ПРИОНЫ

План:

- Почему их так назвали?
- Чем опасны?
- Чем они занимаются?
- Они непобедимы?
- Список литературы

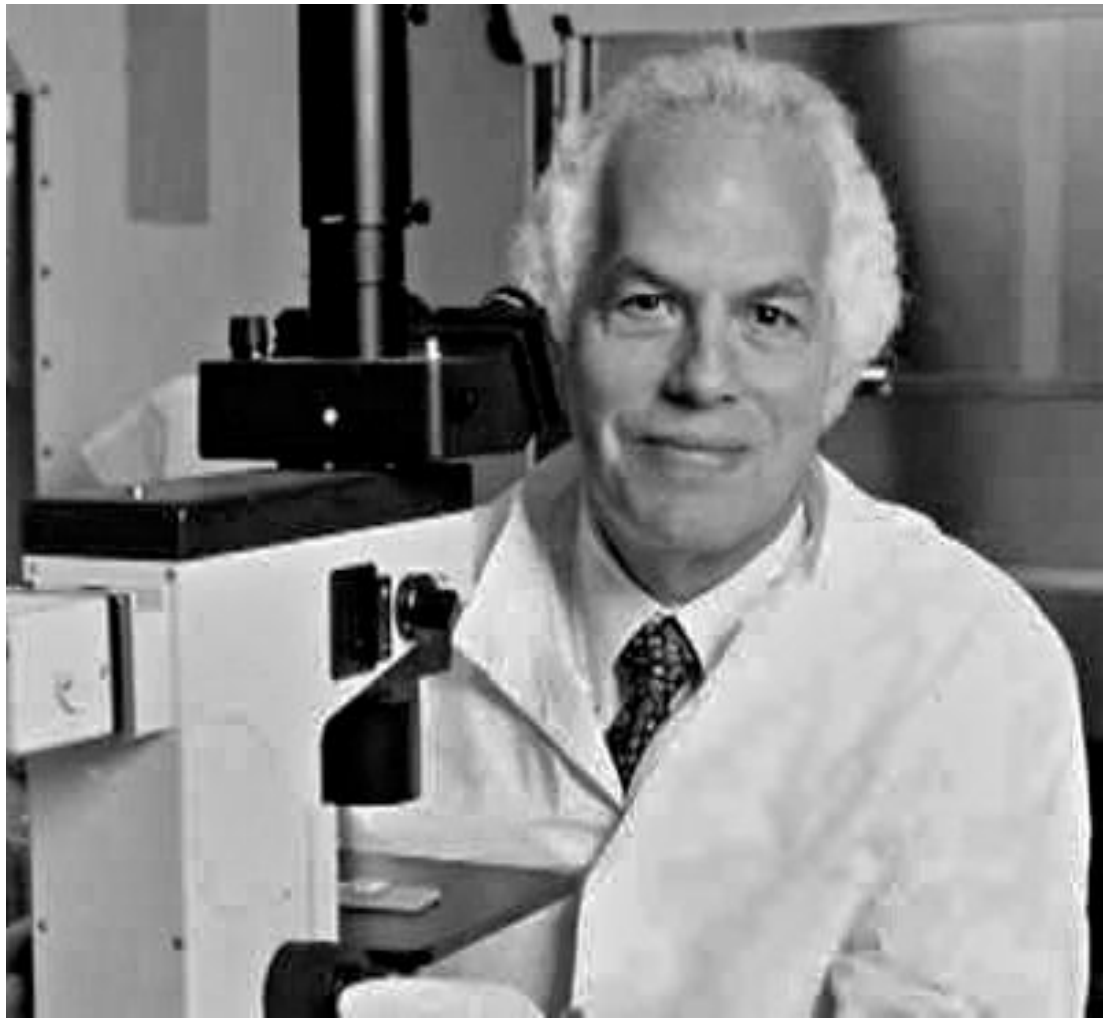
Расшифровка

***Pr**otein*

«белок»

+ *infect**ion***

«инфекция»



Стенли Прузинер

Сейчас наукой принято следующее:

1.Возбудитель прионных болезней — это мутантная (инфекционная) форма ***обычного***, особенно активно синтезируемого в нервной ткани, прионного белка млекопитающих — ***PrP^{c}*** (верхний индекс «с» — *cellular*, клеточный).

Продолжение:

2. Приобретение ифекционных свойств белком <u>связано с конформационным переходом</u> (PrP**c** → PrP**Sc**)

А. Спонтанно → **<u>спорадическая форма</u>**

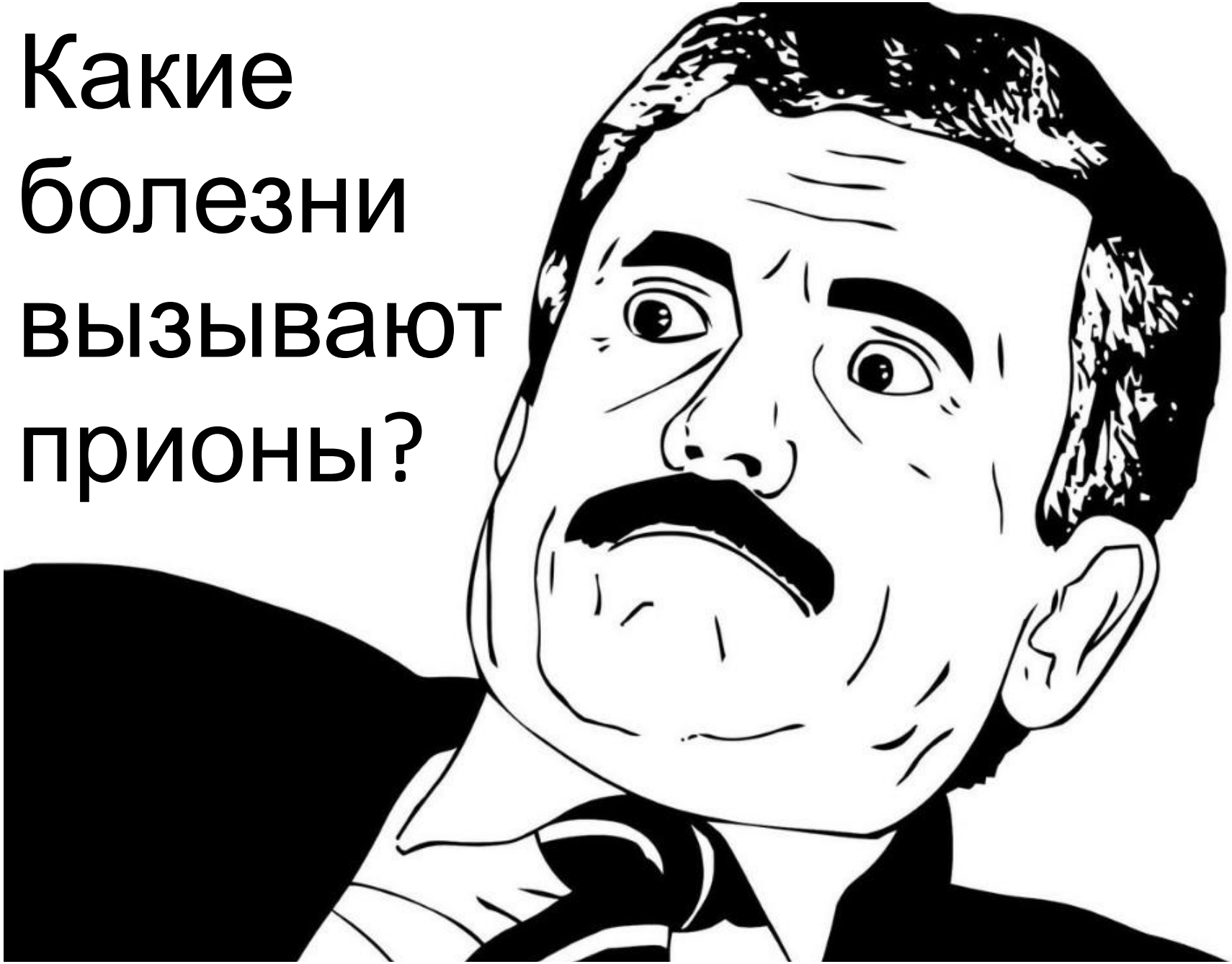
Б. Поступлением инфекционного белка ИЗВНЕ → **<u>приобретенная форма</u>**

В. Из-за мутаций в гене, кодирующего этот белок → **<u>наследственная форма</u>**

Продолжение

3. PrPc содержит <u>больше альфа-спиралей (42 %)</u>и меньше бета-структур (3%), тогда как у его инфекционной формы все наоборот (30% - альфа, 43%- бета).
4. Инфекционная форма белка устойчива к излучению, а также к различным ферментам, разрушающих обычную форму.

Какие болезни вызывают прионы?

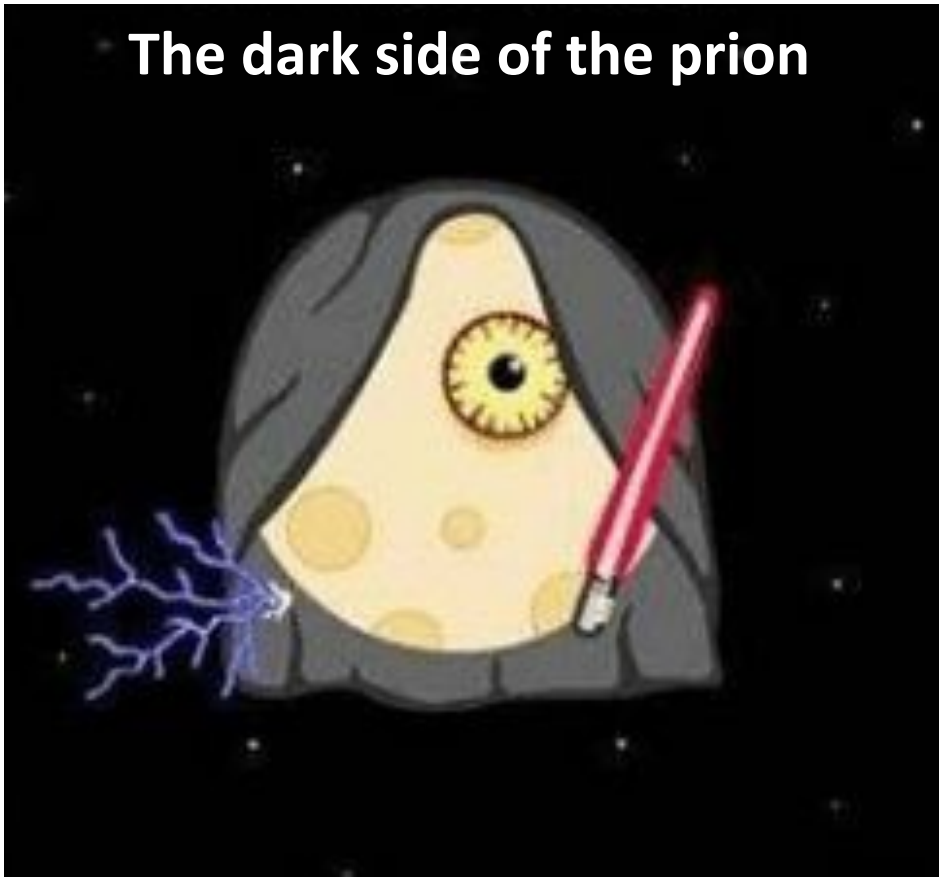


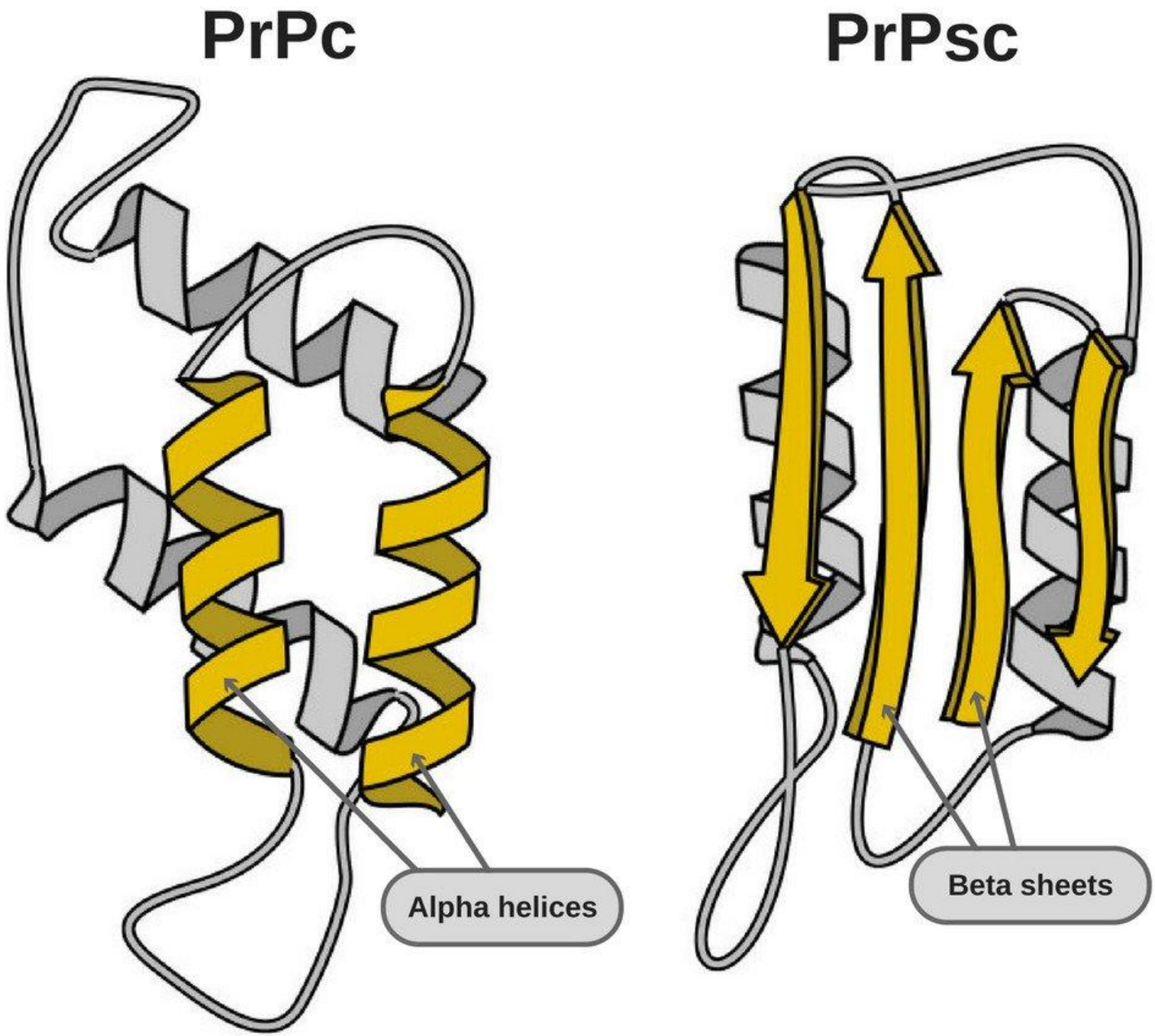
Болезнь	Причина развития патологического процесса
Куру	Ритуальный каннибализм
Спорадическая болезнь Крейтцфельда–Якоба	Спонтанная конверсия нормального приона PrP^c в патологический PrP^{sc} или соматическая мутация
Ятрогенная болезнь Крейтцфельда–Якоба	Инфицирование внутримозговым электродом, пересадка твердой мозговой оболочки и др.
Наследственная болезнь Крейтцфельда–Якоба	Мутации в гене PrP^c
Новый вариант болезни Крейтцфельда–Якоба	Инфицирование от животных с губчатой энцефалопатией крупного рогатого скота (КРС, *BSE*)
Синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера	Мутации в гене PrP^c
Наследственная смертельная бессонница	Мутации в гене PrP^c
Спорадическая наследственная бессонница	Спонтанная конверсия PrP^c в PrP^{sc} или соматическая мутация

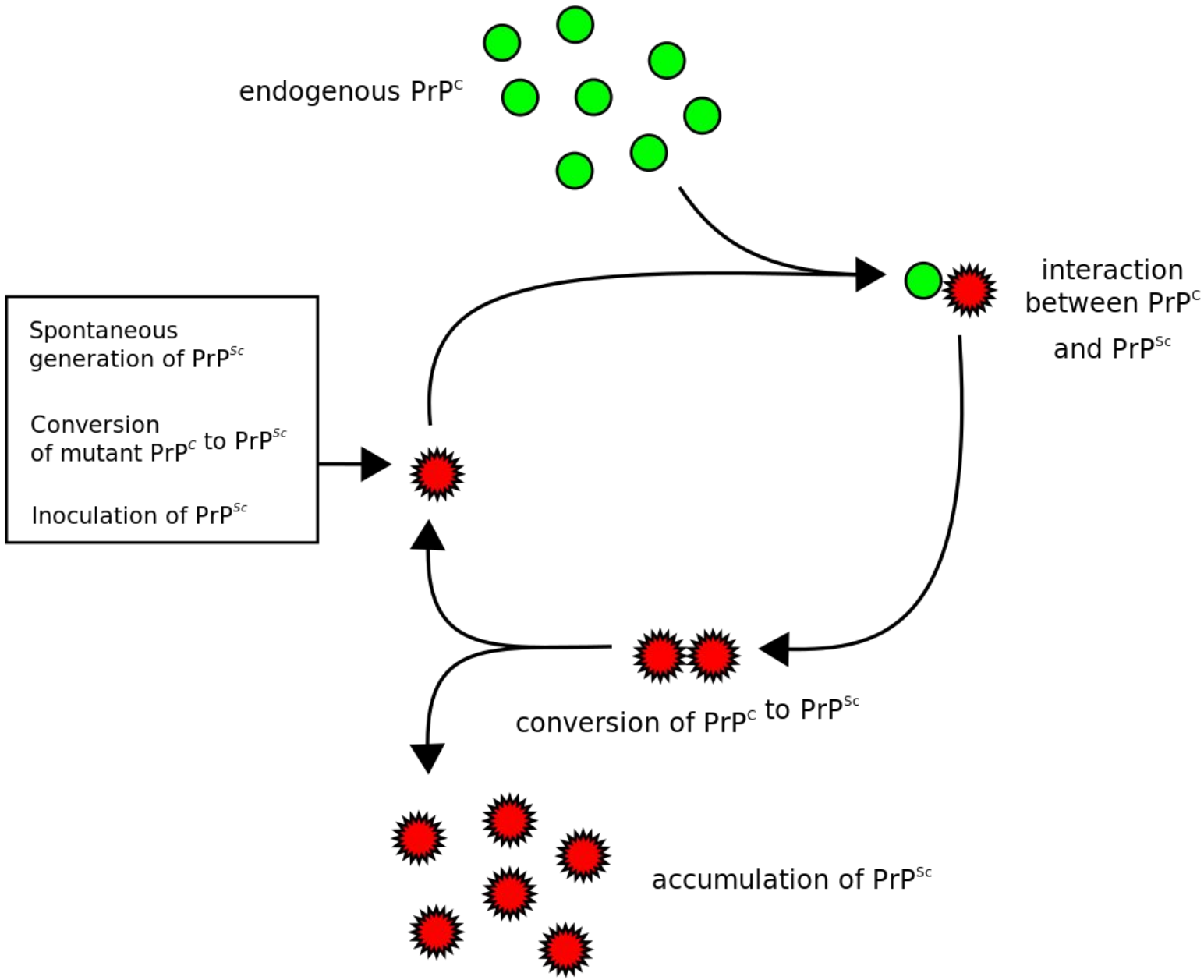
Современная классификация прионных болезней человека и животных

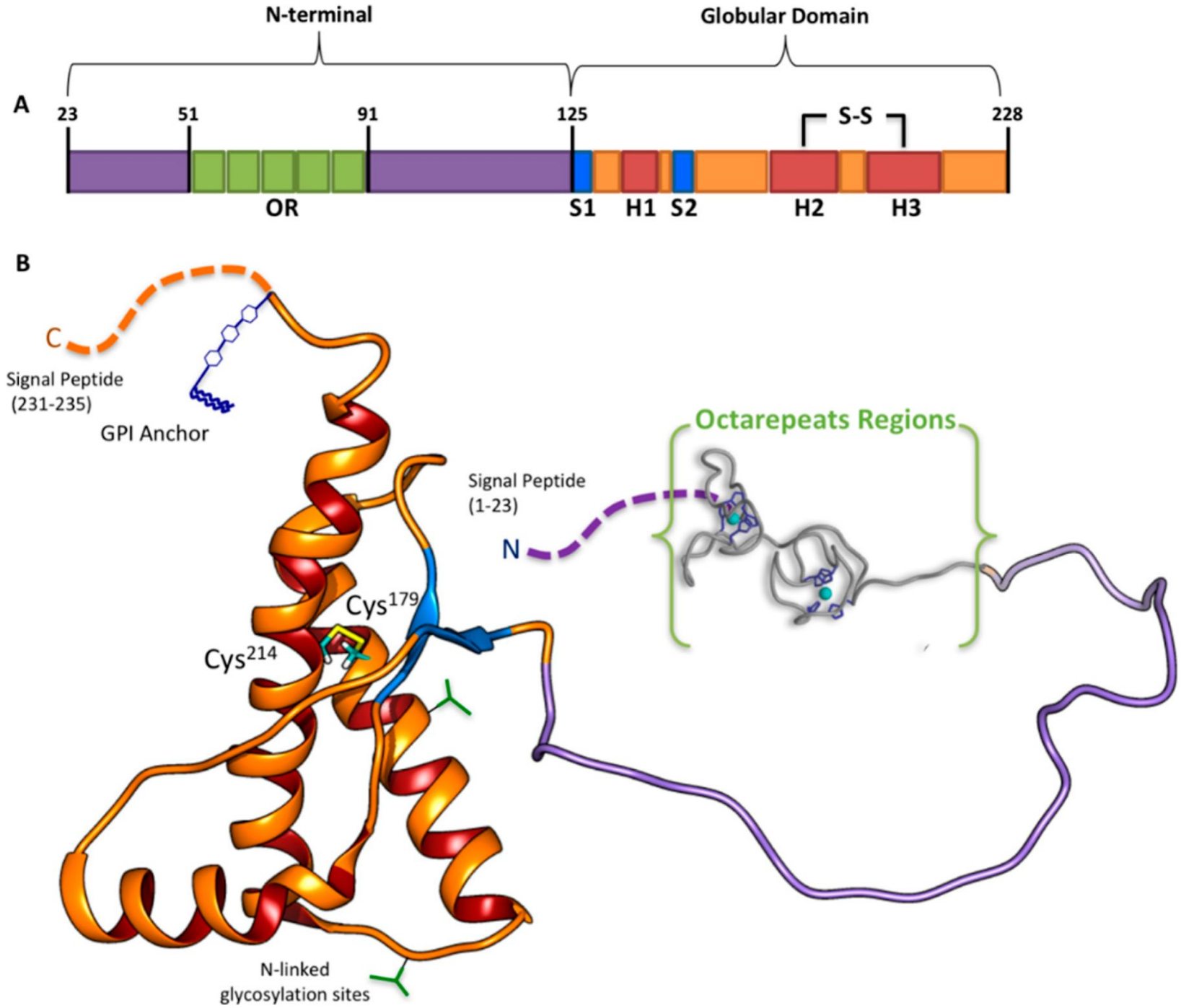
Нозологическая форма	Естественный хозяин
Болезнь Крейтцфельда- Якоба	Человек
Куру	Человек
Синдром Герстманна-Штреусслера-Шейнкера	Человек
Смертельная семейная бессонница	Человек
Скрепи	Овцы и козы
Трансмиссивная энцефалопатия норок	Норки
Хроническая изнуряющая болезнь	Олени и лоси
Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота	Коровы и быки
Губкообразная энцефалопатия кошек	Кошки
Губкообразная энцефалопатия экзотических копытных	Антилопы и большой куду

1. Как происходит переход на «темную сторону» нормального белка?
2. Как этот белок потом распространяется в организме?



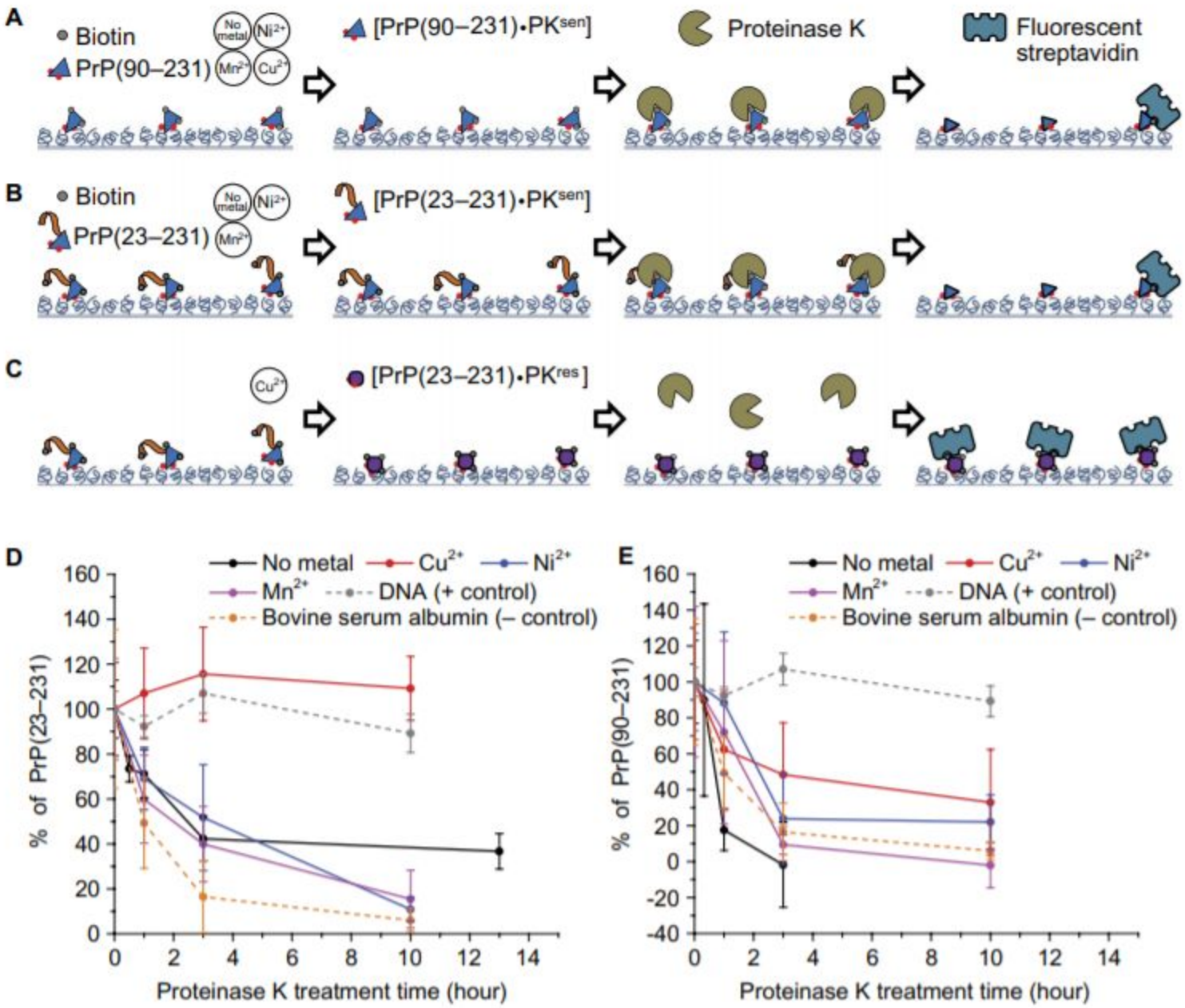

PrPc
PrPsc
Alpha helices
Beta sheets


endogenous PrP^{C}
interaction between PrP^{C} and PrP^{Sc}
Spontaneous generation of PrP^{Sc}
Conversion of mutant PrP^{c} to PrP^{Sc}
Inoculation of PrP^{Sc}
conversion of PrP^{C} to PrP^{Sc}
accumulation of PrP^{Sc}


N-terminal
Globular Domain
A
23
51
91
125
228
S-S
OR
S1
H1
S2
H2
H3
B
C
Signal Peptide
(231-235)
GPI Anchor
Octarepeats Regions
Signal Peptide
(1-23)
N
Cys179
Cys214
N-linked
glycosylation sites

ЭКСПЕРИМЕНТ

- Иммобилизованные мономеры PrP инкубировали в течение ночи либо в присутствии, либо в отсутствии 1 мм Ионов Ni2+, Mn2+ или Cu2+;
- константы диссоциации указывали на то, что PrP будет насыщен двухвалентными ионами в этих экспериментальных условиях. Затем образцы обрабатывали ПК в течение различных периодов времени (от 0 до 13 часов) и затем маркировали флуоресцентным стрептавидином.


A
Biotin
PrP(90–231)
No metal
Ni2+
Mn2+
Cu2+
[PrP(90–231)•PKsen]
Proteinase K
Fluorescent streptavidin
B
Biotin
PrP(23–231)
No metal
Ni2+
Mn2+
[PrP(23–231)•PKsen]
C
Cu2+
[PrP(23–231)•PKres]
D
No metal
Cu2+
Ni2+
Mn2+
DNA (+ control)
Bovine serum albumin (– control)
% of PrP(23–231)
Proteinase K treatment time (hour)
E
No metal
Cu2+
Ni2+
Mn2+
DNA (+ control)
Bovine serum albumin (– control)
% of PrP(90–231)
Proteinase K treatment time (hour)

Если биотинилированный PrP превращается в конформацию PrPres, он не переваривается РК и поэтому может связываться с флуоресцентным стрептавидином (рис. 2С). С другой стороны, биотинилированный PrPse легко расщепляется РК, что приводит к снижению связывания флуоресцентного стрептавидина (рис. 2, А и Б). В качестве положительного контроля мы ковалентно иммобилизовали РК-резистентную, флуоресцентно меченую, двухцепочечную ДНК на идентичные ПЭГ-функционализированные субстраты

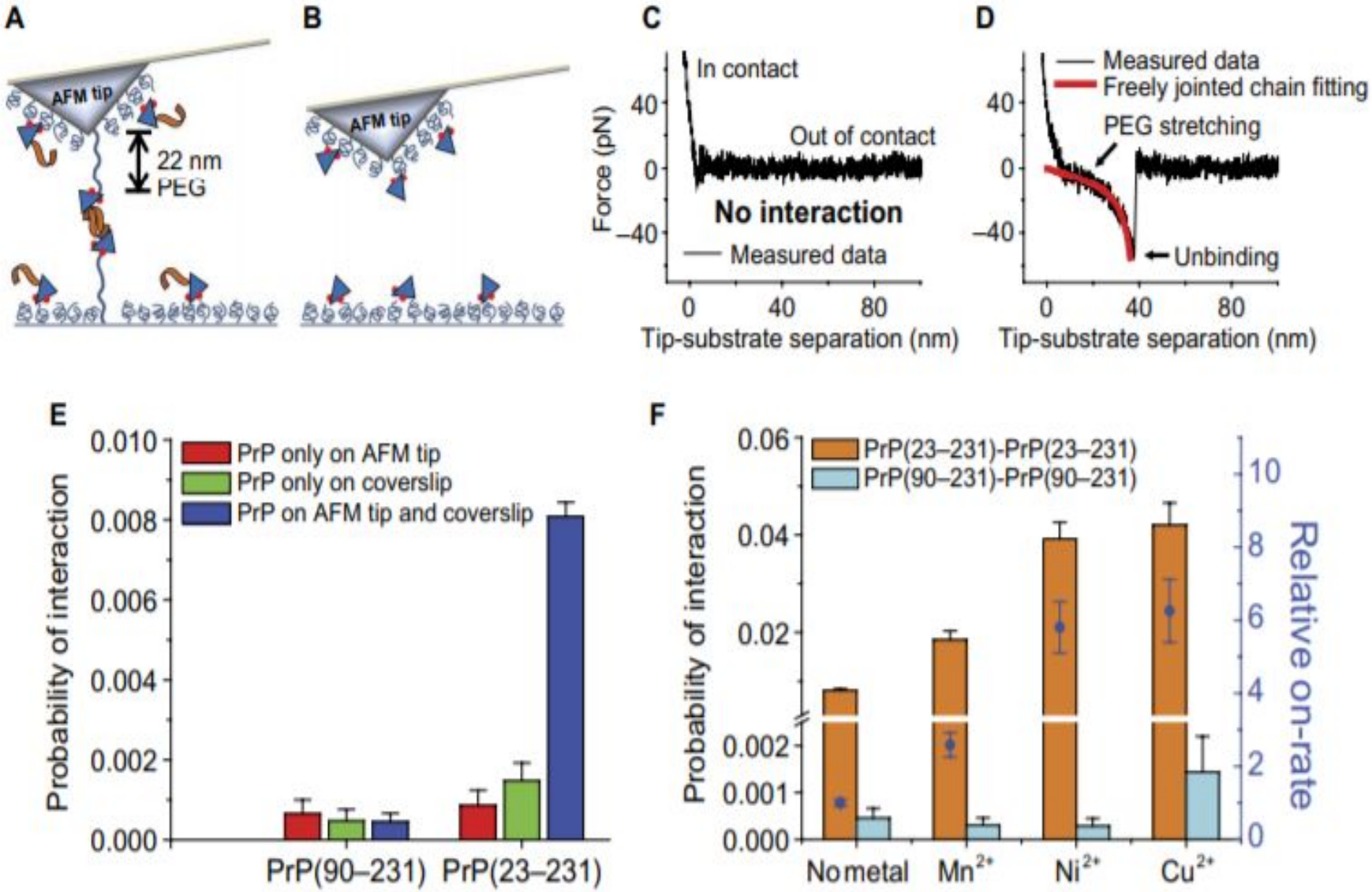
Наши данные показали, что только полноразмерный PrP [PrP(23-231)], инкубированный в Cu2+, превращается в стабильную конформацию PrPres.

Даже после 10-часового воздействия ПК интенсивность флуоресценции PrP (23-231) оставалась неизменной (рис. 2Д). Аналогично, интенсивность флуоресценции от положительного контроля оставалась неизменной после 10 часов инкубации ПК.

С другой стороны, сопротивление РК было значительно снижено для PrP (23-231), связанного с Mn2+ или Ni2+, и для PrP (23-231) в отсутствие двухвалентных ионов; интенсивность флуоресценции уменьшилась между 60 и90% после 10 часов инкубации ПК.

Аналогично, глобулярный PrP, у которого отсутствовала неструктурированная N-концевая область [PrP(90-231)], был чувствителен к расщеплению РК как в отсутствие, так и в присутствии Cu2+, Mn2+ и Ni2+; после 10-часового расщепления РК интенсивность флуоресценции уменьшалась между 60 и 100% В отличие от этого, сигнал флуоресценции от отрицательного контроля был полностью устранен через 10 часов переваривания ПК (рис. 2, D и E). Данные на фиг. 2E были получены из общей суммы(суммированной по всем временным точкам) 9634, 12 438, 10 680 и 8869 молекул PrP (90-231) в отсутствие и в присутствии Cu2+, Mn2+ и Ni2+, соответственно.

Эти результаты показывают, что мономерное образование PrPres требует как внутренне неупорядоченной N-концевой области, так и ионов Cu2+; устранение любого из них приводит преимущественно к конформации PrPsen.


A
AFM tip
22 nm
PEG
B
AFM tip
C
In contact
Out of contact
No interaction
Measured data
Force (pN)
40
0
−40
0
40
80
Tip-substrate separation (nm)
D
Measured data
Freely jointed chain fitting
PEG stretching
Unbinding
40
0
−40
0
40
80
Tip-substrate separation (nm)
E
PrP only on AFM tip
PrP only on coverslip
PrP on AFM tip and coverslip
Probability of interaction
0.010
0.008
0.006
0.004
0.002
0.000
PrP(90–231)
PrP(23–231)
F
PrP(23–231)-PrP(23–231)
PrP(90–231)-PrP(90–231)
Probability of interaction
0.06
0.04
0.02
0.002
0.001
0.000
Relative on-rate
10
8
6
4
2
0
No metal
Mn2+
Ni2+
Cu2+

Итоги

N-концевой участок в присутствии ионов меди приводит к образованию резистентоного прионного белка

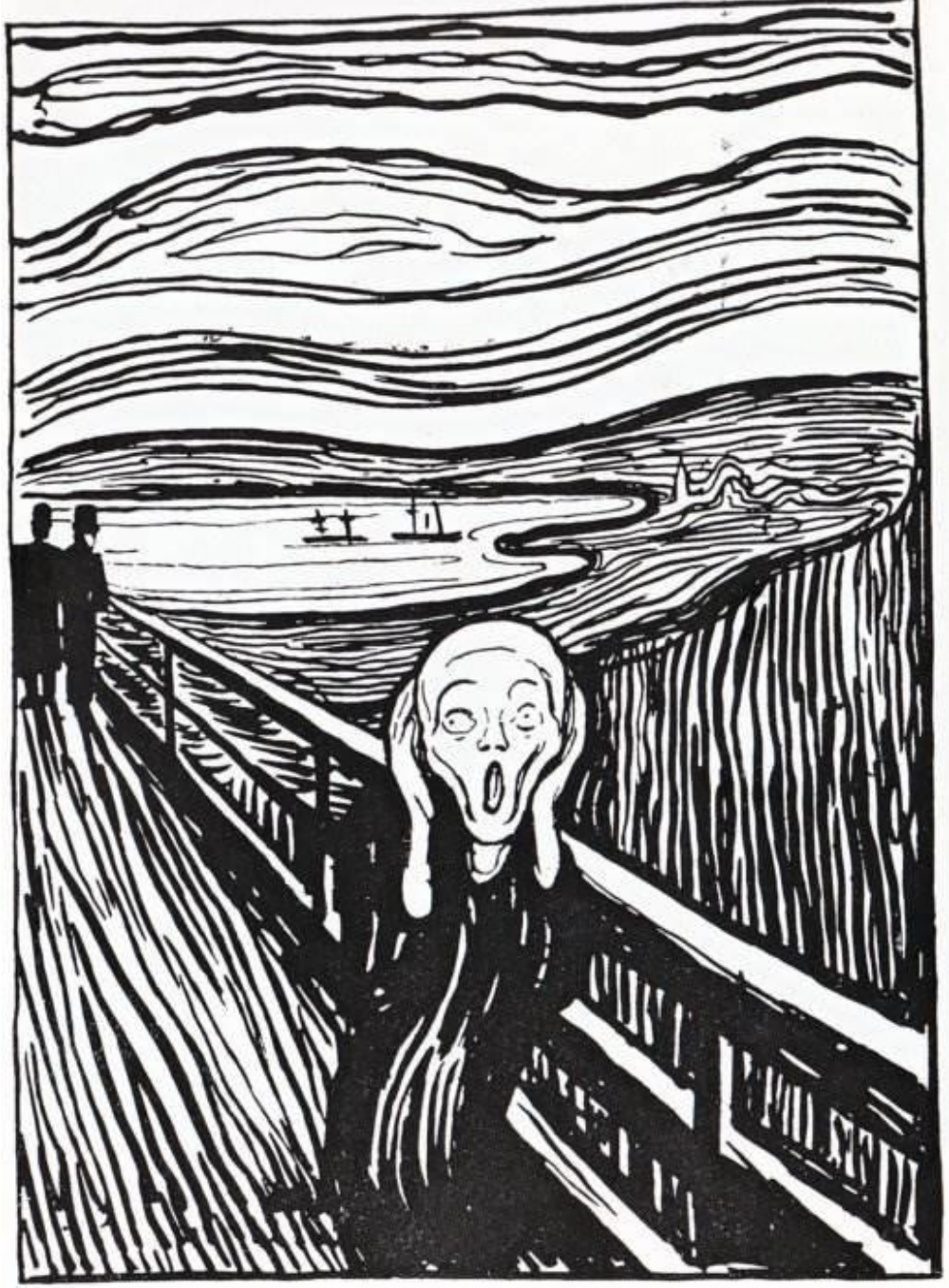
Резистентные прионные белки, содержащие N-концевой участок в присутствии ионов меди способны к агрегации

В чем заключается биологическая функция приона?

TABLE 1 | Keywords to *processes* at the molecular, cellular and system levels, upon which presumptive *functions* have been ascribed to the prion protein.

Level	Process
Molecular	Homeostasis of copper
	Ion fluxes
	Transport of metabolites
	Redox homeostasis
Cellular	Cell proliferation
	Cell adhesion
	Cell differentiation
	Cell survival
	Cell death
	Neurite outgrowth
	Myelin maintenance
	Synaptic transmission
	Synaptogenesis
	β-amyloid toxicity
	T cell activation
System	Memory
	Sleep
	Embryogenesis
	Inflammation
	Stem cell renewal
	Muscle physiology
	Glucose homeostasis

Экспериментальные исследования показывают, что PrPC может связывать олигомеры β-пептида и опосредовать трансдукцию сигнала, индуцированную последним



Что если он не играет никакой роли вообще?

Мыши, у которых отсутствовал ген, кодирующий PrPc, были здоровы.

PrPC не имеет никакой функции
его сохраненная аминокислотная последовательность была естественным образом выбрана как следствие смертельных эффектов мутаций

Неясность в научном сообществе

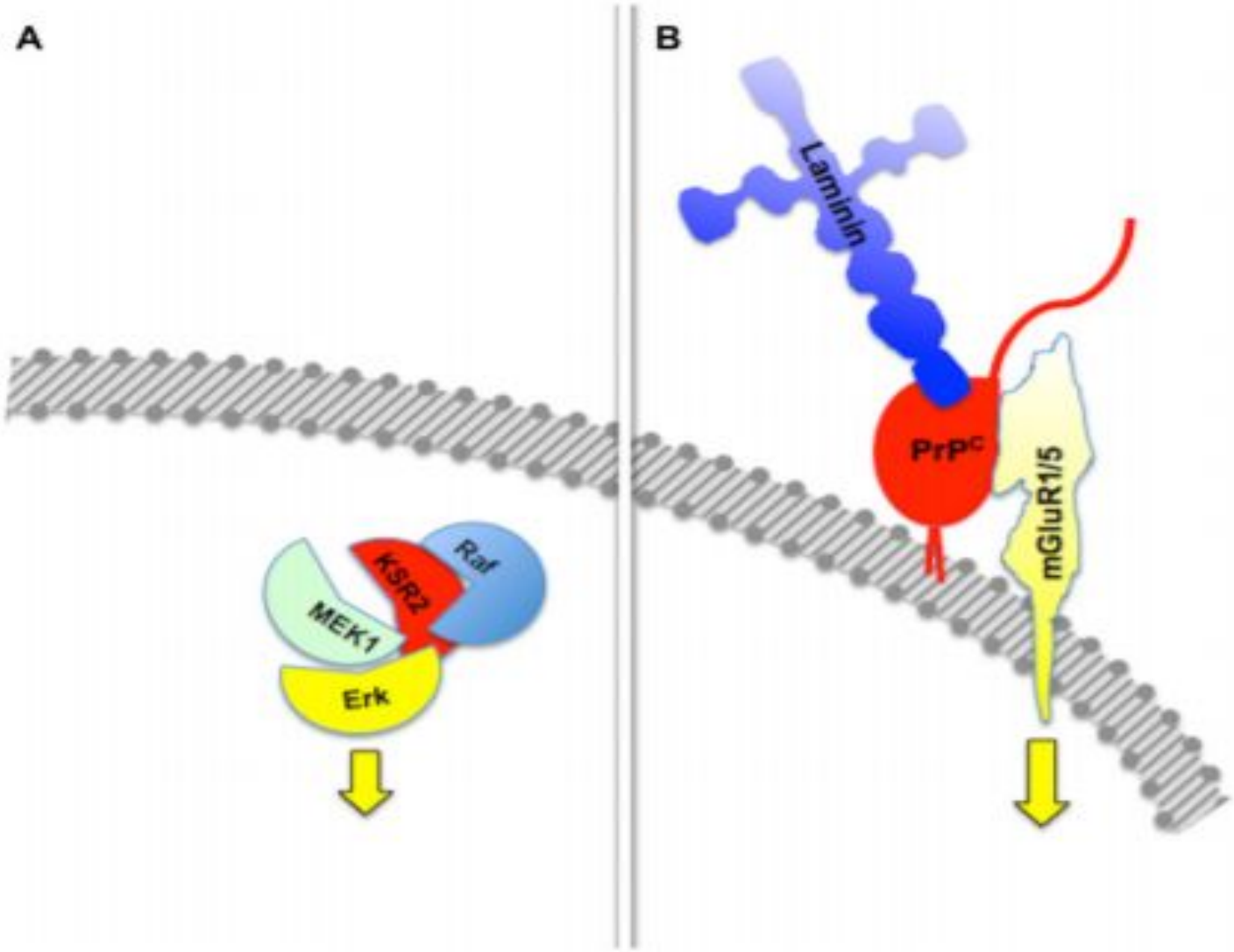
- Передает амилоидный сигнал или все-таки нет?

- Участвует в продукции стволовых клеток или стимулирует их дифференцировку?

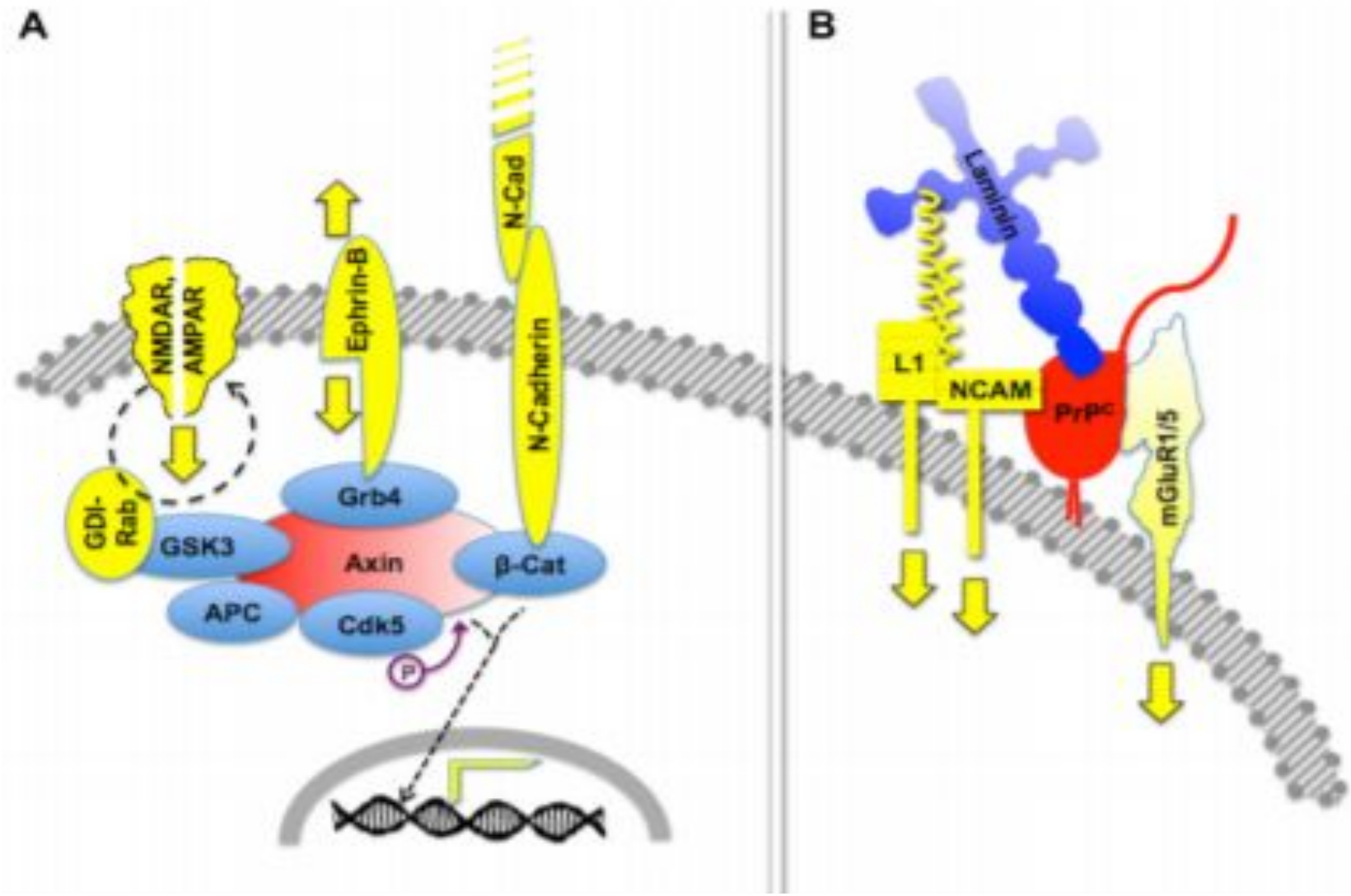
- Нейропротектор или стимулятор апоптоза?

Поиск Протеина X

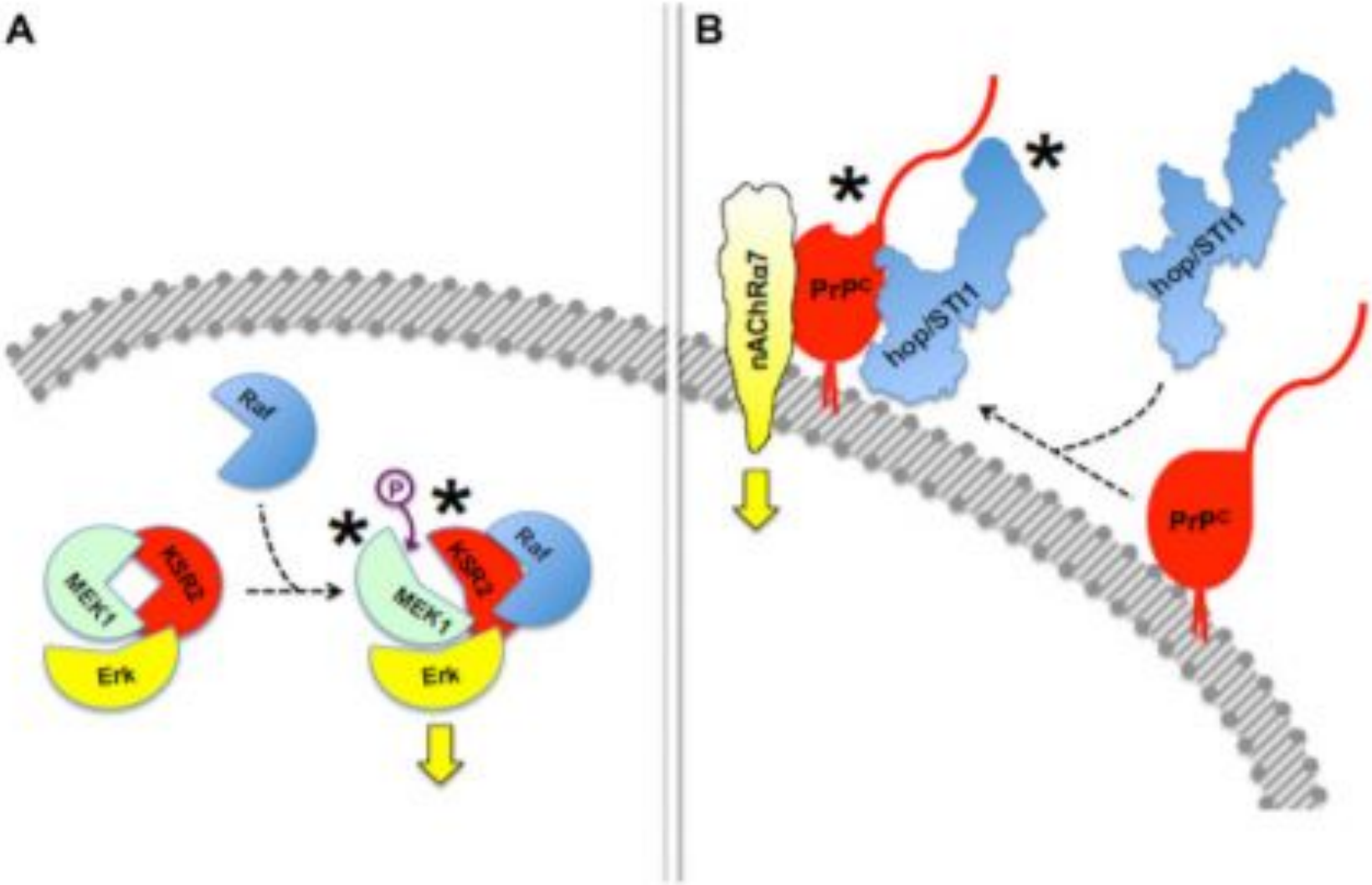
Функционально похож на каркасный белок



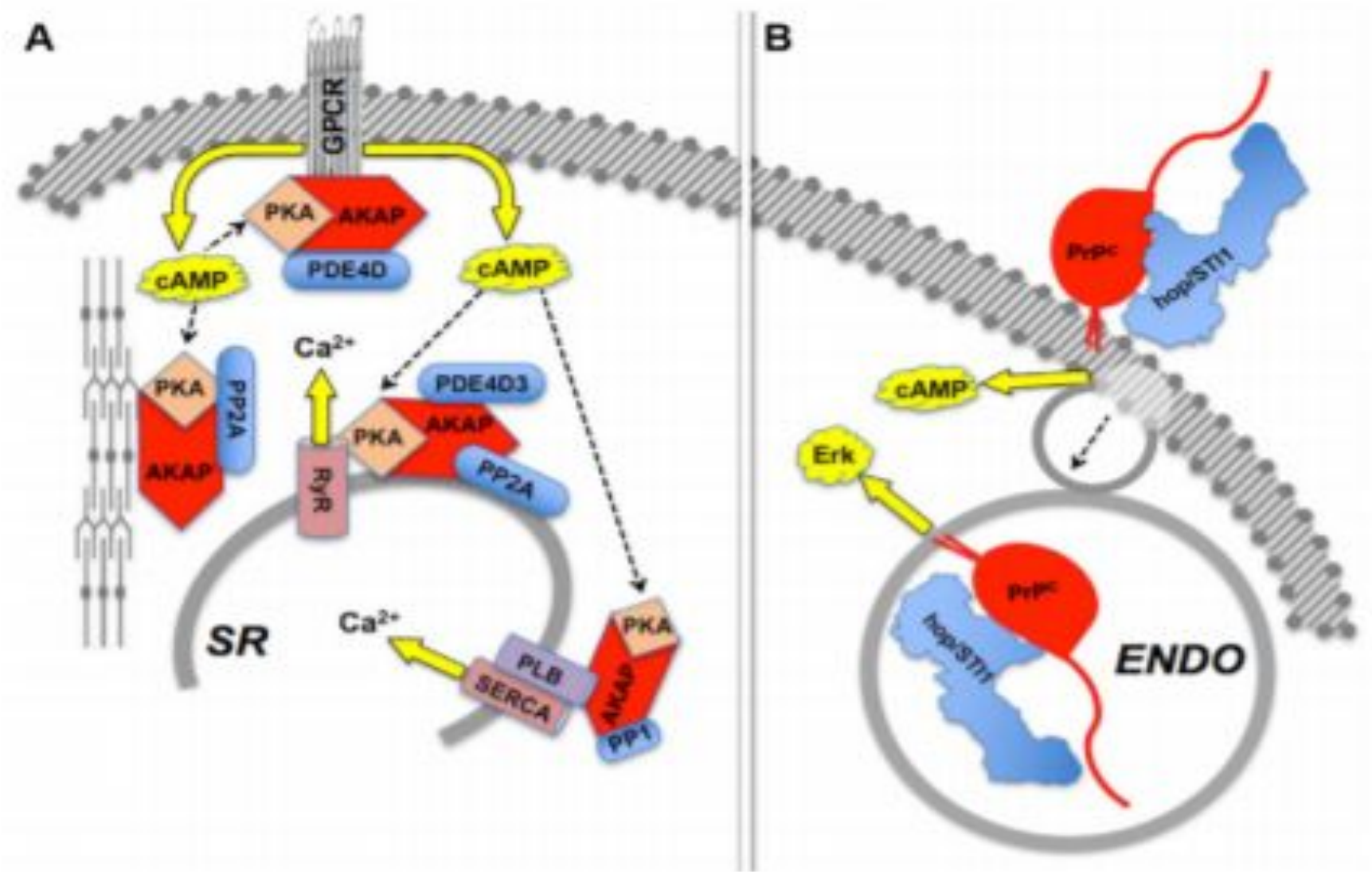
Перекрестная связь сигнальных модулей



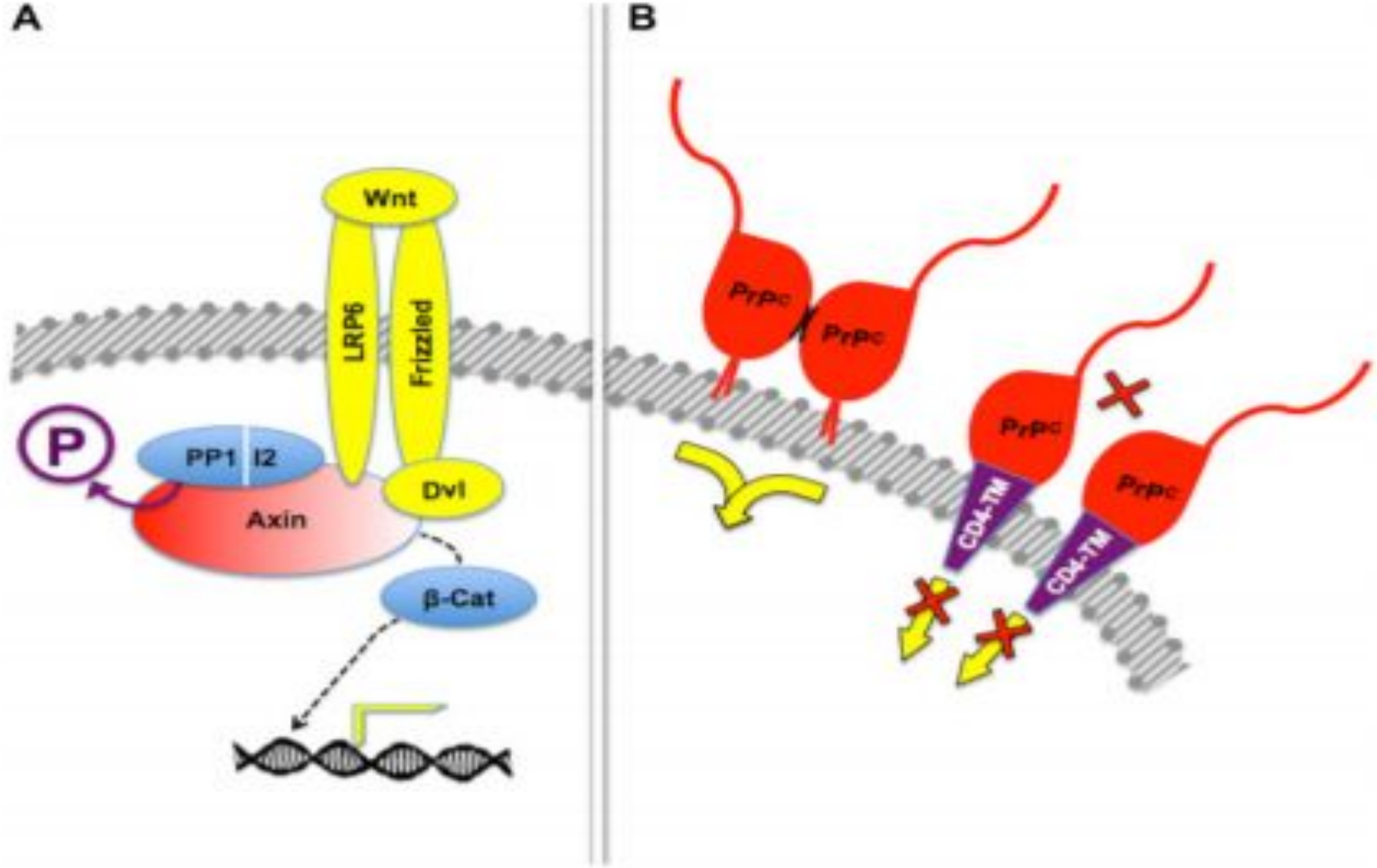
Аллостерические свойства сигнальных модулей



Разделение каркасных сигнальных модулей



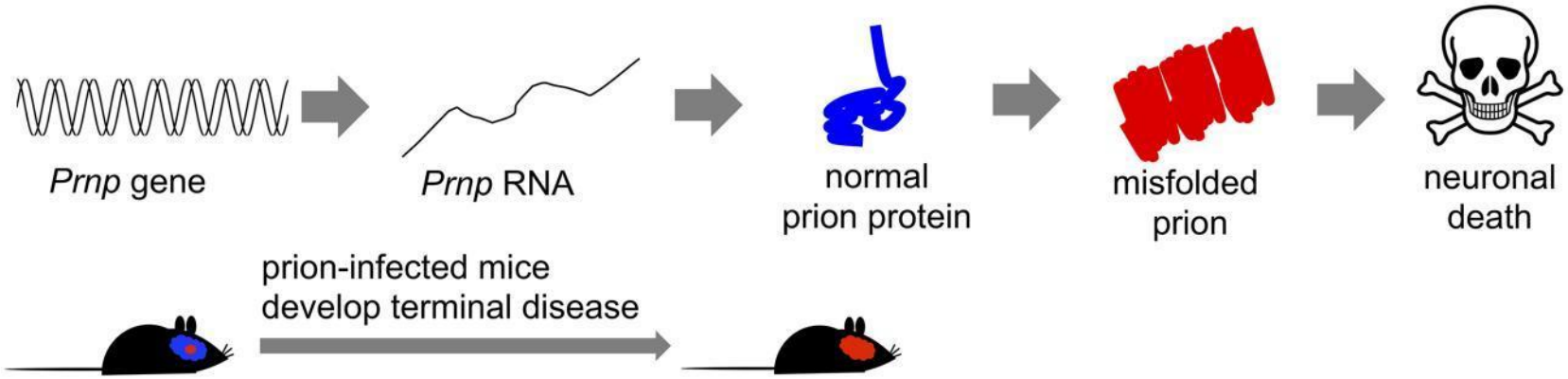
Посттрансляционное регулирование каркасных белков

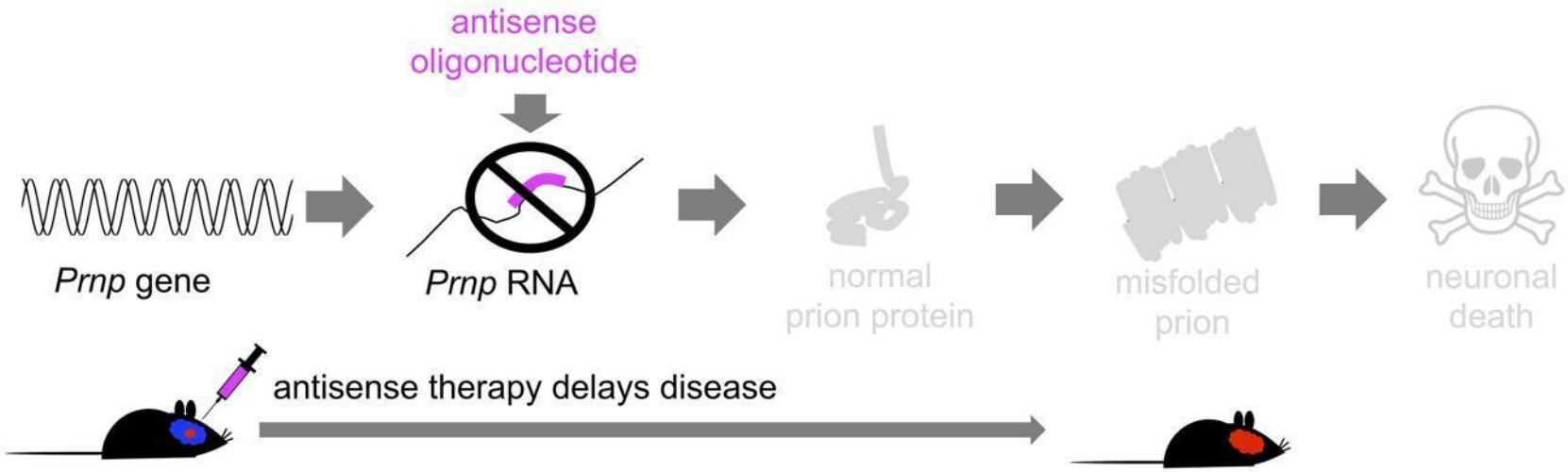


Прионные заболевания на данный момент неизлечимы.

Однако уже на сегодняшний день разработана Антисмысловая терапия, замедляющая на генном уровне рост прионного белка и тем самым достоверно повышает продолжительность жизни.

Подавление мРНК





Прионы будут побеждены!

Список литературы:

- https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28373833#
- https://advances.sciencemag.org/content/advances/2/7/e1600014.full.pdf
- https://insight.jci.org/articles/view/131175#sd
- Aguzzi, A., Baumann, F., and Bremer, J. (2008). The prion’s elusive reason for being. Annu. Rev. Neurosci. 31, 439–477. doi: 10.1146/annurev.neuro.31. 060407.125620
- Alfaidy, N., Chauvet, S., Donadio-Andrei, S., Salomon, A., Saoudi, Y., Richaud, P., et al. (2013). Prion protein expression and functional importance in developmental angiogenesis: role in oxidative stress and copper homeostasis.
- Antioxid. Redox Signal. 18, 400–411. doi: 10.1089/ars.2012.4637
- **Покровский В.И., Киселёв О.И., Черкасский Б.Л., «Прионы и прионные болезни». М.: Изд-во РАМН, 2004, 381 с**. (есть в читальном зале РГБ)