

# Белки как носители наследственной информации

Юрий Олегович Чернов

## Proteins as Information Carriers

Yury O. Chernoff

Professor, School of Biology, Georgia Institute of Technology,  
Atlanta, Georgia, USA

Member, Parker H. Petit Institute for  
Bioengineering and Bioscience

Director, Center for Nanobiology of the  
Macromolecular Assembly Disorders  
(NanoMAD)



<http://www.nanomad.gatech.edu/>

Ведущий научный сотрудник, кафедра генетики и биотехнологии,  
Санкт-Петербургский государственный университет

# СОДЕРЖАНИЕ

## Структурные матрицы и наследственность

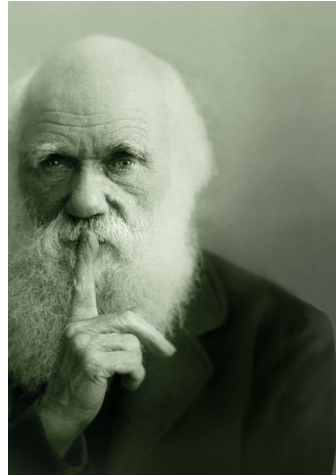
Амилоиды и прионы

Прионы дрожжей как наследственные элементы

Шапероновый аппарат репликации прионов

Позитивные эффекты амилоидов и прионов

# ДАРВИН О НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

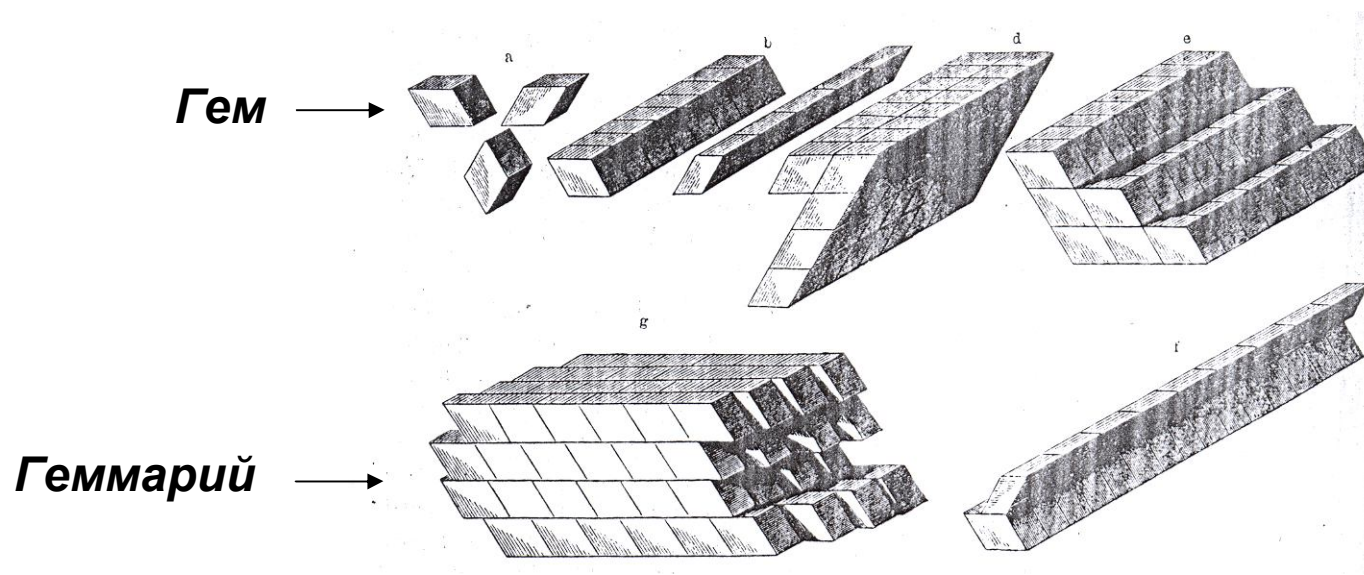


Charles Darwin, The Variation of Animals and Plants under Domestication, 1868  
*Theory of pangenesis*

“I assume that the units throw off minute granules which are dispersed throughout the whole system; that these, when supplied with proper nutriment, multiply by self-division, and are ultimately developed into units like those from which they were originally derived. These granules may be called ***gemmules***. They are collected from all parts of the system to constitute the sexual elements, and their development in the next generation forms the new being”

# КОНЦЕПЦИЯ ГЕМОВ

*Wilhelm Haake, 1893*



*Гем нуклеирует геммарий*

*Новые гемы получаются фрагментированием геммария*

*Изменения в конформации геммария могут влиять на конформацию гемов*

# ИНФОРМАЦИЮ МОЖНО КОДИРОВАТЬ ПО РАЗНОМУ

Последовательностью знаков

shape

Структурой знака

形

**ЕСТЬ ЛИ В ПРИРОДЕ ГЕМЫ И  
ГЕММАРИИ?**

**Трансмиссивные белковые  
изоформы (прионы)**

# СОДЕРЖАНИЕ

Структурные матрицы и наследственность

**Амилоиды и прионы**

Прионы дрожжей как наследственные элементы

Шапероновый аппарат репликации прионов

Позитивные эффекты амилоидов и прионов

# АМИЛОИДНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

(более 40 примеров)

Болезнь Альцгеймера – амилоид  $\beta$  ( $A\beta$ ) и тау ( $\tau$ )

Болезнь Паркинсона -  $\alpha$ -синуклеин

Диабет второго типа – амилин (IAPP)

Болезнь Хантингтона - хантингтин

Атеросклероз - аполипопротеин А-I

Системный амилоидоз – сывороточный амилоид А

Глаукома -  $\gamma$ -синуклеин? миоцилин?

Боковой амиотрофический склероз – SOD, TDP-43

Трансмиссивные спонгиозформные энцефалопатии (TSE),  
или прионовые заболевания - PrP:

Болезнь Кройцфельдта-Якоба

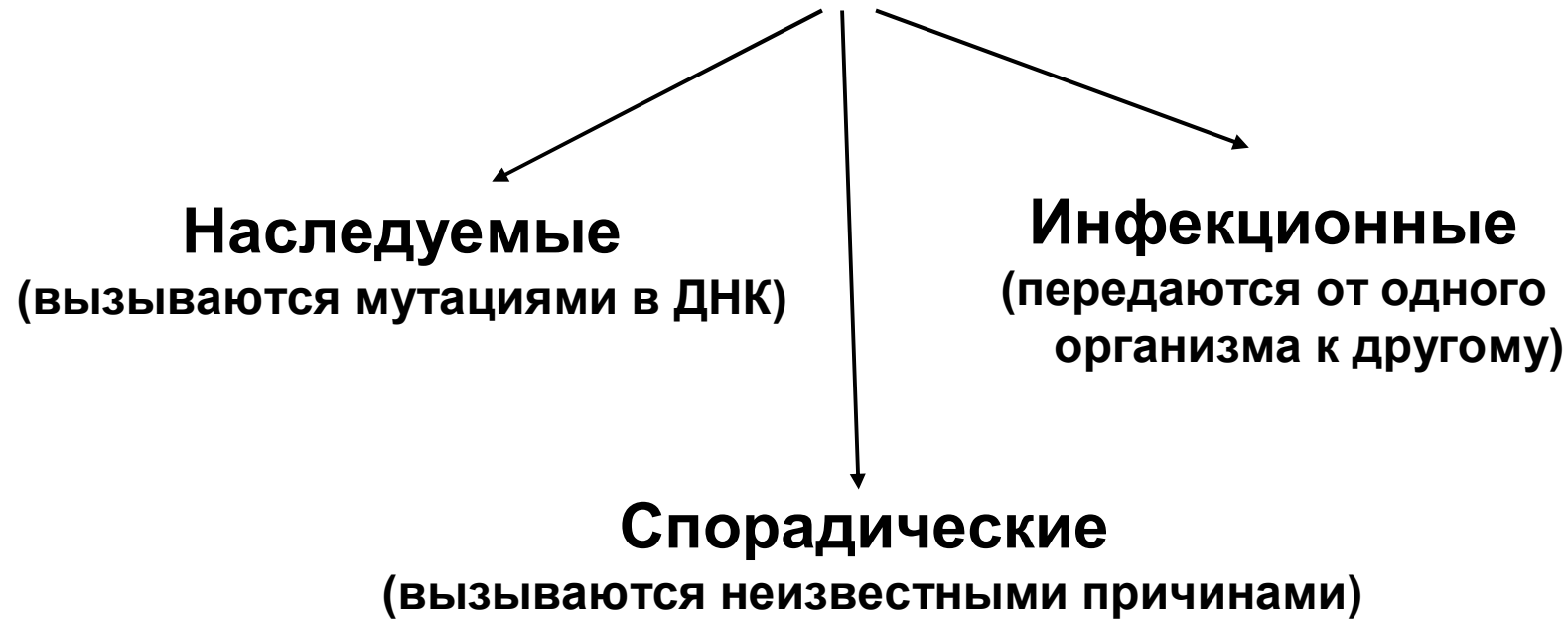
Коровье бешенство (передается людям)

Куру

**Связаны с формированием упорядоченных  
волокнистых белковых агрегатов - амилоидов**



# Амилоидные заболевания



# БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА

< 1% наследуемых случаев, остальные спорадические



У 13% людей старше 65,  
почти половины  
людей старше 85

Смертельна  
и неизлечима

На сегодня, уже бь по счёту из наиболее частых причин смерти, и одна из немногих для которых число смертельных случаев устойчиво растёт (для сравнения, у рака и сердчных заболеваний – падает).

**Чем дольше мы живём тем больше будет роль амилоидных заболеваний.**

# **ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ СВЯЗАННЫЕ С АМИЛОИДНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

**Многие смертельны, большинство неизлечимы**

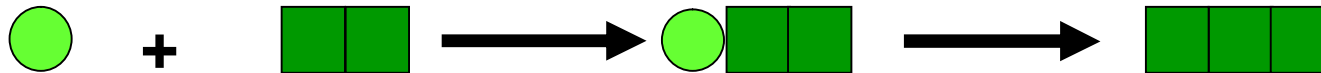
**Факторы среды влияющие на эти заболевания мало  
изучены**

**Профилактические меры не существуют**

**Ранняя диагностика (до появления симптомов) не  
развита; после появления симптомов, лечить  
поздно**

# АМИЛОИДЫ И ПРИОНЫ

Амилоиды – самособирающиеся не-ковалентные полимеры идентичных белковых молекул



Нуклеированная полимеризация («кристаллизация в одном измерении») сопровождается изменением конформации иммобилизированной молекулы.

Таким образом, **амилоидная конформация воспроизводится.**

Прионы – трансмиссивные амилоиды

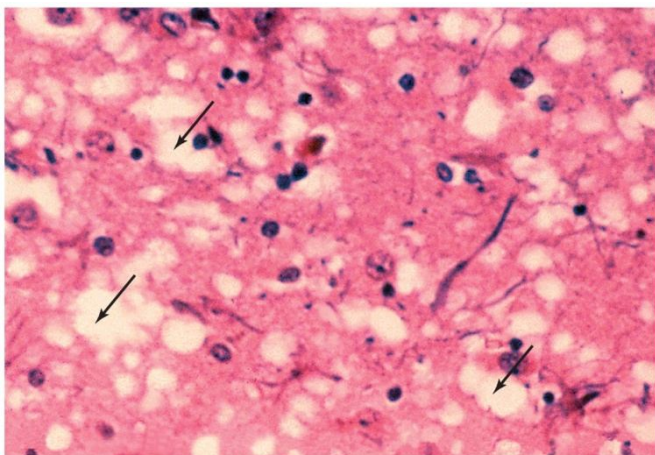
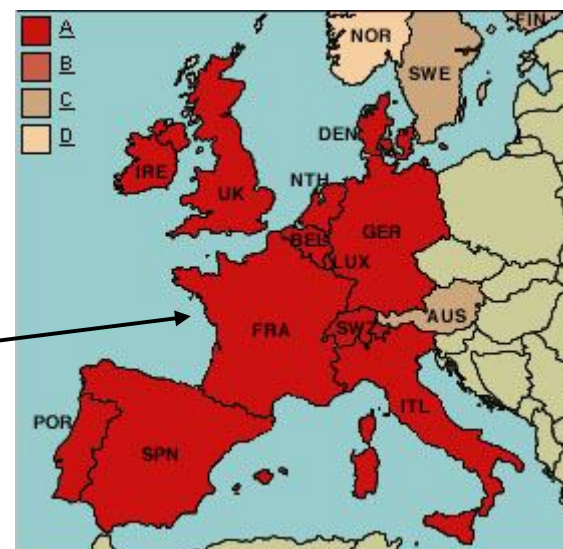
Большинство амилоидных заболеваний передаются между клетками, и для некоторых амилоидов в экспериментальных условиях показана передача между организмами.

**В определённой степени, все амилоиды – прионы.**

Нобелевская премия за прионы – Stanley Prusiner, USA, 1997.

# ПРИМЕР TSE: КОРОВЬЕ БЕШЕНСТВО

- **Появилось в Великобритании в 1986 году**  
Предположительно передалось от овец (у которых и ранее была известна сходная болезнь – **скрэпи**), потому что овечьи субпродукты использовались в пищевых добавках для коров
- **Общее число коров инфицированных в ходе эпидемии оценено в 1 миллион(1996).**
- **Красным цветом обозначены страны с высокой частотой коровьего бешенства**

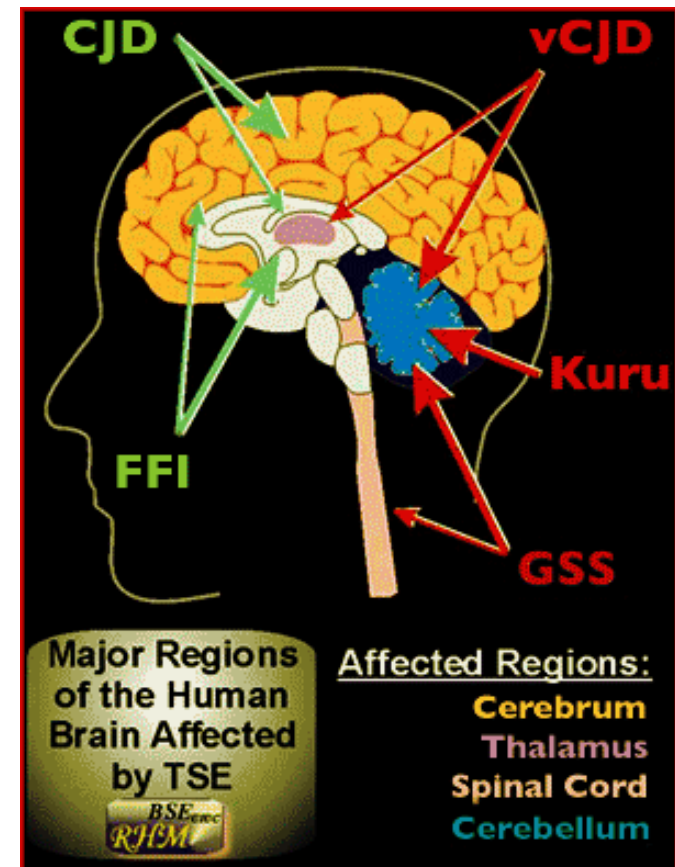


Мозг бешеной коровы

# ПРИОНОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

Связаны с прионовым белком – PrP; смертельны и неизлечимы.

- **Болезнь Кройцфельдта-Якоба (CJD)**  
Спорадическая или наследуемая
- **Вариантная болезнь Кройцфельдта-Якоба (vCJD)**  
Инфекционная (от бешеных коров)
- **Синдром Герстмана — Штраусслера — Шейнкера (GSS)**  
– Наследуемая
- **Смертельная семейная бессонница (FFI)**  
– Наследуемая
- **Куру**  
– Инфекционная (через ритуальный каннибализм у племени форе Новой Гвинеи)



# РОЛЬ ПРИОНОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ЭВОЛЮЦИИ ЧЕЛОВЕКА

(J. Collinge, UK)

**129M/129M** и **129V/129V** гомозиготы по PrP инфицируются прионами чаще чем **129M/129V** гетерозиготы

У форе в Новой Гвинее, **129M/129V** гетерозиготы преобладают

Но и анализ всех других человеческих популяций указывает на балансированный полиморфизм – селекцию в пользу гетерозигот **129M/129V**

Это нельзя объяснить защитой от инфекции со стороны животных (она слишком редкая для такой селекции).

Можно объяснить только если наши предки регулярно ели друг друга.

# ПОИСК ИНФЕКЦИОННОГО АГЕНТА TSE

Первоначально считался вирусом

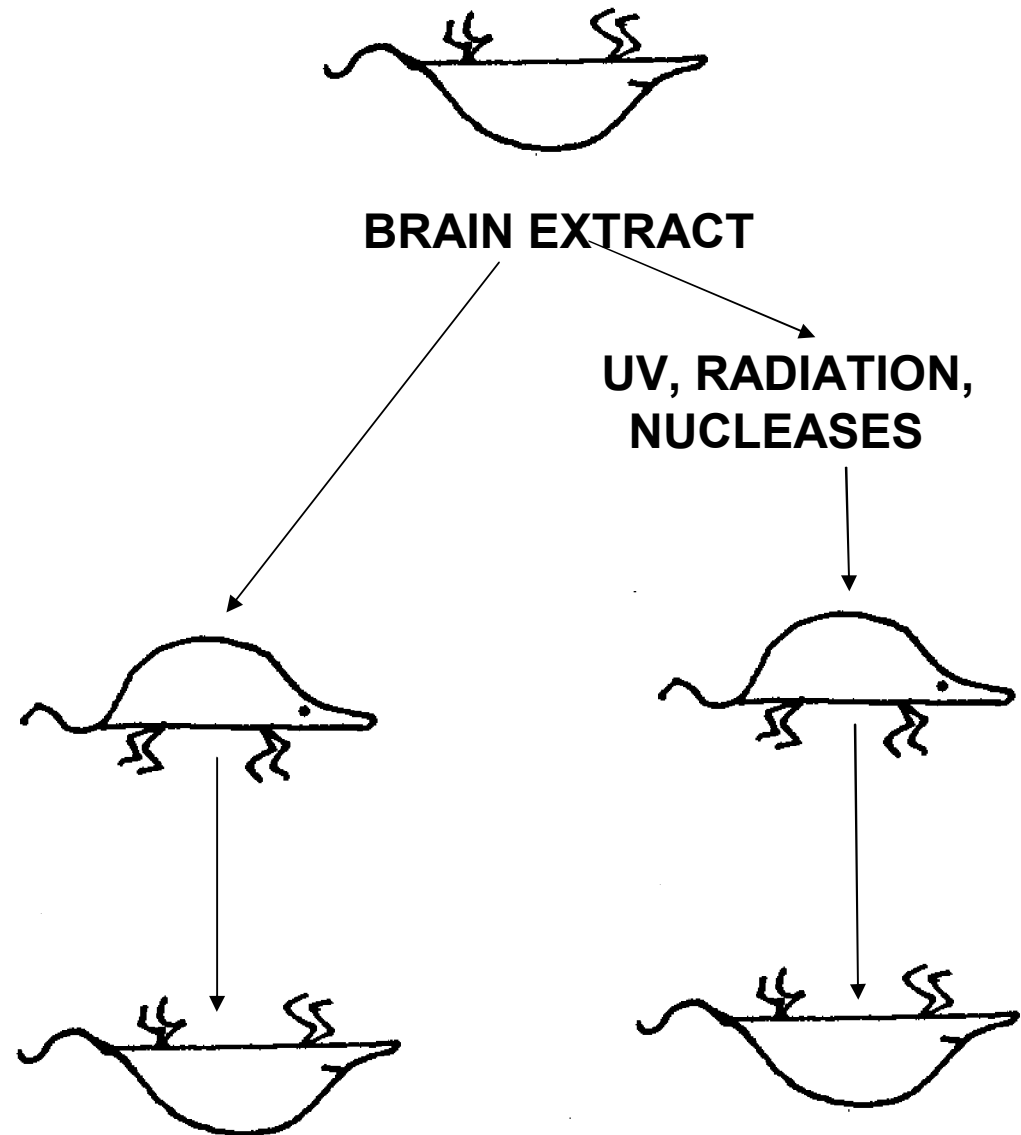
Проблемы:

Вируса не могли найти  
Агент оказался устойчив к  
воздействиям разрушающим  
ДНК, в том числе вирусную  
(Alper, 1966)

Гипотеза: белок (Griffith, 1967)

Предложен термин **prion** =  
**Proteinaceous infectious particle**  
(Prusiner, 1981)

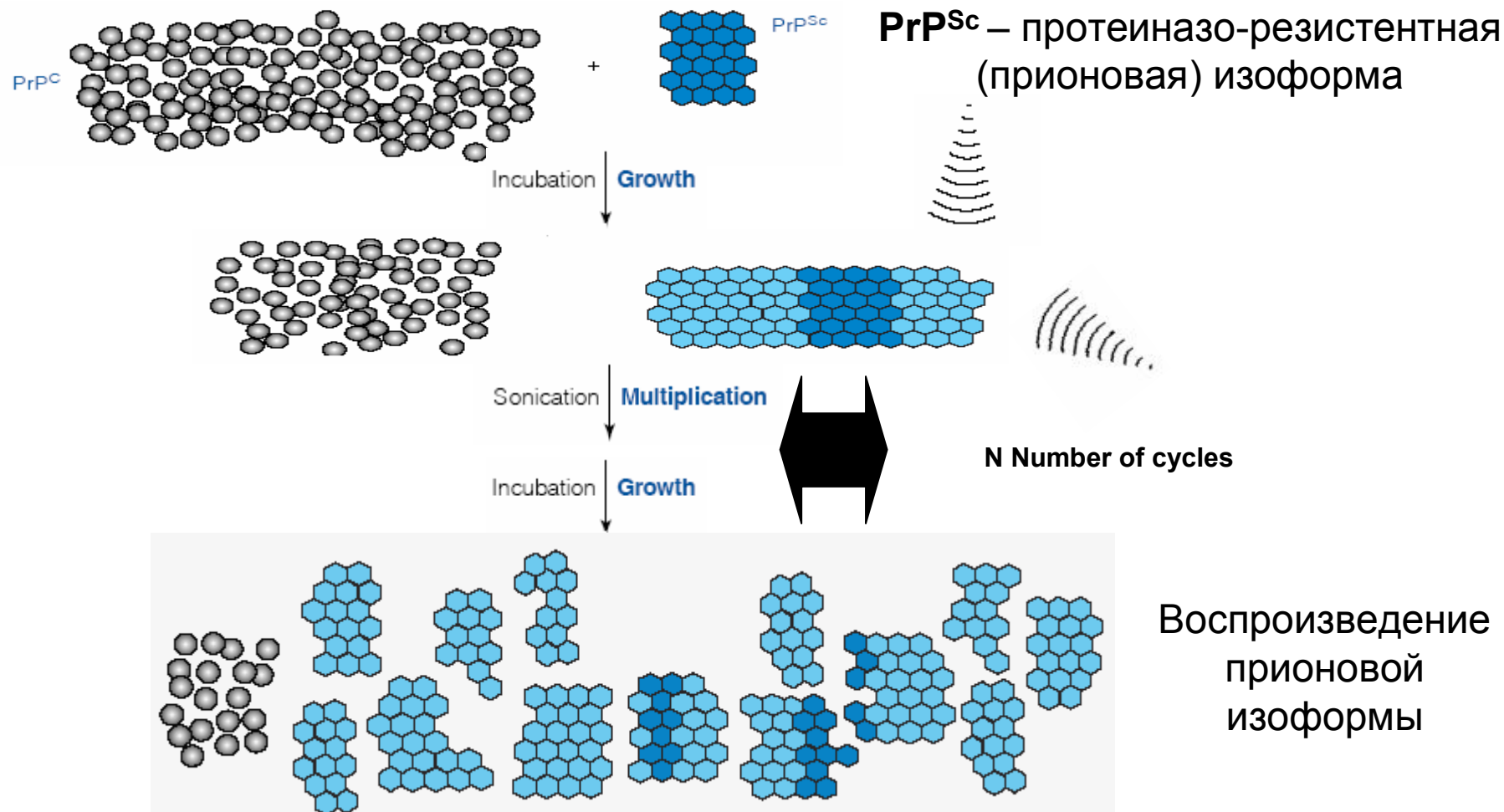
Показано что протеиназо-  
устойчивый гликопротеин,  
названный **prion protein (PrP)**,  
накапливается в амилоидной  
форме в поражённых мозгах  
(Bolton et al., 1982)





# ОКОНЧАТЕЛЬНОЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ПРИОНОВОЙ МОДЕЛИ TSE

**Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA) – С. Soto (2005)**



**Аmplificированные прионы инфицируют животных  
(несколько лабораторий, 2010-2011)**

## **СТАРЫЙ ВЗГЛЯД НА УКЛАДКУ БЕЛКОВ:**

**Первичная структура (последовательность аминокислот) однозначно определяет структуры более высокого порядка**

## **НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА УКЛАДКУ БЕЛКОВ:**

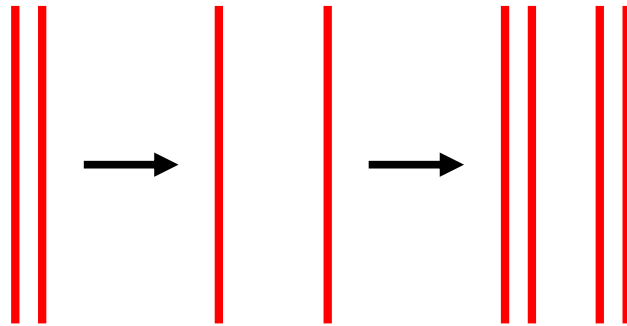
**Одна и та же структура (последовательность аминокислот) может формировать разные структуры более высокого порядка**

**АМИЛОИДЫ И ПРИОНЫ – БЕЛКИ, ФОРМИРУЮЩИЕ  
АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ СТРУКТУРЫ**

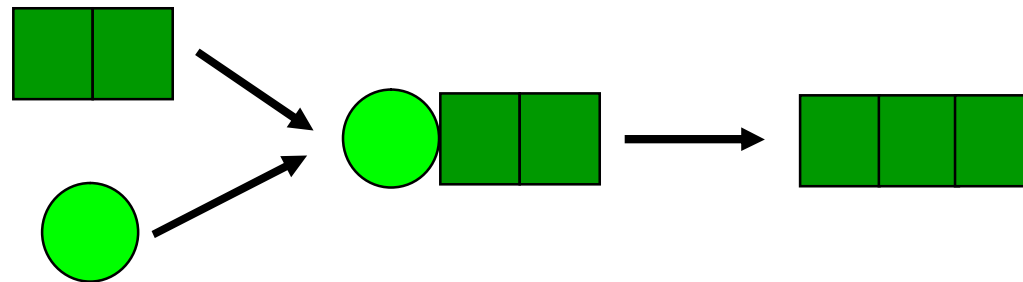
**ЭТО – ГЛАВНАЯ ПРОБЛЕМА С ПРЕДСКАЗАНИЯМИ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ**

# “ТЕКСТОВОЕ” И “СТРУКТУРНОЕ” КОДИРОВАНИЕ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

## «Текстовая» матрица (ДНК)



## Структурная матрица (прион)



# СОДЕРЖАНИЕ

Структурные матрицы и наследственность

Амилоиды и прионы

**Прионы дрожжей как наследственные элементы**

Шапероновый аппарат репликации прионов

Позитивные эффекты амилоидов и прионов

# **ПРИОНЫ ЧЕЛОВЕКА И МЛЕКОПИТАЮЩИХ – БЕЛКОВЫЕ ИНФЕКЦИОННЫЕ АГЕНТЫ**

**ПРИОНЫ ДРОЖЖЕЙ ПЕРЕДАЮТСЯ ЧЕРЕЗ  
ЦИТОПЛАЗМУ**

**Это делает прионы дрожжей  
НЕМЕНДЕЛЕВСКИМИ ГЕНЕТИЧЕСКИМИ  
ЭЛЕМЕНТАМИ (белковыми генами)**

**ПРИОНЫ ДРОЖЖЕЙ – ПРИМЕР БЕЛКОВОЙ  
НАСЛЕДСТВЕННОСТИ**

# ОБНАРУЖЕНИЕ ПРИОНОВ ДРОЖЖЕЙ

- 1965 – *Cox* описывает неменделевский элемент  $\Psi^+$ , или  $[PSI^+]$
- 1971 – *Lacroute* описывает неменделевский элемент  $[URE3]$
- 1981 - *Tuite* и *Cox* показывают изгнание  $[PSI^+]$  химическими агентами, включая гуанидин гидрохлорид
- 1993 – *Chernoff, Derkatch* и *Inge-Vechtomov* показывают индукцию  $[PSI^+]$  оверпродукцией белка Sup35
- 1994 - *Cox* и *Ter-Avanesyana* показывают что белок Sup35 необходим для поддержания  $[PSI^+]$   
*Reed Wickner* заключает что  $[URE3]$  (на основании его собственных данных) и  $[PSI^+]$  (на основании данных *Cox, Tuite* и *Chernoff* с коллегами) являются прионами *Saccharomyces cerevisiae*
- 1995 - *Chernoff* (работа выполненная последовательно в лабораториях *Ono, Inge-Vechtomov* и *Liebman*, при участии *Lindquist*) показывает что шаперон Hsp104, узнающий агрегированные белки, контролирует поддержание  $[PSI^+]$
- 1995-1997 – *Wickner, Lindquist* and *Ter-Avanesyana* показывают что  $[URE3]$  и  $[PSI^+]$  связаны с изменёнными изоформами, соответственно, белков Ure2 and Sup35
- 2004 – *J. Weissman* и *King* показывают что  $[PSI^+]$  передаётся при трансфекции агрегированного белка Sup35

# ПРИМЕРЫ ПРИОНОВ ДРОЖЖЕЙ

Прион	Белок	Функция
[ <i>PSI</i> <sup>+</sup> ]	Sup35 (eRF3)	Фактор терминации трансляции
[ <i>URE3</i> ]	Ure2	Регулятор азотного метаболизма
[ <i>RNQ</i> <sup>+</sup> ], or [ <i>PIN</i> <sup>+</sup> ]	Rnq1	?
[ <i>SWI</i> <sup>+</sup> ]	Swi1	Ремоделер хроматина
[ <i>OCT</i> <sup>+</sup> ]	Cyc8	Транскрипционный корепрессор
[ <i>MOT3</i> <sup>+</sup> ]	Mot3	Транскрипционный репрессор
[ <i>ISP</i> <sup>+</sup> ]	Sfp1	Глобальный регулятор транскрипции

Прионы дрожжей не гомологичны PrP млекопитающих или друг другу

Прионовый домен (PrD)

Функциональная часть



Обычно на N или C конце,  
в большинстве случаев QN-богатый

Больше **20** подтверждённых прионовых доменов найдено у дрожжей  
 Более **100** предполагаемых кандидатов в дрожжевом геноме  
 Не менее **250** белков с похожими доменами в геноме человека

# ПРИОНЫ ДРОЖЖЕЙ КОНТРОЛИРУЮТ ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ

Белок Sup35 в не-прионовой  
форме ( $[psi^-]$ )

Нет роста на –Ade



Красный на полной среде



Белок Sup35 в прионовой форме  
( $[PSI^+]$ )

Рост на –Ade



Белый на полной среде



**ЭТИ ДВА ШТАММА ИМЕЮТ ИДЕНТИЧНЫЕ ГЕНОМЫ**

**Они не различаются ни на один нуклеотид**

**НА УРОВНЕ ДНК, ОНИ ТОЧНЫЕ КЛОНЫ ДРУГ ДРУГА**

**У НИХ РАЗНЫЕ ФЕНОТИПЫ**

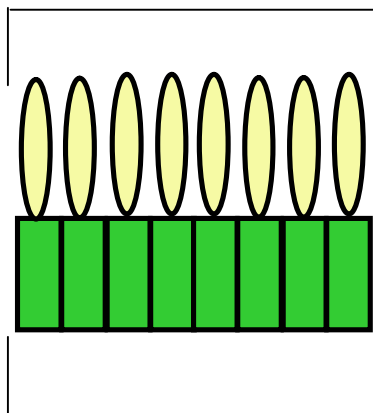
**ЭТИ ФЕНОТИПЫ НАСЛЕДУЮТСЯ СТОЛЬ ЖЕ ТОЧНО КАК И ЛЮБЫЕ  
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ**

**МАЛО ГЕНОМИКИ – НУЖНА ПРИОНОМИКА!**



# МОДЕЛЬ АМИЛОИДНОГО ВОЛОКНА

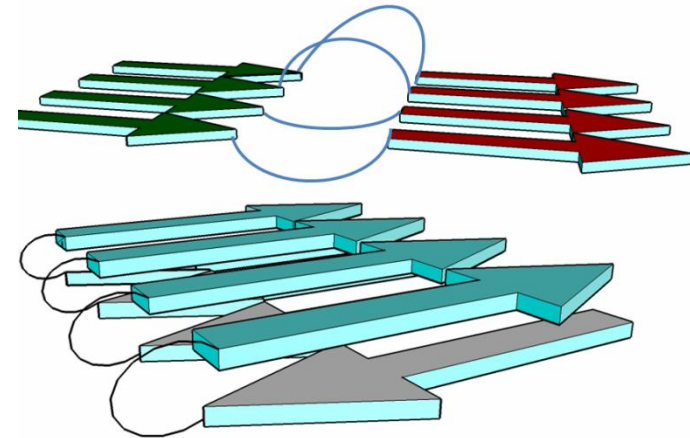
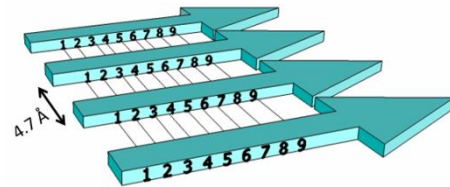
Не-PrD участки экспонированы на стороне  
и могут быть в нормальной укладке



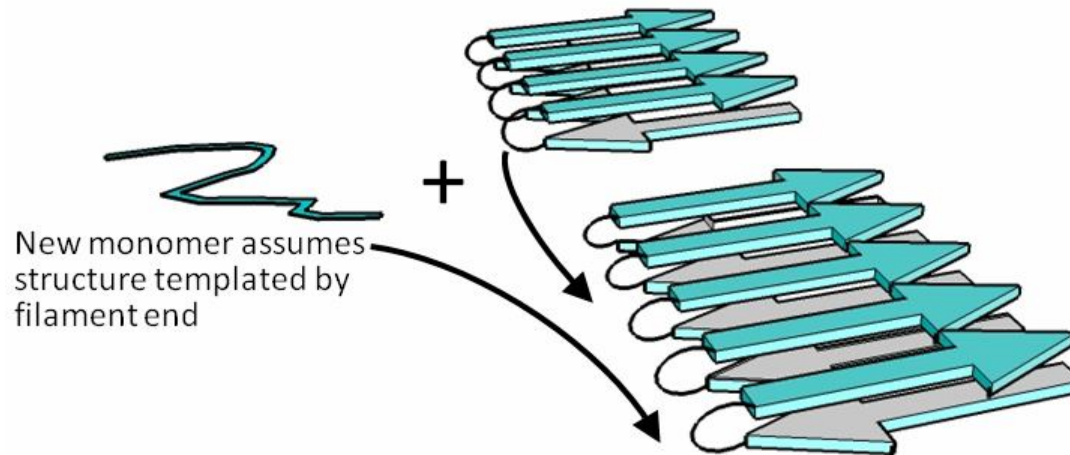
Ось волокна  
Формируется прионовыми доменами (PrD)

# СТРУКТУРА ПРИОНОВ ДРОЖЖЕЙ: ПАРАЛЛЕЛЬНЫЙ $\beta$ -ЛИСТ

(Wickner)



Новый мономер укладывается в структуру соответствующую предсуществующей



# ВАРИАНТЫ (ШТАММЫ) ПРИОНА

[PSI<sup>+</sup>]      [psi<sup>-</sup>]

Strong   Weak

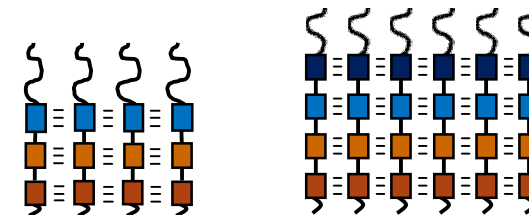


Найдены и у прионов  
млекопитающих

Один белок может образовывать  
разные варианты приона

Когда возник конкретный вариант,  
он точно воспроизводится

В модели параллельного  $\beta$ -листа,  
это объясняется тем что исходная  
матрица точно задаёт расположение  
 $\beta$ -структур в новой молекуле



Strong strain

Weak strain

# СОДЕРЖАНИЕ

Структурные матрицы и наследственность

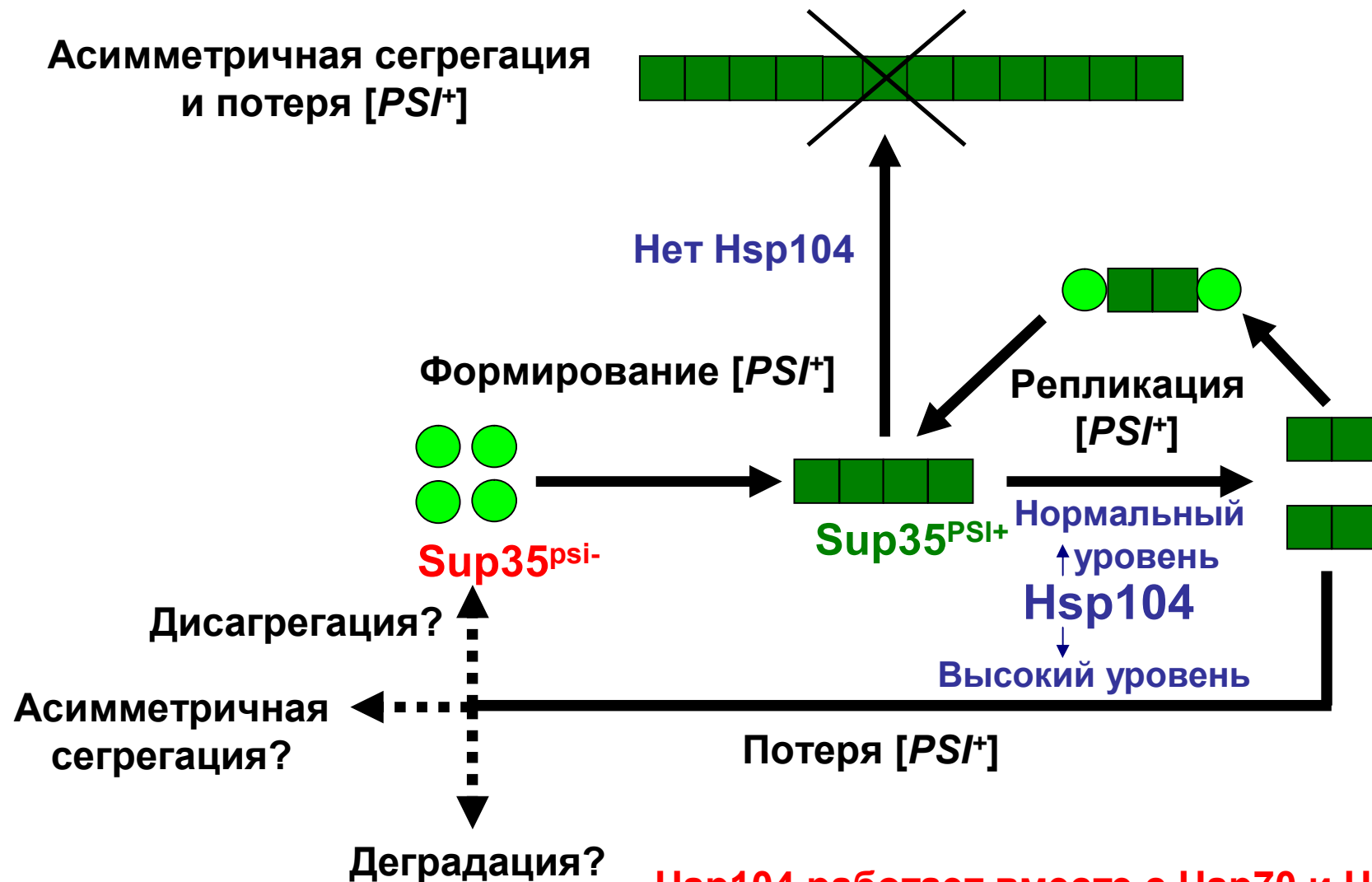
Амилоиды и прионы

Прионы дрожжей как наследственные элементы

**Шапероновый аппарат репликации прионов**

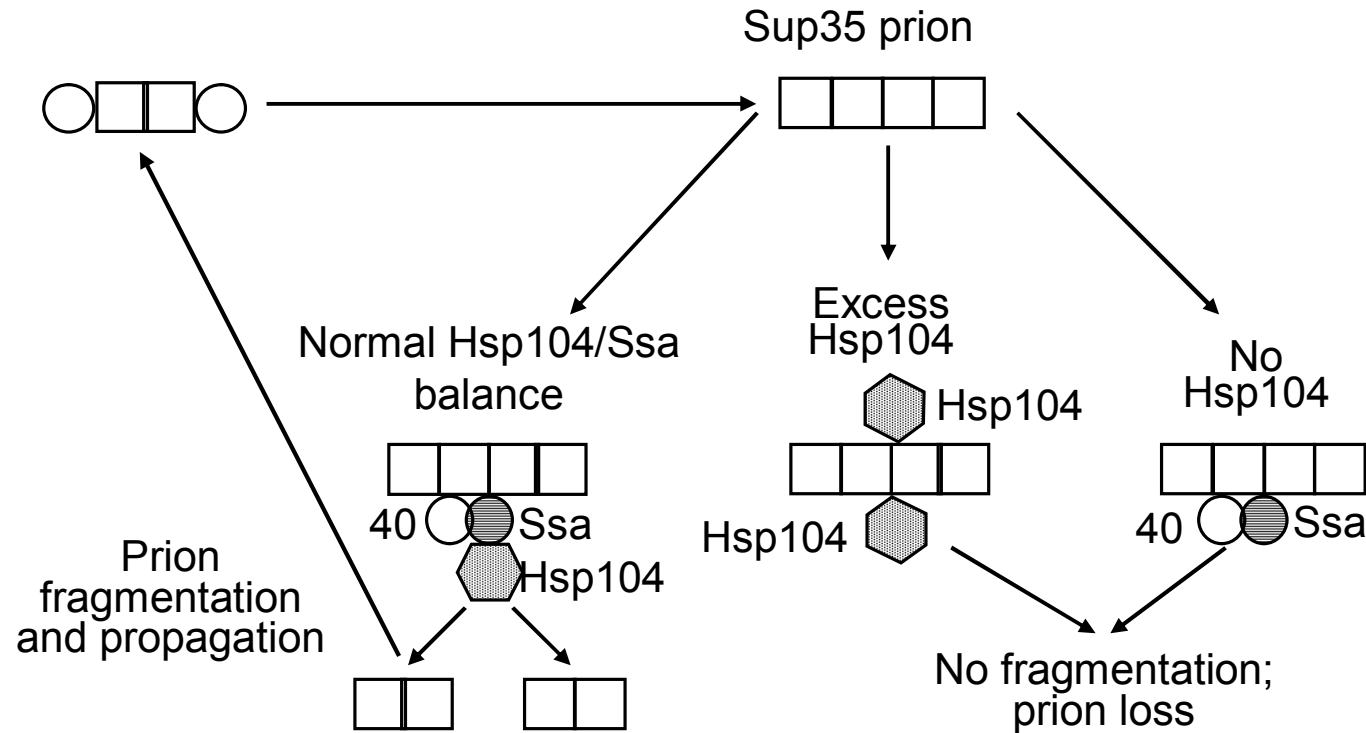
Позитивные эффекты амилоидов и прионов

# ШАПЕРОН HSP104 НЕОБХОДИМ ДЛЯ «РЕПЛИКАЦИИ» ДРОЖЖЕВЫХ ПРИОНОВ



Hsp104 работает вместе с Hsp70 и Hsp40

# БАЛАНС ШАПЕРОНОВ РЕГУЛИРУЕТ РЕПЛИКАЦИЮ ПРИОНА



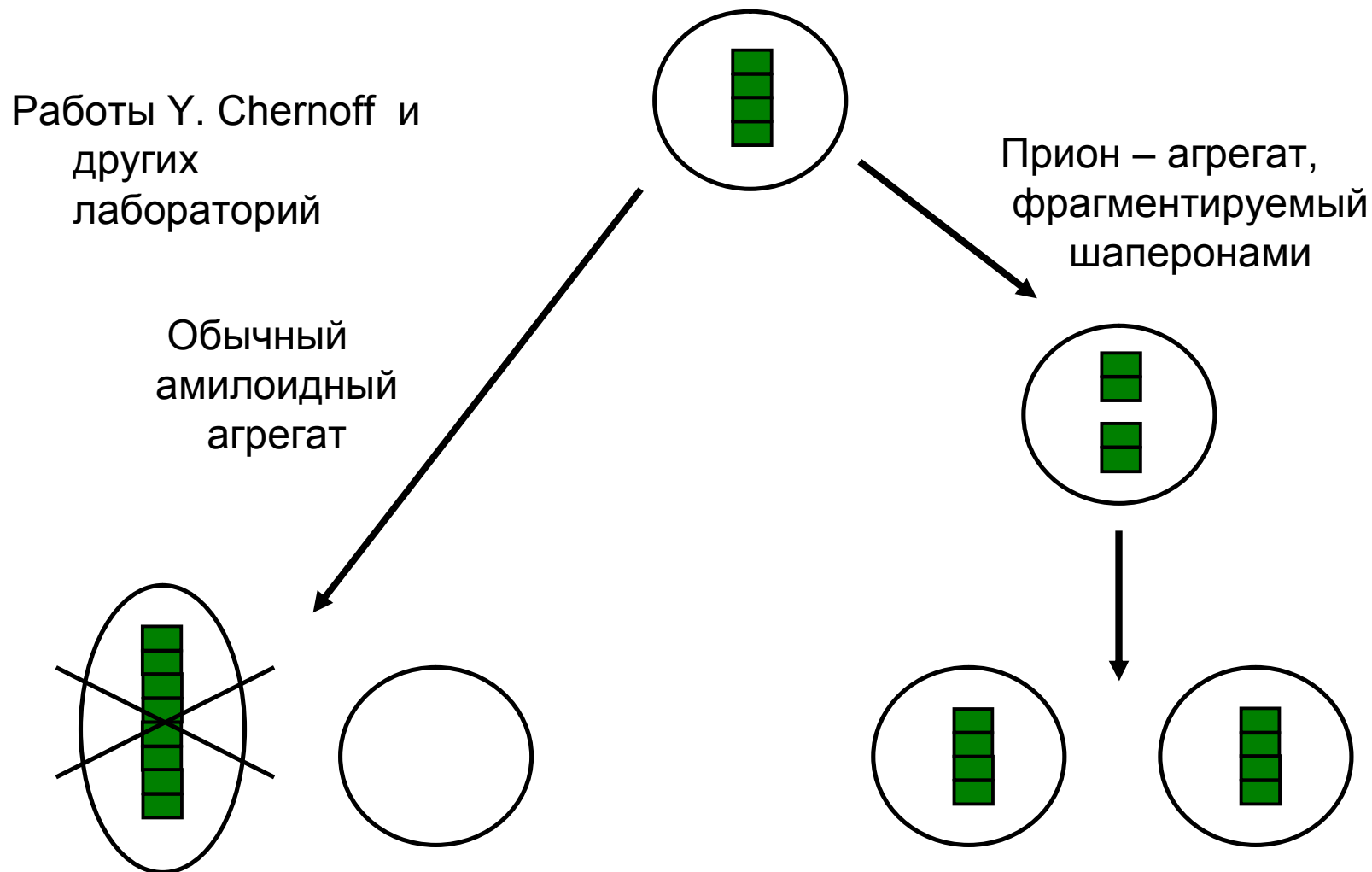
Ssa – один из Hsp70

Другой Hsp70 (Ssb) – антагонист приона

Манипуляции с шаперонами Hsp70 приводят к белковому мутагенезу (появлению приона)

Нарушение баланса Hsp104/70 при хит шоке дестабилизирует прион

# ПРИОНЫ ДРОЖЖЕЙ ПЕРЕДАЮТСЯ В КЛЕТОЧНЫХ ПОКОЛЕНИЯХ БЛАГОДАРЯ ШАПЕРОНАМ



# СОДЕРЖАНИЕ

**Структурные матрицы и наследственность**

**Амилоиды и прионы**

**Прионы дрожжей как наследственные элементы**

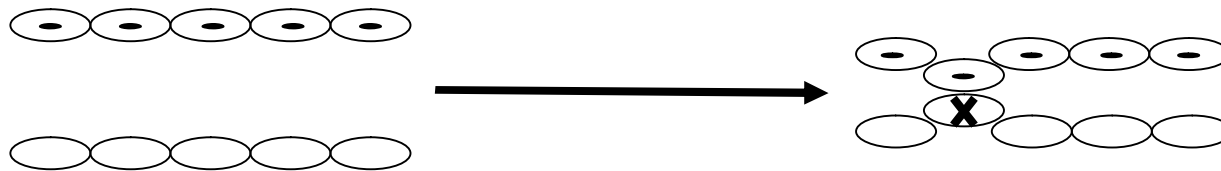
**Шапероновый аппарат репликации прионов**

**Позитивные эффекты амилоидов и прионов**



# ЕСТЬ ЛИ ПОЛЕЗНЫЕ ПРИОНЫ?

**[Het-s] у гриба *Podospora***



# ИЗВЕСТНЫЕ ПОЛЕЗНЫЕ ЭФФЕКТЫ АМИЛОИДОВ

Роль скаффолда при синтезе ковалентных полимеров (например меланина) у млекопитающих и человека

Хранение пептидных гормонов у млекопитающих

Защита от замораживания (рыбья икра)

Взаимодействие между клетками (биофильмы) и с субстратом у бактерий и грибов

Волокнистые белки – например, паучий шёлк

Долговременная память? (Моллюск *Aplysia* и мушка *Drosophila* )

# ПРИОН $[PSI^+]$ – ВРЕД ИЛИ ПОЛЬЗА?

## Вред:

Сверхпродукция Sup35 токсична в  $[PSI^+]$  клетках (*Chernoff et al.*) из-за секвестрации компонентов трансляционного аппарата (*Liebman*)

Присутствие  $[PSI^+]$  делает полиглутамины токсичными для дрожжей (*Chernoff, Sherman*) из-за секвестрации компонентов трансляционного аппарата (*Chernoff, Masison/Green, Ter-Avanesyan*)

В некоторых штаммах присутствие  $[PSI^+]$  вызывает стресс (*Tuite, Masison*)

$[PSI^+]$  исключительно редок в не-лабораторных штаммах дрожжей (*Chernoff, Tuite, Lindquist, Wickner*)

Получены варианты  $[PSI^+]$  которые летальны в отсутствие неприоинизируемого (лишённого прионового домена) белка Sup35 (*Wickner*)

## Заключение:

**$[PSI^+]$  – амилоидное заболевание дрожжей (*Wickner*)**

# ПРИОН [*PSI*<sup>+</sup>] – ВРЕД ИЛИ ПОЛЬЗА?

## Польза?

(Преимущественно, работы лаборатории и школы *Lindquist*)

Некоторые [*PSI*<sup>+</sup>] штаммы растут лучше чем изогенные [*psi*<sup>-</sup>] штаммы в неблагоприятных условиях

Стрессы могут индуцировать появление [*PSI*<sup>+</sup>]

[*PSI*<sup>+</sup>] всё же найден в 1% природных и индустриальных штаммов

## Гипотеза:

**Дефект терминации трансляции может увеличивать спектр синтезируемых белков и тем самым, расширять возможности адаптации (*Lindquist*)**

# МНОГО ЛИ ПРИОНОВ В ПРИРОДЕ?

Гуанидин гидрохлорид (GuHCl) – ингибитор Hsp104. Рост на среде с GuHCl приводит к потере всех известных прионов дрожжей.

Не менее 1/3 природных и лабораторных штаммов дрожжей обладают потенциально адаптивными признаками (устойчивость к антигрибным агентам, способность расти в различных неблагоприятных условиях и пр.) которые исчезают после инкубации на среде с GuHCl (*Lindquist*)

Этот результат подтверждён нашими данными для другой выборки штаммов. Мы наблюдали признаки модифицируемые GuHCl у примерно 50% штаммов включавших все виды *Saccharomyces sensu stricto*.

**Эти данные показывают что прионы широко распространены у дрожжей и связаны с потенциально адаптивными признаками.**

# ПРЕИМУЩЕСТВО ПРИОНОВ КАК ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ

Некоторые возникают часто (частота спонтанного появления приона  $Rnq1$ — на уровне  $10^{-2}$ ).

Индукцируются стрессами не вызывающими изменений ДНК (существует принципиальная возможность прямой адаптации а ля Lamarck).

«Слабые» варианты прионов теряются часто (то есть вероятность обратного изменения при возврате к прежним условиям выше).

У «слабых» штаммов изменение фенотипа не столь радикально и меньше вероятность плейотропных эффектов чем у многих генных мутаций.

Наличие приона повышает вероятность отбора мутаций действующих на фенотип в том же направлении (**замена «фенокопий» «генокопиями»**):

**[psi]**:  $10^6$  клеток на  $-Ade$  среде -----  $Ade^+$  мутанты не возникают (обычная частота  $10^{-8}$ )

**Слабый нестабильный [PSI\*]**:  $10^6$  клеток на  $-Ade$  среде --- Медленно растут до  $\sim 10^9$  --- Появляются и селектируются быстрорастущие мутанты  $Ade^+$

**МНОГИЕ (ЕСЛИ НЕ ВСЕ) БЕЛКИ ФОРМИРУЮТ АМИЛОИДЫ IN VITRO  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ**

**ВОЗМОЖНО ЧТО АМИЛОИД – ДРЕВНЕЙШИЙ ВАРИАНТ БЕЛКОВОЙ УКЛАДКИ**

**АМИЛОИДЫ МОГЛИ УЧАСТВОВАТЬ В ФОРМИРОВАНИИ ДРЕВНЕЙШИХ  
БИОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР И МЕМБРАН**

**БОЛЬШИНСТВО БЕЛКОВ УТЕРЯЛИ СПОСОБНОСТЬ ФОРМИРОВАТЬ  
АМИЛОИДЫ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ, ПОТОМУ ЧТО ЭТО  
МЕШАЛО ДРУГИМ КОНФОРМАЦИЯМ**

**ПРИОНЫ СОХРАНИЛИ ЭТУ СПОСОБНОСТЬ**

# **СКОЛЬКО АМИЛОИДОВ И ПРИОНОВ ЕСТЬ У ЧЕЛОВЕКА?**

**Около 1-4% каждого эукариотического протеома представлено белками с QN-богатыми доменами, сходными с прионами дрожжей**

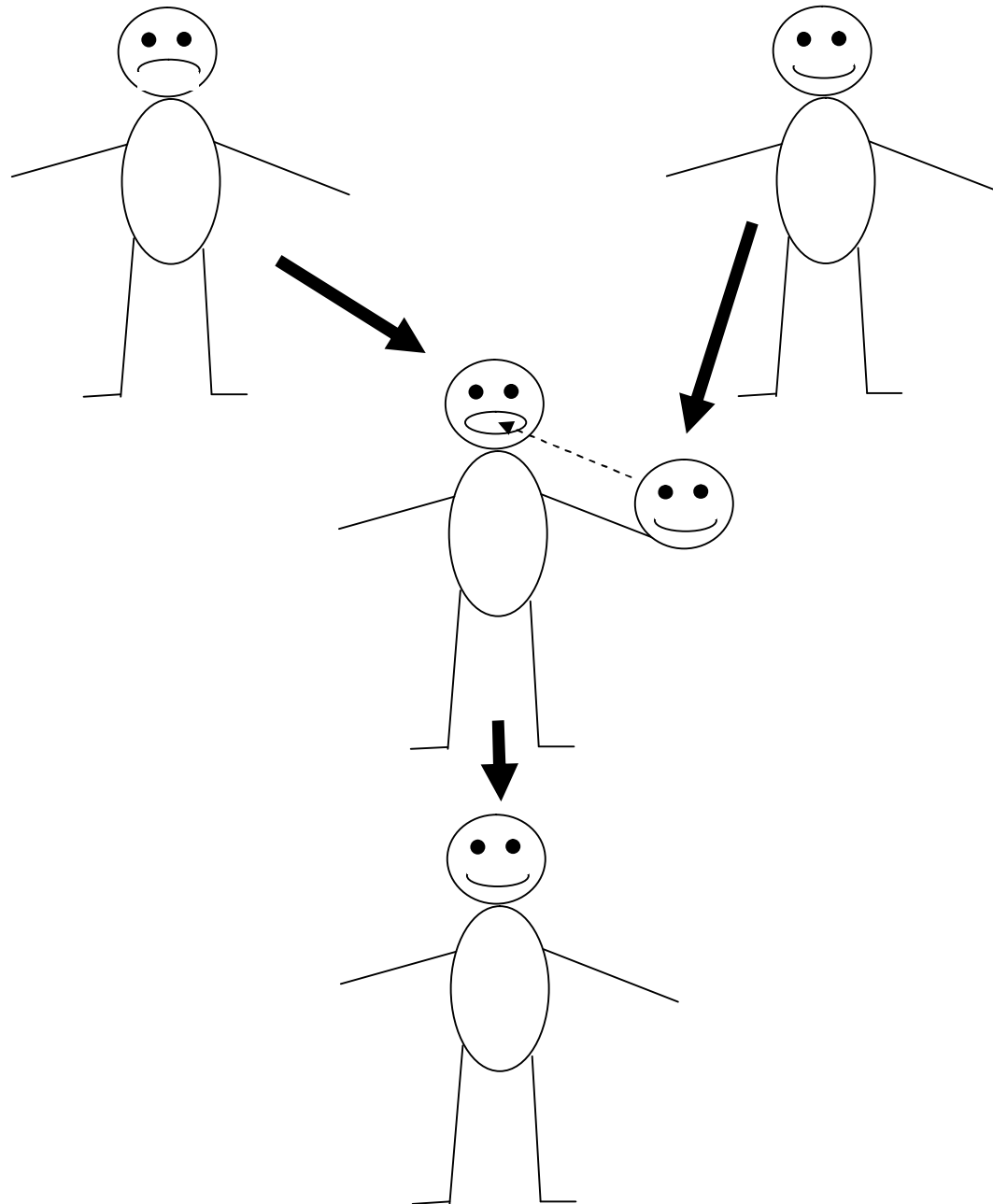
**У человека таких белков по крайней мере 250**

**Есть не QN-богатые амилоиды и прионы (A $\beta$ ,  $\alpha$ -синуклеин, PrP, и пр.)**

**То есть на самом деле прионов и амилоидов может быть ещё больше**



# ЕСТЬ ЛИ ПОЛЕЗНЫЕ ПРИОНЫ У ЛЮДЕЙ?



# **ВЫВОДЫ**

- **Биологическая (в том числе наследственная) информация передаётся не только текстовыми но и структурными матрицами**
- **Прионы (базирующиеся на нуклеированной полимеризации амилоидов) могут быть инфекционными агентами и наследствуемыми элементами**
- **В геномах разных организмов (включая человека) много белков имеющих потенциальные прионовые домены**
- **Воспроизведение прионовых белков в клеточных делениях зависит от шаперонов**
- **Прионы распространены в природе и могут контролировать не только болезни но и потенциально адаптивные признаки**

# Рекомендуемая литература

- Чернов, Ю.О. (2010) Белковая наследственность и эволюция. В книге: Чарльз Дарвин и современная биология. Сборник трудов Международной научной конференции, 21-23 сентября 2009 г. (отв. ред. Колчинский, Э.И., ред. Федотова, А.А.), СПб.: Нестор-История, с. 76-94 (ISBN 978-5-98187-622-6).
- Liebman, S.W. & Chernoff, Y.O. (2012) Prions in yeast. *Genetics* 191:1041-1072 (Yeastbook series).
- Chernoff, Y.O. (ed.) *Protein-Based Inheritance*. Landes Bioscience, Austin, TX (2007), 137 pp. (ISBN 978-1-58706-138-7).
- Weissmann, C. (2004) State of prion. *Nature Rev Microbiol* 2: 861-871.
- Wickner, R.B. *et al.* (2007) Yeast prions: evolution of the prion concept. *Prion* 1: 94-100.
- Aguzzi, A. and L. Rajendran (2009) The transcellular spread of cytosolic amyloids, prions, and prionoids. *Neuron* 64: 783-790.