых белков из “списка Вейсмана” уже показано, что их прионизирующий пептид, присоединенный к eRF3 вместо собственного N-домена, обеспечивает прионизацию химерного белка. Число потенциальных прионов, видимо, не исчерпывается “списком Вейсмана”. К прионизации могут быть способны и белки иного аминокислотного состава.

Пространственная структура амилоидов, в частности, прионов, не до конца расшифрована. Тем не менее, начиная с работы Перутца и др., проводивших рентгеноструктурный анализ прионизованного белка Sup35, очевидно, что это линейные олигомеры, состоящие из отдельных белковых молекул, взаимо-

действующих своими прионизирующими пептидами. В результате образуются полые трубки, внутрь и наружу которых направлены функциональные С-домены (Perutz et al., 2002). В дальнейшем эта структура была детализирована в виде модели сверхскладчатых бета слоев (superpleeted beta sheets) (Kajava et al., 2004).

Значение белок-белковых взаимодействий исследовали в системе ген *SUP35*—прион [*PSI*] у дрожжей *S. cerevisiae*, используя простоту регистрации фенотипического проявления прионизации фактора терминации трансляции eRF-3. Используя нонсенс-мутацию *ade1-14* (UGA), приводящую к накоплению красного пигмента в клетках, легко регистрировать возникающую при этом нонсенс-супрессию и следить за эффективностью этого процесса, как по интенсивности окраски колоний на полноценной среде, так и по скорости их роста на среде без аденина, а также по способности возникающего фактора [*PSI*⁺] супрессировать нонсенсы (читать стоп-кодона как значащие) в других генах. Кроме того, использование конструкции, кодирующей прионизирующий фрагмент белка Sup35, слитый с зеленым флуоресцирующим белком (GFP), позволяет следить за формой и локализацией в клетке возникающих амилоидных агрегатов (Инге-Вечтомов и др., 2004). Удобно также и то, что прион [*PSI*⁺] просто “изгнать” из дрожжей, выращивая их на среде с хлоридом гуанидина (Tuite et al., 1981).

Получены конструкции, кодирующие химерные белки, в которых прионизирующий пептид Sup35, слит с белками, имеющими четвертичную структуру: *LACZ Escherichia coli*, *ADE2 S. cerevisiae* и др. При введении их в клетки дрожжей с нормальным *SUP35* в хромосоме наблюдали повышенную эффективность и расширение спектра нонсенс-супрессии, отражающие повышение эффективности прионизации. Этот результат объясняется появлением в молекулах белков, образующих агрегаты, дополнительных участков взаимодействия, ответственных за образование субъединичной структуры этих ферментов. Это облегчало олигомеризацию химерных полипептидов. Теперь они могли взаимодействовать не только своими N-, но и С-участками. Такой эффект не наблюдали, если в качестве С-замещающего фрагмента использовали фермент, кодируемый геном *ADE1*. Этот белок не имеет четвертичной структуры (Инге-Вечтомов и др. 2004).

Наряду с С-замещенными аналогами приона [*PSI*] сконструированы и N-замещенные аналоги, в которых вместо прионизирующего фрагмента Sup35 использовали белок PrP мышей или A_β пептид человека, олигомеризация которого сопровождается болезнью Альцгеймера. Введение соответствующих конструкций на плаزمиде в клетки дрожжей сопровождалось образованием амилоидов. При этом ока-

зальсь, что свойство инфекционности (производные PrP) и неинфекционности (производные A_β – пептида) амилоидов также проявляется и в дрожжах, то есть оказывается эволюционно-консервативным (Галкин, не опубликованные данные). Кроме того, разработка таких химерных конструкций создает основу для поиска антиамилоидных препаратов с использованием дрожжей.

На базе этой же модели *SUP35*-[PSI⁺] обнаружен феномен прионных сетей. Оказалось, что инициация образования приона [PSI] зависит от другого приона [PIN⁺], предшественник которого кодирует ген *RNQ1*, функция которого еще не выяснена (Derkatch et al., 2001; Osherovich, Weissman, 2001). Более того, прион [PIN] могут замещать некоторые другие прионы, предшественники которых содержат домены, обогащенные аспарагином и глутамином (Osherovich, Weissman, 2001). Известные дрожжевые прионы могут вступать в различные отношения, как стимулируя, так и подавляя проявление друг-друга. Эти факты закономерно ставят вопрос о существовании аналогичных прионных, или протеомных сетей у человека и других млекопитающих (Галкин и др., 2006). Действительно, недавно показано, что болезнь Альцгеймера и прионные заболевания человека взаимодействуют, усугубляя проявление той и другой болезни (Morales et al., 2010).

3. Почему это важно?

Возможность моделирования амилоидозов млекопитающих с использованием дрожжей открыла новые перспективы в изучении механизмов этих заболеваний и в поисках способов лечения больных. До сих пор соответствующий диагноз равнозначен смертному приговору. Каждый третий человек после 85 лет страдает болезнью Альцгеймера. Более подробно статистику распространения амилоидозов см. (Prusiner, 2001). Прионное заболевание, известное как коровье бешенство (губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота), передается человеку и проявляется как нетипичная форма болезни Кройтцфельда-Якоба также с летальным исходом (Will et al., 1999).

До сих пор не утихают споры о том, является ли амилоидогенез исключительно патологическим явлением или он (или сходный с ним механизм) вовлечен и в некоторые адаптивные реакции клетки и организма. Правильное решение этой проблемы важно для выработки стратегии терапии амилоидогенезов. Известно, что в принципе любые белки при повышенной концентрации и чаще всего в нефизиологических условиях способны образовать амилоиды. Более того, в большинстве белков присутствуют пептиды, образующие β-слои или потенциально способные их образовать и тем самым спо-

собные к амилоидогенезу. Попутно отметим, что понимание механизмов амилоидогенеза необходимо и для развития такой области биотехнологии как белковая инженерия при конструировании и последующем производстве искусственных полипептидов (Vendruscolo, Dobson, 2007).

Эволюционный процесс предотвращает эту опасность, по меньшей мере, двумя способами. Такие пептиды обычно “хорошо спрятаны” в третичной структуре сформированной молекулы белка. С возрастом амилоидогенные пептиды чаще оказываются экспонированными, видимо в связи с ослабленной работой шаперонов (см. Schnabel, 2010). Другой способ предотвращения вредных последствий амилоидогенеза – существование специальных шаперонов, разрушающих эти агрегаты. Так при несбалансированном перепроизводстве α-цепей гемоглобина (талассемии) последние могут образовать агрегаты – т.н. тельца включения. Для предотвращения этого эффекта существует шаперон AHSP, разрушающий избыточные α-цепи (Luzatto, Notaro, 2002).

Вместе с тем накапливается все больше сведений о том, что амилоиды могут иметь и адаптивное значение. Достаточно напомнить о прионном механизме цитоплазматической несовместимости у *P. anserina* (см. табл. 2). Взаимодействие β-слоев, как и при образовании амилоидов, вовлечено в формирование паутины пауков (Hagn et al., 2010). Недавно показано, что у моллюска *Aplisia* белок CPFB (Cytoplasmic polyadenylation element binding protein), связывающийся с фактором полиаденилирования вовлечен в регуляцию активности нейронов посредством прионизации (Si et al., 2010), как это предположили ранее Си, Линдквист и Кандел (Si et al., 2003). Образование цитоплазматических стресс-гранул в клетках млекопитающих представляет собой объединение многих преинициаторных комплексов трансляции, что приводит к временной инактивации синтеза белка (Anderson, Kedersha, 2002). Этот процесс осуществляет белок TIA-1, N-терминальная часть которого обладает свойствами прионизирующего пептида. Если этот пептид удалить, стресс-гранулы не образуются. Если на место этого пептида поместить прионизирующий пептид Sup35 *S. cerevisiae*, образование стресс-гранул восстанавливается (Gilks et al., 2004). Некоторые пептидные гормоны млекопитающих запасаются в гипофизе (питуитарной железе) в виде амилоидных агрегатов (Maji et al., 2009).

Существование протеомных сетей и в ряде случаев адаптивную роль амилоидогенеза необходимо учитывать при поисках антиприонных и антиамилоидных препаратов. Как бы не навредить!

Наконец, исследование прионообразования у дрожжей привело к формулированию концепции “белковой наследственности”, поскольку прионы

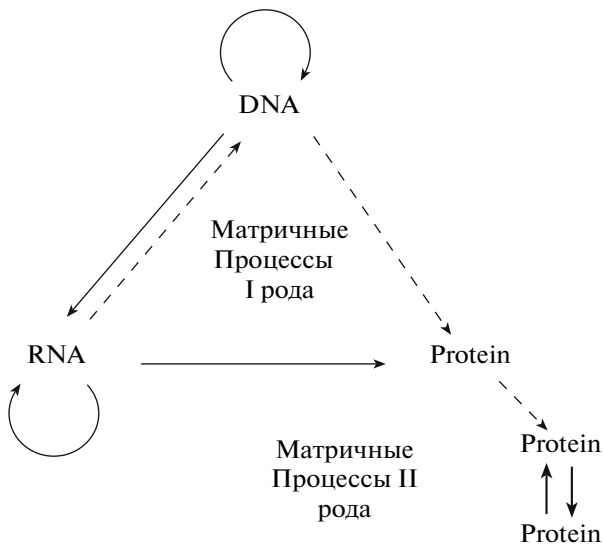


Рис. 5. Центральная догма (матричный принцип) молекулярной биологии (Crick, 1958, 1970, с дополнениями).

дрожжей представляют собой нехромосомные наследственные детерминанты, которые могут быть локализованы как в цитоплазме, так и в ядре (см. табл. 2). Это заставляет нас по новому рассматривать матричный принцип в биологии, который восходит к гипотезе Н.К. Кольцова (Кольцов, 1928) и в современном виде воплощен в Центральной догме молекулярной биологии Ф. Крика (Crick, 1958, 1970). Мы привыкли рассматривать матричные процессы (репликацию, транскрипцию, трансляцию), в которых последовательность элементов одного полимера (матрицы) определяют последовательность элементов другого – дочернего полимера. Назовем их матричными процессами I рода. Как мы убедились, есть еще и матричные процессы II рода. Существуют конформационные (пространственные) матрицы (Инге-Вечтомов, 2000; Инге-Вечтомов и др., 2004). На их основе воспроизводится измененная пространственная структура белков-прионов и прочих амилоидов. При этом не происходит репликации в общепринятом смысле. Белки при этом синтезируются в процессе трансляции (матричный процесс I рода) и могут приобретать необычную пространственную структуру, изменяя в дальнейшем “по своему образу и подобию” укладку вновь синтезируемых гомологичных и гетерологичных полипептидов (матричный процесс II рода). Это заставляет нас внести небольшую, но существенную модификацию в схему Центральной догмы (рис. 5). О матричных процессах второго рода мы знаем гораздо меньше, хотя, по-видимому, они широко распространены в природе и лежат в основе воспроизведения трехмерной организации надмолекулярных структур клетки.

Автор признателен проф. Журавлевой Г.А. и проф. Мироновой Л.Н. (кафедра генетики и селекции С.-Петербургского государственного университета) за прочтение и обсуждение рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Галкин А.П., Миронова Л.Н., Журавлева Г.А., Инге-Вечтомов С.Г. Прионы дрожжей, амилоидозы млекопитающих и проблема протеомных сетей // Генетика. 2006. Т. 42. С. 1558–1570.

Инге-Вечтомов С.Г. Реверсии к прототрофности у дрожжей, нуждающихся в аденине // Вестник Лен. Университета. Сер. 3: Биол. 1964. № 2. С. 112–116.

Инге-Вечтомов С.Г. Прионы дрожжей и центральная догма молекулярной биологии // Вестник РАН. 2000. Т. 70. С. 195–202.

Инге-Вечтомов С.Г., Андрианова В.М. Рецессивные суперсупрессоры у дрожжей // Генетика. 1970. Т. 6. С. 103–116.

Инге-Вечтомов С.Г., Борхсениус А.С., Задорский С.П. Белковая наследственность: конформационные матрицы и эпигенетика // Информационный вестник ВОГиС. 2004. Т. 8. № 2. С. 60–66.

Кольцов Н.К. Наследственные молекулы. 1928 // Цит. по: “Организация клетки”. 1936. Гос. изд. биол. и мед. лит. М.-Л. С. 585–622.

Чернов Ю.О., Деркач И.Л., Дагжесаманская А.Р., Тихомирова В.Л., Тер-Аванесян М.Д., Инге-Вечтомов С.Г. Нонсенс-супрессия при амплификации гена, кодирующего белковый фактор трансляции // ДАН СССР. 1988. Т. 301. С. 1227–1229.

Alberti S., Halfman R., King O., Kapila A., Lindquist S. A systematic survey identifies prions and illuminates sequence features of prionogenic proteins // Cell. 2009. V. 137. P. 146–158.

Anderson P., Kedersha N. Stressful initiations // J. Cell Sci. 2002. Vol. 115. P. 3227–3234.

Bremer J., Baumann F., Tiberi C., Wessig C., Fischer H., Schwarz P., Steele A.D., Toyka K.V., Nave K.-A., Weis J., Aguzzi A. Axonal prion protein is required for peripheral myelin maintenance // Nature Neuroscience. 2010. V. 13. P. 310–318.

Brown J.C.S., Lindquist S. A heritable switch in carbon source utilization driven by an unusual yeast prion // Genes and development. 2009. V. 23. P. 2320–2332.

Brundin P., Melki R., Kopito R. Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases // Nature Revs. 2010. V. 11. P. 301–307.

Chernoff Yu.O., Derkach I.L., Inge-Vechtomov S.G. Multi-copy SUP35 gene induces de-novo appearance of psi-like factors in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Curr. Genet. 1993. V. 24. P. 268–270.

Coustou V., Deleu C., Saupe S., Begueret J. The protein product of the *het-s* heterokaryon incompatibility gene of the fungus *Podospora anserina* behaves as a prion analog // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 9773–9778.

Cox B.S. ψ , a cytoplasmic suppressor of super-suppression in yeast // Heredity. 1965. V. 20. P. 505–521.

- Crick F.H.C. On protein synthesis // Symp. Soc. Exptl. Biol. 1958. Vol.12. P. 138–163.
- Crick F. Central dogma of molecular biology // Nature. 1970. V. 227. P. 561–563.
- Derkatch I.L., Bradeley M.E., Hong J.Y., Liebman S.W. Prions affect the appearance of other prions: The story of [PIN⁺] // Cell. 2001. V. 106. P. 171–182.
- Du Z., Park K.W., Yu H., Fan Q., Li L. Newly identified prion linked to the chromatin remodeling factor Swi1 in *Saccharomyces cerevisiae* // Nature Genetics. 2008. V. 40. P. 460–465.
- Fink G.R. A transforming principle // Cell. 2005. V. 120. P. 153–154.
- Gilks N., Kedersha N., Ayodele M. et al. Stress granule assembly is mediated by prion-like aggregation of TIA-1 // Mol. Biol. Cell. 2004. Vol. 15. P. 5383–5398.
- Glover J.R., Kowal A.S., Schirmer E.C., Patino M.M., Liu J.J., Lindquist S. Self-seeded fibers formed by Sup35, the protein determinant of [PSI⁺], a heritable prion-like factor of *S. cerevisiae* // Cell. 1997. V. 89. P. 811–819.
- Hagn F., Eisolt L., Hardy J.G., Vendrely C., Coles M., Scheibel T., Kessler H. A conserved spider silk domain acts as a molecular switch that controls fiber assembly // Nature. 2010. V. 465. P. 239–242.
- Kajava A.V., Baxa L.D., Wickner R.B., Steven A.C. A model for Ure2p prion filaments and other amyloids: the parallel superpleated beta-structure // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 7885–7890.
- King C.-Y., Tittman P., Gross H., Geber R., Aebi M., Wuthrich K. Prion-inducing domain 2-114 of yeast Sup35 protein transforms *in vitro* into amyloid-like filaments // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 6618–6622.
- Luzatto L., Notaro R. Haemoglobin's chaperone // Nature. 2002. V. 417. P. 704–705.
- Maji S.K., Perrin M.H., Sawaya M.R., Jessberger S., Vadoria K., Rissman R.A., Singru P.S., Nilsson K.P.R., Simon R., Schubert D., Eisenberg D., Rivier J., Sawchenko P., Vale W., Riek R. Functional amyloids as natural storage of peptide hormones in pituitary secretory granules // Science. 2009. V. 325. P. 328–332.
- Michelitsch M.D., Weissman J.S. A census of glutamine/asparagine-rich regions: Implications for their conserved function and the prediction of novel prions // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97. P. 11910–11915.
- Morales R., Estrada L.D., Diaz-Espinoza R., Morales-Scheihing D., Jara M.C., Castilla J., Soto C. Molecular cross-talk between misfolded proteins in animal models of Alzheimer's and prion diseases // J. Neurosci. 2010. V. 30. P. 4528–4535.
- Nemecek J., Nakayashiki T., Wickner R.B. A prion of yeast metacaspase homolog (Mca1p) detected by a genetic screen // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 2009. V. 106. P. 1892–1896.
- Osherovich L.Z., Weissman J.S. Multiple Gln/Asn-rich prion domains confer susceptibility to induction of the yeast [PSI⁺] prion // Cell. 2001. V. 106. P. 183–194.
- Parry H.B. Scrapie: a transmissible and hereditary disease of sheep // Heredity. 1962. V. 17. P. 75–105.
- Patel B.K., Gavin-Smyth J., Liebman S.W. The yeast global transcriptional co-repressor protein Cyc8 can propagate as prion // Nature Cell Biology. 2009. V. 11. P. 344–349.
- Paushkin S.V., Kushnirov V.V., Smirnov V.N., Ter-Avanesyan M.D. *In vitro* propagation of the prion-like state of yeast Sup35 protein // Science. 1997. V. 277. P. 381–383.
- Perutz M.F., Finch J.T., Berriman J., Lesk A. Amyloid fibers are water-filled nanotubes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. P. 5591–5595.
- Prusiner S.B. Prions // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 13363–13383.
- Prusiner S.B. Shattuck lecture – Neurodegenerative diseases and prions // N. Engl. J. Med. 2001. V. 344. P. 1516–1526.
- Riek R. Infectious Alzheimer's disease? // Nature. 2006. V. 444. P. 429–431.
- Rogoza T., Goginashwili A., Rodionova S., Ivanov M., Viktorovskaya O., Rubel A., Volkov K., Mironova L. Non-Mendelian determinant [ISP⁺] in yeast is a nuclear-residing prion form of the global transcriptional regulator Sfp1 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 10573–10577.
- Schnabel J. The dark side of proteins // Nature. 2010. V. 464. P. 828–829.
- Si K., Lindquist S., Kandel E.R. A neuronal isoform of the *Aplysia* CPEB has prion-like properties // Cell. 2003. V. 115. P. 879–891.
- Si K., Choi Y.-B., White-Grindley E., Majumdar A., Kandel E.R. *Aplysia* CPEB can form prion-like multimers in sensory neurons that contribute to long-term facilitation // Cell. 2010. V. 140. P. 421–435.
- Ter-Avanesyan M.D., Kushnirov V.V., Dagkesamanskaya A.R., Didichenko S.A., Chernoff Yu.O., Inge-Vechtomov S.G., Smirnov V.N. Deletion analysis of the SUP35 gene of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* reveals two nonoverlapping functional regions in the encoded protein // Molec. Microbiol. 1993. V. 7. P. 683–692.
- Tuite M.F., Mundy C.R., Cox B.S. Agents that cause a high frequency of genetic change from [PSI⁺] to [PSI⁻] in *Saccharomyces cerevisiae* // Genetics. 1981. V. 98. P. 691–711.
- Vendruscolo M., Dobson C. More charges against aggregation // Nature. 2007. V. 449. P. 555.
- Volkov K., Osipov K., Valouev I., Inge-Vechtomov S., Mironova L. N-terminal extension of *Saccharomyces cerevisiae* translation termination factor eRF3 influences the suppression efficiency of sup35 mutations // FEMS Yeast Res. 2007. V. 7. P. 357–365.
- Wickner R.B. [URE3] as an altered URE2 protein: evidence for a prion analog in *Saccharomyces cerevisiae* // Science. 1994. V. 264. P. 566–569.
- Will R.G., Alpers M.P., Dormont D., Schonberger L.B., Tateishi J. Infectious and sporadic prion diseases In: Prusiner S.B., ed. Prion biology and diseases. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1999. P. 465–507.
- Zhouravleva G., Frolova L., Le Goff X., Le Guillec R., Inge-Vechtomov S.G., Kisselev L., Philippe M. Termination of translation in eukaryotes is governed by two interacting polypeptide chain release factors eRF1 and eRF3 // The EMBO J. 1995. V. 14. P. 4065–4072.

Yeast Prions as a Model of Neurodegenerative Infectious Amyloidoses in Humans

S. G. Inge-Vechtomov

*St. Petersburg State University, Vavilov Institute of General Genetics, St. Petersburg Branch, St. Petersburg, 199034 Russia
e-mail: ingevechtomov@gmail.com*

Abstract—Several neurodegenerative diseases (so-called age-related diseases) in humans are associated with development of protein aggregates—amyloids. Prion diseases—kuru, Kreutzfeldt–Jakob and Gerstmann–Straussler–Sheinker diseases, fatal familial insomnia, etc.—are examples of infectious amyloidoses. A model system for investigation of mechanisms of amyloidogenesis and of its infectious nature had been developed as a result of yeast prion discovery. The existence of a prion network as an interaction of different prions identified in yeast is being confirmed recently as an interaction of different amyloids in humans. The potential danger of amyloidoses is conditioned by the very structure of almost all proteins containing fragments capable to be organized as β -sheets, which lead to their aggregation being exposed. Meanwhile, there are several well-defined examples of the adaptive value of amyloid aggregates: cytoplasmic incompatibility factor in *Podospora anserina*, spider silk, cytoplasmic stress granules in mammals, prion form of CPEB protein responsible for the neuron activity in *Aplysia*, etc. These facts should be taken into consideration when seeking anti-amyloid drugs. Discovery of protein inheritance in lower eukaryotes modifies our knowledge of the template principle significance in biology and adds a concept of conformational templates (II order templates) involved in reproduction of the three-dimensional structure of the supramolecular complexes in the cell.

Keywords: amyloids, prions, neurodegenerative diseases, yeast, protein inheritance