

Priony — nowy czynnik zakaźny

Tomasz Gogiel
Zakład Biochemii
Akademia Medyczna
Białystok

1. Budowa i właściwości prionów

Termin „prion” został wprowadzony przez Stanleya B. Prusinerą w 1982 r. na oznaczenie małej „zakaźnej cząsteczki białkowej” (*proteinaceous infectious particle*), odpornej na inaktywację przez większość procedur uszkadzających kwasy nukleinowe (1). Termin ten podkreśla, że białko jest istotnym składnikiem czynnika zakaźnego (1,2).

W hipotezie *protein-only* zakłada się, że prion jest pozbawiony jakiegokolwiek informacyjnego kwasu nukleinowego, a istotnym składnikiem patogenym jest białko. Nie wyklucza się jednak w niej połączenia z innymi „nieinformacyjnymi” cząsteczkami, takimi jak lipidy lub glikozoaminoglikany (2). Obecnie powszechnie przyjmuje się w tej hipotezie, zgodnie z poglądami Prusinerą, że priony zbudowane są z białka PrP^{Sc}, które jest patologiczną, konformacyjną odmianą prawidłowego białka PrP^C, znajdującego się w mózgu i innych narządach kręgowców (2). Powielanie PrP^{Sc} jest procesem posttranslacyjnym, polegającym jedynie na wymuszaniu konformacyjnej zmiany kolejnych cząsteczek PrP^C w PrP^{Sc} (3).

1.1. Komórkowe białko prionowe PrP^C

Komórkowe białko prionowe (PrP^C) jest glikoproteiną kodowaną przez gen (PRNP) umiejscowiony na ludzkim chromosomie 20 (4). Geny kodujące PrP scharakteryzowano w wielu gatunkach ssaków, homologi tego genu wykryto m.in. w genomach ptaków i muszki owocowej (5). Gen człowieka składa się z dwóch eksonów, natomiast cała sekwencja kodująca białko (otwarta ramka odczytu) mieści się w drugim eksonie (5), co wyklucza możliwość istnienia odmian białka, wynikających z procesu alternatywnego składania mRNA (4).

Produkt translacji mRNA u człowieka składa się z 253 reszt aminokwasowych i jest w znacznym stopniu homologiczny z PrP innych gatunków ssaków (4,5). Produkty translacji mRNA myszy i chomika zbudowane są z 254 reszt aminokwasowych (4). Peptyd sygnałowy, zbudowany z 22 reszt

aminokwasowych od strony końca aminowego, jest usuwany w świetle szorstkiej siateczki śródplazmatycznej podczas biosyntezy białka (4). Od strony końca karboksylowego znajduje się domena zbudowana z 23 reszt aminokwasowych, która jest usuwana przed „zakotwiczeniem” do błonowego fosfolipidu zawierającego inozytol (glikozylofosfatydyloinozytolu). W wiązaniu tego glikolipidu uczestniczy C-końcowa reszta serylowa (4). Charakterystyczną cechą niektórych odmian glikozylofosfatydyloinozytolu, związanych z PrP, jest obecność w ich składzie kwasu sjałowego (6). W pobliżu końca karboksylowego cząsteczki znajduje się pętla utworzona przez wewnątrzłańcuchowy mostek disiarczkowy, w obrębie której umiejscowione są dwie reszty asparaginy, zdolne do przyłączenia oligosacharydów (4). Umożliwia to ekspresję odmian PrP zawierających jeden lub dwa łańcuchy cukrowe lub pozbawionych takich łańcuchów (7).

Po translacji i wydzieleniu do siateczki śródplazmatycznej PrP^C przechodzi przez aparat Golgiego, w którym dochodzi do modyfikacji oligosacharydów (4), a następnie jest transportowany w pęcherzykach wydzielniczych do błony komórkowej, gdzie pełni swoją funkcję (4). PrP^C ulega reinternalizacji do wnętrza komórki, prawdopodobnie lizosomów, gdzie zachodzi rozpad cząsteczki w jej N-końcowym fragmencie, w miejscu wysoce zachowawczej sekwencji aminokwasowej. C-końcowy fragment cechuje stabilność, ulega on ponownemu wbudowaniu do błony komórkowej. Przeważająca większość białka (powyżej 95%) wraca na powierzchnię komórki w nie naruszonej postaci (8).

1.2. Występowanie PrP^C

Jakkolwiek największe stężenie mRNA dla PrP^C stwierdzono w neuronach (4), białko to występuje powszechnie w innych komórkach, nawet poza układem nerwowym. W mózgu gryzoni mRNA dla PrP^C ulega ekspresji także w komórkach wyściółki (*ependyma*), nabłonka spłotu naczyniastego, pericytach, komórkach śródbłonka i oponach, jak również w astrocytach i komórkach mikrogleju (9).

W badaniach *Northern blot* na tkankach szczurzych wykazano najwyższe poziomy ekspresji mRNA w mózgu i łożysku (10). Obecność mRNA dla PrP^C wykazano też w warstwie mięśniowej macicy i kanalik nasiennym w jądrze (11).

W badaniach immunologicznych wykazano obecność PrP^C w wielu tkankach poza układem nerwowym chomika, m.in. w krążących limfocytach, sercu, mięśniach szkieletowych, płucach, jelitach, śledzionie, jądrach i jajnikach (12).

W badaniach różnych tkanek i narządów człowieka również potwierdza się istnienie PrP^C poza układem nerwowym. Za pomocą mono- i poliklonalnych przeciwciał oraz znakowania fluorescencyjnego zlokalizowano PrP^C w postsynaptycznej domenie złącza nerwowo-mięśniowego (13). Obecność tego białka lub jego mRNA wykazano także w makrofagach mięśniowych (14), regenerujących włóknach mięśniowych (15), komórkach α i β wysepek trzustkowych (16) oraz w hodowlach komórkowych fibroblastów, pochodzących z więzadła okołozębowego (17).

Ekspresję genu PrP^C wykryto w ludzkich limfocytach, monocytach i neutrofilach (18). Do wytwarzania tego białka są również zdolne płytki krwi. Zarówno spoczynkowe, jak i aktywowane trombocyty wydzielają rozpuszczalną formę tego białka oraz produkt jego częściowej degradacji, pozbawiony 89 reszt aminokwasowych od strony końca aminowego (19).

1.3. Funkcje PrP^C

Fizjologiczna funkcja PrP^C nie została dotychczas wyjaśniona (2). W badaniach na transgenicznym myszom, pozbawionych genu PrP, wykazano ich normalny rozwój i zachowanie oraz brak defektów immunologicznych w ciągu pierwszych miesięcy życia (2,5). Po dłuższym okresie jednak u zwierząt takich, na skutek utraty komórek Purkinjego w mózdzku pojawiają się i postępują objawy ataksji. Może to świadczyć, że PrP^C zapewnia długoterminowe przeżycie tych neuronów (20). Myszy pozbawione genu PrP^C cechuje również fragmentacja snu przejawiająca się podwojoną liczbą epizodów krótkich wybudzeń, co sugeruje rolę tego białka w podtrzymywaniu ciągłości snu (21). Obserwuje się także zaburzenia w funkcjonowaniu złącza synaptycznego (22).

Nieprawidłowości w przekazywaniu sygnału mogą wynikać z utraty ochronnych właściwości wykazywanych przez PrP^C przy zwiększeniu stężenia jonów Cu²⁺ w otoczeniu (22). Wykazano, że PrP^C zdolne jest do wiązania Cu²⁺ *in vivo*. Metal ten wiąże się z N-końcową domeną zawierającą bogate w glicynę i prolinę oktapeptydowe powtórzenia PHGGGWGQ (22). Przypuszcza się, że PrP^C oprócz funkcji w przekazywaniu sygnału, może transportować jony miedzi do przedziałów wewnątrzkomórkowych (22). W poglądzie tym wyjaśnia się zmniejszenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej zależnej od Cu i Zn u myszy pozbawionej genu PrP (23). Ten ostatni efekt może być przyczyną większej podatności hodowanych komórek mózdzku na stres oksydacyjny i częściej obserwowanej śmierci komórki (23). Wiązanie jonów miedzi z N-końcową domeną PrP^C może mieć również udział w tworzeniu uporządkowanej struktury tego białka. W badaniach przeprowadzonych na sztucznych peptydach obejmujących sekwencję oktapeptydową PHGGGWGQ wykazano, że wiązanie jonu Cu²⁺ z odcinkiem HGGG indukuje transformację struktury C-końcowej części peptydu z nieuporządkowanej w α -helikalną (24).

Znacznie mniej wiadomo o funkcjach PrP^C poza układem nerwowym. Obecność zwiększonych ilości tego białka w regenerujących włóknach mięśniowych może świadczyć o jego roli w rozwoju mięśni (15). Uważa się, że istnieje dodatnia korelacja między ekspresją mRNA kodującego PrP^C a zatrzymaniem wzrostu komórki i jej zróżnicowaniem (17).

1.4. Rola PrP^C w rozwoju zakażenia

PrP^C jest niezbędnym czynnikiem, wymagany do zakażenia prionami i rozwoju choroby. Wykazano to na badaniach przeprowadzonych na myszach pozbawionych genu tego białka, które są odporne na zakażenie (25).

Bardziej wysublimowane eksperymenty przeprowadzono na myszach pozbawionych PrP^C, którym wszczepiono do mózgu tkankę nerwową wytwarzającą zwiększone ilości tego białka i zakażono domózgowo prionami *scrapie*. Pomimo rozwoju poważnych zmian histopatologicznych w obrębie wszczepu i wytworzenia dużych ilości patologicznej formy białka (PrP^{Sc}), które migrowało do tkanki gospodarza, nie zaobserwowano żadnych zmian patologicznych w tkance pozbawionej PrP^C, nawet w bezpośrednim otoczeniu przeszczepionej tkanki. Wyniki te świadczą o podstawowej roli PrP^C w rozwoju choroby (26).

Przy innej, niż domózgowa drodze zakażenia, istotny udział pełni PrP^C obwodowych tkanek gospodarza. U myszy pozbawionych genu tego białka przeszczep szpiku kostnego z komórkami wytwarzającymi PrP^C umożliwia namnażanie się prionów w śledzionie po zakażeniu dożylnym lub dootrzewnowym, nie wystarcza jednak do wytworzenia patologicznych zmian we wszczepach tkanki nerwowej produkującej PrP^C w mózgu zwierząt doświadczalnych (27).

1.5. Struktura przestrzenna PrP

Istnieją konformacyjne różnice pomiędzy PrP^C a PrP^{Sc}. W badaniach przeprowadzonych za pomocą metod dichroizmu kołowego i spektroskopii w podczerwieni wykazano, że komórkowa postać tego białka zawiera około 42% α -helisy i 3% harmonijki β , podczas gdy postać patologiczna — około 30% α -helisy i aż 43% harmonijki β (5,28). Jeszcze wyższą zawartość harmonijki β (54%) i mniejszą α -helisy (21%) cechuje PrP27-30, które jest produktem częściowej hydrolizy PrP^{Sc}, powstającym w wyniku odcięcia N-końcowego fragmentu cząsteczki (o długości 67 reszt aminokwasowych (4)) i tworzącym agregaty amyloidu w mózgu (5,28). W modelach komputerowych opisuje się PrP^C jako białko zawierające 4 obszary α -helikalne, tworzące zwartą strukturę. Sugeruje to ponadto, że PrP^{Sc} powstaje na skutek rozfaldowania dwóch helis zbliżonych do końca aminowego cząsteczki i przekształcenia ich w harmonijkę β (3,5). W przeprowadzonych badaniach NMR jedynie częściowo potwierdzono słuszność komputerowego modelu PrP^C. Uzyskany technikami rekombinacyjnymi fragment PrP^C chomika, zawierający reszty aminokwasowe 90-231, cechuje obecność 3 obszarów α -helikalnych i 2 odcinków o strukturze harmonijki β (3). Podobne obrazy otrzymano dla PrP myszy, obejmującego całą sekwencję dojrzałego białka (reszty aminokwasowe 23-231) (2,3). C-końcowa połowa cząsteczki, zbudowana z 3 helis α i 2 odcinków tworzących harmonijkę β , tworzy stabilną globularną strukturę. Odcinek N-końcowy, złożony z reszt 23-120, rozciąga się w długi, giętki, pozbawiony struktury „ogon”, który umożliwia cząsteczce przyjęcie różnych konformacji (2,3).

W badaniach przeprowadzonych z użyciem przeciwciał wykazano, że główna zmiana konformacji, jaka zachodzi podczas konwersji PrP^C w PrP^{Sc}, lokalizuje się w obrębie reszt aminokwasowych 90-112 (3).

Konformacyjnym przekształceniom towarzyszą głębokie zmiany właściwości białka. PrP^C cechuje podatność na działanie enzymów proteolitycznych, natomiast PrP^{Sc} jest mało wrażliwy na proteazy (3). Produkt ograniczonej

hydrolizy tego białka (PrP²⁷⁻³⁰) nie ulega dalszemu trawieniu i tworzy złogi amyloidu w mózgu (4,5). Inna różnica dotyczy rozpuszczalności w roztworach nie denaturujących detergentów, do czego zdolna jest jedynie komórkowa forma PrP (3).

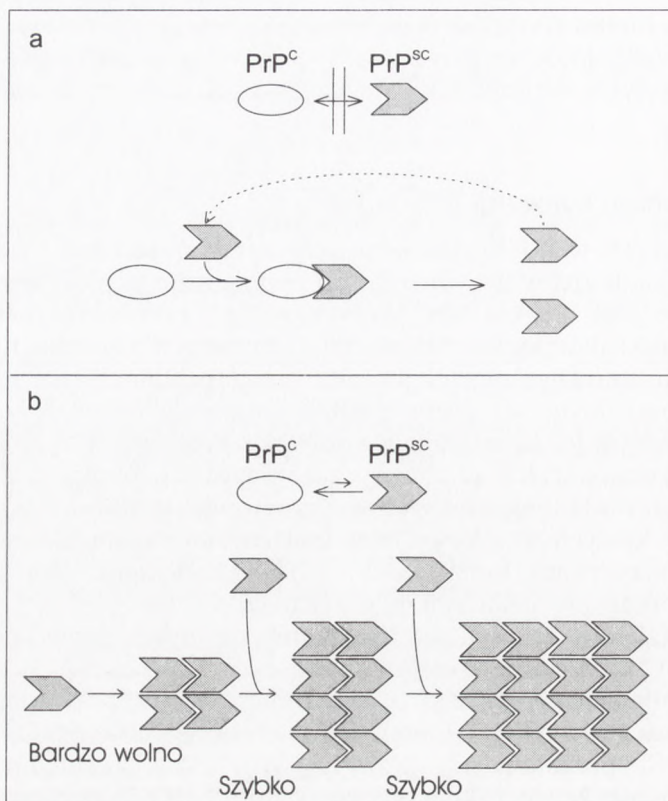
1.6. Mechanizm konwersji PrP^C w PrP^{SC}

Konwersja PrP^C w PrP^{SC} zachodzi wewnątrzkomórkowo. Istnieją poglądy, że proces ten zachodzi w lizosomach, po endocytozie komórkowej formy białka prionowego (29). Pogląd ten, jak się wydaje, potwierdza tworzenie struktury harmonijki β w kwaśnym pH (30). W innych badaniach, przeprowadzonych na zmutowanych formach PrP, wykazano fałdowanie ich cząsteczek w nieprawidłową formę w obrębie retikulum endoplazmatycznego (31,32).

Prusiner postuluje, że w trakcie konwersji PrP^C w PrP^{SC} uczestniczy dodatkowa makrocząsteczka, prowizorycznie nazwana „białkiem X”. Wykazano to w badaniach na transgenicznym myszom, wytwarzających „chimeryczne” białko PrP, w których środkowy fragment mysiej cząsteczki zastąpiono sekwencją aminokwasową ludzkiego PrP^C (33). Zwierzęta takie były bardziej podatne na zakażenie prionami pochodzącymi z mózgu ludzi zmarłych na chorobę Creutzfeldta-Jakoba, niż transgeniczne myszy posiadające gen PrP^C człowieka (33). Zazwyczaj istnieje trudność w zakażeniu obcogatunkowymi prionami, nasilająca się wraz ze zwiększeniem różnic sekwencji aminokwasowej pomiędzy PrP dawcy i biorcy, co określa się mianem „bariery gatunkowej” (3,4). Na podstawie wyników uzyskanych w opisanych doświadczeniach sugeruje się, że interakcje pomiędzy PrP^{SC} a PrP^C zachodzą w obszarze pomiędzy 96 a 167 resztą aminokwasową, zaś C-końcowy odcinek PrP^C wiąże się z białkiem X, działającym prawdopodobnie jako molekularny opiekun, ułatwiający zarówno fizjologiczne fałdowanie PrP^C, jak i tworzenie PrP^{SC} (3,33). Białko X dotychczas nie wyizolowano, chociaż istnieją dowody, że może nim być białko szoku termicznego Hsp 60, które zdolne jest do oddziaływań *in vitro* z rekombinacyjnym PrP^C obejmującym reszty aminokwasowe 23-231 i PrP²⁷⁻³⁰ chomika syryjskiego. Miejsce interakcji lokalizuje się pomiędzy 180 a 210 resztą aminokwasową białka prionowego (34).

Istnieją dwa zasadnicze modele tłumaczące mechanizm konwersji PrP^C w PrP^{SC}. W jednym z nich, tak zwanym modelu „ponownego fałdowania” (*refolding*), zakłada się zmianę kształtu PrP^C w wyniku interakcji z egzogennym PrP^{SC} (rys. 1a). Nowo powstające cząsteczki PrP^{SC} przekształcają kolejne cząsteczki PrP^C, co prowadzi do kaskady konwersji w tempie wykładniczym. Spontanicznej zmianie konformacji zapobiega wysoka energia aktywacji (2).

Założenie, że monomer PrP^{SC} mógłby przekształcać PrP^C jest sprzeczne z wynikami badań eksperymentalnych, w których wykazuje się bardzo niski stosunek jednostek infekcyjnych do cząsteczek odpornych na proteazy (1: 100 000 lub mniejszy) (2,4). Nie można jednak wykluczyć, że jednostka infekcyjna jest rzadkim i odrębnym składnikiem mieszaniny różnych cząsteczek PrP (2). Molekuła ta mogłaby wykazywać szczególną konformację lub być nośnikiem specyficznej, kowalencyjnej modyfikacji. Istnieje również mo-



Rys. 1. Modele konformacyjnej konwersji PrP^C w PrP^{SC}: a) model ponownego fałdowania (*refolding*), b) model zasiewu (*seeding*). Opis w tekście. Opracowano na podstawie (2).

żliwość istnienia niekowalencyjnie związanych kofaktorów, takich jak peptydy, oligosacharydy, kwasy tłuszczowe, sterole lub związki nieorganiczne (4).

Bardziej zgodne z wynikami tych badań jest założenie, że jednostka infekcyjna jest agregatem wielu identycznych cząsteczek PrP (2). Pogląd ten obrazuje model „zasiewu” lub „jader krystalizacji” (*seeding*; rys. 1b). Zakłada się w nim, że konformacyjna przemiana pomiędzy PrP^C a PrP^{SC} jest termodynamicznie kontrolowana i odwracalna, z równowagą reakcji przesuniętą silnie w kierunku formy prawidłowej (rys. 1b). Stabilizacja PrP^{SC} zachodzi jedynie po połączeniu z podobnym do kryształu „ziarnem” lub agregatem PrP^{SC}. Samoistne tworzenie agregatu jest bardzo powolne, proces jego wzrostu zachodzi z dużą szybkością (rys. 1b) (2).

Model ten jest zgodny z wynikami ostatnio przeprowadzonych badań eksperymentalnych. We frakcjonowaniu PrP^{SC}, częściowo rozpuszczonego w chlorkowodorku guanidyny, ujawniono zdolność do renaturacji i odzyskania „zdolności konwertującej” jedynie dla nierozpuszczalnych agregatów tego białka (35). W badaniach *in situ* przeprowadzonych na skrawkach mózgu wykazano

powstawanie nowych cząsteczek patologicznej formy białka prionowego z PrP^C na skutek ich inkorporacji do opornych na proteazy złożeń PrP (36).

Należy zaznaczyć, że tworzące agregaty PrP^{SC} nie jest ich jedynym składnikiem. Występujące w chorobach prionowych złoże amyloidu, zarówno wewnątrz-, jak i pozakomórkowe, wykazuje również obecność proteoglikanów zawierających siarczan heparanu (37). Stwierdzono, że heparyna i czerwień Kongo, silne inhibitory akumulacji PrP opornego na proteazy w komórkach zakażonych *scrapie*, wiążą się zarówno z PrP^C, jak i PrP^{SC}. Wyniki te potwierdzają rolę endogennych proteoglikanów w tworzeniu złożeń PrP w chorobach prionowych (38).

1.7. Priony u drożdży

PrP nie jest jedynym białkiem w przyrodzie, zdolnym do przybierania 2 różnych, stabilnych form przestrzennych. Podobne właściwości wykazuje występujące u drożdży *Saccharomyces cerevisiae* białko Ure2p, które hamuje pobieranie ureidobursztynianu w obecności jonów NH⁴⁺ (39). W pewnych stanach metabolicznych, na przykład przy nadprodukcji tego białka, wytwarza się dziedziczona cytoplazmatycznie cecha fenotypowa [URE3], pozwalająca drożdżom na zużycie ureidobursztynianu pomimo obecności jonów amonowych (39). Ure2p, pochodzący od szczepów drożdży z tą cechą, wykazuje oporność na proteazy, podobnie jak patologiczna forma PrP. N-końcowa domena Ure2p (reszty 1-65) zdolna jest do indukcji [URE3] w nieobecności odcinka C-końcowego, zaś ta ostatnia domena, odpowiadająca za funkcję białka, ulega inaktywacji jedynie, wtedy gdy wchodzi w skład nienaruszonej cząsteczki (40).

Właściwości podobne do PrP wykazuje występujące również u drożdży białko Sup35p, homolog czynnika uwalniającego łańcuch polipeptydowy 3 (*polypeptide chain release factor 3*, eRF3) organizmów wyższych (2). Białko to może tworzyć wielkocząsteczkowe agregaty, blokujące aktywność Sup35p, co prowadzi do wytworzenia dziedziczającego się cytoplazmatycznie fenotypu [PSI+], hamującego proces terminacji translacji (41). Może to mieć korzystny wpływ w przypadku współistnienia mutacji nonsensowych, które w innych warunkach prowadziłyby do śmierci komórki (2). Podobnie, jak w przypadku Ure2p i PrP, podstawową rolę w tworzeniu nowej formy białka pełni domena N-końcowa, która sama lub jako składnik większych fragmentów cząsteczki, zdolna jest do tworzenia agregatów w komórkach [PSI+] (41). Oczyszczone białko Sup35 i domeny indukujące [PSI+] tworzą *in vitro* włókna bogate w harmonijkę β , podobnie jak w przypadku amyloidu odkładającego się m.in. w chorobach prionowych (42). Preformowane włókna przyspieszają silnie tworzenie włókien przez niespolimeryzowane białko (42). Zjawiska te silnie przypominają model „zasiewu” konwersji PrP w formę patologiczną.

2. Historia odkrycia prionów jako czynnika etiologicznego chorób uważanych dawniej za wirusowe

Przez wiele lat uważano, że czynnikiem powodującym *scrapie*, encefalopatię gąbczastą owiec i kóz, jest niekonwencjonalny wirus. Jednakże w latach sześćdziesiątych Tikvah Alper, radiobiolog ze szpitala Hammersmith w Londynie, wykryła znaczną oporność czynnika powodującego *scrapie* na promieniowanie jonizujące. Tkanka mózgowa chorych owiec pozostawała zakaźna pomimo zastosowania dawek zdolnych do zniszczenia DNA lub RNA. Wyniki te pozwoliły badaczce na odważną sugestię, że czynnik infekcyjny *scrapie* jest pozbawiony kwasów nukleinowych. Wkrótce potem J.S. Griffith, fizyk z Bedford College w Londynie, w oddzielnej pracy naszkicował śmiałą hipotezę, w której opisał czynnik *scrapie* jako zmodyfikowaną, patologiczną odmianę konformacyjną komórkowego białka, która może katalizować zmianę struktury innych, prawidłowych cząsteczek (43). Był to wstępny szkic hipotezy „tylko białko” (*protein-only*) (2).

Poglądy Alper i Griffitha nie znalazły wówczas większego oddźwięku poza krytyką, ponieważ podważały podstawowy dogmat biologii molekularnej, w którym przyjmuje się, że kwasy nukleinowe są jedynym nośnikiem informacji (43). Te rewolucyjne poglądy zainspirowały jednakże Stanleya B. Prusiner. Zainteresowanie tego badacza rozpoczęło się w 1972 r., kiedy jego pacjent zmarł na chorobę Creutzfeldta-Jakoba, przypominającą *scrapie* (43). Stwierdził on, że oprócz promieniowania jonizującego i ultrafioletowego, również inne czynniki niszczące lub modyfikujące kwasy nukleinowe, takie jak nukleazy, psolareny, hydroksylamina, czy jony Zn^{2+} , nie inaktywują preparatów przenoszących *scrapie* (1,43). Przeciwnie, czynnik *scrapie* był podatny na działanie proteaz i substancji denaturujących białko, jak na przykład siarczan dodecylosodowy, tiocyjanian guanidyny, mocznik, czy fenol (1). Na tej podstawie Prusiner wprowadził termin „prion” (od *proteinaceous infectious particle*) dla podkreślenia roli białka w transmisji choroby (1).

Przełomowym odkryciem była izolacja głównego składnika z oczyszczonych preparatów zakaźnych, uzyskanych z mózgu chomika, u którego doświadczalnie wywołano *scrapie*. Okazało się nim białko odporne na proteazy, o masie cząsteczkowej od 27 do 30 kDa, którego ilość korelowała z dawką czynnika zakaźnego. Zostało ono nazwane PrP27-30 (PrP — od *prion protein*, 27-30 — ze względu na masę cząsteczkową) (4). Oczyszczenie PrP27-30 do stanu homogenności pozwoliło na oznaczenie jego N-końcowej sekwencji aminokwasowej, co z kolei umożliwiło syntezę oligonukleotydów, zastosowanych przez badaczy do identyfikacji komplementarnego DNA (cDNA) kodującego PrP (4). Ku powszechnemu zaskoczeniu okazało się, że PrP jest kodowany przez gen chromosomalny, a nie przez kwas nukleinowy zawarty w cząsteczce infekcyjnej *scrapie* (2,4). Zidentyfikowano następnie normalny produkt tego genu, którym jest wrażliwe na proteazy białko o masie cząsteczkowej od 33 do 35 kDa, zwane PrP^C („c” od *cellular* — komórkowe) (4). PrP27-30 natomiast rozpoznano jako odporny na proteazy rdzeń patologicznej odmiany PrP,

zwanej PrP^{Sc} („sc” - od *scrapie*), występującej jedynie w zakażonych organizmach. Nie stwierdzono różnic sekwencji aminokwasowej pomiędzy PrP²⁷⁻³⁰ a homologicznym odcinkiem PrP^C, co doprowadziło do stwierdzenia, że obie formy białka prionowego różnią się jedynie konformacją (4). Odkrycia te dostarczyły eksperymentalnej podstawy dla hipotezy „tylko białko” (2). W późniejszych badaniach wykazano podobną rolę PrP w całej grupie zakaźnych encefalopatii gąbczastych zwierząt i ludzi (m.in. w chorobie Creutzfeldta-Jakoba) (2).

3. Choroby wywołane przez priony i mechanizm ich przenoszenia

3.1. Zmiany patologiczne wywołane przez priony

Choroby prionowe zwane są inaczej zakaźnymi encefalopatiami gąbczastymi (*transmissible spongiform encephalopathies*, TSEs) (44). Występują zarówno u zwierząt, jak i ludzi (4,5,44). Wywołują wakuolizację i śmierć komórek nerwowych, aktywację astrocytów i komórek mikrogleju, prowadzą do nieodwracalnego zaburzenia funkcji elektrycznych mózgu (2). Wczesnym zjawiskiem chorobowym jest aktywacja astrocytów, prowadząca m.in. do zaburzenia bariery krew-mózg (2). O podstawowej roli tych komórek przekonuje eksperyment na myszach, u których jedynie astrocyty są zdolne do wytwarzania PrP^C. Wszystkie zwierzęta zachorowały na *scrapie* po podaniu egzogennych prionów, co świadczy o roli astrocytów w replikacji czynnika zakaźnego i uszkodzeniu neuronów (45).

W badaniu pośmiertnym pod mikroskopem mózgi wykazują zwyrodnienie gąbczaste i rozrost komórek gleju, jakkolwiek makroskopowo mogą wyglądać prawidłowo (3). Obserwuje się również odkładanie złogów amyloidu w mózgu, których głównym składnikiem jest białko PrP²⁷⁻³⁰, produkt ograniczonej proteolizy PrP^{Sc} (5). Amyloidem nazywamy polimeryczną, podobną do włókien strukturę, utworzoną z agregatów niekowalencyjnie połączonych peptydów lub białek (m.in. Ab, PrP, gelsolina, transthyretyna, cystatyna C), w których budowie znaczący udział bierze harmonijka β (5,44).

Najczęstszym objawem chorób prionowych u ludzi jest szybko postępujące otępienie, choć u niektórych występuje ataksja mózdkowa lub zaburzenia snu (3). Choroby te cechuje długi, często wieloletni czas inkubacji, jednakże od momentu wystąpienia pierwszych objawów w ciągu kilku miesięcy nieuchronnie prowadzą do śmierci (3).

Różne cechy kliniczne i histopatologiczne, jak na przykład czas inkubacji, rozmieszczenie i typ uszkodzeń w mózgu, zależą od szczepu prionu (2). Jakkolwiek nie rozpoznano dobrze przyczyn tworzenia różnych szczepów przez to samo białko przypuszcza się, że są one skutkiem różnic w strukturze trzeciorzędowej i wzorach glikozylacji PrP^{Sc}. Zróżnicowanie cząsteczek cukrowych może być przyczyną istnienia ponad 400 odmian cząsteczki PrP (2).

3.2. Etiologia chorób prionowych

Grupa chorób prionowych u człowieka obejmuje chorobę Creutzfeldta-Jakoba (CJD), chorobę Gerstmannia-Strausslera-Scheinkera (GSS), śmiertelną rodzinną bezsenność (*fatal familial insomnia*, FFI) i kuru (3,5). U zwierząt występuje *scrapie* (u owiec, kóz i muflonów), encefalopatia gąbczasta bydła (BSE, zwana inaczej „chorobą szalonych krów”), zakaźna encefalopatia norek, przewlekła choroba wyniszczająca (u łosi i jeleni), encefalopatia gąbczasta kotów i encefalopatie gąbczaste u zwierząt drapieżnych (goparda, pumy, ocelota) i antylop w ogrodach zoologicznych w Wielkiej Brytanii (3,5).

Choroby prionowe występujące u ludzi mogą powstać nie tylko w wyniku zakażenia (z wyjątkiem kuru), ale też sporadycznie lub na skutek mutacji genu PrP (4,5). Wszystkie 3 przyczyny leżą u podstaw choroby Creutzfeldta-Jakoba. FFI i GSS mają podłoże genetyczne, jednakże istnieje możliwość zakażenia zwierząt eksperymentalnych tkanką mózgową zmarłych na te choroby (4).

Formy sporadyczne obejmują te przypadki, dla których nie wykryto sposobu powstawania prionów. Przypuszcza się, że mogą być spowodowane somatycznymi mutacjami genu PrP lub spontaniczną konwersją PrP^C w PrP^{SC} (4).

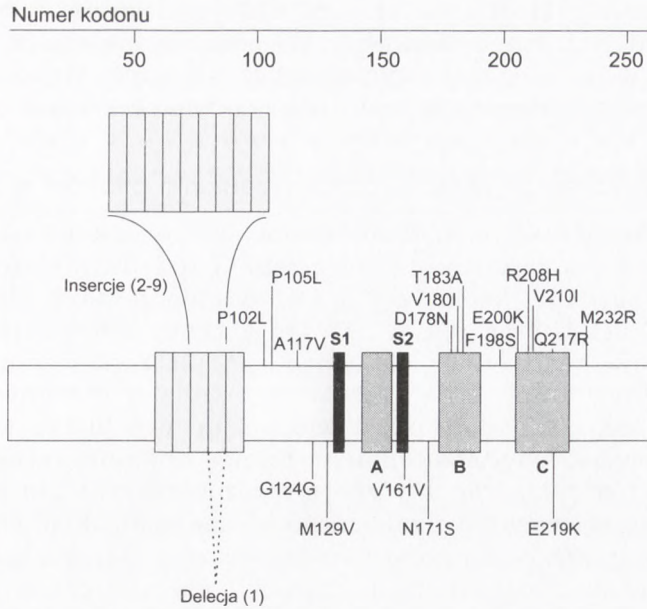
Dziedziczne przypadki chorób prionowych są wywołane punktowymi mutacjami genu PrP lub insercjami od 2 do 9 sekwencji kodujących powtórzenia ośmioaminokwasowe w rejonie, gdzie w prawidłowych warunkach znajduje się 5 takich powtórzeń (4). Większość mutacji punktowych występuje w obrębie albo w pobliżu obszarów kodujących fragmenty białka o sprecyzowanej strukturze drugorzędowej (rys. 2). Skutkiem jest destabilizacja prawidłowej konformacji PrP i ułatwienie powstawania formy patologicznej (4).

Gen PrP jest polimorficzny pod względem kilku kodonów, co w niektórych przypadkach wpływa na fenotyp choroby (rys. 2) (4). Na szczególną uwagę zasługuje polimorfizm kodonu 129. Powszechnie przeważa heterozygotyczna populacja 129^{MetVal}, podczas gdy osobnicy homozygotyczni 129^{MetMet} lub 129^{ValVal} wykazują zwiększoną podatność na chorobę Creutzfeldta-Jakoba (5).

Etiologia zakaźna chorób prionowych dominuje u zwierząt. Jedynym wyjątkiem jest przewlekła choroba wyniszczająca łosi i jeleni, dla której nie wykryto przyczyny (3). Najbardziej skutecznym sposobem zakażenia w badaniach eksperymentalnych jest wstrzyknięcie prionów bezpośrednio do mózgu (2,4), w naturalnie występujących przypadkach dominuje jednak droga pokarmowa (2). Głównym źródłem zakażenia jest mączka mięsno-kostna (*meat and bone meal*, MBM), wysokobiałkowy dodatek do pasz, do produkcji której użyto padliny chorych zwierząt, głównie owiec i krów (3).

Chorobą prionową ludzi powstającą wyłącznie na skutek infekcji jest kuru, występująca wśród praktykujących kanibalizm członków plemienia Fore w Nowej Gwinei (3,4). Z powodu zakazu tych haniebnych praktyk schorzenie to występuje obecnie bardzo rzadko (3).

Jatrogenna postać choroby Creutzfeldta-Jakoba jest wywoływana zakażeniem w wyniku zabiegów medycznych. W tym przypadku źródłem prionów są niewłaściwie sterylizowane elektrody stosowane do zabiegów neurochi-



Rys. 2. Gen kodujący białko prionowe człowieka. Kropkowane prostokąty oznaczają sekwencje kodujące powtórzenia oktapeptydowe, szare prostokąty — trzy odcinki α -helikalne (A, B i C), czarne prostokąty S1 i S2 — dwa odcinki o strukturze harmonijki β . Powyżej genu zaznaczono mutacje wywołujące choroby prionowe, poniżej — polimorfizmy. Powyżej rysunku przedstawiono oś wskazującą numer kodonu. Opracowano na podstawie (3).

rurgicznych, przeszczepiane rogówki i opona twarda, a zwłaszcza hormon wzrostu (HGH) i gonadotropiny pozyskiwane z przysadek mózgowych osób zmarłych (3). Większość przypadków tej postaci CJD była skutkiem domięśniowych wstrzyknięć hormonów przysadkowych zakażonych prionami (2).

W ostatnich latach pojawiła się nowa, nietypowa odmiana CJD (wariant CJD, vCJD), będąca najprawdopodobniej skutkiem spożycia wołowiny pochodzącej od zwierząt chorych na BSE (2,3). Stwierdzono, jak dotąd, 21 przypadków w Wielkiej Brytanii i jeden we Francji (46). Prawie wszyscy pacjenci zachorowali przed 40 rokiem życia (3). vCJD cechuje nietypowy obraz histopatologiczny (bardzo liczne blaszki amyloidowe otoczone wieńcem wakuoli) i kliniczny (długi przebieg, zaburzenia czucia jako objaw przewodni, brak charakterystycznych zmian w EEG, otępienie jedynie w późnym okresie choroby) (5). Wczesną cechą kliniczną są objawy psychiatryczne, a zwłaszcza zespół depresyjny, urojenia i halucynacje wzrokowe lub słuchowe (46). Stwierdzenie czasowego i przestrzennego związku z BSE (epidemia w Wielkiej Brytanii) nie wystarczyło do udowodnienia, że przyczyną choroby jest spożycie mięsa chorych zwierząt. Wykazano jednak, że zakażenie makaków prionami BSE wywołało identyczny obraz histopatologiczny mózgu, jak u ludzi z vCJD (5). Bezpośredniego dowodu dostarczyły badania na myszach, które zaszczepiano tkanką mózgową krów zakażonych BSE i ludzi z vCJD. Oba

źródła spowodowały identyczne zmiany histopatologiczne w mózgu myszy (47). U zwierząt tych zmanifestowały się ponadto takie same, charakterystyczne objawy kliniczne, m.in. wydłużony czas trwania choroby i chodzenie tyłem, oprócz innych typowych cech mysiej odmiany *scrapie* (48).

3.3. Źródło zakażenia i sposób rozprzestrzeniania prionów w organizmie

Jakkolwiek najobfitszym źródłem prionów jest ośrodkowy układ nerwowy, zakaźne właściwości wykazują również tkanki układu limfatycznego, takie jak śledziona, migdałki, kępki Peyera i węzły chłonne (49). Tkanka limfatyczna pełni również istotną rolę w rozwoju choroby, pozwalając na namnażanie się prionów podczas fazy inkubacji TSE (2). Świadczy o tym akumulacja patologicznej formy PrP w śledzionie, węzłach chłonnych i kępkach Peyera myszy zakażonej CJD przed wykryciem tego białka w mózgu (50). PrP^{Sc} ulega również nagromadzeniu w tkance chłonnej owiec zakażonych *scrapie* (49). O roli układu limfatycznego w rozprzestrzenianiu infekcji świadczy również wykrycie czynnika zakaźnego w tkankach układu chłonnego całego ciała po wstrzyknięciu prionów do gałki ocznej (51). Pogląd ten potwierdza także skrócenie czasu inkubacji choroby po bezpośrednim wstrzyknięciu czynnika *scrapie* do śledziony zamiast do jamy otrzewnej (51).

Przeprowadzone ostatnio badania świadczą o tym, że czynnikiem transportującym priony mogą być limfocyty B. Stwierdzono, że myszy pozbawione tych komórek są odporne na dootrzewnowe zakażenie *scrapie*, w przeciwieństwie do zwierząt nie wytwarzających limfocytów T (52). Wyniki tych badań mogą doprowadzić do ponownej oceny bezpieczeństwa produktów krwiopochodnych stosowanych w lecznictwie (52).

4. Nowe zagrożenia związane z prionami

W nowoczesnej produkcji rolnej wymaga się założenia konieczności wykorzystania wszelkich odpadków pochodzenia zwierzęcego. Padlina owcza, bydłęca, świńska i kurza jest używana do produkcji mączki mięsno-kostnej (*meat and bone meal*, MBM), wysokobiałkowego dodatku do pasz (3). Zmusza się w ten sposób zwierzęta roślinożerne, takie jak krowy, do jedzenia mięsa, nawet przedstawicieli własnego gatunku.

W Wielkiej Brytanii do produkcji MBM używano padliny owiec chorych na *scrapie*, która występuje w tym kraju endemicznie (3,53). W celu zwiększenia w MBM zawartości tłuszczu (3), na przełomie lat siedemdziesiątych i osiemdziesiątych w produkcji tej pożywki zaprzestano metody ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi (3,53). Pozwoliło to prionom *scrapie* na przetrwanie procedur przetwórczych i zapoczątkowanie epidemii BSE u bydła karmionego MBM (54). Zakażone tkanki bydłecę, przed rozpoznaniem choroby, były używane do produkcji mączki mięsno-kostnej, którą karmiono krowy, co znacznie nasiliło epidemię (53,54). W alternatywnej hipotezie zakłada się, że BSE istniała od dłuższego czasu u bydła i dopiero karmienie

tych zwierząt białkiem pochodzącym od innych osobników wywołało epidemię (3,55).

W ostatnich latach choroba szalonych krów przeniosła się na ludzi, wywołując nową odmianę (tak zwany „wariant”) choroby Creutzfeldta-Jakoba (vCJD) (3). Pierwsze przypadki wystąpiły w latach 1994-1995 (53), kilka lat po wprowadzeniu w listopadzie 1989 r. zakazu stosowania tkanki nerwowej i limfatycznej bydła powyżej 6 miesiąca życia do produkcji żywności dla ludzi (3). Fakt ten może być wynikiem długiego okresu inkubacji choroby, jak to stwierdzono dla jatrogennej CJD, spowodowanej podawaniem hormonu wzrostu zakażonego prionami, w której sięga 20 lat (3). Jeśli obecne przypadki vCJD mają związek z początkami epidemii BSE, w przyszłości należy spodziewać się znacznego wzrostu zachorowań.

Istotną rolę w rozprzestrzenianiu chorób prionowych odegrała współczesna medycyna. Przykładem mogą być przypadki jatrogennej choroby Creutzfeldta-Jakoba, w których źródłem czynnika zakaźnego były elektrody wszczepiane do mózgu, przeszczepy rogówki i opony twardej, a zwłaszcza hormon wzrostu, izolowany z przysadek osób zmarłych (3). Priony atakowały również pracowników medycznych, wywołując zachorowania m.in. u neurochirurgów i neuropatologów (56). Infekcja nie musi być związana z naruszeniem ciągłości tkanek, o czym przekonuje możliwość dospojówkowego zakażenia myszy czynnikiem *scrapie* (57).

5. Próby zapobiegania i leczenia chorób prionowych

Znaczna większość zwierząt służących do produkcji żywności jest źródłem czynnika zakaźnego przed rozwinięciem objawów chorobowych (3). Wykrycie prionów w pniu mózgu bydła za pomocą metod immunologicznych mogłoby zapobiec wprowadzeniu czynnika BSE do łańcucha pokarmowego człowieka (3). U owiec możliwe jest przyżyciowe stwierdzenie obecności PrP^{Sc} za pomocą biopsji migdałków, które są bogatym źródłem tego białka, przed wystąpieniem neurohistopatologicznych oznak *scrapie* (49). Wyizolowanie monoklonalnego przeciwciała, specyficznego dla PrP^{Sc} niezależnie od jego gatunkowej swoistości, może pozwolić na zwiększenie czułości metod detekcji prionów (58).

W przyszłości należy oczekiwać wytworzenia nowych ras zwierząt hodowlanych, niezdolnych do replikacji prionów (2,3). Umożliwia to zablokowanie genu PrP, jednak nieobecność PrP^C mogłaby wywołać różne defekty u takich zwierząt (3). Bardziej praktyczna byłaby modyfikacja genu PrP. Wykazano, że owce homozygotyczne względem reszty Arg w pozycji 171 są odporne na *scrapie*. Wszczepienie takich transgenów zwierzętom domowym mogłoby zapobiec różnym chorobom prionowym (3).

Nie znamy jak dotąd skutecznych metod leczenia chorób prionowych. Większą szansę sukcesu może zapewnić profilaktyka po ekspozycji na czynnik zakaźny (2). Ze względu na jego znaczną oporność na wiele procedur dezynfekcyjnych, proponowane są tak brutalne metody, jak przemycie ska-

zonej skóry 1M NaOH, a w przypadku naruszenia ciągłości tkanek — nawet wycięcie rany i podawanie steroidów w celu inhibicji namnażania prionów w tkance limfatycznej (59). Wiadomo jednak, że nawet 2M NaOH wydłuża jedynie okres inkubacji choroby (60). Priony są również odporne na związki chemiczne, powszechnie stosowane do dezynfekcji, takie jak metanol, etanol i formaldehyd (1).

Można sobie wyobrazić kilka sposobów leczenia chorób prionowych w przeszłości. Jednym z nich byłyby zmniejszenie ilości PrP^C na skutek zablokowania genu lub mRNA tego białka za pomocą antysensowych oligonukleotydów, co zwolniłoby lub zahamowało proces patologiczny. Istnieje jednak niebezpieczeństwo wywołania defektów w wyniku utraty fizjologicznych funkcji PrP^C (2).

Inny cel terapeutyczny polegałby na zahamowaniu konwersji PrP^C w patologiczną formę (2). Można to osiągnąć stabilizując strukturę PrP^C poprzez wiązanie leku (3). W badaniach przeprowadzonych *in vitro* wykazuje się skuteczność tak zwanych „chemicznych opiekunów”, substancji podtrzymujących naturalną konformację białek, w hamowaniu powstawania PrP^{Sc}. Do związków tych należą: glicerol, N-tlenek trimetyloaminy (TMAO) i rozpuszczalnik organiczny — dimetylosulfotlenek (DMSO) (61). Konwersji w PrP^{Sc} mógłby również zapobiec lek blokujący interakcję PrP^C z opiekuńczym białkiem X (3).

Jeszcze inny sposób zwalczania chorób prionowych polegałby na zastosowaniu substancji wiążących się z PrP^{Sc} i destabilizujących strukturę tego białka (2,3). Uważa się, że działanie takie wykazują m.in. czerwień Kongo, siarczanowane polianiony i antybiotyki antracyklinowe (3). W badaniach *in vitro* wykazano hamujący wpływ czerwieni Kongo i siarczanowanych glikanów (w tym glikozoaminoglikanów (62), m.in. heparyny (63) na syntezę PrP^{Sc}. Przypuszcza się, że siarczanowane inhibitory hamują kompetycyjnie wiązania pomiędzy PrP^{Sc} a endogennymi glikozoaminoglikanami, które są ważnymi czynnikami ułatwiającymi akumulację tego białka w postaci odpornej na proteazy (62).

Rozwinięcie skutecznych metod terapii wymaga dalszych badań naukowych nad podstawami molekularnymi przekształceń PrP^C w jego patologiczną formę (3). Przypuszczalnie za 10 do 20 lat może być osiągnięty szczyt zachorowań związanych z chorobą szalonych krów u ludzi (2). Nakazem chwili jest opracowanie skutecznych metod zwalczania chorób prionowych.

Literatura

1. Prusiner S. B., (1982), *Science*, 216, 136-144.
2. Aguzzi A., Weissmann C., (1997), *Nature*, 389, 795-798.
3. Prusiner S. B., (1997), *Science*, 278, 245-251.
4. Prusiner S. B., (1991), 252, 1515-1522.
5. Liberski P. P., Bartosiewicz J., (1996), *Postepy Biochemii*, 42, 320-330.
6. Stahl N., Baldwin M. A., Hecker R., Pan K. M., Burlingame A. L., Prusiner S. B., (1992), *Biochemistry*, 31, 5043-5053.

7. Caughey B., Race R. E., Ernst D., Buchmeier M. J., Chesebro B., (1989), *J. Virol.*, 63, 175-181.
8. Shyng S. L., Huber M. T., Harris D. A., (1993), *J. Biol. Chem.*, 268, 15922-15928.
9. Brown H. R., Goller N. L., Rudelli R. D., Merz G. S., Wolfe G. C., Wisniewski H. M., Robakis N. K., (1990), *Acta Neuropathol. Berl.*, 80, 1-6.
10. Saeki K., Matsumoto Y., Hirota Y., Matsumoto Y., Onodera T., (1996), *Virus Genes.*, 12, 15-20.
11. Tanji K., Saeki K., Matsumoto Y., Takeda M., Hirasawa K., Doi K., Matsumoto Y., Onodera T., (1995), *Intervirology*, 38, 309-315.
12. Bendheim P. E., Brown H. R., Rudelli R. D., Scala L. J., Goller N. L., Wen G. Y., Kascsak R. J., Cashman N. R., Bolton D. C., (1992), *Neurology*, 42, 149-156.
13. Askanas V., Bilak M., Engel W. K., Leclerc A., Tome F., (1993), *Neurosci. Lett.*, 159, 111-114.
14. Askanas V., Sarkozi E., Bilak M., Alvarez R. B., Engel W. K., (1995), *Neuroreport*, 6, 1045-1049.
15. Sarkozi E., Askanas V., Engel W. K., (1994), *Am. J. Pathol.*, 145, 1280-1284.
16. Atouf F., Scharfmann R., Lasmezas C., Czernichow P., (1994), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 201, 1220-1226.
17. Kniazeva M., Orman R., Terranova V. P., (1997), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 234, 59-63.
18. Diomede L., Sozzani S., Luini W., Algeri M., de Gioia L., Chiesa R., Lievens P. M., Bugiani O., Forloni G., Tagliavini F., Salmona M., (1996), *Biochem. J.*, 320, 563-570.
19. Perini F., Vidal R., Ghetti B., Tagliavini F., Frangione B., Prelli F., (1996), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 223, 572-577.
20. Sakaguchi S., Katamine S., Nishida N., Moriuchi R., Shigematsu K., Sugimoto T., Nakatani A., Kataoka Y., Huotani T., Shirabe S., Okada H., Hasegawa S., Miyamoto T., Noda T., (1996), *Nature*, 380, 528-531.
21. Tobler I., Deboer T., Fischer M., (1997), *J. Neurosci.*, 17, 1869-1879.
22. Brown D. R., Qin K., Herms J.W., Madling A., Manson J., Strome R., Froser P. E., Kinck T., von Bohlen A., Schulz-Schaeffer W., Giese A., Westaway D., Kretzschmar H., (1997), *Nature*, 390, 684-687.
23. Brown D. R., Schultz-Schaeffer W. J., Schmidt B., Kretzschmar H. A., (1997), *Exp. Neurol.*, 146, 104-112.
24. Miura T., Hori-i A., Takeuchi H., (1996), *FEBS Lett.*, 396, 248-252.
25. Weissmann C., Bueler H., Fischer M., Sailer A., Aguzzi A., Aguet M., (1994), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 724, 235-240.
26. Brandner S., Isenmann S., Raeber A., Fischer M., Sailer A., Kobayashi Y., Marino S., Weissmann C., Aguzzi A., (1996), *Nature*, 379, 339-343.
27. Blattler T., Brandner S., Raeber A. J., Klein M. A., Voigtlander T., Weissmann C., Aguzzi A., (1997), *Nature*, 389, 69-73.
28. Pan K. M., Baldwin M., Nguyen J., Gasset M., Serban A., Groth D., Mehlhorn I., Huang Z., Fletterick R. J., Cohen F. E., (1993), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 10962-10966.
29. Borchelt D. R., Taraboulos A., Prusiner S. B., (1992), *J. Biol. Chem.*, 267, 16188-16199.
30. Swietnicki W., Petersen R., Gambetti P., Surewicz W. K., (1997), *J. Biol. Chem.*, 272, 27517-27520.
31. Daude N., Lehmann S., Harris D. A., (1997), *J. Biol. Chem.*, 272, 11604-11612.
32. Singh N., Zanusso G., Chen S. G., Fujioka H., Richardson S., Gambetti P., Petersen R. B., (1997), *J. Biol. Chem.*, 272, 28461-28470.
33. Telling G. C., Scott M., Mastrianni J., Gabizon R., Torchia M., Cohen F.E., de Armond S. J., Prusiner S. B., (1995), *Cell*, 83, 79-90.
34. Edenhofer E., Rieger R., Famulok M., Wendler W., Weiss S., Winnacker E. L., (1996), *J. Virol.*, 70, 4724-4728.
35. Kocisko D. A., Lansbury P. T. Jr, Caughey B., (1996), *Biochemistry*, 35, 13434-13442.
36. Bessen R. A., Raymond G. J., Caughey B., (1997), *J. Biol. Chem.*, 272, 15227-15231.
37. Snow A. D., Wight T. N., Noehlin D., Koike Y., Kimata K., de Armond S. J., Prusiner S. B., (1990), *Lab. Invest.*, 63, 601-611.

38. Caughey B., Brown K., Raymond G. J., Katzenstein G. E., Thresher W., (1994), *J. Virol.*, 68, 2135-2141.
39. Wickner R. B., (1994), *Science*, 264, 566-569.
40. Masison D. C., Maddelein M. L., Wickner R. B., (1997), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 12503-12508.
41. Paushkin S. V., Kushnirov V. V., Smirnov V. N., Ter-Avanesyan M. D., (1997), *Mol. Cell. Biol.*, 17, 2798-2805.
42. Glover J. R., Kowal A. S., Schirmer E. C., Patino M. M., Liu J. J., Lindquist S., (1997), *Cell*, 89, 811-819.
43. Vogel G., (1997), *Science*, 278, 214.
44. Chesebro B., (1998), *Science*, 279, 42-43.
45. Raeber A. J., Race R. E., Brandner S., Priola S. A., Sailer A., Bessen R. A., Mucke L., Manson J., Aguzzi A., Oldstone M. B., Weissmann C., Chesebro B., (1997), *EMBO J.*, 16, 6057-6065.
46. Zeidler M., Johnstone E. C., Bamber R. W., Dickens C. M., Fisher C. J., Francis A. F., Goldbeck R., Higgo R., Johnson-Sabine E. C., Lodge G. J., McGarry P., Mitchell S., Tarlo L., Turner M., Ryley P., Will R. G., (1997), *Lancet*, 350, 908-910.
47. Bruce M. E., Will R. G., Ironside J. W., McConnell I., Drummond D., Suttie A., McCordle L., Chree A., Hope J., Birkett C., Cousens S., Fraser H., Bostock C. J., (1997), *Nature*, 389, 498-501.
48. Hill A. F., Desbruslais M., Joiner S., Sidle K. C. L., Gowland I., Collinge J., Doey L. J., Lantos P., (1997), *Nature*, 389, 448-450.
49. van Keulen L. J., Schreuder B. E., Meloen R. H., Mooij-Harkes G., Vromans M. E., Langeveld J. P., (1996), *J. Clin. Microbiol.*, 34, 1228-1231.
50. Muramoto T., Kitamoto T., Tateishi J., Goto I., (1992), *Am. J. Pathol.*, 140, 1411-1420.
51. Fraser J. R., (1996), *J. Gen. Virol.*, 77, 2663-2668.
52. Klein M. A., Frigg R., Flechsig E., Raeber A. J., Kalinke U., Bluethmann H., Bootz F., Suter M., Zinkernagel R. M., Aguzzi A., (1997), *Nature*, 390, 687-690.
53. Nathanson N., Wilesmith J., Griot C., (1997), *Am. J. Epidemiol.*, 145, 959-969.
54. Kimberlin R. H., Wilesmith J. W., (1994), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 724, 210-220.
55. Marsh R. F., (1993), *Arch. Virol. Suppl.*, 7, 255-259.
56. Gajdusek D. G., (1977), *Science*, 197, 943-959.
57. Scott J. R., Foster J. D., Fraser H., (1993), *Vet. Microbiol.*, 34, 305-309.
58. Korth C., Stierli B., Streit P., Moser M., Schaller O., Fisher R., Schulz-Schaeffer W., Kretzschmar H., Raeber A., Braun U., Ehrensperger F., Hornemann S., Glockshuber R., Riek R., Billeter M., Wuthrich K., Oesch B., (1997), *Nature*, 390, 74-77.
59. Aguzzi A., Collinge J., (1997), *Lancet*, 350, 1519-1520.
60. Tateishi J., Tashima T., Kitamoto T., (1991), *Microbiol. Immunol.*, 35, 163-166.
61. Tatzelt J., Prusiner S. B., Welch W. J., (1996), *EMBO J.*, 15, 6363-6373.
62. Caughey B., Race R. E., (1994), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 724, 290-295.
63. Gabizon R., Meiner Z., Halimi M., Ben-Sasson S. A., (1993), *J. Cell. Physiol.*, 157, 319-325.

Prions — the new infectious agent

Summary

Prions are devoid of nucleic acids and they are composed mainly or exclusively of protein PrP^{Sc}, that is a conformational variant of the normal cellular prion protein PrP^C, encoded by a chromosomal gene. Conversion of PrP^C into PrP^{Sc} is a posttranslational process which is accompanied by the acquisition of high β -sheet content. Human prion diseases may be of sporadic, genetic or infectious origin. Human activity caused a „mad cow disease” epidemic, iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), and lately, a new variant of CJD, which is thought to be a

result of transmission of bovine prions to humans. Prion diseases are always fatal, and there is a need to develop effective methods of prevention and therapy for these disorders.

Key words:

prion, prion diseases, Creutzfeldt-Jakob disease, bovine spongiform encephalopathy.

Adres do korespondencji:

Tomasz Gogiel, Zakład Biochemii, Akademia Medyczna, ul. Mickiewicza 2,
15-230 Białystok-8.