

ФІЗІОЛОГІЧНИЙ ПРИОН ТА ЙОГО РОЛЬ У ФУНКЦІОНУВАННІ КЛІТИНИ

В. В. Влізло, В. В. Стадник, Х. Я. Майор, П. І. Вербицький

Інститут біології тварин УААН

*У роботі проаналізовано та узагальнено дані сучасної літератури щодо функціонування фізіологічного пріона в клітині та організмі ссавців. Проведено аналіз білків-партнерів клітинного пріона та вказано, що пріон як мембранний білок зовнішньої поверхні плазматичної мембрани не може взаємодіяти з цитоплазматичними білками в клітині, для яких показана взаємодія з пріоном *in vitro*. Показано, що даний білок потенційно володіє здатністю регулювати багато важливих фізіологічних процесів, зокрема апоптоз, відповідь клітини на оксидативний стрес, міжклітинну взаємодію, метаболізм міді, активність сигнальних каскадів тощо. На сьогодні до кінця не встановлено головні функції фізіологічного пріона, яку він виконує.*

Ключові слова: ФІЗІОЛОГІЧНИЙ ПРИОН, МІДЬ, СИГНАЛЬНІ КАСАКАДИ, АПОПТОЗ, ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС.

Пріонні інфекції виникають внаслідок конверсії нормального поверхневого білка клітини — фізіологічного пріона (PrP^{C}) в патологічну форму (PrP^{SC}), яка володіє інфекційністю за відсутності нуклеїнових кислот [1]. Роль інфекційного пріона є визначальною при розвитку трансмісивних спонгіформних енцефалопатій, проте значення PrP^{C} у цьому процесі залишається маловивченим. Використання мишей з нокаутованим геном *Prnp* виявилось неінформативним, оскільки за відсутності артефактової надекспресії гену *Prnd*, який кодує білок Dpl, у тварин не проявлялися жодні дефекти розвитку [2, 3]. Миші, в яких ген фізіологічного пріона був делетований з використанням системи Cre-Lox, не мали фенотипових вад. Отже, це свідчить про відсутність інших білків, які компенсують функції фізіологічного пріона в дорослому організмі [4]. Частина амінокислотної послідовності PrP^{C} є еволюційно висококонсервативною, що підтверджує важливу біологічну роль цього білка [5].

Дослідження біологічного значення фізіологічного пріона є ключовим для розуміння патогенезу пріонних інфекцій, оскільки втрата функції може бути одним з критичних чинників прогресування хвороби.

PrP^{C} починає експресуватися в ранньому періоді ембріогенезу і є представлений у високих кількостях у нейронах головного та спинного мозку ссавців [6, 7]. Він виявляється в низьких кількостях у гліальних клітинах ЦНС, а також у периферичних типах клітин [8, 9]. Більшість молекул фізіологічного пріона локалізовані на поверхні клітини, де вони з'єднані з біліпідним шаром через глікозилфосфатидилінозитольний якір (ГФІ-якір) [10]. Біосинтетичний шлях PrP^{C} є подібним до інших мембранних та секреторних білків, що включає в себе синтез білка на асоційованих з ендоплазматичним ретикуломом рибосомах, транзит білка до апарату Гольджі, де відбувається більшість посттрансляційних модифікацій та везикулярний транспорт на поверхню клітини [11]. Фізіологічний пріон є глікопротеїном, який містить два вуглеводневі ланцюги, з'єднані з білком через N-зв'язки. Хоча більшість молекул PrP^{C} знаходяться у ліпідних рафтах, деякі з них переміщуються у клатрин-облямовані ямки, де фізіологічний пріон зазнає ендоцитозу та рециклізації [12-15].

У ссавців фізіологічний пріон складається приблизно з 250 амінокислотних залишків і містить дві сигнальні послідовності – на N- та С-кінцях [12, 13]. Перша відповідає за транслокацію пріона у люмен ендоплазматичного ретикулу, а С-кінцева сигнальна послідовність забезпечує приєднання ГФІ-якоря до PrP^C. У процесі дозрівання білка ці послідовності відщеплюються. На N-кінці фізіологічний пріон містить п'ять октапептидних повторів, які здатні зв'язувати іони двохвалентних металів, зокрема міді та цинку. Посередині молекули розміщений гідрофобний домен, який зв'язується з плазматичною мембраною при набутті фізіологічним пріоном трансмембранної конформації. У С-кінцевій частині PrP^C є три α -спіральні та дві β -складчасті ділянки, а також дисульфідний місток [14]. Загальна схема будови фізіологічного пріона представлена на рис. 1.

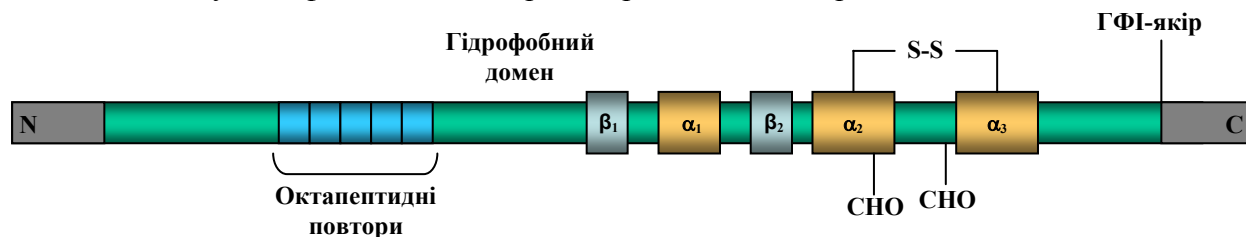


Рис. 1. Схема будова фізіологічного пріона.

Ефективною стратегією для дослідження функцій фізіологічного пріона є ідентифікація клітинних партнерів, з якими взаємодіє PrP^C. Частина з них є важливими компонентами фізіологічних шляхів, до яких залучений PrP^C. За останні роки, використовуючи методи дріжджової двогибридної системи, ко-імунопреципітації, крос-лінкінгу та інших, вдалося виявити ряд кандидатів на роль партнерів PrP^C (табл. 1) [15]. Частина з них (STI-1, N-CAM, Vcl-2, кавеолін) будуть обговорені нижче у контексті фізіологічних функцій PrP^C, до яких вони можуть бути залучені.

Незважаючи на відомі вже результати, практично в кожному випадку біологічне значення цих взаємодій не встановлено. Деякі з цих партнерів PrP^C є цитоплазматичними білками і, відповідно, не можуть взаємодіяти в клітині з мембранним фізіологічним пріоном. Вдалим прикладом тут є попередник рецептору ламініну (LRP), який ідентифікований як партнер PrP^C за допомогою дріжджової двогибридної системи [16, 18].

Оскільки PrP^C є ГФІ-заякореним білком, то його поліпептидний ланцюг локалізується на зовнішньоклітинній стороні біліпідного шару. Тому партнерами фізіологічного пріона повинні бути трансмембранні чи секреторні білки. Хоча для фізіологічного пріона описано дві трансмембранні форми (^{Ntm}PrP і ^{Ctm}PrP), які теоретично можуть взаємодіяти з цитоплазматичними білками [18, 19], вони, за відсутності специфічних мутацій у гені *Prnp*, представлені у слідових кількостях [18]. Цитоплазматична форма фізіологічного пріона була описана у культурі клітин [19]. Іншою роботою показано [20], що це є артефакт внаслідок надекспресії PrP^C чи неправильної обробки клітин інгібіторами протеасом. Звичайно, PrP^C може асоціювати з цитоплазматичними білками, але в цю взаємодію має бути залучений трансмембранний лінкер.

Декілька інтригуючих результатів досліджень показали цитопротективну роль фізіологічного пріона, яка полягає у протидії зовнішнім та внутрішнім стресорним факторам через блокування програми апоптозу [21, 22]. Антиапоптична активність PrP^C продемонстрована в різноманітних експериментальних системах, включаючи культуру клітин ссавців та дріжджів.

Потенційні білки-партнери PrP^C

Білок, який взаємодіє з PrP ^C	Функція	Метод ідентифікації взаємодії	Субклітинна локалізація
Grb2	Трансдукція сигналу	Дріжджова діогібридна система, ко-імунопреципітація	Цитоплазма
Pint1	Невідомо	Дріжджова двогібридна система, ко-імунопреципітація	Цитоплазма
Synapsin 1b	Транспорт синаптичних везикул	Дріжджова діогібридна система, ко-імунопреципітація	Цитоплазма (синаптичні везикули)
TREK-1	Двохпоровий K ⁺ -канал	Дріжджова двогібридна система, ко-імунопреципітація	Плазматична мембрана
Tubulin	Субодиниця мікротрубочок	Крос-лінкінг	Цитоплазма (цитоскелет)
NRAGE	Активатор апоптозу	Дріжджова двогібридна система, ко-імунопреципітація	Цитоплазма
LRP	Взаємодія в зовнішньо клітинному матриксі	Дріжджова двогібридна система	Цитоплазма, плазматична мембрана?
STI-1	Білок теплового шоку	Комплементарна гідропатія, ко-імунопреципітація	Цитоплазма, плазматична мембрана?
Hsp60	Шаперон	Дріжджова двогібридна система	Цитоплазма
N-CAM	Клітинна адгезія	Крос-лінкінг	Плазматична мембрана
Bcl-2	Мультидоменна антиапоптична регуляція	Дріжджова двогібридна система	Цитоплазма
Caveolin-1	Ендоцитоз мембранних білків	Ко-імунопреципітація	Плазматична мембрана
Tetraspanin	Клітинна адгезія, трансдукція сигналу	Ко-імунопреципітація	Плазматична мембрана

Одним з кращих прикладів цитопротективної активності PrP^C є його здатність захищати людські фетальні нейрони від апоптозу, індукованого Bcl-2-асоційованим X-білком (Bax). Bax є проапоптичним членом родини білків Bcl-2, що відіграє одну з ключових ролей у функціонуванні постмітотичних нейронів ЦНС [23, 24]. Якщо провести ін'єкцію плазміди з геном Bax у культуру фетальних нейронів людини, то близько 90 % клітин піддаються апоптозу. Але, коли нейрони піддаються коін'єкції плазмідами з генами Bax та PrP, процент апоптичних клітин скорочується до 10 % [25, 26]. Цей цитопротективний ефект фізіологічного пріона є специфічним по відношенню до Bax, оскільки PrP^C не інгібує нейрональний апоптоз, індукований білком Bax, t-Bid, стауроспорином чи тапсігаргіном [27].

Показано, що експресія фізіологічного пріона рятує іморталізовані гіпокампіальні нейрони, отримані від мишей з фенотипом *Prnp*^{0/0} від ефекту, викликаного інкубацією у безсироватковому середовищі [28, 29]. Цей ефект також опосередкований впливом фізіологічного пріона на Bax.

Інша експериментальна система включає клітини лінії MCF-7, які отримані з людської аденокарциноми та піддаються апоптозу при обробці ФНП- α . Вченим вдалося ізолювати субклони клітин MCF-7, які були резистентними до ФНП- α -індукованого апоптозу [30]. Виявилося, що в цих клітинах відзначається драматичне зростання рівня експресії гена фізіологічного пріона. Більше того, надекспресія PrP^C в батьківських клітинах MCF-7 сприяла їх резистентності до апоптозу. В останньому випадку антиапоптичний ефект фізіологічного пріона реалізується через інгібування мітохондріального шляху активації апоптозу [30].

У нещодавно опублікованих роботах встановлено, що PrP^C стимулює самовідновлення гемопоетичних стовбурових клітин протягом серійних трансплантацій [31]. Цей феномен може теж відноситися до цитопротективної активності фізіологічного пріона, оскільки серійна трансплантація веде до апоптичного стресу клітин. Подібним фактом є позитивна регуляція фізіологічним пріоном проліферації та диференціації клітин-попередників нейронів *in vitro* та *in vivo* [31].

Хоча ці різноманітні моделі підтверджують загальний механізм цитопротекції PrP^C, специфічний клітинний та молекулярний шлях, залучений до цього, ще не відомий. Оскільки Bax-опосередкований апоптоз є спільним, практично, у всіх вищеописаних системах, можливо, що фізіологічний пріон інгібує Bax-залежну клітинну загибель [27–35]. Цей механізм може реалізуватися кількома шляхами (рис.2).

Перша можливість полягає у взаємодії ГФІ-заякореного фізіологічного пріона з трансмембранним рецептором, що ініціює внутрішньоклітинний сигнальний каскад. Результатом цієї активації є зниження активності білка Bax шляхом інгібування його мітохондріальної транслокації, конформаційних змін чи олігомеризації (рис. 2, А). Цей самий ефект може бути результатом фізичної взаємодії між Bax та цитоплазматичною формою PrP^C (рис. 2, Б). Альтернативно, PrP^C-залежний сигнал може не торкатися безпосередньо білка Bax, а впливати на його активатори, зокрема ВН-3 білки (рис. 2, В) чи посилювати взаємодію Bax з антиапоптичними регуляторами, такими як Bcl-2 чи Bcl-X_L (рис. 2, Г). Не виключено, що фізіологічний пріон пригнічує ефекти Bax, такі як вихід з мітохондрій цитохрому c, активацію білка Араф-1 чи каспаз [27] (рис. 2, Д). Крім цього, Bax впливає на вивільнення кальцію та відповідає на незгорнуті білки в ендоплазматичному ретикулумі, тому втягування фізіологічного пріона в секреторний шлях може порушувати асоціацію Bax з цією органелою, можливо, через трансмембранний рецептор (рис. 2, Е).

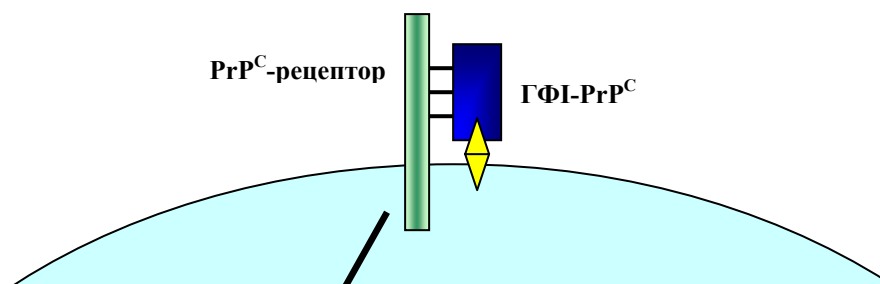


Рис. 2. Механізми реалізації Вах-залежного цитопротективного ефекту фізіологічного пріона [27].

Зараз є недостатня кількість експериментальних даних, які б дали змогу правильно вибрати один з шляхів, описаних на рис. 2. При дослідженнях Вах-супресивного ефекту фізіологічного пріона було використано декілька типів клітинних ліній (фетальні нейрони, НрL3-4, MCF-7), що дозволило зробити висновок про вплив PrP^C на конформаційні зміни Вах, які дозволяють йому транслокуватися між мітохондріальними мембранами [33]. Цей результат погоджується з механізмами А і Б на рис. 2. Механізм Б на рис. 2 також підтверджується дослідженнями, які продемонстрували Вах-опосередкований захисний ефект зконструйованої цитоплазматичної форми фізіологічного пріона у фетальних нейронах. Хоча іншими роботами показано цитотоксичний ефект цитоплазматичної форми PrP^C, яка зв'язує та сегрегує антиапоптичний білок Bcl-2 [35]. У будь-якому випадку, фізіологічне значення цитоплазматичної форми фізіологічного пріона досі не з'ясовано до кінця, оскільки він генерується в дуже малих кількостях з молекули дикого типу *in vivo* [36]. Зрозуміло, що майбутній прогрес повинен дозволити з'ясувати механізм PrP^C-опосередкованої цитопротекції шляхом ідентифікації інших білків, які фізично та функціонально контактують з фізіологічним пріоном.

Зараз дуже популярною гіпотезою, яка пояснює патогенез нейродегенеративних порушень при ТСЕ, є ключова роль у цих процесах хронічного оксидативного стресу. Дисфункції у будь-яких метаболічних процесах, пов'язаних між собою, можуть викликати оксидативний стрес у мозку, включаючи зростання активності мітохондрій, оксидативних ушкоджень, появу дефектів у убіквітин-протеасомній системі тощо [37]. Багато фактів свідчать про участь фізіологічного пріона в захисті клітин від оксидативного стресу [38]. Можливо, найбільш вдалим прикладом цього є те, що культура клітин нейронів,

нокаутуваних за геном *Prnp*, є набагато чутливішою, порівняно з нейронами дикого типу, до обробки агентами-індукторами оксидативного стресу, такими як пероксид водню, ксантиноксидаза тощо [39, 40]. Узгоджуються з цими даними результати з сенсibilізації до оксидативного стресу головного мозку мишей з генотипом *Prnp*^{0/0}, яке проявлялося у зростанні рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів та білків [41]. Ушкодження мозку, індуковані гіпоксією та ішемією, є тривалішими у *Prnp*^{0/0} мишей, порівняно з тваринами дикого типу [45-47].

Так яким же чином фізіологічний пріон може захищати клітини від оксидативного стресу? До останнього часу існувало дві гіпотези. Згідно першої, PrP^C сам володіє антиоксидантною активністю. На користь цього свідчили роботи з виявлення у фізіологічному пріоні супероксиддисмутазної активності *in vitro* [48, 51]. Ці роботи викликали ряд запитань та зауважень, насамперед, про правильність постановки експерименту. По-перше, супероксиддисмутазна активність, виміряна для рекомбінантного фізіологічного пріона, залежала від рефолдингу білка з денатурованого стану у присутності надфізіологічних кількостей вільної міді. По-друге, було відомо, що вільні амінокислоти, зв'язуючи мідь також демонструють супероксиддисмутазну активність *in vitro*. І, по-третє, зв'язування міді фізіологічним пріоном є набагато слабшим, порівняно з іншими купроензимами [50]. У недавній роботі, S. Jones et al. [48] повідомляється про відсутність супероксиддисмутазної активності, крім фонової, у фізіологічного пріона *in vitro* при різноманітних умовах, що свідчить про відсутність даної активності у PrP^C в організмі та помилковість результатів попередніх робіт.

Друга гіпотеза говорить про те, що фізіологічний пріон здатний захищати клітини від оксидативного стресу шляхом активації інших білків-антиоксидантів, таких як Cu/Zn-СОД, які нейтралізують активні форми кисню. Було показано, що при навантаженні мозку нокаутних за геном *Prnp* мишей ізотопом міді ⁶⁴Cu, ензиматична активність Cu/Zn-СОД складає лише 10-50 % від норми [49, 50]. Також встановлено зростання активності цього ферменту у тварин з надекспресією фізіологічного пріона. Хоча, слід відмітити, що деякими групами вчених [51, 52] повідомлялося про неможливість відтворення цих результатів. Активність інших антиоксидантних ензимів, таких як каталаза та глутатіон-редуктаза, також знижувалася у *Prnp*^{0/0} мишей [53], хоча природа цього феномену досі не з'ясована.

З вищенаведених даних впливає факт тісного зв'язку між фізіологічним пріоном та іонами міді. Завдяки багатьом роботам [54-58], загальноприйнятим є положення про те, що фізіологічний пріон є мідь-зв'язуючим білком. Гістидин-вмісні октапептидні повтори специфічно зв'язують чотири іони міді з константою дисоціації близько 0,1 нМ [59]. Процес зв'язування включає утворення координаційних зв'язків іонів міді з атомами нітрогену імідазольного кільця гістидинів, а також між атомами нітрогену та оксигену в білковому ланцюгу, включаючи залишки гліцину. Два додаткових сайти зв'язування міді представлені залишками гістидинів у положеннях 96 та 111 [60]. Зв'язування міді спричиняє конформаційні зміни в рухливій N-кінцевій частині фізіологічного пріона [61, 62].

Мідь теж впливає на біохімічні та клітинно-біологічні властивості фізіологічного пріона. У головному мозку вона викликає агрегацію фізіологічного пріона з утворенням пртеазорезистентної форми, конформаційно відмінної від патологічного пріона [63]. На додаток, мікромолярні концентрації міді стимулюють ендоцитоз поверхневого PrP^C через клатрин-облямовані ямки [64, 65]. Цей ефект вимагає зв'язування пріоном міді у зон октапептидних повторів та вихід PrP^C з ліпідних плотоподібних доменів. Базуючись на впливі міді на трафікінг фізіологічного пріона, було висунуто гіпотезу про роль PrP^C як рецептора для внутрішньоклітинного транспорту міді [64]. Також можливо, що пріон є стоковим білком для зв'язування іонів міді на клітинній поверхні без наступного ендоцитозу.

Важливим експериментальним підтвердженням участі фізіологічного пріона у процесах транспорту міді могло би бути доведення кореляції між концентраціями міді та PrP^C у органах та тканинах. Встановлено, що вміст міді, але не інших транзитних металів, складає лише 10 % від норми у плазматичних мембранах, синаптосомах та ендосомах мишей

з генотипом *Prnp^{0/0}* [65]. Послідовні дослідження від цих самих авторів [66] показали, що *Prnp^{0/0}* миші мають лише 50 % вмісту міді, що є меншою різницею з контролем, порівняно з їх першою роботою. Базуючись на цьому, автори припускають, що фізіологічний пріон залучений до підтримання гомеостазу міді у синапсі [67].

Оскільки більшість молекул фізіологічного пріона локалізовані на поверхні клітини, то логічно було б припустити, що цей білок може бути залучений до трансмембранних сигнальних процесів. Подібно до інших ГФІ-заякорених білків, PrP^C знаходиться у ліпідних плотоподібних доменах, які, як відомо, функціонують в якості риштування для збирання надмолекулярних сигнальних комплексів [68]. Зважаючи на те, що амінокислотний ланцюг фізіологічного пріона є екстрацелюлярним, тому PrP^C потребує взаємодії з трансмембранними білками для передачі сигналу всередину клітини. Використання дріжджової двогібридної системи дозволило виявити декілька сигнальних молекул II класу, які можуть бути партнерами PrP^C *in vivo* – це адаптерний білок Grb2 та синапсин 1b [69]. Оскільки ці молекули є цитоплазматичними, то вони не можуть напряму взаємодіяти з фізіологічним пріоном в умовах живої клітини. Зрозуміло, що головним питанням є ідентифікація молекулярних компонентів PrP^C-опосередкованого сигнального шляху.

У дещо штучних умовах проводилося дослідження цих питань шляхом індукованого моноклональними антитілами крос-лінкінгу поверхневого PrP^C [70]. Можливо, що антитіла цього типу мають мімікринний ефект відносно природного ліганда фізіологічного пріона. Індукований антитілами крос-лінкінг ГФІ-заякорених білків на поверхні клітини використовувався для активації протеїнкіназо-залежних сигнальних каскадів у лімфоцитах [70]. Подібно, крос-лінкінг фізіологічного пріона в нейроектодермальній лінії клітин 1C11 призвів до стимуляції сигнального шляху, опосередкованого нерцепторною тирозин кіназою *fun* [71]. Цей ефект був також відмічений при взаємодії фізіологічного пріона з рафтовим білком кавеоліном. Подальшими дослідженнями встановлено, що PrP^C-опосередкована активація *fun*-залежного сигнального каскаду спричиняє до зростання активності NADPH-оксидази та активації MAP-кіназ, а також продукції вільних форм кисню [72]. Крім цих процесів, під дією крос-лінкінгу фізіологічного пріона змінюється активність G-протеїн зв'язаних серотонінових рецепторів [73]. Сигнальні шляхи, активовані при дії анти PrP-антитіл володіють ефектом виживання, тобто, стимулюють процеси проліферації та диференціації клітини.

Іншим типом прожиттєвого сигнального шляху, до якого залучений фізіологічний пріон, є шлях опосередкований білком STI-1. Цей протеїн описаний як кошаперон, знайдений у макромолекулярних комплексах з білками теплового шоку родин Hsp70 і Hsp90 [74]. Хоча у STI-1 відсутня спеціальна сигнальна послідовність і, в основному, він локалізований у цитоплазмі та ядрі, все ж частина молекул STI-1 зустрічається на плазматичній мембрані та ко-імунопреципітується з PrP^C [75]. Взаємодіючи з поверхневим STI-1, фізіологічний пріон захищає клітини ретинальних експлантів від анізоміцин-опосередкованої клітинної загибелі [75]. Встановлено, що цей ефект опосередкований активацією цАМФ/Протеїнкіназа А — залежного шляху [76]. Недавні дослідження показали, що інкубація гіпокампіальних нейронів з рекомбінантним STI-1 стимулює аксональний ріст PrP-залежного типу, який відбувається за стимуляції MAP-кіназних сигнальних шляхів [77].

Двома недавніми дослідженнями було встановлено роль фізіологічного пріона у PI3K/Akt сигналюванні. В одній роботі [78] у *Prnp^{0/0}* і *Prnp^{+/+}* мишей з фокальною церебральною ішемією вимірювався розмір інфарктних зон мозку. Встановлено, що у *Prnp^{0/0}* мишей розмір цих зон був значно більшим, порівняно з мишами дикого типу, що переконливо демонструє протективну роль фізіологічного пріона при ушкодженнях головного мозку. Крім цього, в *Prnp^{0/0}* мишей був знижений рівень протеїнкінази Akt, що доводило учать PrP^C у проведенні Akt-опосередкованого проліферативного сигналу. У другій роботі показано зменшення активності протеїнкіназ Akt у мишей з генотипом *Prnp^{0/0}*, порівняно з *Prnp^{+/+}* мишами [78]. Більше того, доведено, що фармакологічне інгібування

протеїнкінази Akt знижує здатність фізіологічного пріона захищати клітини від оксидативного стресу.

Аксональний ріст є іншим важливим біологічним процесом, в контексті якого розглядалося PrP-опосередковане клітинне сигналювання. Поверхневий PrP^C полегшує аксональний ріст через *цис* і *транс* взаємодію з N-CAM, яка включає в себе рекрутування N-CAM в ліпідні рафти та активацію протеїнкінази fyn [79]. Обробка культури клітин нейронів рекомбінантним фізіологічним пріоном також посилює аксональний ріст і рівень виживання нейронів та викликає активацію багатьох важливих внутрішньоклітинних протеїнкіназ, зокрема fyn, PKC, PKA, PI3K/Akt і ERK [80, 81].

Описані тут PrP-опосередковані сигнальні процеси викликають позитивний ефект для нейрональної проліферації та диференціації. Хоча існують дані про нейротоксичний ефект пріона, який теж опосередкований певними сигнальними каскадами клітини. Один з найтипівіших прикладів включає синтетичний пептид PrP106-126, який проявляє багато властивостей, характерних для патологічного пріона і використовується для імітування токсичних ефектів патологічного пріона в клітині [82]. PrP106-126 є токсичним для культуральних нейронів та нейрональних ліній клітин, але тільки використання експресуючих фізіологічний пріон клітинних ліній дозволило підтвердити, що токсична дія PrP106-126 опосередкована PrP^C-залежними сигнальними шляхами [83, 84]. Відповідно до цього, було показано стимуляцію PrP106-126 багатьох сигнальних кіназних каскадів клітини, включаючи p38, ERK1/2 та JNK1/2. У дугому прикладі PrP^C-опосередкованої нейротоксичності, експресія фізіологічного пріона робила чутливими нейрони та нейрональні лінії клітин до апоптичної дії інгібітора протеїнкіназ – стауроспорина [85, 86]. Це викликано ендоцитозом PrP^C та зростанням активності “охоронця геному” p53.

Багато експериментальних досліджень підтвердили, що фізіологічний пріон може брати участь у формуванні синаптичної структури та її функціонуванні. Ця гіпотеза узгоджується з тим фактом, що основною супутньою молекулярною патологією при пріонних інфекціях є дисфункція синапсів [87]. Використання світлової та електронної мікроскопії, імуноцитохімічних досліджень дало можливість встановити, що PrP^C концентрується, переважно, вздовж аксона у пресинаптичних терміналах [87-93]. На додаток, фізіологічний пріон є субстратом антероградного та ретроградного аксонального транспорту [94, 95]. Інкубація культуральних нейронів гіпокампу з рекомбінантним фізіологічним пріоном веде до зростання інтенсивності аксонального росту та збільшення кількості синаптичних контактів у культурі клітин. Цей результат доводить регулюючу роль фізіологічного пріона у процесі формування синапсу.

Електрофізіологічні записи зрізів мозку *Prnp*^{0/0} мишей підтвердили функціональну роль пріона у синаптичній передачі інформації. У зрізах гіпокампу з *Prnp*^{0/0} мишей спочатку було показано послаблення довгострокового потенціювання та зниження рецептор-опосередкованого швидкого інгібування [96, 97]. Хоча, слід відмітити, що ці результати є спростовані [98]. Переважна більшість досліджень вказує на позитивну кореляцію між рівнем фізіологічного пріона та загальною силою глутаматергічної передачі в гіпокампусі, при цьому миші з надекспресією фізіологічного пріона демонструють надфізіологічну відповідь [99]. Цей ефект, скоріше за все, є результатом більш ефективного рекрутування пресинаптичних волокон при зростанні рівня фізіологічного пріона. Поряд зі зменшенням після-гіперполяризації, яка спостерігається у гіпокампальних CA1 нейронах у *Prnp*^{0/0} мишей [100] та клітинах Пуркін'є, відмічається зниження Ca²⁺-залежної K⁺ провідності [101]. Зменшення після-гіперполяризації також досліджено у пірамідальних нейронах після пре- та постнатальної делеції гена фізіологічного пріона.

Prnp^{0/0} миші демонструють ряд інших нейробиологічних аномалій, які теж можуть залежати від формування та функціонування синапсів. Ці аномалії включають зміни в організації нервових волокон [102], порушення циркадних ритмів [103] та дисфункцію просторового орієнтування і навчання [104].

CELLULAR PRION AND THEIR ROLE IN CELL FUNCTIONS

S u m m a r y

In work was analyzed and generalized data of modern literature about cellular prion functions in cell and organisms of mammals. The analyzes of partner proteins of cellular prion carried out and indicated, that prion, as membrane protein of outer layer of plasmatic membrane, can not interact with proteins of cytoplasm for which was demonstrated the interaction with prion in vitro.

It was shown, that prion can regulate many important physiological processes, namely apoptosis, reaction of cell to oxidative stress, interaction between cells, copper metabolism, activity of signal transduction pathways etc. But the main role of cellular prion in vivo has not been established.

V. V. Влизло, В. В. Стадник, Х. Я. Майор, П. И. Вербицкий

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ПРИОН И ЕГО РОЛЬ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ КЛЕТКИ

А н н о т а ц и я

В работе проанализированы и обобщены данные современной литературы про функции физиологического приона в клетке и организме млекопитающих. Проведен анализ белков-партнеров клеточного приона и указано, что прион как мембранный белок внешней поверхности цитоплазматической мембраны не может взаимодействовать с цитоплазматическими белками, для которых продемонстрировано взаимодействие in vitro. Показано, что данный белок владеет свойством регулировать много важных физиологических процессов, а именно, апоптоз, ответ клетки на окислительный стресс, межклеточное взаимодействие, метаболизм меди, активность сигнальных каскадов и т.д. На сегодня до конца не установлена главная роль физиологического приона, которую он выполняет in vivo.

1. *Prusiner S.B.* Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie / S.B. Prusiner // *Science*. — 1982. — Vol.216, №45. — P. 136 — 144.

2. *Schwarz A.* Immunisation with a synthetic prion protein-derived peptide prolongs survival times of mice orally exposed to the scrapie agent / A. Schwarz, O. Kratke, M. Burwinkel // *Neurosci. Lett.* — 2003. — Vol. 350. — P. 187—189.

3. *Manson J.C.* 129/Ola mice carrying a null mutation in PrP that abolishes mRNA production are developmentally normal / J.C. Manson, A.R. Clarke, M.L. Hooper // *Mol. Neurobiol.* — 1994. — Vol. 8. — P. 121 — 127.

4. *Mallucci G.R.* Post-natal knockout of prion protein alters hippocampal CA1 properties, but does not result in neurodegeneration / G.R. Mallucci, S. Ratte, E.A. Asante // *EMBO J.* — 2002. — Vol.21. — P. 202 — 210.

5. *Rivera-Milla E.* Disparate evolution of prion protein domains and the distinct origin of Doppel- and prion-related loci revealed by fish-to-mammal comparisons / E. Rivera-Milla, B. Oidtmann, C.H. Panagiotidis // *FASEB J.* — 2006. — Vol. 20. — P. 317 — 319.

6. *Manson J.* The prion protein gene: a role in mouse embryogenesis? / J. Manson, J.D. West, V. Thomson // *Development*. — 1992. — Vol. 115. — P. 117 — 122.

7. *Harris D.A.* Localization of the mRNA for a chicken prion protein by in situ hybridization / D.A. Harris, P. Lele, W.D. Snider // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1993. — Vol. 90. — P. 4309 — 4313.
8. *Moser M.* Developmental expression of the prion protein gene in glial cells / M. Moser, R.J. Colello, U. Pott // Neuron. — 1995. — Vol. 14. — P. 509 — 517.
9. *Ford M.J.* Selective expression of prion protein in peripheral tissues of the adult mouse / M.J. Ford, L.J. Burton, R.J. Morris // Neuroscience. — 2002. — Vol. 113. — P. 177 — 192.
10. *Stahl N.* Scrapie prion protein contains a phosphatidylinositol glycolipid / N. Stahl, D.R. Borchelt, K. Hsiao // Cell. — 1987. — Vol. 51. — P. 229 — 249.
11. *Harris D.A.* Prion Biology and Diseases / D.A. Harris, P.J. Peters, A. Taraboulos— New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004. — 1050 pp.
12. *Naslavsky N.* Characterization of detergent-insoluble complexes containing the cellular prion protein and its scrapie isoform / N. Naslavsky, R. Stein, A. Yanai // J. Biol. Chem. — 1996. — Vol. 272. — P. 6324 — 6331.
13. *Gorodinsky A.* Glycolipid-anchored proteins in neuroblastoma cells form detergent-resistant complexes without caveolin / A. Gorodinsky, D.A. Harris // J. Cell Biol. — 1995. — Vol. 129. — P. 619 — 627.
14. *Peretz D.* A conformational transition at the N terminus of the prion protein features in formation of the scrapie isoform / D. Peretz, R.A. Williamson, Y. Matsunaga // J. Mol. Biol. — 1997. — Vol. 273, № 3. — P. 614 — 622.
15. *Shyng S.L.* A glycolipid-anchored prion protein is endocytosed via clathrin-coated pits / S.L. Shyng, J.E. Heuser, D.A. Harris // J. Cell Biol. — 1994. — Vol. 125. — P. 1239 — 1250.
16. *Sunyach C.* The mechanism of internalization of glycosylphosphatidylinositol-anchored prion protein / C. Sunyach, A. Jen, J. Deng // EMBO J. — 2003. — Vol. 22. — P. 3591 — 3601.
17. *Lee K.S.* Towards cellular receptors for prions / K.S. Lee, R. Linden, M.A. Prado, R.R. Brentani, V.R. Martins // Rev. Med. Virol. — 2003. — Vol. 13. — P. 399 — 408.
18. *Gauczynski S.* The 37-kDa/67-kDa laminin receptor acts as the cell-surface receptor for the cellular prion protein / S. Gauczynski, J.M. Peyrin, S. Haik // EMBO J. — 2001. — Vol. 20. — P. 5863 — 5875.
19. *Gauczynski S.* The 37-kDa/67-kDa laminin receptor acts as a receptor for infectious prions and is inhibited by polysulfated glycanes / S. Gauczynski, D. Nikles, S. El-Gogo, D. Papy-Garcia, C. Rey, S. Alban, D. Barritault, C.I. Lasmezas, S. Weiss // J. Infect. Dis. — 2006. — Vol. 194. — P. 702 — 709.
20. *Stewart R.S.* Most pathogenic mutations do not alter the membrane topology of the prion protein / R.S. Stewart, D.A. Harris // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276. — P. 2212 — 2220.
21. *Hegde R.S.* A transmembrane form of the prion protein in neurodegenerative disease / R.S. Hegde, J.A. Mastrianni, M.R. Scott // Science. — 1998. — Vol. 279. — P. 827 — 834.
22. *Ma J.* Conversion of PrP to a self-perpetuating PrP^{Sc}-like conformation in the cytosol / J. Ma, S. Lindquist // Science. — 2002. — Vol. 298. — P. 1785 — 1788.
23. *Drisaldi B.* Mutant PrP is delayed in its exit from the endoplasmic reticulum, but neither wild-type nor mutant PrP undergoes retrotranslocation prior to proteasomal degradation / B. Drisaldi, R.S. Stewart, C. Adles // J. Biol. Chem. — 2003. — Vol. 278. — P. 21732 — 21743.
24. *Roucou X.* Cellular prion protein neuroprotective function: implications in prion diseases / X. Roucou, A.C. LeBlanc // J. Mol. Med. — 2005. — Vol. 83. — P. 3 — 11.
25. *Roucou X.* Neuroprotective functions of prion protein / X. Roucou, M. Gains, A.C. LeBlanc // J. Neurosci. Res. — 2004. — Vol. 75. — P. 153 — 161.
26. *Van Delft M.F.* How the Bcl-2 family of proteins interact to regulate apoptosis / M.F. Van Delft, D.C. Huang // Cell Res. — 2006. — Vol. 16. — P. 203 — 213.
27. *Yuan J.* Apoptosis in the nervous system / J. Yuan, B.A. Yankner // Nature. — 2000. — Vol. 407. — P. 802 — 809.
28. *Bounhar Y.* Prion protein protects human neurons against Bax-mediated apoptosis / Y. Bounhar, Y. Zhang, C.G. Goodyer // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276. — P. 39145 — 39149.

29. *Roucou X.* Cytosolic prion protein is not toxic and protects against Bax—mediated cell death in human primary neurons / X. Roucou, Q. Guo, Y. Zhang // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278. — P. 40877 — 40881.
30. *Roucou X.* Cellular prion protein inhibits proapoptotic Bax conformational change in human neurons and in breast carcinoma MCF-7 cells / X. Roucou, P.N. Giannopoulos, Y. Zhang, J. Jodoin, C.G. Goodyer, A. LeBlanc // *Cell Death Differ.* — 2005. — Vol. 12. — P. 783 — 795.
31. *Kuwahara C.* Prions prevent neuronal cell-line death / C. Kuwahara, A.M. Takeuchi, T. Nishimura, K. Haraguchi, A. Kubosaki, Y. Matsumoto, K. Saeki, Y. Matsumoto, T. Yokoyama, S. Itoharu, T. Onodera // *Nature.* — 1999. — Vol. 400. — P. 225 — 226.
32. *Sakudo A.* Impairment of superoxide dismutase activation by N-terminally truncated prion protein (PrP) in PrP-deficient neuronal cell line / A. Sakudo, D.C. Lee, K. Saeki // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2003. — Vol. 308. — P. 660 — 667.
33. *Diarra-Mehrpour M.* Prion protein prevents human breast carcinoma cell line from tumor necrosis factor alpha-induced cell death / M. Diarra-Mehrpour, S. Arrabal, A. Jalil // *Cancer Res.* — 2004. — Vol. 64. — P. 719 — 727.
34. *Zhang C.C.* Prion protein is expressed on long-term repopulating hematopoietic stem cells and is important for their self-renewal / C.C. Zhang, A.D. Steele, S. Lindquist, H.F. Lodish // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2006. — Vol. 103. — P. 2184 — 2189 .
35. *Rambold A.S.* Association of Bcl-2 with misfolded prion protein is linked to the toxic potential of cytosolic PrP / A.S. Rambold, M. Miesbauer, D. Rapaport // *Mol. Biol. Cell.* — 2006. — Vol. 17. — P. 3356 — 3368.
36. *Stewart R.S.* Mutational analysis of topological determinants in prion protein (PrP) and measurement of transmembrane and cytosolic PrP during prion infection / R.S. Stewart, D.A. Harris // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278. — P. 45960 — 45968.
37. *Halliwel B.* Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? / B. Halliwel // *J. Neurochem.* — 2006. — Vol. 97. — P. 1634 — 1658.
38. *Milhavet O.* Oxidative stress and the prion protein in transmissible spongiform encephalopathies / O. Milhavet, S. Lehmann // *Brain Res. Rev.* — 2002 — Vol. 38. — P. 328 — 339.
39. *Brown D.R.* Prion protein-deficient cells show altered response to oxidative stress due to decreased SOD-1 activity / D.R. Brown, W.J. Schulzschaeffer, B. Schmidt // *Exp. Neurol.* — 1997. — Vol. 146. — P. 104 — 112.
40. *Brown D.R.* Lack of prion protein expression results in a neuronal phenotype sensitive to stress / D.R. Brown, R.S. Nicholas, L. Canevari // *J. Neurosci. Res.* — 2002. — Vol. 67. — P. 211 — 224.
41. *Wong B.S.* Increased levels of oxidative stress markers detected in the brains of mice devoid of prion protein / B.S. Wong, T. Liu, R. Li, T. Pan, R.B. Petersen, M.A. Smith, P. Gambetti, G. Perry, J.C. Manson, D.R. Brown, M.S. Sy // *J. Neurochem.* — 2001. — Vol. 76. — P. 565 — 572.
42. *McLennan N.F.* Prion protein accumulation and neuroprotection in hypoxic brain damage / N.F. McLennan, P.M. Brennan, A. McNeill // *Am. J. Pathol.* — 2004. — Vol. 165. — P. 227 — 235.
43. *Sakurai-Yamashita Y.* Female-specific neuroprotection against transient brain ischemia observed in mice devoid of prion protein is abolished by ectopic expression of prion protein-like protein / Y. Sakurai-Yamashita, S. Sakaguchi, D. Yoshikawa // *Neuroscience.* — 2005. — Vol. 136. — P. 281 — 287.
44. *Spudich A.* Aggravation of ischemic brain injury by prion protein deficiency: Role of ERK-1/-2 and STAT-1 / A. Spudich, R. Frigg, E. Kilic // *Neurobiol. Dis.* — 2005. — Vol. 20. — P. 442 — 449.
45. *Brown D.R.* Antioxidant activity related to copper binding of native prion protein / D.R. Brown, C. Clive, S.J. Haswell // *J. Neurochem.* — 2001. — Vol. 76. — P. 69 — 76.

46. *Brown D.R.* Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase / D.R. Brown, B.S. Wong, F. Hafiz // *Biochem. J.* — 1999. — Vol. 344. — P. 1 — 5.
47. *Rae T.D.* Undetectable intracellular free copper: the requirement of a copper chaperone for superoxide dismutase / T.D. Rae, P.J. Schmidt, R.A. Pufahl // *Science.* — 1999. — Vol. 284. — P. 805 — 808.
48. *Jones S.* Recombinant prion protein does not possess SOD-1 activity / S. Jones, M. Batchelor, D. Bhelt // *Biochem. J.* — 2005. — Vol. 392. — P. 309 — 312.
49. *Brown D.R.* Prion protein expression and superoxide dismutase activity / D.R. Brown, A. Besinger // *Biochem. J.* — 1998. — Vol. 334. — P. 423 — 429.
50. *Klamt F.* Imbalance of antioxidant defense in mice lacking cellular prion protein / F. Klamt, F. Dal-Pizzol, M.L. Conte da Frota // *Free Radic. Biol. Med.* — 2001. — Vol. 30. — P. 1137 — 1144.
51. *Waggoner D.J.* Brain copper content and cuproenzyme activity do not vary with prion protein expression level / D.J. Waggoner, B. Drisaldi, T.B. Bartnikas // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275. — P. 7455 — 7458.
52. *Hutter G.* No superoxide dismutase activity of cellular prion protein in vivo / G. Hutter, F.L. Heppner, A. Aguzzi // *Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 384. — P. 1279 — 1285.
53. *White A.R.* Prion protein-deficient neurons reveal lower glutathione reductase activity and increased susceptibility to hydrogen peroxide toxicity / A.R. White, S.J. Collins, F. Maher // *Am. J. Pathol.* — 1999. — Vol. 155. — P.1723 — 1730.
54. *Vassallo N.* Cellular prion protein function in copper homeostasis and redox signalling at the synapse / N. Vassallo, J. Herms // *J. Neurochem.* — 2003. — Vol. 86. — P. 538 — 544.
55. *Brown D.R.* The cellular prion protein binds copper in vivo / D.R. Brown, K.F. Qin, J.W. Herms, A. Madlung, J. Manson, R. Strome, P.E. Fraser, T. Kruck, A. von Bohlen, W. Schulz-Schaeffer, A. Giese, D. Westaway, H. Kretschmar // *Nature.* — 1997. — Vol. 390. — P. 684 — 687.
56. *Jackson G.S.* Location and properties of metal-binding sites on the human prion protein / G.S. Jackson, I. Murray, L.L. Hosszu // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — Vol. 98. — P. 8531 — 8535.
57. *Kramer M.L.* Prion protein binds copper within the physiological concentration range / M.L. Kramer, H.D. Kratzin, B. Schmidt // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. — P. 16711 — 16719.
58. *Stöckel J.* Prion protein selectively binds copper(II) ions / J. Stöckel, J. Safar, A.C. Wallace // *Biochemistry.* — 1998. — Vol. 37. — P. 7185 — 7193.
59. *Walter E.D.* The affinity of copper binding to the prion protein octarepeat domain: evidence for negative cooperativity / E.D. Walter, M. Chattopadhyay, G.L. Millhauser // *Biochemistry.* — 2006. — Vol. 45. — P. 13083 — 13092.
60. *Jones C.E.* Probing copper²⁺ binding to the prion protein using diamagnetic nickel²⁺ and ¹H NMR: the unstructured N terminus facilitates the coordination of six copper²⁺ ions at physiological concentrations / C.E. Jones, M. Klewpatinond, S.R. Abdelraheim, D.R. Brown, J.H. Viles // *J. Mol. Biol.* — 2005. — Vol. 346. — P. 1393 — 1407.
61. *Jones C.E.* Preferential Cu²⁺ coordination by His96 and His111 induces beta-sheet formation in the unstructured amyloidogenic region of the prion protein / C.E. Jones, S.R. Abdelraheim, D.R. Brown // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279. — P. 32018 — 32027.
62. *Leclerc E.* Copper induces conformational changes in the N-terminal part of cell-surface PrP(C) / E. Leclerc, H. Serban, S.B. Prusiner // *Arch. Virol.* — 2006. — Vol. 151. — P. 2103 — 2109.
63. *Quaglio E.* Copper converts the cellular prion protein into a protease-resistant species that is distinct from the scrapie isoform / E. Quaglio, R. Chiesa, D.A. Harris // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. — P. 11432 — 11438.
64. *Pauly P.C.* Copper stimulates endocytosis of the prion protein / P.C. Pauly, D.A. Harris // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273. — P. 33107 — 33110.

65. *Perera W.S.* Ablation of the metal ion—induced endocytosis of the prion protein by disease-associated mutation of the octarepeat region / W.S. Perera, N.M. Hooper // *Curr. Biol.* — 2001. — Vol. 11. — P. 519 — 523.
66. *Herms J.* Evidence of presynaptic location and function of the prion protein / J. Herms, T. Tings, S. Gall, A. Madlung, A. Giese, H. Siebert, P. Schürmann, O. Windl, N. Brose, H. Kretzschmar // *J. Neurosci.* — 1999. — Vol. 19. — P. 8866 — 8875.
67. *Brown D.R.* Prion and prejudice: normal protein and the synapse / D.R. Brown // *Trends Neurosci.* — 2001. — Vol. 24. — P. 85 — 90.
68. *Tsui-Pierchala B.A.* Lipid rafts in neuronal signaling and function / B.A. Tsui-Pierchala, M. Encinas, J. Milbrandt // *Trends Neurosci.* — 2002. — Vol. 25. — P. 412 — 417.
69. *Spielhauer C.* PrPC directly interacts with proteins involved in signaling pathways / C. Spielhauer, H.M. Schatzl // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. — P. 44604 — 44612.
70. *Loertscher R.* The role of glycosyl phosphatidyl inositol (GPI)—anchored cell surface proteins in T-cell activation / R. Loertscher, P. Lavery // *Transpl. Immunol.* — 2002. — Vol. 9. — P. 93 — 96.
71. *Mouillet-Richard S.* Signal transduction through prion protein / S. Mouillet-Richard, M. Ermonval, C. Chebassier, J.L. Laplanche, S. Lehmann, J.M. Launay, O. Kellermann // *Science.* — 2000. — Vol. 289. — P. 1925 — 1928.
72. *Schneider B.* NADPH oxidase and extracellular regulated kinases 1/2 are targets of prion protein signaling in neuronal and nonneuronal cells / B. Schneider, V. Mutel, M. Pietri // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — Vol. 100. — P. 13326 — 13331.
73. *Mouillet-Richard S.* Modulation of serotonergic receptor signaling and cross—talk by prion protein / S. Mouillet-Richard, M. Pietri, B. Schneider // *J. Biol. Chem.* — 2005. — Vol. 280. — P. 4592 — 4601.
74. *Lässle M.* Stress-inducible, murine protein mSTII. Characterization of binding domains for heat shock proteins and in vitro phosphorylation by different kinases / M. Lässle, G.L. Blatch, V. Kundra // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272. — P. 1876 — 1884.
75. *Zanata S.M.* Stress-inducible protein 1 is a cell surface ligand for cellular prion that triggers neuroprotection / S.M. Zanata, M.H. Lopes, A.F. Mercadante // *EMBO J.* — 2002. — Vol. 21. — P. 3307 — 3316.
76. *Chiarini L.B.* Cellular prion protein transduces neuroprotective signals / L.B. Chiarini, A.R. Freitas, S.M. Zanata // *EMBO J.* — 2002. — Vol. 21. — P. 3317 — 3326.
77. *Lopes M.H.* Interaction of cellular prion and stress-inducible protein 1 promotes neuritogenesis and neuroprotection by distinct signaling pathways / M.H. Lopes, G.N. Hajj, A.G. Muras, G.L. Mancini, R.M. Castro, K.C. Ribeiro, R.R. Brentani, R. Linden, V.R. Martins // *J. Neurosci.* — 2005. — Vol. 25. — P. 11330 — 11339.
78. *Weise J.* Deletion of cellular prion protein results in reduced Akt activation, enhanced postischemic caspase-3 activation, and exacerbation of ischemic brain injury / J. Weise, R. Sandau, S. Schwarting // *Stroke.* — 2006. — Vol. 37. — P. 1296 — 1300.
79. *Santuccione A.* Prion protein recruits its neuronal receptor NCAM to lipid rafts to activate p59fyn and to enhance neurite outgrowth / A. Santuccione, V. Sytnyk, I. Leshchynska // *J. Cell. Biol.* — 2005. — Vol. 169. — P. 341 — 354.
80. *Kanaani J.* Recombinant prion protein induces rapid polarization and development of synapses in embryonic rat hippocampal neurons in vitro / J. Kanaani, S.B. Prusiner, J. Diacovo // *J. Neurochem.* — 2005. — Vol. 95. — P. 1373 — 1386.
81. *Chen S.* Prion protein as trans-interacting partner for neurons is involved in neurite outgrowth and neuronal survival / S. Chen, A. Mange, L. Dong // *Mol. Cell Neurosci.* — 2003. — Vol. 22. — P. 227 — 233.
82. *Selvaggini C.* Molecular characteristics of a protease-resistant, amyloidogenic and neurotoxic peptide homologous to residues 106—126 of the prion protein / C. Selvaggini, L. De Gioia, L. Cantu // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1993. — Vol. 194. — P. 1380 — 1386.

83. *Forloni G.* Neurotoxicity of a prion protein fragment / G. Forloni, N. Angeretti, R. Chiesa // *Nature*. — 1993. — Vol. 362. — P. 543 — 546.
84. *Brown D.R.* Mouse cortical cells lacking cellular PrP survive in culture with a neurotoxic PrP fragment / D.R. Brown, J. Herms, H.A. Kretzschmar // *Neuroreport*. — 1994. — Vol. 5. — P. 2057 — 2060.
85. *Paitel E.* Primary cultured neurons devoid of cellular prion display lower responsiveness to staurosporine through the control of p53 at both transcriptional and posttranscriptional levels / E. Paitel, C. Sunyach, C. Alves da Costa // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279. — P. 612 — 618.
86. *Sunyach C.* Combined pharmacological, mutational and cell biology approaches indicate that p53-dependent caspase 3 activation triggered by cellular prion is dependent on its endocytosis / C. Sunyach, F. Checler // *J. Neurochem.* — 2005. — Vol. 92. — P. 1399 — 1407.
87. *Jeffrey M.* Synapse loss associated with abnormal PrP precedes neuronal degeneration in the scrapieinfected murine hippocampus / M. Jeffrey, W.G. Halliday, J. Bell // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* — 2000. — Vol. 26. — P. 41 — 54.
88. *Lainé J.* Cellular and subcellular morphological localization of normal prion protein in rodent cerebellum / J. Lainé, M.E. Marc, M.S. Sy // *Eur. J. Neurosci.* — 2001. — Vol. 14. — P. 47 — 56.
89. *Moya K.L.* Immunolocalization of the cellular prion protein in normal brain / K.L. Moya, N. Sales, R. Hassig // *Microsc. Res. Tech.* — 2000. — Vol. 50. — P. 58 — 65.
90. *Sales N.* Developmental expression of the cellular prion protein in elongating axons / N. Sales, R. Hassig, K. Rodolfo, L. Di Giamberardino, E. Traiffort, M. Ruat, P. Frérier, K.L. Moya // *Eur. J. Neurosci.* — 2002. — Vol. 15. — P. 1163 — 1177.
91. *Mironov A. Jr.* Cytosolic prion protein in neurons / A. Mironov Jr., D. Latawiec, H. Wille, E. Bouzamondo-Bernstein, G. Legname, R.A. Williamson, D. Burton, S.J. DeArmond, S.B. Prusiner, P.J. Peters // *J. Neurosci.* — 2003. — Vol. 23. — P. 7183 — 7193.
92. *Ford M.J.* A marked disparity between the expression of prion protein and its message by neurones of the CNS / M.J. Ford, L.J. Burton, H. Li // *Neuroscience*. — 2002. — Vol. 111. — P. 533 — 551.
93. *Barmada S.* GFP-tagged prion protein is correctly localized and functionally active in the brains of transgenic mice / S. Barmada, P. Piccardo, K. Yamaguchi // *Neurobiol. Dis.* — 2004. — Vol. 16. — P. 527 — 537.
94. *Moya K.L.* Enhanced detection and retrograde axonal transport of PrPC in peripheral nerve / K.L. Moya, R. Hassig, C. Creminon, I. Laffont, L. Di Giamberardino // *J. Neurochem.* — 2004. — Vol. 88. — P. 155 — 160.
95. *Borchelt D.R.* Rapid anterograde axonal transport of the cellular prion glycoprotein in the peripheral and central nervous systems / D.R. Borchelt, V.E. Koliatsos, M. Guarnieri // *J. Biol. Chem.* — 1994. — Vol. 269. — P. 14711 — 14714.
96. *Collinge J.* Prion protein is necessary for normal synaptic function / J. Collinge, M.A. Whittington, K.C. Sidle, C.J. Smith, M.S. Palmer, A.R. Clarke, J.G. Jefferys // *Nature*. — 1994. — Vol. 370. — P. 295 — 297.
97. *Manson J.C.* PrP gene dosage and long term potentiation / J.C. Manson, J. Hope, A.R. Clarke // *Neurodegeneration*. — 1995. — Vol. 4. — P. 113 — 114.
98. *Lledo P.M.* Mice deficient for prion protein exhibit normal neuronal excitability and synaptic transmission in the hippocampus / P.M. Lledo, P. Tremblay, S.J. Dearmond // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1996. — Vol. 93. — P. 2403 — 2407.
99. *Carleton A.* Dose-dependent, prion protein (PrP)-mediated facilitation of excitatory synaptic transmission in the mouse hippocampus / A. Carleton, P. Tremblay, J.D. Vincent // *Pflugers Arch.* — 2001. — Vol. 442. — P. 223 — 229.
100. *Colling S.B.* Hippocampal slices from prion protein null mice: disrupted Ca²⁺—activated K⁺ currents / S.B. Colling, J. Collinge, J.G.R. Jefferys // *Neurosci. Lett.* — 1996. — Vol. 209. — P. 49 — 52.

101. *Herms J.W.* Prion protein affects Ca²⁺-activated K⁺ currents in cerebellar Purkinje cells / J.W. Herms, T. Tings, S. Dunker // *Neurobiol. Dis.* — 2001. — Vol. 8. — P. 324 — 330.
102. *Colling S.B.* Mossy fibre reorganization in the hippocampus of prion protein null mice / S.B. Colling, M. Khana, J. Collinge, J.G. Jefferys // *Brain Res.* — 1997. — Vol. 755. — P. 28 — 35.
103. *Tobler I.* Altered circadian activity rhythms and sleep in mice devoid of prion protein / I. Tobler, S.E. Gaus, T. Deboer // *Nature.* — 1996. — Vol. 380. — P. 639 — 642.
104. *Criado J.R.* Mice devoid of prion protein have cognitive deficits that are rescued by reconstitution of PrP in neurons / J.R. Criado, M. Sanchez-Alavez, B. Conti // *Neurobiol. Dis.* — 2005. — Vol. 19. — P. 255 — 265.