



# Взаимосвязь прионов с некодирующими РНК

Р.Н. Мустафин<sup>1</sup>✉, Э.К. Хуснутдинова<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

<sup>2</sup> Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия

Прионы – это альтернативные инфекционные конформации ряда клеточных белков. В отношении протеина PrP<sup>C</sup> (PrP – от англ. prion protein, C – common, обычный) прионная конформация, получившая название PrP<sup>Sc</sup> (Sc – scrapie, скреппи, или почесуха овец), оказалась патологической. У млекопитающих PrP<sup>Sc</sup> является этиологическим фактором трансмиссивных губчатых энцефалопатий, характеризующихся накоплением в головном мозге агрегатов PrP<sup>Sc</sup>, которые обладают амилоидными свойствами. МикроРНК и длинные некодирующие РНК могут транслироваться в функциональные пептиды, оказывающие регуляторное воздействие на гены, продуктами которых они служат. Сделано предположение о роли активации специфических некодирующих РНК под влиянием прионов в качестве одного из механизмов патогенеза прионных болезней. Обнаружены изменения уровней микроРНК в тканях головного мозга, а также в экзосомах, содержащих аномальную изоформу PrP<sup>Sc</sup> у больных трансмиссивными губчатыми энцефалопатиями. Выявлены ассоциации аллелей микроРНК с развитием болезни, что говорит о возможной роли специфических последовательностей некодирующих РНК в катализе образования прионов из нормального белка. Предполагается, что измененные N-концевые пространственные домены PrP<sup>Sc</sup> способны связываться с регуляторными последовательностями специфических генов некодирующих РНК. В результате активируется экспрессия данных некодирующих РНК, которые, в свою очередь, могут взаимодействовать с PrP<sup>C</sup>, катализируя их преобразование в PrP<sup>Sc</sup>. Происходит экспоненциальный рост количества PrP<sup>Sc</sup>. В головном мозге животных и человека наблюдается активность мобильных элементов, оказывающих регуляторное влияние на дифференцировку нейрональных стволовых клеток. Транспозоны составляют основу доменных структур длинных некодирующих РНК, служат важными источниками микроРНК. Так как прионные болезни могут возникать в виде спорадических и наследственных случаев, а на восприимчивость к заболеванию влияет полиморфизм в белок-кодирующих генах и генах микроРНК, можно предположить роль специфического состава и особенностей функционирования транспозонов в их патогенезе. Активация транспозонов в головном мозге на определенных стадиях развития, а также под действием стресса отражается в характере экспрессии специфических некодирующих РНК, способных катализировать переход белка PrP<sup>C</sup> в PrP<sup>Sc</sup>. Исследование в данном направлении может стать основой для таргетной терапии прионных болезней с использованием микроРНК в качестве мишеней.

Ключевые слова: головной мозг; длинные некодирующие РНК; метилирование; микроРНК; прионы; регуляция; стволовые клетки; трансмиссивные губчатые энцефалопатии.

## Interrelation of prions with non-coding RNAs

R.N. Mustafin<sup>1</sup>✉, E.K. Khusnutdinova<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Bashkir State University, Ufa, Russia

<sup>2</sup> Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Center RAS, Ufa, Russia

Prions are alternative infectious conformations of some cellular proteins. For the protein PrP<sup>C</sup> (PrP – prion protein, C – common), the prion conformation called PrP<sup>Sc</sup> (Sc – scrapie) is pathological. For example, the PrP<sup>Sc</sup> prion causes in mammals transmissible spongiform encephalopathies, which accumulate in the brain tissues as PrP<sup>Sc</sup> aggregates with amyloid properties. MicroRNAs and long non-coding RNAs can be translated into functional peptides. These peptides can have a regulatory effect on genes from which their non-coding RNAs are transcribed. We hypothesized that prions, like peptides, due to the presence of specific domains, can also activate certain non-coding RNAs. Some of the activated non-coding RNAs can catalyze the formation of new prions from normal protein, playing a role in the pathogenesis of prion diseases. This assumption is supported by an association of microRNA alleles with the development of the disease, which indicates a role of specific sequences of non-coding RNAs in the catalysis of prion formation. In the brain tissues of patients with prion diseases, as well as in exosomes containing the abnormal isoform of PrP<sup>Sc</sup>, changes in the levels of microRNA were observed. A possible cause is the interaction of the spatial domains of PrP<sup>Sc</sup> with the sequences of the non-coding RNA genes, which causes a change in their expression. MicroRNAs, in turn, affect the synthesis of long non-coding RNAs. We hypothesize that long noncoding RNAs and possibly microRNAs can interact with PrP<sup>C</sup>, catalyzing its transformation into PrP<sup>Sc</sup>. As a result, the number of PrP<sup>Sc</sup> increases exponentially. In the brain of animals and humans, transposon activity is observed, which has a regulatory effect on the differentiation of neuronal stem cells. Transposons form the basis of domain structures of long non-coding RNAs. In addition, they are important sources of microRNA. Since prion diseases can arise as sporadic and hereditary cases, and hereditary predisposition is important for the development of the pathology, we hypothesize a role of individual features of activation of transposons in the pathogenesis of prion diseases. The activation of transposons in the brain at certain stages of development, as well as under the influence of stress, is reflected in the peculiarities of expression of specific non-coding RNAs that are capable of catalyzing the transition of the PrP<sup>C</sup> protein to PrP<sup>Sc</sup>.



Research in this direction can be the basis for targeted anti-microRNA therapy of prion diseases.

Key words: brain; long noncoding RNA; methylation; microRNA; prions; regulation; stem cells; transmissible spongiform encephalopathies.

**КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:**

Мустафин Р.Н., Хуснутдинова Э.К. Взаимосвязь прионов с некодирующими РНК. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(4):415-424. DOI 10.18699/VJ18.377

**HOW TO CITE THIS ARTICLE:**

Mustafin R.N., Khusnutdinova E.K. Interrelation of prions with non-coding RNAs. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(4):415-424. DOI 10.18699/VJ18.377

Термин «прион» создан для обозначения белковых инфекционных частиц (proteinaceous infectious particles – *prion*), способных вызывать прионные болезни или трансмиссивные губчатые энцефалопатии (ТГЭ) у млекопитающих. Одним из примеров является белок PrP<sup>Sc</sup> (PrP – от англ. prion protein, Sc – scrapie – скреппи), богатый β-слоями, образующийся путем конформационного преобразования белка приона клеток из нормальной третичной структуры PrP<sup>C</sup> (C – common – обычный). Однако PrP – не единственный белок, формирующий прионы. Не все прионы связаны с патогенезом. В научной литературе термин «прион» использовался для обозначения самораспространяющихся альтернативных конформаций белков. В этом отношении многие амилоиды могут в конечном счете определяться как прионы. Однако в другом смысле понятие «прион» влечет за собой доказанную трансмиссивность (Harbi, Harrison, 2014).

Название «амилоид» стало применяться с 1838 г. немецким ботаником М. Шлейденом для описания крахмальной (*amylum* – лат., крахмал) составляющей растений. В 1854 г. Р. Вирхов использовал этот термин ввиду своеобразной реакции депозитов в нервной системе с йодом, ошибочно считая, что такие субстанции идентичны крахмалу. В дальнейшем выяснилось, что депозиты имеют белковую природу, однако термин «амилоид» не был изменен (Kyle, 2001).

Амилоидные фибриллы – это нитевидные самоорганизующиеся агрегаты пептидов или белков, содержащие поперечные β-структуры. Лентообразные β-слои простираются по длине фибрилл, в которых β-нити проходят перпендикулярно направлению роста фибрилл и связаны между собой водородными связями. В типичных амилоидных фибриллах имеется два и более поперечных β-слоя, уложенных друг на друга. Доказательства наличия поперечных β-структур в амилоидных фибриллах получены дифракцией волокон рентгеновскими лучами и электронами, электронной микроскопией и твердотельным ядерным магнитным резонансом. Амилоидные фибриллы – структурное состояние, которое полипептиды принимают при достаточно высоких концентрациях, если они не способны образовывать более сложные структуры, например складки для глобулярной структуры фермента, или не могут участвовать в биологическом функциональном супрамолекулярном комплексе (Туско, 2014).

Формирование амилоида представляет интерес для медицинских исследований, так как в пораженной ткани многочисленных амилоидных болезней, включая диабет второго типа и нейродегенеративные болезни, такие

как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и ТГЭ, накапливаются амилоидные фибриллы (Туско, 2014). Характерная черта ТГЭ – инфекционные свойства амилоидных белков прионов, вызывающих заболевание. ТГЭ относятся к группе прогрессирующих нейродегенеративных состояний, поражающих нервную систему человека и животных (Saba et al., 2012). У человека ТГЭ включают болезнь Крейтцфельда–Якоба (СJD), синдром Герстмана–Штрауслера–Шейнкера, фатальную семейную бессонницу (FFI) и куру, у овец – скреппи, у крупного рогатого скота – бычью губчатую энцефалопатию. Эффективная диагностика и лечение ТГЭ затрудняются отсутствием эффективных прижизненных диагностических методов, особенно в доклиническую стадию болезни (Bellingham et al., 2012). ТГЭ могут иметь генетическую этиологию, возникать спорадически без каких-либо известных факторов риска или мутаций генов, а также путем прямого заражения, например через пищу и контаминированный медицинский инструментарий (таблица) (Saba et al., 2012; Mabbott, 2017).

Клеточный прионный белок с нормальной третичной структурой PrP<sup>C</sup> представляет собой сialogликопротеин с гликофосфатидилинозитольным якорем и характеризуется высоким уровнем экспрессии в центральной нервной системе (ЦНС), особенно в синапсах нейронов (Rubenstein et al., 2018). PrP<sup>C</sup> имеет молекулярную массу 30–35 кДа и кодируется геном *PRNP*. После синтеза PrP<sup>C</sup> первоначально процессируется в комплексе Гольджи до его экспрессии на плазматической мембране. Вторичная структура C-концевого домена PrP<sup>C</sup> содержит три α-спирали и короткий двуцепочечный β-складчатый слой (Mabbott, 2017). Глицин-богатый N-концевой домен содержит область октапептидного повтора, состоящую из четырех смежных копий высококонсервативной последовательности PHGGGWGQ. Предполагается, что N-концевой домен PrP<sup>C</sup> с нарушенной упорядоченностью играет роль в модулировании физиологической функции PrP<sup>C</sup>, а также в образовании патологических реакций при прионных болезнях. Во множестве исследований продемонстрировано, что N-концевой домен PrP может взаимодействовать с широким спектром лигандов, таких как богатые β-слоями конформеры (в частности, PrP<sup>Sc</sup> при ТГЭ и пептид Aβ42 при болезни Альцгеймера), ионами металлов (Cu<sup>2+</sup> и Zn<sup>2+</sup>), липидами, гликозаминогликанами (которые придают белку разнообразие, порой противоположные свойства активности, включая защиту от окислительного стресса и посредничество токсических эффектов PrP<sup>Sc</sup>), и нуклеиновыми кислотами (Eigenbrod et al., 2017). Можно

## Прионные болезни человека и животных, по (Mabbott, 2017)

Болезнь	Пораженный вид	Путь передачи
Ятрогенная болезнь Крейтцфельдта–Якоба	Человек	Случайная медицинская контаминация
Спорадическая болезнь Крейтцфельдта–Якоба	Человек	Соматические мутации или спонтанные конверсии PrP <sup>C</sup> в PrP <sup>Sc</sup>
Вариантная болезнь Крейтцфельдта–Якоба	Человек	Поедание зараженной пищи или переливание зараженной крови
Семейная болезнь Крейтцфельдта–Якоба	Человек	Герминативные мутации в гене <i>PRNP</i>
Синдром Герстмана–Штрауслера–Шейнкера	Человек	»
Куру	Человек	Ритуальный каннибализм
Фатальная семейная бессонница	Человек	Герминативные мутации в гене <i>PRNP</i>
Коровье бешенство	Крупный рогатый скот	Поедание зараженной пищи
Скрейпи	Овца, козел, муфлон	Поедание зараженной пищи, горизонтальная и вертикальная передача
Хроническая изнуряющая болезнь	Лось, олень	
Трансмиссивная энцефалопатия норок	Норка	Поедание зараженной пищи
Губчатая энцефалопатия кошек	Кошка	»
Губчатая энцефалопатия экзотических копытных	Антилопа, большой куду	»

предположить, что измененная конформация прионного белка PrP<sup>Sc</sup> влечет за собой нарушение упорядоченности N-концевого домена, модулируя его физиологическую функцию и позволяя воздействовать на гены некодирующих РНК (нкРНК) путем взаимодействия с регуляторными последовательностями или регуляторами их генов, активируя их подобно пептидам, образуемым при трансляции нкРНК. В редких случаях активируемые таким образом специфические нкРНК могут использоваться в качестве кофактора для конформационных превращений PrP<sup>C</sup> в PrP<sup>Sc</sup>. Но если такое явление происходит, то возникает цепная реакция с экспоненциальным ростом количества PrP<sup>Sc</sup>, что характерно для прионных болезней. Однако вероятность активации специфических нкРНК, которые наиболее оптимально могут способствовать конформационным переходам PrP<sup>C</sup> в PrP<sup>Sc</sup>, ничтожно мала, с учетом длительного инкубационного периода болезни, что также характерно для прионных болезней.

В центральной нервной системе PrP<sup>C</sup> при физиологическом развитии играет важную роль в поддержании гомеостаза миелина путем взаимодействия с G-белковым рецептором Gpr126 (известным как Adgrg6) в шванновских клетках. Сообщалось также о многих других функциях PrP<sup>C</sup> в ЦНС, включая регуляцию циркадных ритмов, синаптическую передачу, познание, сигнальную трансдукцию, регуляцию апоптоза и защиту от окислительного стресса. Кроме того, PrP<sup>C</sup> экспрессируется во многих клеточных популяциях в иммунной системе и вторичных лимфоидных органах. Хотя у мышей с истощением PrP<sup>C</sup> не обнаруживается явного иммунодефицита, PrP<sup>C</sup> может играть роль в активации клеток, дифференцировке Т-клеток, межклеточных взаимодействиях и фагоцитозе (Mabbott, 2017). PrP<sup>C</sup> является субстратом кальпаина (активируемая кальцием цистеиновая фосфатаза, кото-

рая обычно подвергается контролируемой активации) и может быть нейротоксичным при патологическом процессе с накоплением в цитозоле (Rubenstein et al., 2018). Обнаружено, что клеточная форма прионного белка PrP<sup>C</sup> действует как рецептор для амилоидных фибрилл  $\alpha$ -синуклеина, облегчая их интернализацию и эндоцитоз. Такие реакции происходят путем прямых взаимосвязей между фибриллами  $\alpha$ -синуклеина и N-концевым доменом PrP<sup>C</sup>. В клеточных линиях, экспрессирующих патологическую форму PrP<sup>Sc</sup>, связывание PrP<sup>C</sup> с  $\alpha$ -синуклеиновыми фибриллами предотвращает формирование и накопление PrP<sup>Sc</sup>, так как PrP<sup>C</sup> становится недоступным в качестве субстрата для патологического преобразования под воздействием PrP<sup>Sc</sup> (De Cecco, Legname, 2018).

При ТГЭ обнаруживаются изменения во вторичной, третичной и четвертичной структурах молекулы PrP, во время которых увеличивается количество  $\beta$ -складчатых слоев. Эти изменения оказывают сильное влияние на физико-химические и биологические характеристики PrP, поскольку специфическая для болезни изоформа PrP<sup>Sc</sup> нейротоксична, относительно устойчива к расщеплению протеиназой и накапливается в пораженных тканях в виде нерастворимых агрегатов. Точные механизмы, с помощью которых происходят эти конформационные и биологические изменения, не известны. Но была продемонстрирована необходимость в дополнительных молекулах шаперонов, таких как липиды, протеогликаны и РНК (Mabbott, 2017). Прогрессирование ТГЭ связано с экспоненциальным ростом превращений нормального клеточного белка PrP<sup>C</sup> в аномальную изоформу PrP<sup>Sc</sup> (Saba et al., 2012). PrP<sup>Sc</sup> характеризуется измененной третичной структурой молекулы, в которой  $\alpha$ -спирали переходят в новую конформацию с  $\beta$ -слоями (Simoneau et al., 2015). Характерные гистопатологические изменения в ЦНС при

ТГЭ включают вакуолизацию головного мозга (ГМ), нейродегенерацию, микроглиоз, астроцитоз и патологическое накопление PrP<sup>Sc</sup> (Mabbott, 2017).

Подобно другим нейродегенеративным процессам, характерным патологическим признаком ТГЭ является активированное состояние резидентных иммунных клеток ГМ, микроглии, а также повышенное количество астроцитов. Во многих случаях эта особенность может быть обнаружена до появления клинических симптомов и признаков нейродегенерации, таких как спонгиоз и гибель нейронов (Saba et al., 2012). Кроме PrP<sup>Sc</sup>, некоторые элементы могут влиять на развитие ТГЭ или детерминировать клинический фенотип болезни и восприимчивость к прионной инфекции. Например, обнаружено, что аллельный вариант гена *PRNP*, который кодирует нормальный мембранный белок PrP<sup>C</sup>, может участвовать в патогенезе ТГЭ. Выявлено, что полиморфизм *ZBTB38* гена *RASA2* (*RAS p21 protein activator 2*) ассоциирован с восприимчивостью к спорадической болезни Крейтцфельда–Якоба (англ. Creutzfeldt–Jakob Disease – CJD) в Великобритании. В Китае установлена выраженная ассоциация SNP *rs57095329* в miR-146a с восприимчивостью к фатальной семейной бессоннице (англ. Fatal Familial Insomnia, FFI) (Gao et al., 2018). Перспективным направлением считается исследование микроРНК при ТГЭ в связи с возможностью создания диагностических маркеров инфицированности животных, применяемых в пищевых целях. Так, в недавних исследованиях путем количественной ПЦР с обратной транскрипцией были проанализированы уровни кандидатных микроРНК в плазме крови овец, пораженных скрепией. Обнаружена значительная ассоциация с этой болезнью повышенных уровней miR-342-3p и miR-21-5p (Sanz Rubio et al., 2017).

### Роль микроРНК в патогенезе прионных болезней

При ТГЭ наблюдается дерегуляция определенных микроРНК в инфицированных прионом тканях ГМ (Bellingham et al., 2012). Проведены экспериментальные исследования на модельных животных для определения роли микроРНК в патогенезе прионных болезней. Обнаружена дерегуляция 15 микроРНК в ГМ мышей, инфицированных прионом. Наблюдалось усиление экспрессии более чем в 2.5 раза для miR-342-3p, miR-320, let-7b, miR-328, miR-128, miR-139-5p, miR-146a, а также снижение более чем в 2.5 раза уровней miR-338-3p и miR-337-3p. Из этих микроРНК дерегуляция при нейродегенеративных процессах ранее определена только для miR-128, что говорит о консервативном, специфическом для болезни, паттерне дифференциальной экспрессии микроРНК, ассоциированной с индуцированной прионом нейродегенерацией. Для данных микроРНК предсказано множество потенциальных мишеней, включая 119 генов, регуляция которых нарушалась при скрепии у мышей (Saba et al., 2008). Установлена гиперэкспрессия miR-146a в тканях ГМ инфицированных прионом мышей одновременно с образованием депозитов прионов и появлением активированной микроглии. В ответ на воздействие miR-146a определены значительные изменения транскрипции, включая медиаторы провоспалительных транскрипционных факторов,

ядерный фактор каппа-В (NF-κB) и сигнальные пути JAK-STAT. Анализ микрочипов позволил предсказать роль miR-146a в регуляции морфологических изменений в состоянии активации микроглии, а также фагоцитарных медиаторов окислительных всплесков, таких как CYBA и NOS3. На основании полученных результатов предложена роль miR-146a в качестве мощного модулятора функции микроглии путем регуляции активированного состояния во время индуцированной прионом нейродегенерации (Saba et al., 2012). Обнаружено усиление экспрессии *has-miR-342-3p* и *has-miR-494* в ГМ инфицированных прионом макак, моделей CJD человека, по сравнению с контрольными группами. Повышенная экспрессия *has-miR-342-3p* определена в ГМ людей со спорадической CJD. Предполагается использование данной микроРНК в качестве диагностического маркера ТГЭ (Montag et al., 2009).

Ранние изменения при ТГЭ, наблюдаемые в тканях ГМ, включают уменьшение числа синапсов и сокращение дендритных шипов с последующей редукцией длины и разветвлений аксонов. Данные патологические состояния наблюдаются в доклинических стадиях болезни и сопровождаются изменением экспрессии транскриптов, которые включают микроРНК. Обнаружено, что на ранних стадиях ТГЭ в нейронах CA1 гиппокампа возрастают уровни miR-16. Модулирование экспрессии miR-16 в зрелых нейронах гиппокампа путем экспрессии из лентивируса имитирует наблюдаемые *in vivo* редукции длины и разветвлений аксонов, приводящих к нейродегенерации. Сделано предположение, что повышенный уровень экспрессии miR-16 в нейронах в доклиническую стадию ТГЭ, вызывающий изменение регуляции MAPK/ERK путей, участвует в патогенезе прионной болезни (Burak et al., 2018). Основные молекулярные механизмы, приводящие к редукции синапсов нейронов гиппокампа и коры ГМ, при ТГЭ не выявлены. Однако оказалось, что микроРНК, многие из которых обогащают синапсы, регулируют локальный синтез белка в быстром ответе на прионные стрессоры. Были проанализированы особенности процессинга микроРНК, изолированных из синаптонейросом в доклинической и клинической стадиях ТГЭ. В доклинической стадии в нейронах наблюдалось обогащение miR-124a-3p, miR-136-5p, miR-376a-3p. В более позднем периоде ТГЭ было обнаружено увеличение уровней микроРНК, которые считаются дерегулированными в ГМ у мышей, инфицированных прионами, а также на моделях болезни Альцгеймера. К данным микроРНК относятся: miR-146a-5p, miR-142-3p, miR-143-3p, miR-145a-5p, miR-451a, miR-let-7b, miR-320, miR-150-5p. В клинической стадии ТГЭ наблюдалось снижение ряда микроРНК, в том числе почти все родственные семейству miR-200 (miR-200a-3p, miR-200b-3p, miR-200c-3p, miR-141-3p, miR-429-3p) и кластер 182 (miR-182-5p, miR-183-5p) (Boese et al., 2016).

В клетках PrP<sup>C</sup> и его аномальная инфекционная форма PrP<sup>Sc</sup> обнаруживаются ассоциированными с экзосомами – небольшими, размером 50–130 нм, везикулами, которые высвобождаются из клеток. Эти экзосомы содержат также микроРНК, используемые для идентификации микроРНК-сигнатур в диагностике ТГЭ. Исследован профиль

микроРНК в экзосомах, выделенных из инфицированных прионом нервных клеток, и выявлены повышенные уровни let-7b, let-7i, miR-128a, miR-21, miR-222, miR-29b, miR-343-3p, miR-424 по сравнению с нормой. Таким образом, в экзосомах нейронов инфицированных прионом животных наблюдается отчетливая взаимосвязь с микроРНК, что может быть использовано для диагностики ТГЭ и объяснения возможных патогенетических механизмов болезни (Bellingham et al., 2012). Помимо исследования уровней экспрессии, проведен также анализ SNP генов микроРНК, участвующих в дисрегуляции нейронов гиппокампа CA1 на мышцах в ранней доклинической стадии ТГЭ. В результате выявлена выраженная ассоциация SNP микроРНК, перекрывающих сайты связывания микроРНК с 3'-UTR генов, кодирующих GABA-рецепторные субъединицы (Saba et al., 2014). Полученные результаты позволяют сделать предположение о том, что в развитии ТГЭ имеет значение особенность последовательностей нкРНК, что отражается на их пространственной конфигурации и возможном взаимодействии с белковыми доменами PrP<sup>C</sup> с участием в катализе его конформационного преобразования в PrP<sup>Sc</sup>. В ряде исследований для этих переходов выявлена необходимость в дополнительных молекулах шаперонов, таких как РНК (Mabbott, 2017). Изменение последовательностей генов нкРНК может также иметь значение для возможного взаимодействия с ними изоформ PrP<sup>Sc</sup>, вызывающего регуляторный эффект подобно пептидам, получаемым путем трансляции нкРНК (Lv et al., 2016). Потенциальным участком для взаимодействия с генами нкРНК и их регуляторами может быть N-концевой домен PrP<sup>C</sup>, нарушение упорядоченности которого (например, при конформационном превращении в PrP<sup>Sc</sup>) играет роль в модулировании физиологических функций PrP. Предположение основано на том, что N-концевой домен PrP может взаимодействовать с широким спектром лигандов, включая последовательности нуклеиновых кислот (Eigenbrod et al., 2017). N-концевой домен нормального белка PrP<sup>C</sup> взаимодействует с глобулярным доменом (Evans et al., 2016). Однако конформационные преобразования глобулярного домена PrP<sup>C</sup> из  $\alpha$ -спиралей в  $\beta$ -слои PrP<sup>Sc</sup> могут вызвать значительные модификации N-концевого домена и возможность его взаимодействия с регуляторными последовательностями генов специфических нкРНК, продукты транскрипции которых потенциально способны катализировать конформационные превращения PrP<sup>C</sup> в PrP<sup>Sc</sup>. Это приводит к цепной реакции, так как N-концевые домены образованных PrP<sup>Sc</sup>, в свою очередь, вновь активируют экспрессию нкРНК, катализирующих их превращения.

### Регуляция некодирующих РНК продуктами собственной трансляции

Несмотря на название, некодирующие РНК могут транслироваться, а образуемые при этом пептиды обладают способностями регуляторных воздействий на белок-кодирующие гены (Lv et al., 2016). Более 10 % геномов всех живых организмов состоят из функциональных генов, содержащих короткие открытые рамки считывания (smORF) и кодирующих биоактивные пептиды (Saghatelian, Couso, 2015). При-микроРНК содержат также smORF и спо-

собны как к процессингу в зрелые микроРНК, так и к трансляции в пептиды. образуемые функциональные пептиды, обозначаемые как miPEP, могут усиливать транскрипцию связанных с ними микроРНК (Couzigou et al., 2015). У арабидопсиса каждая 50-я микроРНК содержит smORF, необходимую для трансляции при-микроРНК в пептид. У растения *Medicago truncatula* из pri-miR171b синтезируется miPEP171b, у *Arabidopsis thaliana* из pri-miR165a синтезируется miPEP165a (Lauressergues et al., 2015). Биологическая активность miPEP доказана экспериментально. Более того, данные пептиды с успехом применяются для оптимизации агрономических свойств сельскохозяйственных растений. Уже внедрено в практику применение синтетического пептида miPEP172c, который активирует экспрессию miR172c, что стимулирует образование узелков в корневой системе сои и способствует урожайности за счет симбиотического взаимодействия с ризобиями (Couzigou et al., 2016).

Хотя длинные некодирующие РНК (днРНК) не содержат консервативных и длинных открытых рамок считывания (ORF), они также могут взаимодействовать с рибосомами и транслироваться в пептиды, обладающие функциональной ролью (Ruiz et al., 2014). Например, у животных днРНК транслируется в пептид миорегулин, который контролирует эффективность работы мышц. Миорегулин связывается с кальциевой АТФазой эндоплазматической сети (ЭДС) и оказывает регуляторное влияние на поглощение кальция, за счет чего и осуществляет свой контроль (Anderson et al., 2015). Из днРНК у животных синтезируется пептид DWORF, который также функционирует на ЭДС (Nelson et al., 2016). У растений из днРНК образуются различные пептиды, например пептид IPS1, который регулирует поглощение фосфатов; пептид ENOD40 участвует в симбиотических взаимосвязях с бактериями; пептиды COLDAIR и COOLAIR управляют временем цветения (Zhang et al., 2013).

### Активность транспозонов и некодирующих РНК в головном мозге

НкРНК играют важную роль в управлении развитием ГМ и поддержании его работы в зрелых дифференцированных нервных клетках. Нейрогенез в гиппокампе управляется генными регуляторными сетями, транскрипционными факторами, днРНК и микроРНК. При этом днРНК могут играть ключевую роль в данных процессах (Deng et al., 2017). В экспериментальных исследованиях в ГМ мышей была выявлена экспрессия 849 разных днРНК, многие из которых перекрывались с белок-кодирующими генами, участвующими в функции нервной системы. При этом днРНК не являлись «транскрипционным шумом» или артефактами ремоделирования хроматина (Mercer et al., 2008). Большинство днРНК разделяли идентичную модель экспрессии с генами нейрогенеза, что говорит о роли днРНК в регуляции кортикогенеза за счет настройки экспрессии детерминантов соседних участков генома в нейронах (Arrea et al., 2013).

Наблюдается тесная взаимосвязь в функционировании нкРНК и транспозонов (TE – transposable elements) для регуляции дифференцировки стволовых клеток (СК), в том числе в нейрогенезе. Активация определенных TE

необходима как для поддержания плюрипотентности, так и для последовательной дифференцировки СК. Причем истощение специфических днРНК может привести к дисрегуляции ТЕ и полной остановке развития эмбриона. Например, истощение длинной некодирующей РНК *LincGET* вызывает полную остановку развития у мыши в поздней G2-фазе двуклеточной стадии. Эффект оказался обусловлен нарушением образования комплекса *LincGET* с белками ILF2, FUBP1, hnRNP-U, необходимого для цис-регуляторной активности LTR-содержащих ретро-ТЕ GLN, MERVL, ERVK (Wang et al., 2016). ТЕ могут использоваться в качестве генов днРНК. Например, для поддержания идентичности эмбриональных СК у человека ретро-ТЕ HERVH транскрибируется в ядерную днРНК (Lu et al., 2014). В эволюции ТЕ используются для образования функциональных доменов днРНК и встречаются в 83 % из них (Johnson, Guigo, 2014). Активность ТЕ в ГМ наблюдается не только в эмбриональном периоде, но и у взрослых людей (Faulkner, 2011), животных и в мозге дрозофилы (Richardson et al., 2014). Предполагается, что данная активность ТЕ является источником генетической гетерогенности нейронов развивающихся структур ГМ (Upton et al., 2015), так как ТЕ обладают регуляторной ролью за счет образования из их транскриптов функциональных нкРНК (Gim et al., 2014).

ТЕ служат также важными источниками микроРНК животных (Borchert et al., 2011; Gim et al., 2014) и растений (Li et al., 2011; Lorenzetti et al., 2016), что говорит об универсальности и консервативности в эволюции данного феномена. В то же время в ГМ экспрессируются до 40 % всех микроРНК, которые оказывают регуляторное воздействие на функционирование нервных клеток. Многие микроРНК влияют на нейромедиаторные системы. Определенные пре-микроРНК экспрессируются на высоком уровне в дендритах нейронов, где они локально процессируются в зрелые микроРНК, регулируя трансляцию мРНК. К ним относятся обогащенные в синапсах микроРНК: miR-200c, miR-339, miR-332, miR-318, miR-29a, miR-7 и miR-137. МикроРНК miR-16, miR-221, miR-204, miR-15b экспрессируются на более высоких уровнях в пресинапсах аксонов по сравнению с телами нейронов (Dwivedi, 2014). Важными источниками микроРНК являются неавтономные ДНК транспозоны MER (medium reiteration frequency repeats). У эмбрионов мышей на 14-й день развития выявлена выраженная активация ТЕ MER130, вызывающая образование неокортекса. Неавтономные ТЕ MER130 оказались прилегающими к важнейшим генам коры ГМ, функционируя в качестве энхансеров (Notwell et al., 2015). Тесная всесторонняя взаимосвязь ТЕ с нкРНК может говорить о неслучайности обнаруживаемой активности ТЕ в нейрональных СК, так как микроРНК и днРНК осуществляют регуляторное воздействие на экспрессию генов при дифференцировке клеток. Предполагается, что соматические ретротранспозиции ТЕ при нейрогенезе служат потенциальными источниками генотипических вариаций нейронов, необходимых для формирования структур ГМ. Наибольшая активность ТЕ обнаружена в центре нейрогенеза – гиппокампе, при секвенировании отдельных клеток которого установлено в среднем 13.7 соматических инсерций LINE-1 на один нейрон (Upton et al., 2015).

Выявлено, что дерегуляция микроРНК при ТГЭ наблюдается в нейронах гиппокампа (Burak et al., 2018), где обнаружена наибольшая активность ТЕ (Deng et al., 2017), которая, как предполагается, служит основанием гетерогенности нейронов, необходимой для формирования различных структур ГМ. Можно предположить, что особенностью функционирования определенных нкРНК, взаимосвязанных с ТЕ в регуляции работы ГМ, могут иметь значение в возникновении и прогрессировании ТГЭ. Возможной причиной является доступность определенных участков генома, содержащих последовательности ТЕ и гены микроРНК, позволяющая взаимодействовать с ними доменам PrP<sup>Sc</sup>. Это может вызвать каскад взаимозависимых процессов с геометрической прогрессией, а именно: усиление специфических микроРНК под влиянием PrP<sup>Sc</sup> способно оказывать влияние на экспрессию определенных днРНК, которые, в свою очередь, могут взаимодействовать с нормальной изоформой PrP<sup>C</sup>, катализируя ее переход в PrP<sup>Sc</sup>. Не исключено, что сами микроРНК могут взаимодействовать с прионами в качестве кофакторов, вызывая их конформационные превращения. Конечно, вероятность подобных явлений чрезвычайно мала, но при их возникновении патологический процесс будет характеризоваться экспоненциальным ростом. Это согласуется как с эпидемиологией прионных болезней, так и с особенностями их развития (длительный инкубационный период и быстрое прогрессирование). Так как каждый вид животных отличается специфическим составом и расположением ТЕ в их геномах, что отражается в эпигенетических особенностях их функционирования (Мустафин, Хуснутдинова, 2017), то предложенный механизм патогенеза ТГЭ согласуется с видоспецифичной передачей заражений прионами.

### Роль длинных некодирующих РНК в катализе белковых конформаций

Можно предположить, что ГМ является областью развития прионной болезни вследствие особенностей регуляции активности нервных клеток, отражающихся в экспрессии специфических микроРНК и днРНК под влиянием ТЕ. ДнРНК активно участвуют в управлении экспрессией генов, необходимых для развития ГМ. Например, lncRNA2393 способствует дифференцировке и распространению нейрональных СК в зубчатой извилине гиппокампа (Deng et al., 2017), где также наблюдается высокая активность ТЕ. ДнРНК взаимодействуют с микроРНК путем гибридизации с частично комплементарными последовательностями. При этом днРНК могут действовать как молекулярные губки за счет связывания микроРНК, снижая эффект их воздействия на целевые мРНК (Fitzgerald, Caffrey, 2014). ДнРНК могут катализировать различные молекулярные процессы самостоятельно в качестве рибозимов или, чаще, в составе РНП (рибонуклеопротеинов). Подобно белкам, днРНК обладают модульной пространственной организацией и содержат дискретные домены, в формировании которых важную роль играют ТЕ (Johnson, Guigo, 2014).

Для предположения возможного механизма катализа конформационного перехода нормального белка в прион под влиянием нкРНК можно рассмотреть сходные механизмы для прион-подобных доменов (PLD – prion-like

domains). PLD позволяют белку «функционально агрегировать», формируя комплексы более высокого порядка и микроскопически видимые гранулы РНП. Считается, что концентрация белков и РНК в ограниченном пространстве способствует более эффективным процессам генной регуляции. Биофизические свойства PLD-опосредованных взаимодействий могут объяснить сходные с жидкостью свойства гранул РНП, так как PLD, экспрессируемые *in vitro*, образуют гидрогели. PLD – это последовательности с низкой степенью сложности, обнаруженные в РНК-связывающих белках, ассоциированных с нейродегенеративной болезнью боковым амиотрофическим склерозом. PLD обогащены полярными аминокислотами и глицинами и имеют сходство с прионным белком дрожжей, которое можно определить с использованием скрытых моделей Маркова (Hennig, 2015). У многоклеточных животных PLD играют заметную роль в субклеточной организации цитоплазмы, особенно в отношении гомеостаза РНК. При исследовании 20000 белок-кодирующих генов человека при помощи алгоритма PLAAC (Prion-Like Amino Acid Composition) выявлено 240 генов (1.2 %), содержащих домен со структурным сходством с аннотированными прионными доменами дрожжей. Из 240 генов 72 (30 %) оказались РНК-связывающими, а 79 (33 %) – ДНК-связывающими. Некоторые из РНК-связывающих белков, содержащих PLD, включая атаксин 1, атаксин 2, TDP-43, FUS, TAF15, EWSR1, hnRNP A1, hnRNP A2, имеют важное значение в патогенезе ряда фатальных нейродегенеративных заболеваний, в том числе боковой амиотрофический склероз, лобно-теменную деменцию и спиноцеребеллярную атаксию (March et al., 2016). PLD оказались также важными регуляторами взаимодействия бактериофагов с прокариотами. Они могут быть обнаружены у всех бактериофагов различных групп бактерий и архей. Такие PLD участвуют в прикреплении и проникновении фага в клетку, а также в его размножении (Tetz G., Tetz V., 2017). Это говорит об универсальности феномена PLD в природе.

Области с низкой сложностью (LCR – low complexity regions) в отношении белков представляют собой последовательности, которые имеют общее низкое разнообразие аминокислотных остатков по сравнению с областями с высокой сложностью. LCR могут различаться по степени их повторяемости (периодические или аperiodические мотивы) и их составу (гомогенные или гетерогенные). К LCR относятся микро- и минисателлиты; тандемные, диспергированные и простые повторяющиеся последовательности (ПП), гомополимеры, гетерополимеры в геномах, а также ПП аминокислот в белках (Battistuzzi et al., 2016). Примером ПП аминокислот в LCR могут быть глутамин/аспарагин-богатые (Q/N-богатые) домены. Впервые связь прионных белков с LCR показали M.D. Michelitsch и J.S. Weissman (2000). Исследователи обнаружили, что Q/N-богатые домены имеют высокую склонность к образованию самораспространяющихся амилоидных фибрилл. Были проанализированы полные протеомные последовательности 31 вида организмов и несколько неполных протеомных последовательностей, которые изучались на предмет определения Q/N-богатых областей. Установлено, что Q/N-богатые домены встречаются в

гораздо большем количестве у эукариотических белков, они были отобраны в эволюции в качестве модульных доменов для взаимодействия белков с белками в виде «полярной молнии». Таким образом, показано, что прион-подобная регуляция функции протеинов у эукариот может быть нормальным процессом их регуляции с широким спектром функций (Michelitsch, Weissman, 2000). Прионы представляют собой инфекционные белки, и это их важнейшее свойство. Прион-подобный домен не имеет отношения к инфекционным свойствам прионов, однако отражает сходство аминокислотных последовательностей и склонность к агрегации, что позволяет рассматривать PLD в качестве возможной модели влияния нкРНК на конформационные переходы приона, так как ТГЭ могут возникать не только путем прямого заражения, но и спорадически, а также иметь генетическую этиологию (Saba et al., 2012; Mabbott, 2017). Кроме того, выявлена роль PLD в этиологии амилоидоза АА у животных, который, подобно прионным болезням, может быть трансмиссивным (Murakami et al., 2014).

PLD вовлечены в опосредованную регуляцию генов путем жидкофазных переходов, приводящих к формированию гранул РНП. Многие PLD в белках связаны с субъядерными телами, параспеклами, которые возникают вокруг днРНК. Белок RBM14 соединяет ключевые подкомплексы параспеклов путем взаимодействий, опосредованных их PLD. Для формирования параспеклов в клетке, в которых их эндогенные копии находятся в нокдауне, необходимы PLD белков RBM14 и FUS. Они формируют гидрогель с амилоид-подобными свойствами. Посредством PLD происходят жидкофазные переходы в формировании параспеклов, что подчеркивает значение данного тела в качестве модели для понимания патологических процессов нейродегенерации (Hennig et al., 2015).

В норме PLD позволяют белкам «функционально агрегировать», образуя комплексы более высокого порядка и различимые под микроскопом гранулы РНП. Концентрируемые белки и РНК в ограниченном пространстве приводят к более эффективным процессам генной регуляции. Биофизические свойства PLD-опосредованных взаимодействий могут объяснить жидкофазные свойства гранул РНП, так как экспрессируемые *in vitro* PLD образуют петлеподобные сети, проявляющиеся в виде гидрогелей. Эти гидрогели сходны с амилоидом, но отличаются от него, представляя собой функциональный амилоид. В основе открытия данного феномена лежит исследование РНК-связывающего белка FUS (Fused in Sarcoma), содержащего PLD со множеством повторов [G/S]Y[G/S]. Центральный тирозин в повторах FUS необходим для образования гидрогеля и стресс-гранул в цитоплазме. Подобно цитоплазматическим РНП-гранулам, ядерные тела также формируют комплексы без участия мембран и состоят из молекул белков и РНК, избирательно завербованных на основе белок-белковых и РНК-белковых взаимодействий. Параспеклы – ядерные тела, которые образуются на основе днРНК NEAT1 (Nuclear Paraspeckle Assembly Transcript 1/MENε/β). Известно около 40 белков параспеклов – большинство из них РНК-связывающие белки, обогащенные мотивами распознавания РНК, цинковым

пальцем и К-гомологичным доменом. Возникновение параспеклов инициируется транскрипцией NEAT1 с последующим набором различных белков, которые координируют накопление структуры параспеклов. К генам, кодирующим белки параспеклов, относятся *FUS*, *TDP-43*, *SSI18L1*, *HNRNPA1*, *TAF15*, *EWSR1*. Параспеклы являются чувствительными к стрессу структурами, индуцируемыми вирусными инфекциями, ингибированием протеосомы и дифференцировкой. Они влияют на экспрессию генов путем удержания РНК в ядре инвертированными повторами и путем секвестрации определенных факторов транскрипции (Hennig et al., 2015).

В экспериментах *in vitro* показан синергизм между эффектами РНК и амплификацией PrP<sup>Sc</sup>. При этом наиболее успешными для конверсии в прионы оказались мелкие фрагменты РНК, возникающие под действием ультразвука (Gonzalez-Montalban et al., 2011), что позволяет предположить роль микроРНК в качестве возможных катализаторов перехода PrP<sup>C</sup> в PrP<sup>Sc</sup>. В исследованиях *in vitro* продемонстрировано, что РНК действуют как кофакторы для формирования *de novo* высоких уровней инфекционных прионов, способствуя спонтанному рефолдингу PrP в патогенную изоформу (Timmes et al., 2013).

В исследованиях *in vitro* исследована роль РНК в качестве штамм-специфичных компонентов инфекционных прионов. Обнаружено, что воздействие РНКазы снижает активность конверсии PrP<sup>Sc</sup> путем циклической амплификации белковой диссоциации (PMCA) в зависимости от штаммов. Добавление РНК восстанавливало эффективность конверсии PMCA. Полученные результаты позволили исследователям предположить, что молекулы РНК могут служить катализаторами репликации прионов, а вариабельные возможности отдельных штаммов прионов для использования разных кофакторов способны объяснить специфические для штаммов зависимости от РНК (Saa et al., 2012).

Поиск предполагаемого фактора, способствующего инфекционности PrP<sup>Sc</sup> амилоида, проведен в исследовании (Simoneau et al., 2015). В экспериментах было выявлено, что первоначально непатогенный прионный белок гесPrP, эквивалентный PrP<sup>C</sup>, способен инициировать прионную болезнь у хомячков за счет превращения в прион-подобную конформацию (богатую β-слоями) в присутствии РНК, очищенных от ассоциированных со скреппи фибрилл. Анализ инфекционной смеси гесPrP-РНК выявил наличие двух популяций малых РНК размерами 27 и 55 нуклеотидов. Результаты показали четкую взаимосвязь между специфическими РНК и свойствами инфекционности прионного амилоида (Simoneau et al., 2015).

Таким образом, появляется все больше доказательств роли специфических нкРНК в патогенезе прионных болезней. Так как важными источниками днРНК и микроРНК являются ТЕ, можно предположить, что индивидуальный состав и специфические изменения активации транспозонов в онтогенезе могут быть необходимым звеном для развития ТГЭ, а также других церебральных протеинопатий, включая болезни Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона, для которых характерно структурное превращение специфических белков хозяина в новые конформации, богатые β-слоями.

## Заключение

Предполагается, что одним из механизмов патогенеза прионных болезней служит возможность взаимодействия третичной структуры прионов с последовательностями генов определенных нкРНК. Такое взаимодействие может иметь сходство с саморегуляцией нкРНК продуктами собственной трансляции. Обнаружено, что нкРНК могут транслироваться, а образуемые пептиды оказывают выраженное регуляторное воздействие на гены этих нкРНК. Ассоциация полиморфизма микроРНК с развитием прионных болезней, а также изменение экспрессии определенных нкРНК при ТГЭ позволяют сделать предположение, что специфические некодирующие РНК способны катализировать переход белка PrP<sup>C</sup> в изоформу PrP<sup>Sc</sup>. Таким образом, оптимальные взаимодействия PrP<sup>Sc</sup> с генами определенных нкРНК могут вызвать экспоненциальный рост их количества, если образуемые нкРНК или косвенные продукты их взаимодействий способны катализировать превращение PrP<sup>C</sup> в изоформу PrP<sup>Sc</sup>. Активация генов микроРНК доменами прионов, вероятно, потенцирует образование микроРНК, регуляция экспрессии определенных генов которыми также может стимулировать конформационные переходы PrP. Этим можно объяснить видоспецифический характер прионных инфекций, длительный инкубационный период и быстрое прогрессирование ТГЭ. В патогенезе ТГЭ предполагается роль ТЕ, служащих основой для дифференцировки нейрональных стволовых клеток гиппокампа под влиянием нкРНК, источниками которых могут служить ТЕ.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы / References

- Mustafin R.N., Khusnutdinova E.K. Некодирующие части генома как основа эпигенетической наследственности. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(6):742-749. DOI 10.18699/VJ17.30-o. [Mustafin R.N., Khusnutdinova E.K. Non-coding parts of genomes as the basis of epigenetic heredity. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(6):742-749. DOI 10.18699/VJ17.30-o. (in Russian)]
- Anderson D.M., Anderson K.M., Cang C.L., Makarewich C.A., Nelson B.R., McAnally J.R., Kasaragod P., Shelton J.M., Liou J., Basel-Duby R., Olson E.N. A micropeptide encoded by a putative long noncoding RNA regulates muscle performance. Cell. 2015;160:595-606.
- Apra J., Prenninger S., Dori M., Ghosh T., Monasor L.S., Wessendorf E., Zocher S., Massalini S., Alexopoulou D., Lesche M., Dahl A., Groszer M., Hiller M., Calegari F. Transcriptome sequencing during mouse brain development identifies long non-coding RNAs functionally involved in neurogenic commitment. EMBO J. 2013;32(24):3145-3160.
- Battistuzzi F.U., Schneider K.A., Spencer M.K., Fisher D., Chaudhry S., Escalante A.A. Profiles of low complexity regions in Apicomplexa. BMC Evol. Biol. 2016;16:47. DOI 10.1186/s12862-016-0625-0.
- Bellingham S.A., Coleman B.M., Hill A.F. Small RNA deep sequencing reveals a distinct miRNA signature released in exosomes from prion-infected neuronal cells. Nucleic Acids Res. 2012;40(21):10937-10949.
- Boese A.S., Saba R., Campbell K., Majer A., Medina S., Burton L., Booth T.F., Chong P., Westmacott G., Dutta S.M., Saba J.A.,

- Booth S.A. MicroRNA abundance is altered in synaptoneurosomes during prion disease. *Mol. Cell. Neurosci.* 2016;71:13-24.
- Borchert G.M., Holton N.W., Williams J.D., Hernan W.L., Bishop I.P., Dombosky J.A., Elste J.E., Gregoire N.S., Kim J.A., Koehler W.W., Lengerich J.C., Medema A.A., Nguyen M.A., Ower G.D., Rarrick M.A., Strong B.N., Tardi N.J., Tasker N.M., Wozniak D.J., Gatto C., Larson E.D. Comprehensive analysis of microRNA genomic loci identifies pervasive repetitive-element origins. *Mob. Genet. Elements.* 2011;1(1):8-17.
- Burak K., Lamoureux L., Boese A., Majer A., Saba R., Niu Y., Frost K., Booth S.A. MicroRNA-16 targets mRNA involved in neurite extension and branching in hippocampal neurons during presymptomatic prion disease. *Neurobiol. Dis.* 2018;112:1-13. DOI 10.1016/j.nbd.2017.12.011.
- Couzigou J.M., Andre O., Cuillotin B., Alexandre M., Comier J.P. Use of microRNA-encoded peptide miPEP172c to stimulate nodulation in soybean. *New Phytol.* 2016;211(2):379-381.
- Couzigou J.M., Laressergues D., Becard G., Comier J.P. miRNA-encoded peptides (miPEPs): A new tool to analyze the role of miRNAs in plant biology. *RNA Biol.* 2015;12:1178-1180.
- De Cecco E., Legname G. The role of the prion protein in the internalization of  $\alpha$ -synuclein amyloids. *Prion.* 2018;12(1):23-27. DOI 10.1080/19336896.2017.1423186.
- Deng B., Cheng X., Li H., Qin J., Tian M., Jin G. Microarray expression profiling in the denervated hippocampus identified long non-coding RNAs functionally involved in neurogenesis. *BMC Mol. Biol.* 2017;18(1):15. DOI 10.1186/s12867-017-0091-2.
- Dwivedi Y. Emerging role of microRNAs in major depressive disorder: diagnosis and therapeutic implications. *Dialogues Clin. Neurosci.* 2014;16(1):43-61.
- Eigenbrod S., Frick P., Bertsch U., Mitteregger-Kretschmar G., Mielke J., Maringer M., Piening N., Hepp A., Daude N., Windl O., Levin J., Giese A., Sakthivelu V., Tatzelt J., Kretschmar H., Westaway D. Substitutions of PrP N-terminal histidine residues modulate scrapie disease pathogenesis and incubation time in transgenic mice. *PLoS ONE.* 2017;12(12):e0188989.
- Evans E.G., Pushie M.J., Markham K.A., Lee H.W., Millhauser G.L. Interaction between prion protein's cooper-bound octarepeat domain and charged C-terminal pocket suggests a mechanism for N-terminal regulation. *Structure.* 2016;24(7):1057-1067.
- Faulkner G.J. Retrotransposons: mobile and mutagenic from conception to death. *FEBS Lett.* 2011;585(11):1589-1594.
- Fitzgerald K.A., Caffrey D.R. Long noncoding RNAs in innate and adaptive immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 2014;26:140-146.
- Gao C., Shi Q., Wei J., Zhou W., Xiao K., Wang J., Shi Q., Dong X.P. The associations of two SNPs in miRNA-146a and one SNP in ZBTB38-RASA2 with the disease susceptibility and the clinical features of the Chinese patients of sCJD and FFI. *Prion.* 2018;12(1):34-41. DOI 10.1080/19336896.2017.1405885.
- Gim J., Ha H., Ahn K., Kim D.S., Kim H.S. Genome-wide identification and classification of microRNAs derived from repetitive elements. *Genomics Inform.* 2014;12(4):261-267.
- Gonzalez-Montalban N., Makarava N., Savtchenko R., Baskakov I.V. Relationship between conformational stability and amplification efficiency of prions. *Biochemistry.* 2011;50(37):7933-7940.
- Harbi D., Harrison P.M. Classifying prion and prion-like phenomena. *Prion.* 2014;8(2):pii27960.
- Hennig S., Kong G., Mannen T., Sadowska A., Kobelke S., Blythe A., Knott G.J., Iyer K.S., Ho D., Newcombe E.A., Hosoki K., Goshima N., Kawaguchi T., Hatters D., Trinkle-Mulcahy L., Hirose T., Bond C.S., Fox A.H. Prion-like domains in RNA binding proteins are essential for building subnuclear paraspeckles. *J. Cell. Biol.* 2015;210(4):529-539.
- Johnson R., Guigo R. The RIDL hypothesis: transposable elements as functional domains of long noncoding RNAs. *RNA.* 2014;20(7):959-976.
- Kyle R.A. Amyloidosis: a convoluted story. *Br. J. Haematol.* 2001;114(3):529-538.
- Laressergues D., Couzigou J.M., Clemente H.S., Martinez Y., Dundan C., Becard G., Comier J.P. Primary transcripts of microRNAs encode regulatory peptides. *Nature.* 2015;520(7545):90-93.
- Li Y., Li C., Xia J., Jin Y. Domestication of transposable elements into MicroRNA genes in plants. *PLoS ONE.* 2011;6:e19212.
- Lorenzetti A.P., A de Antonio G.Y., Paschoal A.R., Domingues D.S. Plant TE-MIR DB: a database for transposable element-related microRNAs in plant genomes. *Funct. Integr. Genomics.* 2016;16:235-242.
- Lu X., Sachs F., Ramsay L., Jacques P.E., Goke J., Bourque G., Ng H.H. The retrovirus HERVH is a long noncoding RNA required for human embryonic stem cell identity. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2014;21(4):423-425.
- Lv S., Pan L., Wang G. Commentary: primary transcripts of microRNAs encode regulatory peptides. *Front. Plant Sci.* 2016;7:1436.
- Mabbott N.A. How do PrP<sup>Sc</sup> prions spread between host species, and within hosts? *Pathogens.* 2017;6(4). pii: E60. DOI 10.3390/pathogens6040060.
- March Z.M., King O.D., Shorter J. Prion-like domains as epigenetic regulators, scaffolds for subcellular organization, and drivers of neurodegenerative disease. *Brain Res.* 2016;1647:9-18.
- Mercer T.R., Dinger M.E., Sunken S.M., Mehler M.F., Mattick J.S. Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008;105(2):716-721.
- Michelietsch M.D., Weissman J.S. A census of glutamine/asparagine-rich regions: implications for their conserved function and the prediction of novel prions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000;97(22):11910-11915.
- Montag J., Hitt R., Opitz L., Schulz-Schaeffer W.J., Hunsmann G., Motzkus D. Upregulation of miRNA hsa-miR-342-3p in experimental and idiopathic prion disease. *Mol. Neurodegener.* 2009;4:36. DOI 10.1186/1750-1326-4-36.
- Murakami T., Ishiguro N., Haguchi K. Transmission of systemic AA amyloidosis in animals. *Vet. Pathol.* 2014;51(2):363-371.
- Nelson B.R., Makarewich C.A., Anderson D.M., Winders B.R., Troupes C.D., Wu F., Reese A.L., McAnally J.R., Chen X., Kevalali E.T., Cannon S.C., Houser S.R., Bassel-Duby R., Olson E.N. A peptide encoded by a transcript annotated as long noncoding RNA enhances SERCA activity in muscle. *Science.* 2016;351(6270):271-275.
- Notwell J.H., Chung T., Heavner W., Bejerano G. A family of transposable elements co-opted into developmental enhancers in the mouse neocortex. *Nat. Commun.* 2015;6:6644.
- Richardson S.R., Morell S., Faulkner G.J. L1 retrotransposons and somatic mosaicism in the brain. *Annu. Rev. Genet.* 2014;48:1-27.
- Rubenstein R., Wang K.K., Chiu A., Grinkina N., Sharma D.R., Agarwal S., Lin F., Yang Z. PrPC expression and calpain activity independently mediate the effects of closed head injury in mice. *Behav. Brain Res.* 2018;340:29-40.
- Ruiz-Orera J., Messeguer X., Subirana J.A., Alba M.M. Long non-coding RNAs as a source of new peptides. *Elife.* 2014;3:e03523. DOI 10.7554/eLife.03523.
- Saa P., Sferrazza G.F., Ottenberg G., Oelschlegel A.M., Dorsey K., Lasmezas C.I. Strain-specific role of RNAs in prion replication. *J. Virol.* 2012;86(19):10494-10504.
- Saba R., Goodman C.D., Huzarewich R.L., Robertson C., Booth S.A. A miRNA signature of prion induced neurodegeneration. *PLoS ONE.* 2008;3:e3652.
- Saba R., Gushue S., Huzarewich R.L., Manguiat K., Medina S., Robertson C., Booth S.A. MicroRNA 146a (miR-146a) is over-expressed during prion disease and modulates the innate immune response and the microglial activation state. *PLoS ONE.* 2012;7(2):e30832.
- Saba R., Medina S.J., Booth S.A. A functional SNP catalog of overlapping miRNA-binding sites in genes implicated in prion disease and other neurodegenerative disorders. *Hum. Mutat.* 2014;35(10):1233-1248.
- Saghatelian A., Couso J.P. Discovery and characterization of smORF encoded bioactive polypeptides. *Nat. Chem. Biol.* 2015;11(12):909-916.

- Sanz Rubio D., Lopez-Perez O., de Andres Pablo A., Bolea R., Osta R., Badiola J.J., Zaragoza P., Martin-Burriel I., Toivonen J.M. Increased circulating microRNAs miR-342-3p and miR-21-5p in natural sheep prion disease. *J. Gen. Virol.* 2017;98(2):305-310.
- Simoneau S., Thomzig A., Ruchoux M.M., Vignier N., Daus M.L., Polleggi A., Lebon P., Freire S., Durand V., Graziano S., Galeno R., Cardone F., Comoy E., Pocchiari M., Beekes M., Deslys J.P., Fournier J.G. Synthetic scrapie infectivity: interaction between recombinant PrP and scrapie brain-derived RNA. *Virulence.* 2015;6(2):132-144. DOI 10.4161/21505594.2014.989795.
- Tetz G., Tetz V. Prion-like domains in phagobiota. *Front. Microbiol.* 2017;8:2239.
- Timmes A.G., Moore R.A., Fischer E.R., Priora S.A. Recombinant prion refolded with lipid and RNA has the biochemical hallmarks of a prion but lacks in vivo infectivity. *PLoS ONE.* 2013;8(7):e71081.
- Tycko R. Physical and structural basis for polymorphism in amyloid fibrils. *Protein Sci.* 2014;23(11):1528-1539.
- Upton K.R., Gerhardt D.J., Jesuadian J.S., Richardson S.R., Sanchez-Luque F.J., Bodea G.O., Ewing A.D., Salvador-Palomegue C., van der Knaap M.S., Brennan P.M., Vanderver A., Faulkner G.J. Ubiquitous L1 mosaicism in hippocampal neurons. *Cell.* 2015;161(2):228-239.
- Wang J., Li X., Wang L., Li J., Zhao Y., Bou G., Li Y., Jiao G., Shen X., Wei R., Liu S., Xie B., Lei L., Li W., Zhou Q., Liu Z. A novel long intergenic noncoding RNA indispensable for the cleavage of mouse two-cell embryos. *EMBO Rep.* 2016;17:1452-1470.
- Zhang J., Mujahid H., Hou Y., Nallamilli B.R., Peng Z. Plant long ncRNAs: a new frontier for gene regulatory control. *Am. J. Plant Sci.* 2013;4(5):1038-1045. DOI 10.4236/ajps.2013.45128.