



УДК 616.98

© В. А. Кордюм, 1990

## САМОВОСПРОИЗВОДИЩИЕСЯ БЕЛКИ, НЕКОТОРЫЕ СЛЕДСТВИЯ И ПРОГНОЗЫ

*Анализируется ситуация, сложившаяся в результате последних исследований прионов. Обосновывается предположение о том, что в дополнение к известной форме генетического кода в виде первичной последовательности нуклеиновых кислот существует вторая форма биологической информации — пространственная структура белка, способная к самовоспроизведению. Постулируется широкое распространение в клетках второй формы биологического кода как основы жизнедеятельности.*

Невозможность белков к самовоспроизведению является одним из элементов центральной догмы биологии. Собственно говоря, данное положение намного больше, чем догма, — это фундамент молекулярной генетики. И в той постановке, в которой сформулирована центральная догма, она не нарушается экспериментом.

Однако сегодня создались теоретические и экспериментальные предпосылки для анализа центральной догмы с более общих позиций. И в таком общем виде ситуация выглядит несколько иначе.

Стратегические, меняющие судьбы науки и общества открытия, начинаются с обнаружения парадоксальных по своей курьезности наблюдений — засветка фотопластинки от содержащих уран соединений, передача наследственных признаков при посредстве внеклеточного материала и т. д. Сегодня раскрыто первое звено курьезного парадокса такого же класса значимости, относящегося до недавнего времени сугубо к медицинской генетике. Суть его в следующем.

Известны две типичные наследственные болезни, которые принципиально отличаются необычными свойствами. Они возникают и наследуются в виде редких аутосомно-доминантных моногенных врожденных нарушений, т. е. строго в соответствии с классическими правилами генетики. И в таком плане это обычные наследственные болезни. Но возникнув и реализовавшись фенотипически, они способны передаваться горизонтально в строгом соответствии с классическими правилами распространения инфекций, т. е. являются болезнями инфекционными с соблюдением даже триады Коха. Ими являются синдромы Крейтцфельда — Якоба и Герстманна — Штраусслера [1]. По теории, существовавшей до сих пор, так быть не может. Но так есть. Сегодня первый этап механизма такого явления обнаружен, и надо создавать новую теорию. Но началось все значительно раньше и не с человека, а с болезни овец — скрепи. Скрепи относится к группе патологий, определяемых как губчатые энцефалопатии. Сходство у этих болезней имеет место как при сравнении клинических проявлений, так и характера цитологических изменений пораженных участков мозга. Такое сходство дало основание объединить их по критерию общего этиологического агента — как оказалось впоследствии, принципиально нового начала для молекулярной биологии и молекулярной генетики — чисто белковой молекулы без примеси нуклеиновой кислоты, способной каким-то образом в клетке обеспечить собственное мультиплицирование, накопление, реализацию патологического процесса, способность при попадании в здоровый организм осуществить весь этот цикл сначала и т. д.

Таким образом, имеет место инфекция, вызываемая чистым белком. И инфекция вообще необычная среди всех известных — смертность от нее стопроцентная, без исключений, независимо от наличия или отсутствия лечения. Этот новый тип инфекционных начал получил название прионов от «proteinaceous infectious particle», или сокращенно — «инфекционные белки» [2]. Такова первая необычность патологии — инфекционный белок. Скрепи протекает как нейродегенеративная патология у овец и передается в естественных условиях энтеральным путем [3]. Белок, возбудитель скрепи, обнаруживается в мозгу пораженных животных в виде филаментов диаметром 16 и длиной

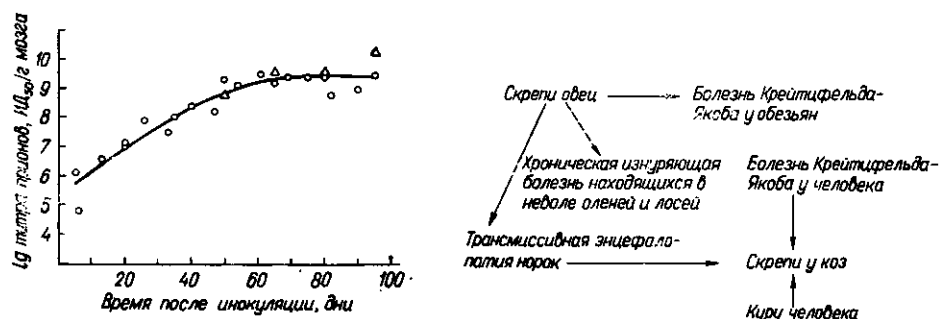


Рис. 1. Кинетика накопления приона скрепи в мозгу золотистых хомячков

Fig. 1. Kinetics of scrapie prion replication in the brain of golden hamsters

Рис. 2. Перекрестные заражения прионами

Fig. 2. Crossed infection with prions

1 500 нм. По своей структуре и окрашиванию он сходен с амилоидом. Прионовые филаменты накапливаются в межклеточном пространстве мозга больных животных в виде амилоидных бляшек [1]. Предшественником белка скрепи является нормальный мембранный белок [5]. В норме он имеет молекулярную массу 33 000—35 000 и под действием протеаз клетки полностью деградирует. Но у больных животных этот предшественник под действием протеаз процессирует в белок, возбудитель скрепи, с молекулярной массой 27 000—30 000, который оказывается устойчивым к протеолизу [6]. Белок скрепи небольшой. Так, у мышей он состоит из 254 аминокислотных остатков. Ген белка предшественника состоит из короткого некодирующего экзона, за которым следует интрон размером 10 000 пар нуклеотидов (п. о.), и второго, кодирующего экзона [7]. И в этом второе необычное свойство прионов — инфекционный, смертельный для организма белок кодируется тем же самым нормальным геном, который кодирует абсолютно необходимый для функционирования клеток нормальный белок. В отличие от белка нормального инфекционный накапливается (рис. 1). Пока однозначно неизвестно, происходит ли более интенсивно его синтез, но зато установлено, что по крайней мере одним из механизмов накопления является устойчивость к протеолизу.

И все же до самого последнего времени все особенности прионов при всей своей необычности не выходили за рамки общей концепции патологий. Где-то как-то возник прион. Так ведь всегда где-то и как-то возникают новые инфекции. Ну пусть этот возбудитель не содержит нуклеиновой кислоты. Но ведет он себя, тем не менее, как типичная инфекция. Принципиальный рубеж был перейден при изучении редкого события.

Типичных прионных болезней пока известно шесть [8]. У животных это весьма часто распространенные скрепи, трансмиссивная энцефалопатия норка и хроническая изнуряющая болезнь мулов, а также находящиеся в неволе лося и чернохвостого оленя. У человека это куру (эндемическая болезнь, передающаяся, как и скрепи, парентерально), болезнь Крейтцфельда—Якоба и синдром Герстманна —

Штраусслера. Как инфекционные начала они в значительной мере способны к перекрестным заражениям (рис. 2) [9]. Все они как-то привязаны к наследственности (по степени заражаемости, частоте встречаемости и т. д.), но только две последние являются классическими наследственными болезнями. И одновременно инфекционными. Первое звено механизма явления было изучено на примере синдрома Герстманна — Штраусслера. Используя данные о нормальном гене нормального

Рис. 3. Организация нормального аллеля гена-предшественника приона (а) и у больного синдромом Герстманна — Штраусслера (А). Открытая рамка считывания обозначена в виде широкого прямоугольника, иРНК нетранслируемой области — узким прямоугольником и интрон — черной линией. Сайты рестрикции: P — PvuII; D — DdeI; Sa — предполагаемый 3'-сайт сплайсинга. Звездочками обозначены полиморфные сайты рестрикции; пунктирными вертикальными линиями — полиморфные кодоны; скобками — синтетические праймеры (K и H) для цепной реакции полимеризации

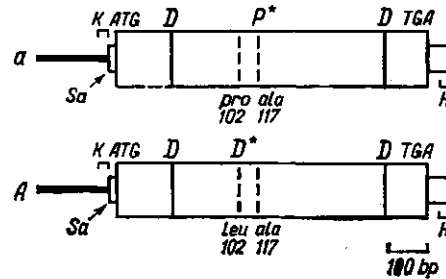


Fig. 3. Organization of normal gene allele of protease-resistant prion (a) and in patient with Gerstmann-Sträussler syndrome (A). The open reading frame is indicated by a black line. Restriction sites: P — PvuII; D — DdeI. Sa indicates a putative 3' splice site. Asterisks indicate locations of polymorphic restriction sites. Broken vertical lines indicate locations of polymorphic codons. Brackets indicate locations of synthetic primers (K and H) used in the cyclic polymerization reaction

белка человека, который является предшественником приона у животных [10], при помощи цепной реакции полимеризации были получены и затем секвенированы последовательности этого гена у двух больных, находящихся в неродственных отношениях [11]. Схема получения таких последовательностей как больных, так и здоровых людей, а также их структура представлены на рис. 3. Единственным отличием мутантного гена от нормального, определяющим болезнь, явилось изменение в 102-м кодоне, в результате чего вместо пролина в белке в данном положении появился лейцин.

В ряду лавины данных о нормальных и мутантных генах в этом не было бы ничего особенного, если бы не то обстоятельство, что теперь у инфекционного белка человека появился ген и события выстроились в удивительную цепочку. Есть дефектный ген. Он кодирует дефектный белок. И пока — все обычно. Но теперь этот белок на определенном этапе онтогенеза становится инфекционным и, попав в здоровый организм (а это продемонстрировано экспериментально на различных животных — от мышей до обезьян), на их нормальном гене обеспечивает самовоспроизводство — вместо нормального белка образуется прион. Инфекция запущена и породивший ее дефектный ген уже не нужен. У человека известно достаточно патологий, при которых ненормальный для организма белок запускает патологию, обусловленную белком, например, аутоиммунные болезни. Однако во всех таких случаях воспроизводится не то, что послужило толчком. И воспроизводится строго со своего гена (даже если он образовался *de novo*, например, вследствие привнесения извне или рекомбинации). Здесь же патологический ген запускает синтез белка, в определенный момент обязательно приобретающего патологические свойства, который сам обеспечивает свое воспроизводство теперь уже и с нормального гена и не в определенный момент, а сразу при попадании в нового хозяина передаваясь далее как от клетки клетке внутри организма, так и между организмами. Для того чтобы лучше представить себе в виде целостной картины особенности белковой патологии, сведем их воедино (два последних пункта требуют особого пояснения).

Необычные свойства болезней, вызываемых прионами:

— не формируется никакого иммунного ответа (не образуются даже антитела);

— смертность 100 %;

— патологический агент (инфекционный!), способный распространяться горизонтально, возникает в результате мутации нормального, абсолютно необходимого гена хозяина;

— возможна полная универсальность «ворот инфекции» — любая клетка организма;

— принципиальная возможность вмешательства приона на любом этапе экспрессии гена белка-предшественника, приводящая к мультиплицированию;

— для запуска цикла не требуется даже приона и его гена-мутанта.

Начнем с возможности вмешательства на любом этапе экспрессии. Молекулярный механизм процесса, приводящего к тому, что патологический белок обеспечивает свое мультиплицирование в конечном итоге с нормального гена (кодирующего в его отсутствие нормальный белок), пока неизвестен. Однако события, которые могли бы привести к такому финалу, известны. В общей форме они заключаются в том, что прион вмешивается на каком-то этапе экспрессии в нормальный процесс так, что «чуть-чуть» меняется этап. И это «чуть-чуть» приводит к появлению едва измененного белка.

Впервые самоподдерживающаяся белковая патология была предсказана автором данной статьи в 1969 г. [12]. В специальном разделе «Саморепродуцируемая белковая патология» (с. 66) был постулирован первый механизм. Подобное окажется возможным, если в результате «каких-то» событий белок, взаимодействующий со своим нормальным геном, будет способен так искажать синтез иРНК, что в ней произойдет замена, приводящая к образованию нового кодона, по которому патологический белок будет отличаться от нормального. И, будучи единожды запущен, цикл станет работать стабильно. До сих пор такой механизм экспериментально не обнаружен — в изученном материале структура клеточного гена и кДНК в зараженных животных совпала [7]. Но именно с него логически начинается перечень возможных механизмов образования прионов — патогенных белков.

В случае скрепи этот этап предполагают на посттрансляционном уровне [13]. Например, прион меняет место гликозилирования нормального предшественника, соединяясь с ним или с ферментом, осуществляющим гликозилирование. И начинает накапливаться не нормальный белок, а предшественник приона. Для накопления его (без чего не могла бы быть мультипликация) требуется какое-то противодействие естественным контролирующим протеазам. В простейшем варианте накопление возможно просто за счет усиления экспрессии. И протеазы, уровень активности которых обязательно должен быть в норме стабилизирован, уже не будут поспевать за устранением избытка. Именно так, по всей вероятности, происходит при болезни Дауна. Причина синдрома Дауна известна — трисомия по 21-й хромосоме или (что значительно реже) транслокация определенного участка 21-й хромосомы, приводящая к трисомии по этому участку. В данном же районе локализован и ген  $\beta$ -амилоида. В таком случае простое увеличение дозы гена и, как следствие, количества белка, приводит к накоплению его фрагмента, склонного к агрегации. Тогда многое становится понятным. В норме сбалансированный протеолиз деградирует до конца избыток  $\beta$ -амилоида, обеспечивая его нормальный метаболизм (синтез — функционирование — деградация — замена вновь синтезированным и т. д.). А протеолитической мощности для деградации продукта от трех генов уже не хватает. Понятна в общем виде и возрастная привязка. Активность многих ферментов с возрастом падает и то, что было возможно деградировать в молодом возрасте, с какого-то времени становится уже невозможным. А начавшийся процесс накопления амилоида быстро парализует функции клетки и процесс развивается безотказно.

И действительно, хорошо известным фактом является 100 %-ная заболеваемость болезнью Альцгеймера больных синдромом Дауна, если, конечно, они до этого доживают [14]. Прионы к Дауну отношения не имеют, но если бы «как-то возникший» белок изменял уровень своего синтеза (одновременно с образованием вместо нормального белка самого себя, т. е. «чуть-чуть» измененного), то накопление могло бы происходить и без повышения устойчивости к протеолизу. Как могут возникать формы белка, устойчивые к протеолизу, на молекулярном уровне показано применительно к болезни Альцгеймера, в которой роль прионов подозревается, но пока не доказана [15]. Она представляет собой весьма распространенную диффузную атрофию мозга. Только в США число лиц, пораженных этой болезнью, достигает 2 млн [16]. Поражаются, в основном (хотя и не только), лица старших возрастных групп.

Так, среди возрастной популяции старше 65 лет, синдромом Альцгеймера охвачено 5—10 % общей численности лиц данной возрастной категории, а старше 80 лет — 20 % [17].

Основными морфологическими признаками болезни являются так называемые сенильные бляшки, представляющие собой отложение, в состав которых входит амилоид A $\beta$ . Он, в свою очередь, образуется из белкового предшественника, получившего название  $\beta$ -амилоид (или белок-предшественник амилоида A $\beta$ ) и кодируется геном, состоящим из 16 экзонов, разделенных 15 интронами. Такая структура гена допускает широкие вариации. Сам белок включает 695 аминокислотных остатков и представляет собой необходимый для нормального функционирования клетки гликозилированный мембранный протеид [18, 19].

При ограниченном протеолизе часть белка с C-конца отщепляется в виде склонного к агрегации амилоида A $\beta$ .

Собственно дегенерация нейронов связана, как считают, с нарушением кальциевого гомеостаза этих клеток, причиной которого (прямо или опосредованно) каким-то образом является данный амилоид [20].

Одно из объяснений деменции Альцгеймера и сводится к увеличению копий гена  $\beta$ -амилоида или по какой-то причине возрастанию активности функционирования имеющихся. В некоторых случаях, судя по известным данным, так оно и происходит. Но только в некоторых. Сегодня можно с достаточной обоснованностью утверждать, что болезнь Альцгеймера при одинаковом (или близком) конечном механизме накопления амилоида и сходной клинической картине (в силу идентичности или близости конечного механизма) приходит к этому заключительному этапу разными молекулярными путями.

В ряде случаев действительно обнаружены три копии гена  $\beta$ -амилоида [21]. Но в других случаях у больных с синдромом Альцгеймера имелись только две копии [22].

У части больных выявлена и повышенная экспрессия гена  $\beta$ -амилоида [23]. Но, с другой стороны, обнаружено, что при болезни Альцгеймера усиление экспрессии данного гена имеет место только в нейронах, а при болезни Дауна — и в других клетках, в частности, в фибробластах [24]. Есть основания полагать, что нарушения могут затрагивать и процессинг белка [25]. Наконец, обнаружены изменения на посттранскрипционном уровне. Из них наиболее интересное — альтернативный сплайсинг, приводящий к трем разным формам иРНК и соответственно белка. Все три формы имеются и у здоровых людей. Но у больных уровень одной из них значительно повышен и кодирует она белок со вставкой, обладающей свойством ингибитора сериновых протеаз [26—30]. Структура двух таких форм — нормально деградируемой и устойчивой, а также место вставки с активностью ингибитора протеаз показаны на рис. 4. Насколько сильно вставка влияет на протеолиз видно из табл. 1. При условии, что одна из форм альтернативного сплайсинга может вмешиваться в сплайсинг таким образом,

что будет образовываться ее иРНК (пусть даже не исключительно, а с большей вероятностью), возникнет самомультиплицирующаяся белковая патология. К уже перечисленному выше (вмешательство на уровне транскрипции, посттранскрипционные и посттрансляционные события) можно добавить указания на возможное изменение на уровне трансляции [31, 32], приобретение альтернативной конформации [33], включение в состав рибосом с последующим изменением характера

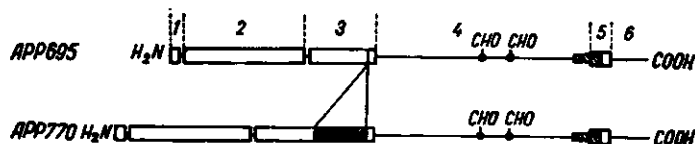


Рис. 4. Организация белка-предшественника  $\beta$ -амилоида; 1 — сигнальная последовательность; 2 — цистеин-богатая область; 3 — область, богатая отрицательными зарядами; 4 — сайты гликозилирования; 5 — трансмембранный сегмент; 6 — цитоплазматический домен. Черный прямоугольник — вставка, обладающая свойством ингибировать протеазную активность

Fig. 4. Organization of protease-resistant prion  $\beta$ -amyloid: 1 — signal sequence; 2 — cysteine-rich region; 3 — negative charge-rich region; 4 — glycosylation sites; 5 — transmembrane fragment; 6 — cytoplasmic domain. Black rectangle indicates the insertion able to inhibit proteolytic activity

трансляции [32]. Если привести все излагаемые в литературе гипотезы о механизме образования приона (и соответственно этапы экспрессии, на которых предполагаемый механизм срабатывает), то окажется, что теоретически на всех этапах прион может включиться и обеспечить изменение процесса, приводящее к тому, что вместо нормального белка образуется белок инфекционный.

Теперь рассмотрим утверждение о том, что для запуска синтеза инфекционного белка не всегда требуется даже собственно прион или его ген (ранее нормальный ген с соответствующей мутацией). К такому выводу приводят некоторые данные, обнаруженные при изучении СПИДа. Для этой болезни хорошо известно поражение центральной нервной системы, которое часто является ведущей патологией. Однако известен и иной симптомокомплекс, напоминающий старческую деменцию, но развивающуюся в молодом возрасте у бессимптомных (по другим показателям) носителей ВИЧ [34].

В 1986 году было опубликовано предположение о связи ВИЧ и прионов. Оно основывалось на том, что ген, кодирующий предшественника приона, имеет районы весьма высокой гомологии с 3'-областью *pol*-гена ВИЧ [35]. Как видно из рис. 5, для такого утверждения действительно имеются основания. Тем не менее эта работа подверглась критике. С одной стороны, указывалось, что в геноме ВИЧ имеются участки с еще большей гомологией к гену белка-предшественника приона и авторы, следовательно, вообще невнимательно провели анализ [36]. С другой стороны, отмечалось, что среди различных последовательностей имеется немало примеров такой же, или еще большей гомологии с геном преприона, но все они не имеют биологического значения [36, 37]. Интерес к такой аналогии угас. Но с точки зрения самоподдерживаемой белковой патологии, гомологию следует рассматривать совсем в ином ключе. Предположение о связи ВИЧ и скрепи с учетом всего изложенного выше наталкивает на совсем другую идею, для которой, строго говоря, вообще не важно наличие связи ВИЧ и скрепи. Она сводится к тому, что для запуска прионного каскада может оказаться необязательным ни сам прион, ни тот мутантный ген, который способен его первично воспроизвести. Для этого достаточно любой несамоподдерживаемой группы белка, запускающей (даже с низкой эффективностью) цикл образования приона с нормального, всегда имеющегося и экспрессирующегося гена. Подобного можно достичь, если данная группа «чуть-чуть» изменит

протекание одного из этапов экспрессии гена-предшественника приона. Вместо нормального белка возникнет прион. А дальше прион, раз возникнув, будет обеспечивать свое мультиплицирование до конца, т. е.

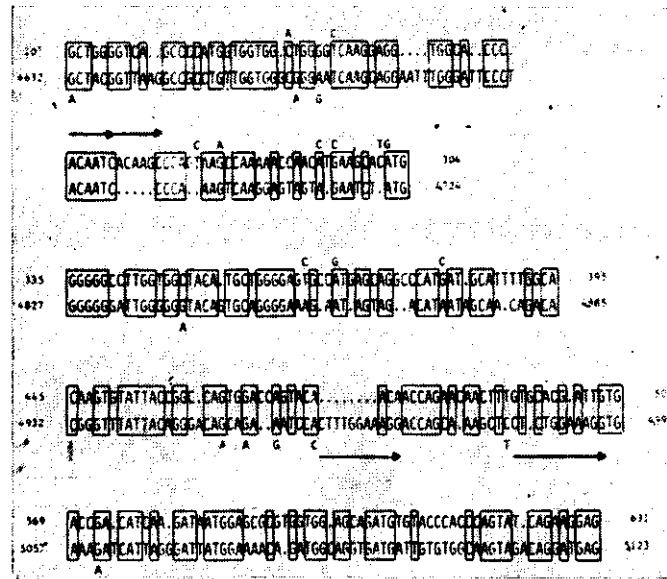


Рис. 5. Сравнение гомологичной области гена-предшественника приона скрепи хомячка (сверху) и 3'-конца *pol*-гена одного из изолятов ВИЧ (внизу)

Fig. 5. Comparison of the hamster gene for protease-resistant prion scrapie-related gene (above) and the 3' end of one of the ARV strain *pol* gene (below)

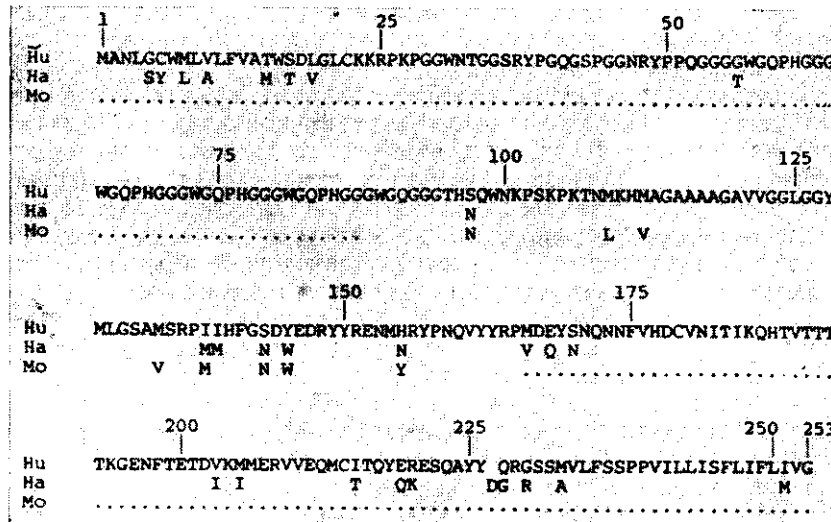


Рис. 6. Сравнение аминокислотных последовательностей белков-предшественников прионов человека (*Hu*), хомячка (*Ha*) и идентифицированных участков белка-предшественника мыши (*Mo*). Указаны только различающиеся аминокислоты

Fig. 6. Comparison of the human protease-resistant prion amino acid sequence (*Hu*) with the hamster (*Ha*) and the mouse equivalents of protease-resistant prion (*Mo*). Only amino acid replacements are presented

до тех пор, пока в клетке идет биосинтез белка. И кроме самого первого этапа — запуска, ген и кодируемый им белок с запускающей цикл приона группой больше не будут нужны.

Из этого вытекает интересное следствие природы самоподдерживающейся белковой патологии. В отличие от кода нуклеиновых кислот, которые являются информационными носителями первичной последова-

тельности белка (а она уже обеспечивает все остальные структуры), информация самоподдерживающейся белковой патологии исходно закодирована в пространственной структуре. Белок не просто обеспечивает свое мультиплицирование как некой первичной последовательности (ведь белки индивидуальны именно по своей последовательности). Он в первую очередь мультиплицирует общие пространственные структуры, которые по первичной последовательности могут и отличаться одна от другой. Это не предположение. Это реально наблюдаемый факт. Хорошо известно, что при высоком консерватизме гена белки-предшественники прионов у разных организмов тем не менее несколько

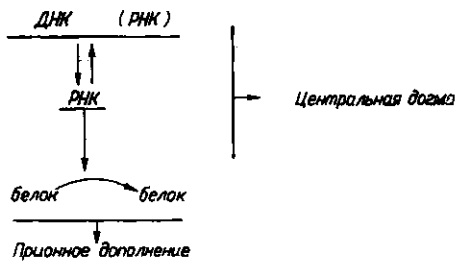


Рис. 7. «Прионное» дополнение к центральной догме

Fig. 7. «Prional» supplement to the central constancy

Таблица 1

Относительная активность трипсина в COS1-клетках, трансфицированных кДНК APP (предшественника белка β-амилоида)

Relative activity of trypsin in cos<sub>1</sub> cells transfected by cDNA APP (protease-resistant prion β-amyloid)

Плазмида	Без плазмиды (контроль)	pSVMT-APP695	pSVMT-APP 770
1	100,0±15,0	94,0±12,4	29,0±15,9*
2	100,0±10,4	101,0±5,5	36,8±23 5*

\* P<0,01; \*\* P<0,05; Student t-test.

ко различаются. На рис. 6 представлены аминокислотные последовательности (в однобуквенном выражении) человека, хомячка и мыши [10]. Имеет место более 10 % замен. Как видно из рис. 2, это не мешает перекрестным заражениям. Но гены преприонов (и, следовательно, белки) у этих организмов различаются. И при заражении отличающимся белком (например, хомячка — прионом человека) в новом хозяине образуется свой прион со своей первичной последовательностью. При переносе в другой организм (скажем, из хомячка в мышь) он индуцирует синтез по первичной последовательности не себя (ген-то будет уже другой), а отличного от себя приона. И так далее. И каждый раз иная первичная последовательность запустит самомультиплицирующуюся иную по первичной последовательности белковую патологию. Пространственная же структура (по крайней мере ключевая для самоподдержания) у них окажется сходной. Таким образом, при белковой патологии одна и та же структура приводит к синтезу у разных организмов белков такой же структуры, но различающихся по первичным последовательностям. Пока очень мало что известно о степени разнообразия прионов. Из общих соображений можно думать, что прионы распространены весьма широко и сами они разнообразны. Но никаких конкретных данных по этому вопросу нет.

Существенно больше известно о разнообразии в рамках одного белка-предшественника. Если исходить из того, что инфекционный белок, обеспечивающий собственную мультипликацию в виде информационного начала, имеет некую пространственную структуру, то ее изменение (за счет изменения первичной структуры, особенностей посттрансляционной модификации или иным путем) приведет к изменению эффективности или специфичности этого этапа, на котором нормальный белок превращается в патологический. Подобное явление действительно обнаружено. Получены инбредные линии мышей с крайне удлиненным периодом развития болезни при инфекции скрепи [38]. Это свойство оказалось моногенным признаком, тесно сцепленным с геном белка-предшественника приона (неясна пока локализация мутаций: в том же гене или соседнем). Если это мутация в том же гене, тогда изменение пространственной структуры функционально активной груп-



пы делает снижение эффективности мультиплицирования весьма вероятным.

Первичная последовательность не может не влиять на пространственную структуру. Поэтому можно предположить существование некоторого диапазона изменений пространственной структуры, обуславливающего то белок-белковое или белок-нуклеиновое (если изменения происходят на первых этапах) взаимодействие, которое обеспечивает приону самомультиплицирование путем вмешательства в один из этапов экспрессии. Такой диапазон, обеспечивая принципиальную возможность мультиплицирования, должен на своих границах иметь разную эффективность процесса. Фенотипически это будет проявляться в разной длительности (или характере течения) болезни при заражении одним и тем же материалом организмов с генами-предшественника приона, отличающимися по первичной последовательности (в той ее части, которая влияет на пространственную организацию, обуславливающую самомультиплицирование).

Для разных животных хорошо известна разная длительность болезни при экспериментальном заражении. Но у разных животных «все» разное и ожидать одинаковой длительности развития патологии трудно. Однако подтверждение вышеизложенному теоретическому прогнозу было получено на линейных мышах. Путем специальной проверки разных мышей и инбредного скрещивания получены мыши с резко удлиненным периодом болезни — 280 дней — по сравнению с обычно встречающимся (от 140 до 180 дней).

Оказалось, что у «длинной» линии по сравнению с «короткими» и «средними» в гене-предшественнике приона имелись три нуклеотидные замены, менявшие код двух аминокислот. В 108-м кодоне вместо СТС, кодирующего лейцин, имелся кодон ТТС, кодирующий фенилаланин. В кодоне 189 вместо АСС, кодирующего триптофан, имелся кодон ТТС, кодирующий фенилаланин. Интересно, что идущие подряд кодоны 189, 190, 191 и 192 у «короткой» линии идентичны и кодируют подряд четыре триптофана. У «длинной» линии благодаря изменению в 189-м кодоне этот кластер триптофанов нарушался (хотя и частично).

И при строго стандартном заражении таких мышей исходно одинаковым материалом приона, полученным из линии швейцарских мышей, предварительно зараженных изолятом приона из морской свинки, длительность болезни соответствовала заменам в гене-предшественнике приона [33]. Но в рамках диапазона, разрешенного первичной последовательностью, патологическая пространственная структура воспроизводит себя во всех случаях, что приводит к ее мультиплицированию.

Возможны и некоторые различия в патогенезе, связанные с изменением структуры приона. Так, при пассировании белка через мозг восприимчивых животных выделены производные прионы с разной продолжительностью инфекционного периода теперь уже у животных одной и той же линии [39]. Поскольку ген и белок-предшественник одни и те же (животные принадлежат одной линии), приходится допускать существование вариантов пространственной структуры, обеспечивающих неидентичное изменение превращения нормального белка в патологический, хотя у всех носителей этих вариантов должна быть идентичная первичная последовательность. Более того, их действие на клетку тоже становится неодинаковым. При медленном развитии болезни накапливается амилоид. А при быстром — нервные клетки гибнут без отложения амилоида [40].

Заражение мышей материалом от разных больных синдромами Крейтцфельда — Якоба и Герстманна — Штраусслера вызвало достоверные различия в картине поражений. Разные изменения мозга у мышей одних и тех же линий вызывали разные штаммы скрепи, причем это не зависело от вводимой дозы [9]. О разных белках-прионах при разных болезнях свидетельствуют и данные табл. 2.

Имеется еще одна очень четкая демонстрация возможности суще-

ствования нескольких близких, но не идентичных, пространственных модификаций самомультиплицирующегося белка. Как указывалось выше, различные штаммы прионов (уже более 20) способны у мышей одной и той же линии вызывать хоть и не сильные, но четко различающиеся по форме течения болезни. Оказалось, что они могут также изменяться при пассировании [39]. При этом возникает форма, более быстро мультиплицирующаяся и опережающая в своем накоплении другие. В результате серийных пассажей через животные она накапливается. И все это — при одном и том же «базовом» гене белка-предшественника прионов. Описаны и другие отличия.

Вышеизложенное заставляет по-новому и очень серьезно оценить ситуацию с прионами. Пока отсутствовала хорошо известная и доступная детальному анализу и изучению цепочка: измененный ген — измененный белок, эпидемические возможности прионов можно было оценивать как весьма ограниченные. Но теперь, когда известен измененный, запускающий прионный цикл ген, когда можно ставить вопрос о запускающей прионы иной, неприонной (т. е. не самомультиплицирующейся) структуре, ситуация с оценкой резко изменилась. Теперь становится понятным, что редкое рекомбинационное событие, при котором на любой вирус человека переключается запускающая прионный цикл последовательность, создает новый патоген, страшный по своим последствиям. Ему не надо будет долго находиться в человеке. Достаточно краткого пребывания, чтобы запустить цикл приона (и в любой клетке, совсем необязательно нервной). А дальше — вирус не нужен, дело докончит прион, он-то самомультиплицирующийся.

Ситуация усугубляется двумя дополнительными факторами. Вероятность возникновения болезней Герстманна — Штраусслера и Крейтцфельда — Якоба (т. е. вероятность появления известной мутации в известном гене, запускающем прионный цикл) составляет  $10^{-6}$ — $10^{-7}$  [11]. Это вроде бы обычная частота мутирования. Но только вроде бы.  $10^{-6}$ — $10^{-7}$  — частота обычных мутаций, т. е. таких, которые выражаются в повреждении «своего» белка. К такому эффекту приводят изменения во многих нуклеотидах гена. Суммирование вероятностей всех и дает  $10^{-6}$ — $10^{-7}$ . В разбираемом же случае известно, что к эффекту приводит только строго определенная замена строго определенного основания. Вероятность таких мутаций  $10^{-11}$  [41]. А реально регистрируемая частота  $10^{-7}$ . Так бывает только в одном случае — если ген находится в горячей точке, т. е. зоне повышенной нестабильности. Эти абстрактные четыре порядка при своей материализации приводят к ошеломляющим величинам. За все время существования человека как вида *Homo sapiens* общая численность всех когда-либо живших людей оценивается примерно в 100 млрд [42]. При вероятности мутирования  $10^{-11}$  ген, запускающий прионный цикл, мог вообще появиться всего 1 раз за всю историю человечества. А при вероятности  $10^{-7}$  — один носитель постоянно находится среди десяти миллионов, т. е. чуть ли не в каждой области. Поэтому вероятность рокового рекомбинационного события резко возрастает. Если же прибавить к этому непрерывно усиливающееся мутационное давление, одним из элементов которого является повышение нестабильности геномов, то опасность возрастает еще сильнее.

Следует учитывать также перекрестные заражения. И если прион человека заражает мышей и других животных, то имеются все основания полагать, что прионы наших «братьев меньших» окажутся столь же патогенными и для нас [9]. А животные обитают в местах с еще более мощной мутационной нагрузкой. Тот факт, что в инбредно полученных за короткий срок мышах в гене-предшественнике приона имелись три нуклеотидные замены [33], свидетельствует, что и у них эта область очень «горячая».

Говоря о гене приона и о всей той цепочке, которая порождает-ся им, следует сделать одну оговорку. Расшифровка генетического дефекта синдрома Герстманна — Штраусслера, строго говоря, еще не

Таблица 2  
 Особенности болезней, связанных с прионами  
 Peculiarity of diseases connected with prion

Болезнь	Инкубационный период	Длительность от первых симптомов до смерти	Возраст, в котором реализуется болезнь	Больные, у которых имеется амиллоид, %	Экспериментально заражаемые животные
Куру	Обычно 5—10 лет (но может быть до 30 лет, но лишь у отдельных индивидуумов при заражении в детстве)	Обычно 6—9 месяцев	Во всех возрастах, включая детский	70	Обезьяны, козы, норки, хорьки
Крейтцфельда — Якоба	Известный случай заражения человека (при пересадке роговицы от больного) привел к развитию болезни через 18 месяцев	В среднем примерно 6 месяцев	В 90 % случаев развитие болезни приходится на возраст от 40 до 69 лет. Самый ранний известный случай — 17 лет	9	Обезьяны, козы, кошки, хомячки, мыши, крысы, морские свинки, норки, суслики, опоссумы
Гертсманна — Штраусслера	—	В среднем около 60 месяцев	Средний возраст умерших 48 лет	Почти 100	Обезьяны, мыши, крысы, морские свинки
Скрепи	При естественном заражении от 2 до 5 лет. Прионы начинают обнаруживаться в лимфоузлах и кишечнике через 10—14 месяцев	От нескольких месяцев до нескольких лет	Начиная с молодого возраста (но с учетом длительности инкубационного периода)	—	Обезьяны, овцы, козы, мыши, крысы, норки, морские свинки, песчанки
Трансмиссивная энцефалопатия норок	При естественном заражении от 5 месяцев до 1 года	От 0,5 до 1,5 месяца	В естественных условиях заражения щенки и молодь невосприимчивы. Щенки не заражаются, даже если сосут молоко больных самок. Заболевают щенки и молодь только при поедании погибших от болезни норок. Отмечены случаи вертикальной передачи болезни	—	Обезьяны, норки, козы, мыши, хорьки, скунсы, еноты
Хроническая изуряющая болезнь находящихся в неволе оленя и лося	При искусственном заражении — от 17 до 21 месяца. Инкубационный период при естественном заражении точно не установлен	—	—	62	Олени, лоси, хомячки, хорьки

преподнесла человечеству подарок в виде истинного гена приона. Она сделала лишь тот решающий шаг, который показал, где надо искать чудовище. И этому следует посвятить специальный анализ.

По самой идее патологии мутация, приводящая к появлению истинного гена приона, должна быть летальной. Можно даже предсказать ее особенности — она будет летальной и плода (или ребенка в ранний постнатальный период), и матери: белок-то инфекционный. Но такое окажется возможным лишь в пределе — в случае приона, обуславливающего высокоэффективный и быстрый процесс. Вспомним: одно из обязательных условий функционирования приона — способность к накоплению, т. е. к преодолению естественного уровня протеолиза, который в этой связи является важнейшим элементом защитной системы организма. Самые активные процессы протекают в эмбриогенезе и детском возрасте. И, можно думать, многие (или даже подавляющее большинство) прионы смогут преодолеть протеазный барьер только в том возрасте, когда он частично снизит свою активность. В этом плане под подозрением могут находиться ювенильные деменции.

Те же варианты изменений в гене нормального белка, превращающегося в результате мутаций в белок предшественника приона, которые пока описаны, судя по анализу, обеспечивают лишь резко увеличенную вероятность образования «как-то» из них приона. Очень похоже, что для этого необходимо еще некое компетентное состояние организма, обусловленное возрастными процессами. Необходимые предпосылки болезни с возрастом накапливаются и, начиная с какого-то периода, вероятность повышается до неизбежности. Так, описаны молниеносные формы синдрома Крейтцфельда — Якоба. В одном из таких случаев у мужчины и женщины от одного отца, начиная с первых признаков до летального исхода, прошло всего 4 месяца [43]. Этот семейный случай в разбираемом плане очень показателен: длительный период некомпетентного состояния организма, переход в компетентное (мужчине было 39, а женщине — 49 лет), образование приона и крайне быстрое его мультиплицирование. Кстати, семейный характер патологии (с доминантным наследованием) в некоторых странах приближается к 50 % от всех в них зарегистрированных случаев болезни — мутации очень редки, но компетентное состояние возникает в возрасте, позволяющем до того передать дефектный ген потомству [42].

О том, что имеет место вероятностный, а не жестко детерминированный характер связи дефектный ген — прион при известных синдромах, свидетельствует и сравнение времени, прошедшего после случайного заражения человека материалом от больного синдромом Крейтцфельда — Якоба и самым ранним известным случаем естественного возникновения болезни (см. табл. 2). В первом случае для развития патологии понадобилось всего полтора года, а при естественном возникновении, несмотря на весьма широкое распространение болезни (в среднем 1 больной на 1 млн населения), раньше 17 лет патология вообще не проявляется.

Могут быть и далеко не столь яркие формы, которые благодаря смертности симптомов не отождествляются клинически с прионной патологией, хотя и имеют более широкое распространение [44]. Но теперь все это доступно для изучения. Методы клонирования позволяют быстро получить и исследовать ген проприона от любого человека (или животного). Система рекомбинантных молекул обеспечивает оперативное создание любых конструкций и испытание их как в клетках разных тканей вне организма, так и на интактных лабораторных животных. Поэтому ген, обеспечивающий непосредственное, жестко детерминированное, а не вероятностное возникновение приона в любой возрастной период, т. е. истинный, а не вероятностный ген приона будет получен, скорее всего, в ближайшее время. И тогда проблема последствий станет еще более острой и наглядной.

Наконец, о некоторых фундаментальных проблемах, которые ставят прионы. Когда говорят об иерархии процессов, вспоминают цент-

ральную догму биологии, запрещающую перенос информации с белка на нуклеиновые кислоты, что подразумевает невозможность белкового самомультиплицирования. В плане невозможности переноса информации с белка на нуклеиновые кислоты прионы запрета не нарушают, хотя пока детали процесса были неизвестны, такая возможность и допускалась [45]. Следует еще раз подчеркнуть, что сегодня для этого нет оснований. Однако возможность белкового мультиплицирования является реальностью. Конечно, здесь имеются свои особенности и ограничения. Но используемый для нуклеиновых кислот термин «самокопирование» также весьма условен и ограничен.

Для репликации и транскрипции нужны не только соответствующие белки, но и, по крайней мере, не менее совершенная информация о пространственной структуре этих белков, обеспечивающая узнавание их нуклеиновыми кислотами и мультиплицирование. Код сам по себе без стереоспецифического взаимодействия нуклеиновых кислот с белком бессмыслен.

Не менее принципиальным, чем код нуклеиновых кислот, является то, что информация об отличии приона от нормального белка записана не в нуклеиновой кислоте, а в самом белке, и этот измененный белок обеспечивает появление себя, а не нормального белка. И запись информации как того, что обеспечивает и воспроизводит процесс появления инфекционного белка вместо нормального, осуществляется в пространственной структуре, естественно, при условии, что первичная такое принципиально допускает.

В заключение возникает естественный вопрос: насколько распространено данное явление — самопродуцирующиеся белковые структуры. Пока они известны как единичные патологии (хотя некоторые из них, как например скрепи, весьма часто встречаются). Однако по своей сути, изначальным механизмам, по самой природе патологии являются отклонениями от нормы. И для того чтобы вообще имела место патология, должна быть та самая норма, от которой данная патология отличается. Без нормы патология вообще теряет смысл.

С таких позиций инфекционные белки — отклонения от нормы, которая по отношению к ним должна существовать в виде необходимых клетке для нормальной жизнедеятельности саморепродуцирующихся белковых структур клетки. Исходя из первичной последовательности белков (даже без их посттрансляционной модификации) существует ряд энергетически близких конформаций. В клетке же реализуется только одна из них (или более одной, но далеко не все). Объясняют это несколькими причинами: укладкой, которая начинается уже во время синтеза на рибосомах, условиями микроокружения (под которыми понимают локальные флуктуации молярности, pH, концентрации определенных ионов), а также мембранными структурами. Но в микроокружение входят и сами белковые молекулы. И просто невероятно, чтобы они не влияли на пространственную организацию биополимеров. При этом можно постулировать как гетерологичные взаимодействия (при которых белок с одной пространственной структурой будет определять альтернативную форму белковой молекулы с другой первичной последовательностью), так и гомологичные (белок с определенной пространственной структурой определяет таковую у белка с идентичной первичной последовательностью). Сегодня это признается очевидным при сборке надмолекулярных структур. Но механизм в подобное взаимодействие закладывается совсем иной — суммарное энергетически наиболее выгодное взаиморасположение самих молекул и их отдельных группировок.

В случае же пространственного кода имеется в виду такое взаимодействие молекул, при котором образуется устойчивая альтернативная структура, способная к существованию в данной конформации и вне жесткого взаимодействия в виде кирпичика надмолекулярного комплекса. Именно так будут вести себя многие (если не большинство) белковые молекулы в клетке. Окружение, конечно же, на них будет

влиять, но воссоздающим фактором (в разрешающем диапазоне окружения и собственной первичной последовательности) является пространственный код.

Кроме такого прямого действия, как описывалось выше, возможно определяющее действие и на другие этапы — саму транскрипцию, посттранскрипционные события, трансляцию, посттрансляционную модификацию. Причем такое действие может иметь и многостадийно опосредованный характер (опять же, как описывалось выше).

Так может создаваться особый спектр состояний, обеспечивающий при весьма близком составе белков те реальные и весьма значительные отличия, которые проявляются в виде различных тканей, патологических состояний и всего того, что именуется организмом. И тогда следует признать, что в клетках существует еще один особый, отличный от генетического, пространственный код, определяющий тонкие состояния живого. А генетический код нуклеиновых кислот, являясь жестко детерминированным, определяет принципиальные элементы построения живого. Вот к каким следствиям приводит полный анализ инфекционных белков — прионов, частного, но очень яркого и потому первым замеченного случая пространственного кода белков. И пока весь этот иной мир живого остается вне поля зрения биологии.

По-видимому, настало время вернуться к тому, что было названо центральной догмой биологии и привести ее в соответствие с тем объемом экспериментальных и теоретических данных, которые появились позднее, дополнив возможностью возникновения белка от белка (рис. 7). Белка от белка не в виде последовательности от последовательности, а в виде пространственной структуры от пространственной структуры.

## SELF-REPRODUCING PROTEINS, SOME CONSEQUENCES AND PREDICTIONS

V. A. Kordyum

Institute of Molecular Biology and Genetics,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

### Summary

The possible results of mutation identification in gene encoding protein, human prion precursor, under Gerstmann-Sträussler syndrome are analyzed. The whole succession of events leading to appearance and following self-reproduction (just regardless of mutation gene now) of prions, a specific class of infectious proteins, has been formed up. The supposition that reproduction of alternative spatial structure underlies self-reproduction of infectious proteins whose existence was firstly predicted in 1969 by the author of this article, is stated and substantiated on the basis of existing information. It permits speaking about special form of protein code in the form of spatial structure ensuring its self-reproduction in the same or similar spatial structure.

Thus, in addition to the well-known form of genetic code as primary sequence of nucleic acids, the notion on the second form of biological information, i. e. spatial proteins structure able to self-reproduce, is introduced. A wide spreading of the second forms of biological code as a basis of vital activity in the cells is stated.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Weissman C. Sheep disease in human clothing // *Nature*.— 1989.— 338, N 6213.— P. 298—299.
2. Prusiner S. Prions // *Sci. Amer.*— 1984.— 251, N 4.— P. 48—57.
3. Kimberlin R. H., Walker C. A. Pathogenesis of scrapie in mice after intragastric infection // *Virus Res.*— 1989.— 12, N 3.— P. 213—220.
4. Identification of prion amyloid filaments in scrapie-infected brain / S. J. De Armond, M. P. McKinley, R. A. Barry et al. // *Cell*.— 1985.— 41, N 1.— P. 221—235.
5. Brunori M., Silvestrini M. C., Pocchiari M. The scrapie agent and the prion hypothesis // *Trends Biochem. Sci.*— 1988.— 13, N 8.— P. 309—313.

6. Baum R. Scrapie gene found in healthy cells // Chem. and Eng. News.— 1985.— 63, N 18.— P. 34—36.
7. Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene / K. Basler, B. Oesch, M. Scott et al. // Cell.— 1986.— 46, N 3.— P. 417—428.
8. Narang H. K. Scrapie, an unconventional virus: the current views // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.— 1987.— 184, N 4.— P. 375—388.
9. Зуев В. А. Медленные вирусные инфекции человека и животных.— М.: Медицина, 1988.— 256 с.
10. Molecular cloning of a human prion protein cDNA / H. Kretzshmar, S. Stowring, D. Westaway et al. // DNA.— 1986.— 5, N 4.— P. 315—324.
11. Gerstmann-Straussler. Linkage of a prion protein missense variant to Gerstmann-Straussler syndrome / K. Hsiao, H. F. Baker, T. J. Crow et al. // Nature.— 1989.— 338, N 6213.— P. 342—345.
12. Сытник К. М., Кордюм В. А., Кок И. П. Регуляторные механизмы клетки.— Киев: Наук. думка, 1969.— 152 с.
13. Prusiner S. B. Prion diseases and aging // J. Cell. Biochem.— 1989.— Suppl. 13P.— P. 146.
14. Heston L. L., Morris M. L. Family studies of Alzheimer's dementis: Results and prospects // Can. J. Neurol. Sci.— 1986.— 13, N 4, Suppl.— P. 432—434.
15. Haase A. T. The pathogenesis of slow virus infections: molecular analysis // J. Infect. Diseases.— 1986.— 153, N 3.— P. 441—447.
16. Edwards D. D. On the trail of the Alzheimer's tragedy // Science News.— 1985.— 128, N 24.— P. 374—375.
17. Maladie d'Alzheimer et mongolisme sans trisomie 21, une meme anomalie génétique: la duplication anormale du gène des plaques séniles cérébrales / J. M. Delabar, D. Goldgaber, Y. Lamour et al. // Sem. hop. Paris.— 1987.— 63, N 24.— P. 1992—1994.
18. Identification, transmembrane orientation and biogenesis of the amyloid A<sub>4</sub> precursor of Alzheimer's disease / T. Dyrks, A. Weidemann, G. Multhaup et al. // EMBO J.— 1988.— 7, N 4.— P. 949—957.
19. The PreA<sub>4</sub> — precursor protein of Alzheimer's disease A4 amyloid is encoded by 16 exons // H. G. Lemaire, J. M. Salbaum, G. Multhaup et al. // Nucl. Acids Res.— 1989.— 17, N 2.— P. 517—522.
20. McLachlan D. R. Aetiopathology of brain aging // Brain Pathol.— 1984.— 1.— P. 251—268.
21.  $\beta$  amyloid gene duplication in Alzheimer's disease and karyotypically normal Down syndrome / J.-M. Delabar, D. Goldgaber, Y. Lamour et al. // Science.— 1987.— 235, N 4794.— P. 1390—1392.
22. Gene dosage of the amyloid  $\beta$  precursor protein in Alzheimer's disease / M. Podlisny, P. Berman, G. Lee, D. J. Selkoe // Ibid.— 238, N 4827.— P. 669—671.
23. Dorozynski A. Alzheimer: le gène du mongolisme serait en cause // Sci. et vie.— 1987.— 835, N 1.— P. 30—32.
24. Expression of the  $\beta$ -amyloid precursor protein gene in fibroblasts: a study of Alzheimer's disease and Down syndrome / D. Kovacs, A. Morandi, P. Strocchi et al. // BIOTECH RIA 88: Mol. probes: technol. and med. appl.: proc. Int. symp. florence (Apr. 11—13, 1988): Abstr.— New York, 1988.— P. 132.
25. Tate-Ostroff B., Majocha R. E., Marotta C. A. Distribution of subdomains of the amyloid precursor protein in human brain tissue // Age.— 1988.— 11, N 4.— P. 179.
26. Novel precursor of Alzheimer's disease amyloid protein shows protease inhibitory activity / K. Nobuya, T. Yasuyuki, T. Yasuo et al. // Nature.— 1988.— 331, N 6156.— P. 530—532.
27. Cells transfected with the amyloid gene and cloning of amyloid and fibrillary acidic protein variants of Alzheimer brain / C. A. Marotta, W.-G. Chou, R. E. Majocha et al. Age.— 1988.— 11, N 4.— P. 179.
28. Three types of amyloid protein precursor in RNA in human brain: Their differential expression in Alzheimer's disease / S. Tanaka, S. Nakamura, K. Ueda et al. // Biochem. and Biophys. Res. Commun.— 1988.— 157, N 2.— P. 472—479.
29. Identification of different  $\beta$  amyloid cDNAs cloned from the brain of a patient with sporadic Alzheimer's disease / J. N. Octave, F. De Sauvage, A. F. Maco et al. // Neurochem. Int.— 1989.— 14, N 2.— P. 163—166.
30. Quantitative analysis of amyloid peptide precursor RNAs in Alzheimer's disease / M. P. Vitek, J. S. Jacobsen, R. J. Donnelly et al. // J. Cell. Biochem.— 1989.— Suppl. 13 p.— P. 166.
31. German T. L., Marsh R. F. The scrapie agent: A unique self-replicating pathogen // Progr. Mol. and Subcell. Biol.— 1983.— 8.— P. 111—124.
32. Wills P. R. Scrapie, ribosomal proteins and biological information // J. Theor. Biol.— 1986.— 122, N 2.— P. 157—178.
33. Distinct prion proteins in short and long scrapie incubation period mice / D. Westaway, P. Goodman, C. Mirenda et al. // Cell.— 1987.— 51, N 20.— P. 651—662.
34. Maddox J. Further anxieties about AIDS // Nature.— 1986.— 319, N 6048.— P. 9.
35. Haseltine W. A., Patarca R. AIDS virus and scrapie agent share protein // Ibid.— 323, N 6084.— P. 115—116.
36. Bazan J. F., Fletterick R. J., Prusiner S. B. AIDS virus and scrapie protein genes // Ibid.— 1987.— 325, N 6105.— P. 381.

37. *The burden of proof in linking AIDS to scrapie* / M. J. Braun, M. A. Gonda, D. G. George et al. // *Ibid.*— 330, N 6148.— P. 525—526.
38. *Linkage of prion protein and scrapie incubation time genes* / G. A. Carlson, D. T. Kingsbury, P. A. Goodman et al. // *Cell.*— 1986.— 46, N 4.— P. 503—511.
39. *Pain S.* Scrapie agent gains a genome // *New Sci.*— 1987.— 113, N 1545.— P. 32.
40. *Fraser H.* A review of experimental scrapie and its relevance to Alzheimer's disease // *Age and Ageing.*— 1984.— 13, N 3.— P. 184—185.
41. *Roberts J. D., Kunkel T. A.* Fidelity of human cell DNA replication complex // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*— 1988.— 85, N 19.— P. 7064—7068.
42. *Цеква Н.* Населението на Земята — проекции в миналото и бъдещето // *География.*— 1988.— 42, № 7.— С. 1—4.
43. *Two familial cases of Creutzfeldt-Jakob disease in Italy* / A. Chezzi, M. Zaffaroni, S. Marforio et al. // *Ital. J. Neurol. Sci.*— 1989.— 10, N 2.— P. 199—202.
44. *Diagnosis of Gerstmann-Straussler syndrome in familial dementia with prion protein gene analysis* / J. Collinge, F. Owen, R. Lofthouse et al. // *Lancet.*— 1989.— N 8653.— P. 15—17.
45. *Lewin P. K.* Infectious peptides: postulated mechanisms of protovirin replication in scrapie // *Can. Med. Assoc. J.*— 1982.— 127, N 6.— P. 471—472.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 02.02.90

#### ПОПРАВКА

к табл. 2 статьи Н. В. Танатар, опубликованной в № 3 за этот год (с. 5—14). Первые восемь строк следует читать:

1.1.6	87(52,8)
1.1.8	32(43,7)
1.1.3	22(36,3)
1.1.4	20(70)
1.1.20	11(54,5)
1.2.3	9(44,4)
1.1.15	8(50)
1.1.5	8(25)