



HAL
open science

Le phénomène Prion, différents aspects d'un nouveau concept en biologie

Mohammed Moudjou, Myriam Ermonval

► **To cite this version:**

Mohammed Moudjou, Myriam Ermonval. Le phénomène Prion, différents aspects d'un nouveau concept en biologie. *Virologie*, 2010, 14 (4), pp.255-268. 10.1684/vir.2010.0313 . pasteur-03204206

HAL Id: pasteur-03204206

<https://pasteur.hal.science/pasteur-03204206>

Submitted on 21 Apr 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Le phénomène Prion, différents aspects d'un nouveau concept en biologie

Mohammed Moudjou¹ et Myriam Ermonval²

¹ INRA, Laboratoire Infections à Prions, Virologie Immunologie Moléculaire, F-78135 Jouy en Josas.

² Institut Pasteur, Unité de Génétique Moléculaire des Bunyavirus, Virologie, F-75015 Paris.

E-mails : mohammed.moudjou@jouy.inra.fr ; myriam.ermonval@pasteur.fr

Résumé. Les maladies à prions sont des maladies neurodégénératives responsables d'encéphalopathies spongiformes chez les mammifères, ayant la particularité d'être transmissibles. Elles ont ainsi provoqué des épidémies (Kuru chez l'homme, tremblante du mouton, dépérissement chronique des cervidés, vache folle) et ont conduit à l'émergence d'un variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob après transmission inter-espèce de l'agent bovin à l'homme. Elles sont caractérisées par des dépôts amyloïdes constitués d'une protéine de structure anormale, la PrP^{Sc} qui résulte de la conversion de la protéine prion cellulaire (PrP^C) de l'hôte et qui, selon l'hypothèse Prion, constituerait l'agent infectieux. Cette revue présente les arguments récents appuyant cette hypothèse. L'intrigant phénomène de souches associées à des pathologies différentes et la caractérisation de la particule infectieuse seront également abordés. Par ailleurs, le concept prion qui dépasse maintenant le cadre de ces maladies, a permis de réévaluer certains événements épigénétiques décrits chez les champignons. Ce concept, en suggérant un principe tel que diverses structures d'une même protéine puissent porter des informations différentes, a permis d'élargir le champ des investigations sur les amyloïdoses et leur transmissibilité potentielle. L'existence de phénomènes de type Prion impliqués dans des fonctions non systématiquement associées à des pathologies, apporte une nouveauté conceptuelle en biologie.

Mots clefs : Maladies à prions, protéines infectieuses, amyloïdoses, concept Prion.

Summary. Prion diseases are neurodegenerative disorders causing spongiform encephalopathies in mammals. They have the peculiarity of being transmissible and have led to epidemics such as Kuru in human, scrapie in sheep, chronic wasting disease in cervids and mad cow in bovine. This latter has been transmitted to human where it has induced a variant form of the human Creutzfeldt-Jakob disease. Amyloid deposits of a misfolded protein (PrP^{Sc}) due to the conformational change of the host encoded cellular prion protein (PrP^C) are features of these diseases. The prion hypothesis has proposed PrP^{Sc} to be the infectious agent. Recent arguments in favor of this hypothesis will be reviewed. The puzzling prion strain phenomenon leading to different pathologies and the nature of the infectious particle will also be questioned. The Prion concept, in addition to apply to diseases, has allowed a better understanding of some epigenetics transmissions in fungi. Principle of this concept suggests that different protein conformations may carry and propagate various information opening the way to new investigations on amyloidosis and their potential to be transmitted. Several examples of Prion-like phenomena not systematically associated with diseases but related to functional amyloids, sustain a conceptual novelty in biology that will be discussed.

Keywords : Prion diseases, infectious proteins, amyloidosis, Prion concept.

Les maladies à prions et le concept Prion

Des encéphalopathies transmissibles chez les mammifères : variations sur un même thème

Les maladies à prions, aussi appelées Encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST), sont des maladies neurodégénératives provoquant des troubles neurologiques progressifs à issue inéluctablement fatale. Elles peuvent être d'origine sporadique, génétique ou transmise. Elles touchent l'homme ainsi qu'une variété d'animaux d'élevage ou sauvages. Malgré les différentes nomenclatures sous lesquelles elles ont été décrites, ces maladies sont causées par des agents infectieux de même nature : les prions [1]. Selon la théorie de « la protéine seule » émise par Stanley Prusiner et en accord avec l'hypothèse déjà proposée dans les années 1960 par le mathématicien J.S. Griffith [2], l'agent responsable des EST serait une protéine. L'une des caractéristiques principales des encéphalopathies spongiformes est la présence dans le système nerveux central, et parfois dans les organes lymphoïdes, d'agrégats protéiques constitués de PrP^{Sc} (Sc pour scrapie, nom anglo-saxon de la tremblante du mouton) correspondant à une forme anormalement structurée de la protéine prion cellulaire PrP^C de l'hôte. L'accumulation de la PrP^{Sc} dans le cerveau provoque une dégénérescence neuronale. Les individus atteints développent des symptômes relatifs à des dysfonctionnements de nature cognitive et motrice qui apparaissent après une période d'incubation relativement longue pouvant atteindre jusqu'à 40 ans chez l'homme. Les EST humaines connues sont : la maladie du Kuru, apparue chez les Foré de Papouasie Nouvelle Guinée à la suite de pratiques de cannibalisme rituel; la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) dont la forme la plus fréquente est sporadique, avec 1,7 cas par million d'individus et par an, mais qui existe aussi sous forme génétique, iatrogène, ou acquise (vMCJ) ; le syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) ; l'Insomnie Fatale Familiale (IFF). La transmission humaine dite iatrogène a eu lieu lors de greffes d'organes, d'injections d'hormone de croissance ou d'implantation d'électrodes [3].

Chez les animaux, le prototype des maladies à prions est la tremblante du mouton (et de la chèvre) décrite au début du 19^{ème} siècle. Une autre maladie à prions naturelle, rencontrée en Amérique du Nord, provoque la maladie du dépérissement chronique (*Chronic Wasting Disease*, CWD) qui s'étend à de nombreux cervidés sauvages. L'Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), dite maladie de la Vache Folle est apparue chez les bovins en Grande-Bretagne au milieu des années 1980 alors que les bovins semblaient jusqu'alors indemnes de ce type de maladie. Durant les 25 dernières années, l'épidémie de l'ESB a touché plus de 183000 bovins et a provoqué des crises alimentaires et économiques importantes. L'alimentation à partir de farines animales mal décontaminées a été mise en cause, posant le problème de l'émergence chez les bovins d'une nouvelle maladie à prions supposée provenir de l'agent de la tremblante du mouton ou de cas rares d'ESB non détectés auparavant [4]. L'épidémie de la vache folle a été suivie par l'identification en 1996 du nouveau variant humain de la MCJ (vMCJ) dont il a été prouvé qu'il était dû à l'agent de l'ESB [5] contracté par consommation de

produits contaminés d'origine bovine. Ce nouveau variant, contrairement aux autres MCJ connues, affecte des personnes jeunes et est associé à la présence d'agrégats de PrP^{Sc} ayant les mêmes caractéristiques que ceux de l'ESB.

Depuis l'introduction du néologisme Prion en 1982 [6] provenant de l'acronyme anglais, *proteinaceous infectious particle*, de nombreuses données expérimentales ont montré le rôle primordial de la protéine PrP^C dans la réplication et la transmission de l'agent infectieux. Des souris invalidées pour l'expression de la PrP^C sont insensibles à une infection par des Prions. D'autre part, l'expression de la PrP^C dans les neurones est nécessaire à la manifestation des phénomènes de neurodégénérescences associées [7]. Originellement, le terme Prion a été défini comme « une petite particule protéique infectieuse, résistante à la plupart des procédés qui détruisent les acides nucléiques ». Cette définition est toujours valable car aucun acide nucléique spécifique n'a été trouvé associé à l'agent. L'élément central dans la pathogénèse des prions reste bien la conversion de la protéine normale PrP^C en une protéine anormale dite PrP^{Sc}. Contrairement à la PrP^C dont la structure secondaire est riche en hélice α , la PrP^{Sc} est riche en feuillets β , mais aussi, insoluble dans les détergents non ioniques, s'agrège et est partiellement résistante aux protéases. Ainsi, selon « la théorie de la protéine seule » régissant les infections à Prions : 1) la PrP^{Sc} est le principal constituant de l'agent transmissible, 2) la réplication de ce dernier est le résultat d'un changement conformationnel de la PrP^C. Un tel processus de conversion peut par ailleurs rendre compte des différentes étiologies des maladies à prions. Il peut en effet être déclenché soit par contact avec un prion exogène (cas transmis), soit par une transconformation stochastique (cas sporadiques), soit par mutation du gène codant pour la PrP^C ce qui conduit à l'expression d'une protéine dont la convertibilité est accrue (cas génétiques).

L'hypothèse Prion dite de la Protéine Seule : la preuve finale ?

Le concept Prion repose donc sur l'hypothèse selon laquelle l'agent infectieux est constitué d'une forme anormale d'une protéine dont la genèse est obtenue par transconformation d'une forme normale de la même protéine. Cette conversion nécessite une interaction physique entre ces deux formes de PrP. Selon cette théorie, le processus de conversion doit être possible *in vitro*, dans un système acellulaire par mélange des deux conformères de la protéine prion. Historiquement, ce type d'expérience a été réalisé avec succès pour la première fois par l'équipe de Byron Caughey [8] par co-incubation de PrP^{Sc} semi-purifiée avec de la protéine PrP^C radiomarquée utilisée comme substrat de conversion. Ces conditions ont permis de générer de la PrP^{Sc} radioactive résistante à la protéase K (PK), indiquant que les noyaux de PrP^{Sc} ont bien transformé la PrP^C radioactive. Cependant, ces expériences qui nécessitaient des stœchiométries élevées de PrP^{Sc} n'ont pu clairement être reliées au caractère infectieux des prions. Elles ont néanmoins permis de reproduire *in vitro* les caractéristiques de spécificité de souches (voir plus loin) et d'homologie de séquence en acides aminés importantes pour leur propagation [9, 10].

La mise en œuvre d'une nouvelle technologie appelée PMCA : *Protein Misfolding Cyclic Amplification* par l'équipe de Claudio Soto [11] a conduit à des avancées renforçant l'hypothèse Prion. La technique PMCA consiste en une succession de cycles d'incubation à 37°C et de sonication, appliquée à un homogénat de cerveau sain contenant la PrP^C « ensemencée » par de très faibles quantités de matériel infecté. Son principe repose sur la capacité de la sonication à fragmenter des agrégats de PrP^{Sc} néoformés pour générer de nouveaux noyaux infectieux, aboutissant à une augmentation exponentielle de PrP^{Sc} par transconformation du substrat PrP^C (fig. 1). Ce processus de conversion peut-être perpétué indéfiniment par dilutions sériées du produit amplifié dans de nouveaux homogénats de cerveaux sains fraîchement préparés. L'amplification considérable de PrP^{Sc} obtenues par la technique PMCA s'accompagne d'une augmentation des titres infectieux [12]. Cette technique a finalement permis de produire de la PrP^{Sc} PK-résistante et infectieuse à partir de PrP^C hautement purifiée mais en présence de facteurs tels des acides nucléiques ou des polyanions [13].

Selon le principe de propagation des prions et afin de s'affranchir de facteurs pouvant être présents dans les homogénats de cerveaux sains, il a été tenté de trans-conformer de la PrP recombinante (PrP_{rec}) purifiée vers un état fibrillaire, voire amyloïde pour en tester le pouvoir pathogène. Récemment l'équipe de Byron Caughey a mis au point une technique, QuIC (*Quaking-Induced Conversion*) dont le principe s'inspire de celui de la PMCA, mais utilise l'agitation mécanique au lieu de la sonication comme moyen de fragmentation des fibrilles de PrP_{rec} néo-converties [14]. Dans cette étude utilisant de la PrP_{rec} purifiée comme substitut à la PrP^C de cerveau sain, le produit d'amplification s'est révélé peu infectieux, probablement pour des raisons liées à l'organisation structurale des fibrilles de PrP_{rec} ainsi générées.

D'autres équipes ont testé l'infectiosité de PrP_{rec} convertie en fibrilles *in vitro* mais sans succès avéré [15-17]. Les premiers résultats probants ont été publiés par l'équipe de Prusiner [18]. Cependant, ces premières données étaient critiquables car les auteurs avaient utilisé une protéine PrP de hamster dépourvue de sa partie N-terminale. Surtout, les tests d'infection avaient été réalisés avec des souris transgéniques qui exprimaient cette même PrP tronquée à un niveau très élevé (16 à 32 fois) en comparaison du niveau de PrP^C dans un cerveau de hamster, et ces souris avaient tendance à développer spontanément des signes neurologiques probablement dus à la surexpression de PrP tronquée. L'inoculation à des souris sauvages d'homogénats de cerveaux issus de ces souris atteintes suite à l'injection de PrP_{rec} trans-conformée a toutefois révélé la présence d'un agent prion transmissible. Ces études ont récemment été reprises et confirmées en utilisant de la protéine PrP_{rec} non tronquée, convertie vers un état riche en feuillets β et inoculée soit à des souris ne surexprimant que 4 fois la PrP complète [19], soit à des souris sauvages [20], soit en utilisant des hamsters et de la PrP_{rec} de la même espèce [21]. De plus, plusieurs souches expérimentales de prions, ayant des caractéristiques pathologiques et physicochimiques nouvelles ont ainsi été isolées [19, 21-23], y compris des souches dont les PrP^{Sc} sont dites senPrP^{Sc} car sensibles au traitement par la protéase K

[24]. Ce dernier résultat invite à s'interroger sur la capacité des tests de diagnostic basés exclusivement sur la propriété de résistance des prions à la protéolyse à détecter tous les types de prions. Il est à souligner ici un travail récent combinant l'utilisation de PrP_{rec} murine, la technique PMCA et des additifs tels le phospholipide POPG (1-palmitoyl-2-oleoylphosphatidylglycerol) et des ARN tissulaires totaux [20]. Cette approche a pour la première fois produit *in vitro* un prion capable d'infecter des souris sauvages en induisant une mortalité précoce (150 jours) et ce dès le premier passage. Une approche similaire a tout récemment permis de générer un prion de hamster en absence de tout cofacteur additionnel [25]. Il est à noter que dans ce cas, l'espèce formée est moins infectieuse. Ces résultats appuient très fortement l'hypothèse de la Protéine-seule dans les maladies à prions et mettent en lumière le rôle facilitant et/ou stabilisateur de certains cofacteurs.

Caractérisation et définition de la particule infectieuse

Notion de souche de prions : la PrP^{Sc}, une protéine à géométrie variable

L'existence de différentes souches de prions est l'un des aspects le plus énigmatique et le plus difficile à expliquer compte tenu de la nature exclusivement protéique de l'agent pathogène des EST. Ceci a d'ailleurs longtemps fait obstacle à l'hypothèse Prion en suggérant que le support des variations de souches devait dépendre d'un acide nucléique (théorie du virus ou du virino [26]), par analogie aux souches de microorganismes présentant des spécificités d'hôte et de virulence dépendantes de leur génotype. L'étude des prions de levure, comme on le verra plus loin, a été cruciale non seulement à la validation du concept Prion, mais aussi à la compréhension du phénomène de souches [27].

Des souches de prions différentes présentent des caractéristiques phénotypiques et biochimiques stables et distinctes qui sont préservées après transmission à un même hôte. Une souche de prion peut être définie par : -1) le temps d'incubation de la maladie qu'elle induit chez l'hôte, -2) la distribution cérébrale des dépôts de PrP^{Sc} ainsi que les lésions neuropathologiques (spongioses, profils lésionnels) et les symptômes associés, -3) les caractéristiques physicochimiques spécifiques à la PrP^{Sc} de chaque souche. Parmi les paramètres biochimiques, le profil glycotypique de la molécule PrP^{Sc} partiellement résistante à un traitement à la protéase K (PrP^{res}) est défini par les taux relatifs des différentes formes non, mono et biglycosylées de PrP^{res} et par la taille de la forme non glycosylée, déterminés par électrophorèse. Ce dernier critère est souvent utilisé pour le diagnostic et la classification des souches de prions (fig.2). Toutefois, cette classification repose sur la spécificité des anticorps utilisés pour la détection et se révèle aujourd'hui plus compliquée. En effet, la PrP^{res} de type 1 a pu être détectée dans plusieurs cas humains classés auparavant comme MCJ de type 2 ou comme vMCJ [28]. Ceci a été mis en évidence grâce au développement de nouveaux anticorps de haute affinité pour la région N-terminale riche en octapeptides répétés de la PrP, qui reconnaissent la PrP^{res} de type 1 mais pas celle de type 2 [28, 29]. Cette complexité est aussi révélée par l'analyse du taux d'accumulation d'un fragment produit par protéolyse endogène de la PrP^{Sc}, le fragment C2 qui varie en fonction des systèmes

cellulaires ou des tissus infectés [29]. Le taux de fragment C2 par rapport à la PrP^{Sc} non clivée pourrait alors, pour une souche et dans un tissu donné, refléter des propriétés liées au tropisme cellulaire et avoir des conséquences sur la signature biochimique de la souche.

Les modèles transgéniques murins ont été largement utilisés pour analyser le phénomène de souches de prions [30]. Des souris génétiquement modifiées afin d'exprimer uniquement la protéine PrP^C d'origine humaine, ovine ou bovine sont capables de propager des souches de prions issues de ces mêmes espèces et dont les caractéristiques sont généralement préservées. Des modèles de souris transgéniques ont par exemple permis de définir 2 à 3 groupes de MCJ humaines [5, 31] et ont montré que le nouveau variant de la MCJ en était distinct mais présentait des similitudes avec l'agent de l'ESB (fig. 2), prouvant ainsi que la souche de prion bovin avait par franchissement de la barrière d'espèce provoqué l'émergence du nouveau variant humain de la MCJ. Concernant les souches de tremblante adaptées à la souris, alors que l'on pensait qu'il existait une vingtaine de souches différentes [32], il semble que leur nombre en soit plus limité et qu'au maximum cinq profils majeurs de souches puissent rendre compte d'une grande part de la diversité des phénotypes observés en conditions naturelles [33].

Il est à noter que de nouvelles souches de prions continuent à être découvertes [4], à l'image de la souche Nor98, responsable d'une forme atypique de tremblante décrite pour la première fois en 1998 chez les ovins en Norvège et des deux souches de prions découvertes récemment chez les bovins. Ce sont les programmes de surveillance active mis en place pour les ruminants depuis 2001 qui ont dévoilé la présence dans de nombreux troupeaux de moutons d'une souche de tremblante dont le profil biochimique est atypique comparé à celui des souches classiques de tremblante. De façon inattendue, cette nouvelle souche qui s'est révélée être identique à Nor98, touche les moutons réputés réfractaires aux souches classiques de tremblante et ayant le génotype ARR/ARR en relation avec le polymorphisme de la PrP^C de mouton [34]. A la lumière de ces données il est légitime de se poser la question de la pertinence du programme de sélection génétique des moutons de génotype ARR visant à éradiquer la tremblante. Par ailleurs, à côté de la souche de l'ESB longtemps considérée comme unique, les deux nouvelles souches de prions bovins ont été identifiées récemment au Japon et en Italie, puis en France et aux Etats Unis. Contrairement à l'ESB, leur fréquence d'apparition est faible (0,35 à 0,41 cas par million de vaches) avec seulement 36 cas de bovins dénombrés depuis 2002, et elles touchent des animaux âgés (9 à 13 ans). Ces informations suggèrent l'existence de formes sporadiques de prions bovins passées inaperçues [35].

L'hypothèse qui se dessine pour expliquer le phénomène de souche repose essentiellement sur l'implication d'une variabilité conformationnelle de la structure tertiaire de la molécule de PrP^{Sc}, et/ou de celle de l'organisation des oligomères (structure quaternaire) qu'elle constitue [19], comme illustré plus bas et dans la figure 3. La notion de souche de prions peut être résumée selon le cheminement: une protéine, plusieurs conformations, plusieurs souches, différentes pathologies. Si tel est le cas, la

PrP^{Sc} peut être qualifiée de protéine à géométrie variable. Les mécanismes moléculaires sous-tendant cette variabilité structurale ne sont pas encore compris de même que les relations physiologiques entre les conformations différentes, le profil glycotypique, la distribution spatiale de la PrP^{Sc} dans les différentes régions du cerveau et les mécanismes de neurodégénérescence. Un degré supplémentaire de complexité est atteint avec la mise en évidence de différentes formes de prions [28] et de la possible co-existence de souches associées à une maladie à prions donnée [33, 36].

La particule infectieuse : une question de taille

Si la structure de la PrP^C a pu être déterminée par différentes approches (RMN, cristallographie), celle de la PrP^{Sc} n'est que partiellement connue car obtenue à basse résolution avec du matériel semi-purifié. L'essentiel de nos connaissances sur la PrP^{Sc} en terme de structure peut se résumer en deux points : -1) la PrP^{Sc} est très enrichie en feuillets β ; -2) elle est organisée en fibrilles, agrégats ou structures amyloïdes [37]. Depuis la constatation que la taille de l'agent pathogène des prions, déduite des premiers travaux d'inactivation par les rayonnements ionisants [38], était plus petite que celle des virus connus à l'époque, peu de données ont été rapportées sur la taille de la particule infectieuse. Notamment, la question de l'état d'oligomérisation de la sous population de PrP^{Sc} portant le pouvoir infectieux le plus élevé reste posée. Des résultats récents obtenus par filtration proposent une taille de l'agent infectieux comprise entre 15 et 35 nm selon les souches étudiées [39]. Des analyses par AFFF (*Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation*) et par dispersion de la lumière multi-angles, ont montré que la particule la plus infectieuse de PrP^{res} pour la souche 263K de hamster était de forme sphérique et / ou elliptique, avec un diamètre compris entre 17 à 27 nm pour une masse moléculaire variant de 300 à 600 kDa. Pour une particule infectieuse exclusivement constituée de PrP, l'oligomère correspondant contiendrait 14 à 28 molécules. La définition de « particule la plus infectieuse » en terme d'efficacité de conversion ou en terme de pathogénicité reste à préciser. Quelques éléments expérimentaux soulignent toutefois un pouvoir de conversion plus élevé *in vitro* des petits oligomères plutôt que des gros agrégats de PrP^{res} [40]. Il est légitime de penser que l'unité la plus infectieuse puisse avoir une taille compatible avec une activité cytotoxique, comme par exemple des protofibrilles qui peuvent former des pores membranaires affectant l'intégrité cellulaire [41].

Le lien entre la résistance à la protéolyse de la PrP^{Sc} et l'infectiosité est une question assez récurrente dans le domaine des prions. Des exemples de découplage entre ces deux propriétés ont été décrits sans que pour autant l'entité infectieuse sensible à la protéase K (senPrP^{Sc}) ait pu être clairement caractérisée [42, 43]. Dans la plupart des cas la senPrP^{Sc} est associée à des particules dont l'état d'agrégation est moindre que celui d'agrégats de PrP^{Sc} résistants au traitement à la protéase K [44, 45]. L'utilisation d'une autre protéase, la thermolysine, capable de digérer la PrP^C mais non la PrP^{Sc}, a montré l'importance quantitative de la senPrP^{Sc} dans plusieurs modèles expérimentaux ou d'infection naturelle [29, 46, 47].

Tout récemment, une étude comparative des propriétés physicochimiques de la PrP^{Sc} de diverses souches de prions produites dans des modèles de souris transgéniques définis, a été réalisée à partir de fractions obtenues par sédimentation en gradient de vélocité. Le potentiel infectieux associé aux différents états d'agrégation de PrP^{Sc} a été évalué [48]. Alors que le profil de sédimentation de la PrP^{res} varie selon les souches de prions, cette étude a montré que le profil correspondant aux particules les plus infectieuses n'est pas systématiquement superposable à celui du pic de sédimentation contenant la majorité de PrP^{res}. Ainsi dans le cas des souches dites rapides qui présentent un temps court d'incubation de la maladie, l'infectiosité est associée aux fractions de faible coefficient de sédimentation correspondant à une taille estimée à 150 kDa et contenant peu de PrP^{res} [48, 49]. Pour ces souches on peut envisager que l'essentiel de l'infectiosité soit portée par une faible proportion de particules de PrP^{Sc} résistante à la PK, par une sous population de PrP^{Sc} sensible aux traitements protéolytiques ou par des particules de PrP^{Sc} associées à d'autres composantes cellulaires tels des lipides ou des lipoprotéines de faible densité [48].

La stabilité des fibres de PrP^{Sc} en relation avec leur pouvoir infectieux est une notion importante à considérer dans les maladies à prions et a été étudiée dans un modèle de prions synthétiques [23]. La stabilité des oligomères de prions aurait en effet des conséquences sur leur capacité à être fragmentés *in vivo*, propriété nécessaire mais non suffisante pour la transmission de l'agent : les plus susceptibles à la fragmentation pourraient s'amplifier et se propager aisément et par conséquent, être plus efficacement transmissibles [50].

Les prions de levure et la validation du concept Prion

Le rôle d'une protéine en tant qu'agent pathogène dans la propagation et/ou la transmission de diverses maladies neurodégénératives à prions, est maintenant bien admis. Cependant, c'est la compréhension, grâce à l'hypothèse Prion, de la transmission épigénétique de certains caractères connus de longue date chez la levure [51] qui a, en retour, apporté une validation au concept Prion.

Le fait que le concept Prion ait donné son nom à la protéine responsable d'EST entraîne une ambiguïté de terminologie. Lorsqu'il s'agit de prions de levure, les protéines impliquées ne présentent pas d'homologie de séquence avec la protéine PrP^C de mammifère. On se réfère dans ce cas au concept Prion en tant que phénomène de transmission d'information portée par une structure particulière d'une protéine. De nombreuses revues font le point sur les prions de champignons [52-55] et il ne sera abordé ici que les éléments appuyant le concept Prion.

Transmission épigénétique de caractères chez les champignons

Deux exemples de phénotype chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* illustrent des processus de transmission de caractères sans que le matériel génétique ne soit directement impliqué [51]. Ce n'est

que récemment que ces phénomènes épigénétiques ont pu être expliqués. Dans le cas des levures [URE3] ce phénotype est relié à une dérégulation du métabolisme azoté [56]. Il a été montré que l'agrégation de la protéine Ure2p rend cette dernière incapable d'assurer son rôle de régulateur négatif de transcription de gènes impliqués dans le catabolisme de l'azote. D'autre part, chez les levures dites [PSI+], l'agrégation du facteur de terminaison de traduction Sup35p empêche partiellement la reconnaissance de codons stop [57]. Cette perte de contrôle d'arrêt de traduction peut conduire à la synthèse de nouvelles protéines favorisant dans certaines conditions l'émergence de nouvelles propriétés (voir plus loin). Dans ces 2 exemples, les protéines agrégées sont riches en feuillettes β , et forment des fibres amyloïdes stables, support d'information transmise aux cellules filles. Ces 2 prions de levure présentent par ailleurs toutes les autres propriétés de ceux de mammifères : -1) il est possible de transférer des agrégats protéiques purifiés à des cellules normales de levure et de leur transmettre le nouveau phénotype, -2) la propagation après transmission ne peut se faire que si la levure exprime la protéine endogène correspondante, -3) des agents dénaturant les protéines (chlorure de guanidium) empêchent la re-formation d'agrégats de prions et restaurent le phénotype de départ. C'est ainsi que l'hypothèse Prion d'une transmission de caractères par l'intermédiaire d'une protéine seule a trouvé une validation chez la levure. Il est à noter que l'expression de la protéine Sup35 de levure et la propagation de ses caractéristiques prion ont été obtenues expérimentalement en cellules de mammifères [58, 59], suggérant l'existence de mécanismes communs, de la levure à l'homme, pour ces processus de transmission d'information via des structures protéiques.

Le phénomène prion observé chez la levure a également apporté des éléments de réponse à la question des souches de prions. En effet, différentes structures d'agrégats amyloïdes associées à des phénotypes différents ont pu être décrites [27, 52, 60]. Notamment, il a été établi que la protéine Sup35 pouvait s'agréger *in vitro* selon au moins deux « conformations » (différents types de fibres amyloïdes). Une fois introduits dans la levure, ces agrégats conduisent à des degrés variables de manifestation de phénotypes [PSI+]. Ces souches de [PSI+] sont alors caractérisées par la couleur des levures qui dépend du degré d'inactivation de la protéine prion Sup35. Les études chez la levure appuient donc tous les aspects du concept prion en montrant que des conformations protéiques différentes (phénomène de souches) peuvent moduler certaines activités, être amplifiées (réplication), être transmises à des cellules filles (propagation) ainsi qu'expérimentalement à d'autres cellules (infection).

Un autre exemple bien étudié de transmission épigénétique de caractère, concerne l'induction d'une mort cellulaire chez le champignon filamentueux *Podospora anserina*, via l'agrégation de la protéine HET-s impliquée dans un processus d'incompatibilité entre les éléments formant l'hétérocaryon après fusion de deux mycéliums de génotypes Het-s et Het-S [61, 62].

Des analogies conformationnelles et des « domaines prion » interchangeables

Le phénomène de nucléation est assuré par des domaines identifiables (domaines prion) sur les protéines formant des structures amyloïdes (fig. 4). Alors que la délétion de ces domaines supprime le phénomène de polymérisation, celui-ci peut être induit sur des protéines hétérologues (GFP, récepteurs aux glucocorticoïdes, hémagglutinine) fusionnées à ces domaines peptidiques qui se présentent donc comme modulables [58, 63]. Pour Sup35p, la fonction catalytique est portée par la région C-terminale de la protéine et c'est son domaine N-terminal qui a la capacité d'adopter une structure apte à s'agréger. Lorsque cette région est remplacée par le domaine prion d'autres protéines impliquées dans des processus de conversion (Ure2p ou Rnq1p), l'état prion est conféré à la protéine de fusion contenant le domaine fonctionnel de Sup35p et peut alors transmettre le caractère [PSI+]. Ces études ont prouvé que les domaines prion étaient nécessaires et suffisants pour permettre la formation d'agrégats amyloïdes. Bien qu'il n'y ait pas d'homologie dans la séquence en acides aminés de ces « domaines prion », des caractéristiques communes émergent, telle la présence de résidus polaires non chargés, des répétitions de résidus glutamine et asparagine ou encore des séquences oligopeptidiques répétées. Certaines séquences au sein des domaines prion pourraient être importantes pour induire l'agrégation alors que d'autres le seraient pour le processus d'auto-réplication. De nombreux exemples d'interversion de domaines prion sont maintenant publiés et on peut mentionner la possibilité de séquences polyglutamine dérivées de l'huntingtine (maladie d'Huntington) à induire la polymérisation de Sup35p (fig.4) à condition que le nombre de répétitions dans la séquence polyQ soit suffisant (plus de 40 résidus).

Des prédictions de séquences indiquent que des protéines de diverses espèces présentent des caractéristiques les rendant aptes à exister sous différentes formes. Des domaines putatifs prion ont été trouvés sur 1 à 3% de protéines de *S. Cerevisiae*, *C. elegans*, *D. Melanogaster* et sur un nombre important de protéines d'*Arabidopsis Thaliana* mais aussi humaines [55]. Des travaux très récents d'analyse de séquences et d'interversion de domaines protéiques, ont conduit à l'identification et la validation de protéines à caractère amyloïdogénique chez la levure, suggérant que le phénomène Prion est répandu chez les eucaryotes inférieurs [64]. A l'appui de cette hypothèse, une équipe vient de démontrer l'existence d'une septième protéine prion, le régulateur de transcription Sfp1 responsable du déterminant non-mendélien [ISP+] chez *S. cerevisiae* [65].

Le phénomène Prion en biologie : un concept plus général

Le fait qu'une protéine puisse transmettre une information en propageant son empreinte conformationnelle à une protéine endogène à l'intérieur d'une même cellule mais surtout entre cellules, voire entre individus d'une même espèce ou d'espèces différentes est en soi un concept révolutionnaire qui conduit à réévaluer certains aspects du Dogme Central en génétique moléculaire. La capacité de certaines protéines à exister sous différentes conformations et les informations différentes qui y sont associées, pourraient avoir un rôle important dans l'évolution et servir des activités biologiques. Comme résumé dans les tableaux I et II, différents groupes ont recherché si le

phénomène Prion pouvait s'exprimer dans d'autres situations pathologiques présentant des points communs avec les maladies à prions [66, 67] mais aussi au cours de processus biologiques [55].

D'autres maladies transmises par des agents protéiques ?

Différentes maladies neurodégénératives peuvent être considérées comme des Maladies du Repliement de Protéines. Elles présentent des points communs, notamment l'agrégation de protéines spécifiques à chaque type de maladie. Pour l'instant, seules les maladies à prions sont connues comme étant transmissibles [68]. Par ailleurs, contrairement aux maladies à prions, les autres maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer...) n'ont pas d'équivalents connus chez l'animal, mais des modèles expérimentaux ont pu être développés permettant ainsi l'étude de certains processus d'agréations protéiques et la révélation de leur potentiel transmissible [67].

Amyloïdoses neurodégénératives

Dans le cas de la maladie d'Alzheimer, maladie neurodégénérative la plus fréquente chez l'homme, les fibres amyloïdes constituées de peptide A β 42 sont des composants majeurs de plaques extraneuronales trouvées dans le cerveau des patients atteints. Des intermédiaires de petites tailles ou protofibrilles, plutôt que de longues fibres amyloïdes, sont toxiques sur des cultures de neurones et des petits oligomères de peptides amyloïdes provoquent un défaut de mémoire à long terme lorsque inoculés à des souris. Enfin, des modèles transgéniques ont été conçus pour étudier les mécanismes associés au développement de maladies neurodégénératives, notamment des souris qui surexpriment la protéine APP humaine, précurseur dont dérive le peptide A β 42 servant de modèle à la maladie d'Alzheimer. Ces souris finissent par développer des symptômes neurologiques évoquant, pour certains, des traits de la pathologie humaine. Par ailleurs, lorsque ces souris reçoivent des injections d'extraits de cerveaux provenant d'individus décédés à la suite d'une maladie d'Alzheimer, l'accumulation de plaques amyloïdes dans leur cerveau est accélérée [69]. Plus surprenant, le phénotype de l'A β amyloïdose transmise à des souris transgéniques dépend à la fois de l'origine de l'inoculum et de l'hôte, rappelant le phénomène de souches dans les maladies à prions [70].

Dans cette même optique, des modèles cellulaires montrent clairement qu'un processus de propagation de type prion conduit à l'accumulation d'agrégats intracellulaires de polypeptides à polyglutamine tels ceux impliqués dans certaines maladies neurodégénératives (maladie de Huntington). Ces agrégats sont transmis de façon cytoplasmique lors des divisions cellulaires de sorte que leur phénotype persiste [71].

Pourquoi les maladies à prions seraient-elles les seules maladies humaines neurodégénératives infectieuses ? Le fait que la protéine PrP soit conservée chez les mammifères et sa nature membranaire ancrée à la face externe de la surface cellulaire par une structure lipidique, le GPI (glycosyl phosphatidyl inositol), représentent sans doute des éléments favorables à leur propagation. En effet, alors que des cellules en culture exprimant une PrP dépourvue d'ancre GPI n'accumulent pas de PrP^{res} et ne sont pas infectieuses [72], l'expression membranaire de Sup35p de levure par addition d'une

ancre GPI permet sa transmission intercellulaire en cellules de mammifères [59]. Ces éléments ajoutés à ceux de modèles de souris transgéniques qui révèlent « l'infectiosité » d'agrégats d'Aβ42, conduisent à se poser la question du risque possible de transmission d'amyloïdoses neurodégénératives, autres que les maladies à prions (voir tab. I).

Amyloïdoses systémiques

Dans certains types de diabètes ou certaines amyloïdoses systémiques des agrégats protéiques extracellulaires sont trouvés dans différents organes (foie, cœur, rate). Des amyloïdoses secondaires s'accompagnant de dépôts protéiques au niveau des articulations, du cœur ou des reins, ont également été mises en évidence après des hémodialyses répétées et dans des cas d'amyloïdoses sériques (SAA) chez des patients atteints par ailleurs d'arthrite rhumatoïde ou d'autres maladies inflammatoires chroniques [73, 74].

Les amyloïdoses de type SAA, résultent de l'agrégation et du dépôt dans différents tissus d'un fragment dérivé d'une protéine sérique amyloïde A. Elles sont décrites également chez certains rongeurs et oiseaux aquatiques sans que l'étiologie en soit connue. Un modèle expérimental de ce type d'amyloïdose a été développé dès les années 1980 chez la souris où l'expression de la SAA est induite en 2 à 3 semaines par un stimulus inflammatoire. Ces modèles ont révélé la possibilité de transmission expérimentale d'amyloïdoses systémiques sériques par un mécanisme de type prion [75]. L'inoculation à ces souris d'extraits de rates de souris atteintes contenant des plaques amyloïdes accélère le processus pathologique par le biais des fibres amyloïdes elles-mêmes. On retrouve ici le mécanisme d'amplification de l'agrégation par le phénomène de nucléation-polymérisation observé dans les maladies à prions, agrégation qui peut être transférée en série et est détruite par des agents dénaturants les protéines. En effet, les fibres amyloïdes de SAA constituent le facteur facilitant qui ne peut à lui seul provoquer la maladie. Le processus inflammatoire est nécessaire pour induire la production d'une quantité importante de protéine SAA qui pourra alors être convertie. Un modèle de souris développant spontanément une maladie inflammatoire entraînant la synthèse de protéine SAA, a été utilisé afin d'évaluer l'effet facilitateur sur la formation de dépôts amyloïdes SAA de certaines structures fibrillaires, notamment de peptides synthétiques produits en nanotechnologie en vue d'applications dans les domaines de l'alimentation, de l'environnement ou de la santé [76]. Bien qu'aucun élément épidémiologique ne soit disponible à ce stade, ces études sont importantes pour comprendre l'impact que certains facteurs provenant d'activités humaines pourraient avoir sur le développement de pathologies chez des personnes sensibles car présentant préalablement des symptômes inflammatoires. Dans ce contexte, il est à mentionner que des phénomènes inflammatoires (mammites, néphrites) pourraient participer à la dissémination de l'agent de la tremblante du mouton [77].

Une amyloïdose naturelle dite sénile provoque des polyneuropathies chez l'homme. Elle s'accompagne au cours du vieillissement de l'accumulation de fibres amyloïdes constituées d'apolipoprotéines AII (A-ApoAII). L'injection de fibres d'A-ApoAII induit une amyloïdose systémique sévère chez la souris. Cette pathologie est transmissible par voie orale et l'on retrouve dans

l'intestin des plaques amyloïdes qui se propagent ensuite à d'autres organes. La transmission naturelle de ces structures amyloïdes se produit chez de jeunes souris élevées dans la même cage qu'une souris âgée présentant la pathologie. La transmission se fait alors par ingestion *via* les fèces. Un phénomène de souche a été décrit pour cette amyloïdose qui existe sous 3 formes, A-ApoAII A, B et C [78].

Chez l'homme plus de 20 protéines différentes sont trouvées sous forme d'agrégats fibrillaires dans divers tissus comme par exemple dans le cas d'amyloïdoses à transthyrétine [79] ou de l'Amyloïdose Familiale Finlandaise caractérisée par des agrégats constitués de fragments dérivés de la gelsoline [80]. Il n'est pas exclu que certaines amyloïdoses systémiques prouvées expérimentalement infectieuses « à la manière des prions », puissent dans des situations particulières s'avérer transmissibles.

Des « prions » pas toujours pathologiques

La question a été posée de savoir si la modulation d'activité de protéines par l'adoption de conformations alternatives aboutissant à des structures amyloïdes, pouvait avoir des implications physiologiques.

Des protéines sous différentes conformations

De nombreuses protéines peuvent établir des interactions intermoléculaires via la formation de feuilletts β prompts à se structurer en fibres [74]. Il s'agit d'une propriété intrinsèque à de nombreux polypeptides. Par ailleurs, les mécanismes de nucléation-polymérisation sont utilisés pour la formation de filaments stables assurant un rôle structural et/ou dynamique dans la cellule. Toutefois, à la différence de filaments de type actine, les fibres amyloïdes présentent des structures particulières (cross- β) pour lesquelles l'empilement de feuilletts- β provenant de différents monomères se fait perpendiculairement à l'axe du filament. Ces structures réagissent à des colorants tels le rouge congo et la thioflavine.

Ces structures amyloïdes ne sont pas toujours associées à des pathologies mais existent dans la nature où elles ont été conservées au cours de l'évolution pour assurer des fonctions particulières. Ces structures sont beaucoup plus stables que les monomères globulaires qui les constituent. Certains auteurs parlent de structures plus solides que le métal. Elles possèdent par ailleurs, une certaine plasticité leur permettant de s'adapter aux conditions du milieu [81]. C'est le cas de la curline et d'autres constituants des biofilms bactériens [82], de l'hydrophobine d'enveloppe de champignons qui résiste à l'eau et aussi la fibroïne de soie et la spidroïne de toiles d'araignées [83]. On peut aussi citer le chorion des coquilles d'œufs de poissons et d'insectes et la nicorine, une toxine bactérienne formant des canaux ioniques par agrégation. Comme nous le verrons, des structures amyloïdes fonctionnelles existent aussi chez les mammifères (tab. II).

Ainsi la formation de fibrilles amyloïdes de différents types trouvées dans de nombreux organismes, procède du même mécanisme de nucléation-polymérisation que celui utilisé par les prions. On parle de phénomène Prion car le critère de transmission n'est pas forcément démontré.

Phénomène Prion et évolution chez les levures

Comme préalablement mentionné, le phénomène Prion dans son intégralité est largement utilisé chez les champignons. Une hypothèse a été proposée sur l'avantage de l'utilisation d'un tel processus biologique chez la levure. La transmission de caractères variant en fonction de conformations protéiques pourrait permettre une adaptation de l'organisme et constituer ainsi un mécanisme d'évolution [60, 84]. Des mutations se produisent spontanément avec une fréquence faible de 10^{-5} à 10^{-7} dans le gène de structure de la protéine Sup35 de levure. Si l'on reprend l'exemple du phénotype [PSI+], le passage de certains codons stop va conduire à l'expression de « nouvelles protéines ». Ces variations de protéome peuvent conférer des avantages (gains de fonction) aux cellules [PSI+] en les rendant plus aptes que les levures sauvages à se multiplier sur certains milieux. Le phénomène Prion associé à Sup35 permet ainsi l'accumulation de mutations qui se seraient avérées délétères dans un contexte normal mais qui, en ne s'exprimant phénotypiquement que lors de la perte du phénotype prion, participeraient à des processus évolutifs. C'est donc la possibilité de former différents types de fibres amyloïdes qui va permettre l'apparition et la transmission de nouveaux caractères en conférant une plasticité phénotypique favorisant l'établissement de mutations adaptatives [27].

Phénomène Prion et mémoire chez l'aplysie

Récemment, une activité de type prion a été décrite chez un mollusque marin, l'aplysie, pour une protéine de la famille CPEB (*cytosolic polyadenylation elements binding protein*). Celle-ci régule l'activité de traduction d'ARN messagers (ARNm) neuronaux par le degré de leur polyadénylation. Une forme de type prion de CPEB (ApCPEB), riche en feuillets β , serait impliquée dans le maintien d'un potentiel synaptique, nécessaire au stockage de la mémoire à long terme [85]. La capacité d'ApCPEB de former des fibres via un domaine prion et la possibilité pour cette forme agrégée de se fixer plus efficacement aux ARNm dormant associés à CPEB ont été démontrées dans le modèle levure et très récemment confirmées dans des neurones d'aplysie [86]. De nombreuses protéines ont une durée de vie limitée (quelques heures), or il n'y a pas de bases moléculaires pouvant rendre compte (au moins en partie) des processus de mémoire à long terme. Il est envisagé que des boucles rétroactives de régulation soient impliquées au travers de réseaux complexes de signalisation. La capacité d'auto-réplication associée au domaine prion de CPEB, offre une possibilité de maintien durable de la mémoire par stimulation d'une activité au niveau de synapses neuronales individuelles, grâce à la stabilité temporelle de type prion d'ApCPEB [55].

Phénomène Prion en cellules de mammifères

Chez les mammifères la formation de fibres amyloïdes se produit avec différentes protéines telles, les cristallines des fibres du cristallin de l'œil, la fibrine impliquée dans la coagulation sanguine ou encore des conformères amyloïdes de l'endostatine, un fragment peptidique dérivé du collagène [55]. La myoglobine dans des conditions particulières est également capable d'adopter ce type de structure [87].

Différents exemples ont été récemment donnés de phénomène Prion associé à des fonctions cellulaires. En cas de stress, la protéine TIA-1 qui se lie aux ARN messager, provoque un arrêt général de traduction. Un domaine de type prion a été mis en évidence sur cette protéine. Lorsque les conditions environnementales sont délétères, TIA-1 s'agrège, servant de base à la formation de granules de stress dans le cytosol de cellules de mammifère en culture. Comme pour ApCPEB, les caractéristiques prion de cette protéine ont été démontrées chez la levure de même que le caractère modulable du domaine prion de TIA-1[88].

Un autre exemple concerne la mise en évidence de différentes structures de la mélanine dont une forme agrégée est stockée dans des granules de sécrétion spécialisées, les mélanosomes. Les polymères de mélanine ont un rôle fonctionnel dans les mélanocytes, mais sont également importants au cours de phénomènes pathologiques par protection contre les effets toxiques de formes oligomériques intermédiaires de mélanine non agrégées [89, 90].

Enfin, des travaux récents réalisés sur différents types cellulaires et confirmés chez l'animal, ont montré que certaines hormones neuroendocrines formaient des fibres amyloïdes pour leur stockage dans des granules de sécrétion. La sécrétion de ces hormones sous forme de monomères solubles nécessite à nouveau un changement de conformation [91].

Phénomène Prion chez les virus et chez les plantes ?

Alors que le phénomène Prion est présent dans de nombreuses espèces animales, il n'a pas encore été décrit chez les virus et chez les plantes. Toutefois, chez les plantes des processus de stockage protéique s'accompagnent du changement conformationnel de protéines qui deviennent insolubles dans certains détergents [92], rappelant les observations faites sur certains des granules de sécrétion de mammifère. Par ailleurs, chez les virus, les changements de conformation associés à des fonctions sont fréquents et des phénomènes d'agrégation sont observés sans que la nature des agrégats ne soit connue. On peut citer l'exemple des usines virales [93], de la protéine non structurale (NSs) du virus de la vallée du rift, soluble dans le cytosol mais capable de former de longs filaments nucléaires [94] et du facteur de virulence PB1-F2 du virus influenza capable de former des fibres de nature amyloïde *in vitro* [95]. La question de la représentation du phénomène Prion dans tous les règnes du vivant est donc ouverte et il n'est pas exclu qu'elle soit plus générale que ce que l'on imagine actuellement.

Conclusion

L'étude des maladies à prions a mis en évidence l'implication d'un agent pathogène dont la nature biochimique est une protéine. Ceci a conduit à l'établissement du concept Prion de protéines autorépliquatives qui, dans une conformation alternative, sont capables d'induire la transconformation de protéines endogènes homologues. Ce concept révolutionnaire conduit à considérer le rôle de la structure imposée à un niveau post-traductionnel, dans la propagation d'une pathologie, mais de façon plus inattendue, comme support d'information transmissible non strictement dépendante du code génétique. Ce phénomène, conservé au cours de l'évolution, s'applique également à des processus

biologiques où des domaines « prion » aptes à s'agréger selon les conditions, peuvent exercer des fonctions favorables aux organismes vivants.

Alors que les structures amyloïdes ont longtemps été considérées comme associées uniquement à des processus pathologiques chez les mammifères (amyloïdoses neurodégénératives et systémiques), le rôle important de ces organisations supramoléculaires dans des phénomènes biologiques est maintenant bien admis. Une protéine, en adoptant différentes conformations pouvant chacune être porteuse d'information différente, pourrait favoriser des processus d'adaptation conférant un avantage évolutif et un niveau de complexité supplémentaire au vivant. Ce nouveau concept souligne les limites du paradigme du tout génétique qui place le gène au cœur de tout processus biologique.

Remerciements

Nous tenons à remercier Agnès Billecocq, Marie-Annick Persuy et Bernard Charley pour leur lecture approfondie de ce manuscrit.

Tableau I. Exemples d'amyloïdoses associées à des maladies

Protéine	Maladie	Transmission
Protéine prion PrP (humaine et animale)	Encéphalopathies spongiformes	Naturelle et expérimentale [3, 5, 30]
Peptide amyloïde Aβ42 ou protéine Tau (humaine)	Maladie d'Alzheimer	Expérimentale, Modèle souris Tg-APP [69]
α-Synucléine (humaine)	Maladie de Parkinson	Propagation tissulaire et modèle souris [68]
Polyglutamines Huntingtine (humaine)	Maladie d'Huntington	Expérimentale, modèles cellulaires, Poly Q et levure [71]
Amyline (humaine)	Diabète type II	ND, Propagation tissulaire [74]
Protéine amyloïde sérique SAA (humaine)	Amyloïdose systémique secondaire	Expérimentale, modèle induit chez la souris [73, 74]
Transthyréine (humaine)	Amyloïdose systémique familiale ou sénile	ND, Propagation tissulaire [74, 79]
Gelsoline (humaine)	Amyloïdose familiale finlandaise	ND, Propagation tissulaire [74, 80]
Protéine amyloïde sérique SAA (animale)	Amyloïdose systémique (oiseaux, rongeurs)	Expérimentale, modèle induit chez la souris [75]
Apolipoprotéine AII (humaine et de souris)	Amyloïdose familiale ou sénile (polyneuropathies)	Naturelle et expérimentale chez la souris [78]

ND = non déterminé

Tableau II. Exemples d'amyloïdes fonctionnels et de phénomènes Prion en biologie

Protéine	Implication/Phénotype	Transmission
Bactéries :		
Curline <i>E.coli</i>	Biofilms bactériens	ND, [82, 89]
Champignons :		
Ure2p <i>S.cerevisiae</i>	[<i>URE3</i>] Utilisation de l'azote	Naturelle et expérimentale [56, 62]
Sup35p <i>S.cerevisiae</i>	[<i>PSI+</i>] Codon stop ignoré	Naturelle et expérimentale [58, 62]
Rnq1p <i>S.cerevisiae</i>	[<i>PIN</i>] Cycle cellulaire	Naturelle et expérimentale [55, 62]
HET-S <i>P.anserina</i>	Incompatibilité entre noyaux de l'hétérocaryon	Naturelle et expérimentale [61]
Hydrophobine (champignons)	Modulation des tensions de surface	ND [89]
Nudibranches :		
CPEB Aplysie	Polyadénylation d'ARNm mémoire à long terme	Expérimentale en levure [85, 86]
Insectes :		
Fibroïne <i>B. mori</i>	Soie du Bombyx	ND [89]
Spidroïne <i>N. clavipes</i>	Soie de toile d'araignée	ND [83, 89]
Mammifères :		
TIA-1	Granules de stress	Expérimentale en levure [88]
Hormones pituitaires	Granules de stockage (ACTH, β -endorphine, prolactine, GH)	ND [91]
Pmel7	Granules de stockage et sécrétion de la mélanine	Expérimentale en levure [89, 90]

ND = non déterminé

Références

1. Prusiner SB. Prions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 13363-83.
2. Griffith JS. Self-replication and scrapie. *Nature* 1967; 215: 1043-4.
3. Wadsworth JD, Collinge J. Update on human prion disease. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772: 598-609.
4. Laude H, Beringue V. Nouvelles formes de maladies a prions chez les ruminants. *Pathol Biol (Paris)* 2009; 57: 117-26.
5. Collinge J, Sidle KC, Meads J, Ironside J, Hill AF. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature* 1996; 383: 685-90.
6. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 136-44.
7. Brandner S, Isenmann S, Raeber A, Fischer M, Sailer A, Kobayashi Y, *et al.* Normal host prion protein necessary for scrapie-induced neurotoxicity. *Nature* 1996; 379: 339-43.
8. Kocisko DA, Come JH, Priola SA, Chesebro B, Raymond GJ, Lansbury PT, *et al.* Cell-free formation of protease-resistant prion protein. *Nature* 1994; 370: 471-4.
9. Bessen RA, Kocisko DA, Raymond GJ, Nandan S, Lansbury PT, Caughey B. Non-genetic propagation of strain-specific properties of scrapie prion protein. *Nature* 1995; 375: 698-700.
10. Bossers A, Belt P, Raymond GJ, Caughey B, de Vries R, Smits MA. Scrapie susceptibility-linked polymorphisms modulate the *in vitro* conversion of sheep prion protein to protease-resistant forms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 4931-6.
11. Saborio GP, Permanne B, Soto C. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature* 2001; 411: 810-3.
12. Castilla J, Saa P, Hetz C, Soto C. *In vitro* generation of infectious scrapie prions. *Cell* 2005; 121: 195-206.
13. Deleault NR, Harris BT, Rees JR, Supattapone S. Formation of native prions from minimal components *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 9741-6.
14. Atarashi R, Wilham JM, Christensen L, Hughson AG, Moore RA, Johnson LM, *et al.* Simplified ultrasensitive prion detection by recombinant PrP conversion with shaking. *Nat Methods* 2008; 5: 211-2.
15. Cordeiro Y, Machado F, Juliano L, Juliano MA, Brentani RR, Foguel D, *et al.* DNA converts cellular prion protein into the beta-sheet conformation and inhibits prion peptide aggregation. *J Biol Chem* 2001; 276: 49400-9.
16. Hill AF, Antoniou M, Collinge J. Protease-resistant prion protein produced *in vitro* lacks detectable infectivity. *J Gen Virol* 1999; 80: 11-4.
17. Xiong LW, Raymond LD, Hayes SF, Raymond GJ, Caughey B. Conformational change, aggregation and fibril formation induced by detergent treatments of cellular prion protein. *J Neurochem* 2001; 79: 669-78.
18. Legname G, Baskakov IV, Nguyen HO, Riesner D, Cohen FE, DeArmond SJ, *et al.* Synthetic mammalian prions. *Science* 2004; 305: 673-6.
19. Colby DW, Giles K, Legname G, Wille H, Baskakov IV, DeArmond SJ, *et al.* Design and construction of diverse mammalian prion strains. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 20417-22.
20. Wang F, Wang X, Yuan CG, Ma J. Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein. *Science* 2010; 327: 1132-5.

21. Makarava N, Kovacs GG, Bocharova O, Savtchenko R, Alexeeva I, Budka H, *et al.* Recombinant prion protein induces a new transmissible prion disease in wild-type animals. *Acta Neuropathol* 2010; 119: 177-87.
22. Legname G, Nguyen HO, Baskakov IV, Cohen FE, Dearmond SJ, Prusiner SB. Strain-specified characteristics of mouse synthetic prions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 2168-73.
23. Legname G, Nguyen HO, Peretz D, Cohen FE, DeArmond SJ, Prusiner SB. Continuum of prion protein structures enciphers a multitude of prion isolate-specified phenotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 19105-10.
24. Colby DW, Wain R, Baskakov IV, Legname G, Palmer CG, Nguyen HO, *et al.* Protease-sensitive synthetic prions. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000736.
25. Kim JI, Cali I, Surewicz K, Kong Q, Raymond GJ, Atarashi R, *et al.* Mammalian prions generated from bacterially expressed prion protein in the absence of any mammalian cofactors. *J Biol Chem*; 2010; 285: 14083-7.
26. Manuelidis L. A 25 nm virion is the likely cause of transmissible spongiform encephalopathies. *J Cell Biochem* 2007; 100: 897-915.
27. Krishnan R, Lindquist SL. Structural insights into a yeast prion illuminate nucleation and strain diversity. *Nature* 2005; 435: 765-72.
28. Polymenidou M, Stoeck K, Glatzel M, Vey M, Bellon A, Aguzzi A. Coexistence of multiple PrP^{Sc} types in individuals with Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet Neurol* 2005; 4: 805-14.
29. Dron M, Moudjou M, Chapuis J, Salamat MK, Bernard J, Cronier S, *et al.* Endogenous proteolytic cleavage of disease-associated prion protein to produce C2 fragments is strongly cell- and tissue-dependent. *J Biol Chem* 2010; 285: 10252-64.
30. Vilotte JL, Laude H. Transgenesis applied to transmissible spongiform encephalopathies. *Transgenic Res* 2002; 11: 547-64.
31. Parchi P, Capellari S, Chen SG, Petersen RB, Gambetti P, Kopp N, *et al.* Typing prion isoforms. *Nature* 1997; 386: 232-4.
32. Bruce ME. TSE strain variation. *Br Med Bull* 2003; 66: 99-108.
33. Beringue V, Vilotte JL, Laude H. Prion agent diversity and species barrier. *Vet Res* 2008; 39: 47.
34. Le Dur A, Beringue V, Andreoletti O, Reine F, Lai TL, Baron T, *et al.* A newly identified type of scrapie agent can naturally infect sheep with resistant PrP genotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 16031-6.
35. Beringue V, Andreoletti O, Le Dur A, Essalmani R, Vilotte JL, Lacroux C, *et al.* A bovine prion acquires an epidemic bovine spongiform encephalopathy strain-like phenotype on interspecies transmission. *J Neurosci* 2007; 27: 6965-71.
36. Li J, Browning S, Mahal SP, Oelschlegel AM, Weissmann C. Darwinian evolution of prions in cell culture. *Science* 2010; 327: 869-72.
37. Eghiaian F. Structuring the puzzle of prion propagation. *Curr Opin Struct Biol* 2005; 15: 724-30.
38. Alper T, Haig DA, Clarke MC. The exceptionally small size of the scrapie agent. *Biochem Biophys Res Commun* 1966; 22: 278-84.
39. Yunoki M, Tanaka H, Urayama T, Hattori S, Ohtani M, Ohkubo Y, *et al.* Prion removal by nanofiltration under different experimental conditions. *Biologicals* 2008; 36: 27-36.
40. Silveira JR, Raymond GJ, Hughson AG, Race RE, Sim VL, Hayes SF, *et al.* The most infectious prion protein particles. *Nature* 2005; 437: 257-61.
41. Caughey B, Lansbury PT. Protofibrils, pores, fibrils, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders. *Annu Rev Neurosci* 2003; 26: 267-98.

42. Lasmezas CI, Deslys JP, Robain O, Jaegly A, Beringue V, Peyrin JM, *et al.* Transmission of the BSE agent to mice in the absence of detectable abnormal prion protein. *Science* 1997; 275: 402-5.
43. Safar J, Prusiner SB. Molecular studies of prion diseases. *Prog Brain Res* 1998; 117: 421-34.
44. Pastrana MA, Sajnani G, Onisko B, Castilla J, Morales R, Soto C, *et al.* Isolation and characterization of a proteinase K-sensitive PrP^{Sc} fraction. *Biochemistry* 2006; 45: 15710-7.
45. Tzaban S, Friedlander G, Schonberger O, Horonchik L, Yedidia Y, Shaked G, *et al.* Protease-sensitive scrapie prion protein in aggregates of heterogeneous sizes. *Biochemistry* 2002; 41: 12868-75.
46. Cronier S, Gros N, Tattum MH, Jackson GS, Clarke AR, Collinge J, *et al.* Detection and characterization of proteinase K-sensitive disease-related prion protein with thermolysin. *Biochem J* 2008; 416: 297-305.
47. Owen JP, Rees HC, Maddison BC, Terry LA, Thorne L, Jackman R, *et al.* Molecular profiling of ovine prion diseases by using thermolysin-resistant PrP^{Sc} and endogenous C2 PrP fragments. *J Virol* 2007; 81: 10532-9.
48. Tixador P, Herzog L., Reine F, Jaumain E, Chapuis J, Le Dur A, *et al.* The physical relationship between infectivity and prion protein aggregates is strain- dependent. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000859.
49. Tixador P. Etude de la diversité et du déterminisme des souches de prions : approches physicochimiques et analyse comparée. *Thèse de l'Université de Versailles Saint-Quentin en Yvelines* 2009.
50. Magalhaes AC, Baron GS, Lee KS, Steele-Mortimer O, Dorward D, Prado MA, *et al.* Uptake and neuritic transport of scrapie prion protein coincident with infection of neuronal cells. *J Neurosci* 2005; 25: 5207-16.
51. Lacroute F. Non-Mendelian mutation allowing ureidosuccinic acid uptake in yeast. *J Bacteriol* 1971; 106: 519-22.
52. Baxa U, Cassese T, Kajava AV, Steven AC. Structure, function, and amyloidogenesis of fungal prions: filament polymorphism and prion variants. *Adv Protein Chem* 2006; 73: 125-80.
53. Chien P, Weissman JS, DePace AH. Emerging principles of conformation-based prion inheritance. *Annu Rev Biochem* 2004; 73: 617-56.
54. Cullin C. Les prions : une histoire de souris, d'homme...et de levure. *Virologie* 2003; 7: 417-423.
55. Shorter J, Lindquist S. Prions as adaptive conduits of memory and inheritance. *Nat Rev Genet* 2005; 6: 435-50.
56. Wickner RB. [URE3] as an altered URE2 protein: evidence for a prion analog in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 1994; 264: 566-9.
57. Lindquist S, Krobitch S, Li L, Sondheimer N. Investigating protein conformation-based inheritance and disease in yeast. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; 356: 169-76.
58. Krammer C, Kryndushkin D, Suhre MH, Kremmer E, Hofmann A, Pfeifer A, *et al.* The yeast Sup35NM domain propagates as a prion in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 462-7.
59. Speare JO, Offerdahl DK, Hasenkrug A, Carmody AB, Baron GS. GPI anchoring facilitates propagation and spread of misfolded Sup35 aggregates in mammalian cells. *EMBO J* 2010; 29: 782-94.
60. True HL, Berlin I, Lindquist SL. Epigenetic regulation of translation reveals hidden genetic variation to produce complex traits. *Nature* 2004; 431: 184-7.
61. Coustou V, Deleu C, Saupe S, Begueret J. The protein product of the het-s heterokaryon incompatibility gene of the fungus *Podospora anserina* behaves as a prion analog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 9773-8.

62. Wickner RB, Edskes HK, Shewmaker F, Nakayashiki T. Prions of fungi: inherited structures and biological roles. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5: 611-8.
63. Tuite MF. Yeast prions and their prion-forming domain. *Cell* 2000; 100: 289-92.
64. Alberti S, Halfmann R, King O, Kapila A, Lindquist S. A systematic survey identifies prions and illuminates sequence features of prionogenic proteins. *Cell* 2009; 137: 146-58.
65. Rogoza T, Goginashvili A, Rodionova S, Ivanov M, Viktorovskaya O, Rubel A, *et al.* Non-Mendelian determinant [ISP +] in yeast is a nuclear-residing prion form of the global transcriptional regulator Sfp1. *Proc Natl Acad Sci U S A*; epub 28 may 2010.
66. Price DL, Borchelt DR, Sisodia SS. Alzheimer disease and the prion disorders amyloid beta-protein and prion protein amyloidoses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 6381-4.
67. Walker LC, Levine H, 3rd, Mattson MP, Jucker M. Inducible proteopathies. *Trends Neurosci* 2006; 29: 438-43.
68. Skovronsky DM, Lee VM, Trojanowski JQ. Neurodegenerative diseases: new concepts of pathogenesis and their therapeutic implications. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 151-70.
69. Walker LC, Callahan MJ, Bian F, Durham RA, Roher AE, Lipinski WJ. Exogenous induction of cerebral beta-amyloidosis in betaAPP-transgenic mice. *Peptides* 2002; 23: 1241-7.
70. Meyer-Luehmann M, Coomaraswamy J, Bolmont T, Kaeser S, Schaefer C, Kilger E, *et al.* Exogenous induction of cerebral beta-amyloidogenesis is governed by agent and host. *Science* 2006; 313: 1781-4.
71. Ren PH, Lauckner JE, Kachirskaja I, Heuser JE, Melki R, Kopito RR. Cytoplasmic penetration and persistent infection of mammalian cells by polyglutamine aggregates. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 219-25.
72. McNally KL, Ward AE, Priola SA. Cells expressing anchorless prion protein are resistant to scrapie infection. *J Virol* 2009; 83: 4469-75.
73. Obici L, Raimondi S, Lavatelli F, Bellotti V, Merlini G. Susceptibility to AA amyloidosis in rheumatic diseases: a critical overview. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 1435-40.
74. Stefani M, Dobson CM. Protein aggregation and aggregate toxicity: new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution. *J Mol Med* 2003; 81: 678-99.
75. Lundmark K, Westermark GT, Nystrom S, Murphy CL, Solomon A, Westermark P. Transmissibility of systemic amyloidosis by a prion-like mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 6979-84.
76. Westermark P, Lundmark K, Westermark GT. Fibrils from designed non-amyloid-related synthetic peptides induce AA-amyloidosis during inflammation in an animal model. *PLoS One* 2009; 4: e6041.
77. Heikenwalder M, Zeller N, Seeger H, Prinz M, Klohn PC, Schwarz P, *et al.* Chronic lymphocytic inflammation specifies the organ tropism of prions. *Science* 2005; 307: 1107-10.
78. Xing Y, Nakamura A, Chiba T, Kogishi K, Matsushita T, Li F, *et al.* Transmission of mouse senile amyloidosis. *Lab Invest* 2001; 81: 493-9.
79. Sekijima Y, Kelly JW, Ikeda S. Pathogenesis of and therapeutic strategies to ameliorate the transthyretin amyloidoses. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 3219-30.
80. Solomon JP, Yonemoto IT, Murray AN, Price JL, Powers ET, Balch WE, *et al.* The 8 and 5 kDa fragments of plasma gelsolin form amyloid fibrils by a nucleated polymerization mechanism, while the 68 kDa fragment is not amyloidogenic. *Biochemistry* 2009; 48: 11370-80.
81. Wetzel R, Shivaprasad S, Williams AD. Plasticity of amyloid fibrils. *Biochemistry* 2007; 46: 1-10.
82. Larsen P, Nielsen JL, Dueholm MS, Wetzel R, Otzen D, Nielsen PH. Amyloid adhesins are abundant in natural biofilms. *Environ Microbiol* 2007; 9: 3077-90.

83. Kenney JM, Knight D, Wise MJ, Vollrath F. Amyloidogenic nature of spider silk. *Eur J Biochem* 2002; 269: 4159-63.
84. Chernoff YO. Mutation processes at the protein level: is Lamarck back? *Mutat Res* 2001; 488: 39-64.
85. Si K, Lindquist S, Kandel ER. A neuronal isoform of the aplysia CPEB has prion-like properties. *Cell* 2003; 115: 879-91.
86. Si K, Choi YB, White-Grindley E, Majumdar A, Kandel ER. Aplysia CPEB can form prion-like multimers in sensory neurons that contribute to long-term facilitation. *Cell* 2010; 140: 421-35.
87. Fandrich M, Fletcher MA, Dobson CM. Amyloid fibrils from muscle myoglobin. *Nature* 2001; 410: 165-6.
88. Gilks N, Kedersha N, Ayodele M, Shen L, Stoecklin G, Dember LM, *et al.* Stress granule assembly is mediated by prion-like aggregation of TIA-1. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 5383-98.
89. Fowler DM, Koulov AV, Alory-Jost C, Marks MS, Balch WE, Kelly JW. Functional amyloid formation within mammalian tissue. *PLoS Biol* 2006; 4: e6.
90. Watt B, van Niel G, Fowler DM, Hurbain I, Luk KC, Stayrook SE, *et al.* N-terminal domains elicit formation of functional Pmel17 amyloid fibrils. *J Biol Chem* 2009; 284: 35543-55.
91. Maji SK, Perrin MH, Sawaya MR, Jessberger S, Vadodaria K, Rissman RA, *et al.* Functional amyloids as natural storage of peptide hormones in pituitary secretory granules. *Science* 2009; 325: 328-32.
92. Castelli S, Vitale A. The phaseolin vacuolar sorting signal promotes transient, strong membrane association and aggregation of the bean storage protein in transgenic tobacco. *J Exp Bot* 2005; 56: 1379-87.
93. Blondel D, Lahaye X, Vidy A, Pomier C. Compartmentalisation cellulaire viro-induite: agrésomes, inclusions virales et usines virales. *Virologie* 2009; 13: 201-214.
94. Yadani FZ, Kohl A, Prehaud C, Billecocq A, Bouloy M. The carboxy-terminal acidic domain of Rift Valley Fever virus NSs protein is essential for the formation of filamentous structures but not for the nuclear localization of the protein. *J Virol* 1999; 73: 5018-25.
95. Chevalier C, Al Bazzal A, Vidic J, Fevrier V, Bourdieu C, Bouguyon E, *et al.* PB1-F2 influenza A virus protein adopts a beta-sheet conformation and forms amyloid fibers in membrane environments. *J Biol Chem* 2010; 285: 13233-43.

Légende des figures

Figure 1. Diagramme représentant le principe de la technique PMCA (*Protein Misfolding Cyclic Amplification*). Un échantillon d'homogénat de cerveau sain contenant de la PrP^C est ensemencé avec une très faible quantité de PrP^{Sc}. L'amplification cyclique consiste en l'alternance de cycles d'incubation du mélange à 37°C, permettant la conversion et la polymérisation de PrP^{Sc}, et de brèves sonications conduisant ainsi à une fragmentation des polymères néoformés, et par conséquent à la formation de nouvelles unités (noyaux) de conversion (adapté de Saborio et al. [11]).

Figure 2. Représentation schématique des profils de migrations électrophorétiques des glycoformes de PrP^C (encadré gauche) en comparaison des glycotypes de PrP^{res} (encadré droit) obtenus après digestion à la protéase K de différentes PrP^{Sc} et détection avec un anticorps classique. Les types de PrP^{res} correspondent à différentes souches humaines de prions associées aux maladies de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) sporadiques et iatrogènes (classification Collinge, [5]) et à la souche de l'Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB). La taille de l'espèce de PrP^{res} non glycosylée, ainsi que l'abondance relative des différentes glycoformes sont caractéristiques d'une souche donnée. L'extrême ressemblance du profil de migration des PrP^{res} de l'agent de l'ESB et de celui du nouveau variant de la MCJ (vMCJ), a confirmé l'origine bovine de ce dernier.

Figure 3. Modèle représentant un mécanisme de transmission par empreinte conformationnelle permettant de rendre compte de la diversité des souches de prions.

Figure 4. Schéma illustrant la mise en évidence de domaines prion, DP, identifiables sur différentes protéines prion de champignon. Les phénotypes prion correspondant à l'agrégation de ces protéines sont indiqués en lettres rouges. Les domaines prion sont modulables et peuvent provoquer l'agrégation de protéines hétérologues. De façon simplifiée est illustré le fait qu'après échange du domaine prion de Sup35 par ceux d'Ure2 ou de Rnq1, la protéine de fusion peut produire le phénotype PSI+. Des séquences polyQ contenant plus de 40 répétitions de résidus glutamine comme c'est le cas pour des formes amyloïdes de huntingtine, sont également capables d'induire le phénotype prion PSI lorsque greffées au domaine fonctionnel de la protéine Sup35. Pour cette dernière il a été défini une zone de jonction (J) qui n'est ni fonctionnelle ni prionogénique mais relie ces 2 domaines.

Lysat de cerveau sain contenant de la PrP^C, ensemencé de très peu de PrP^{Sc}

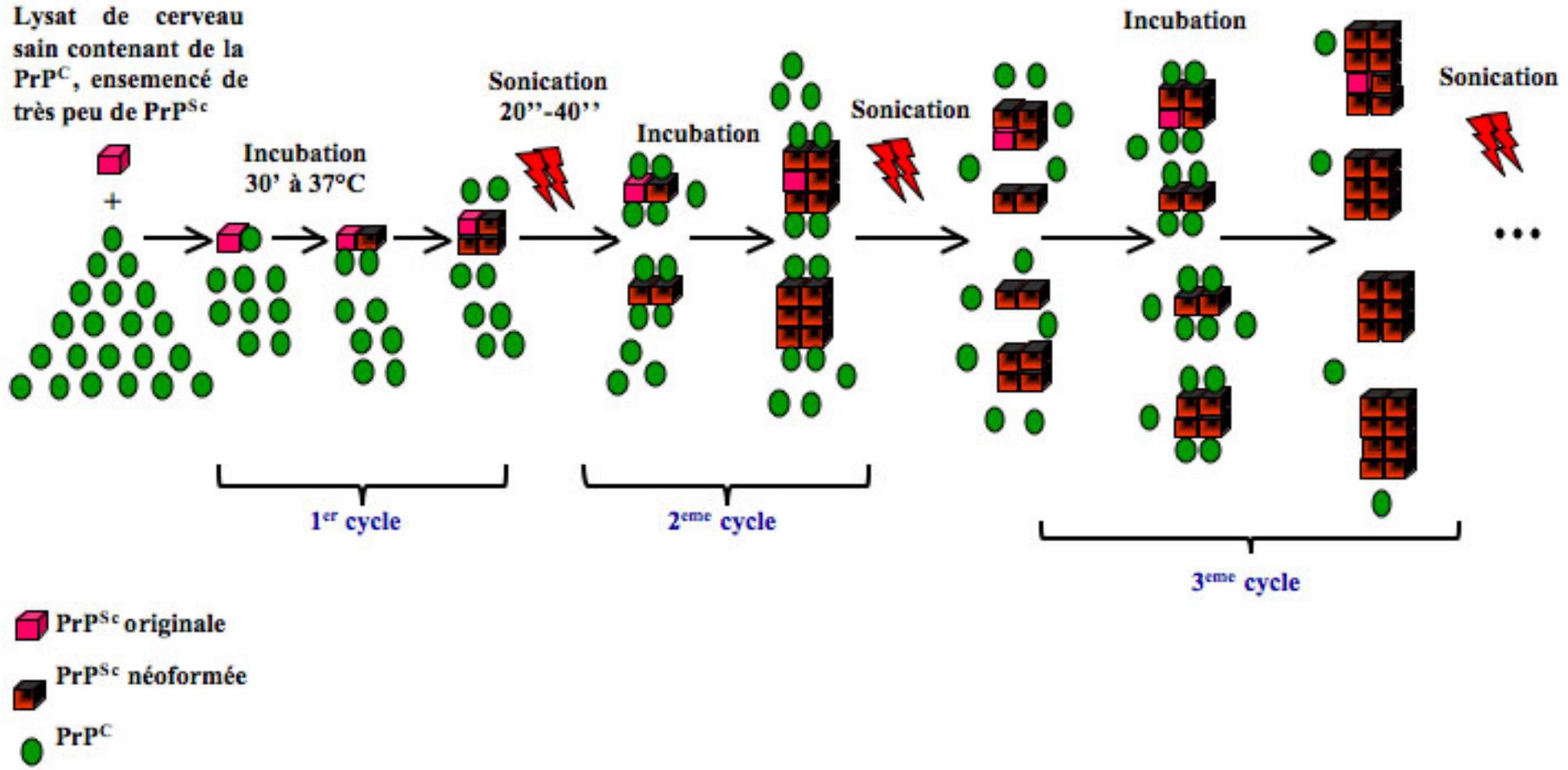


Fig 1

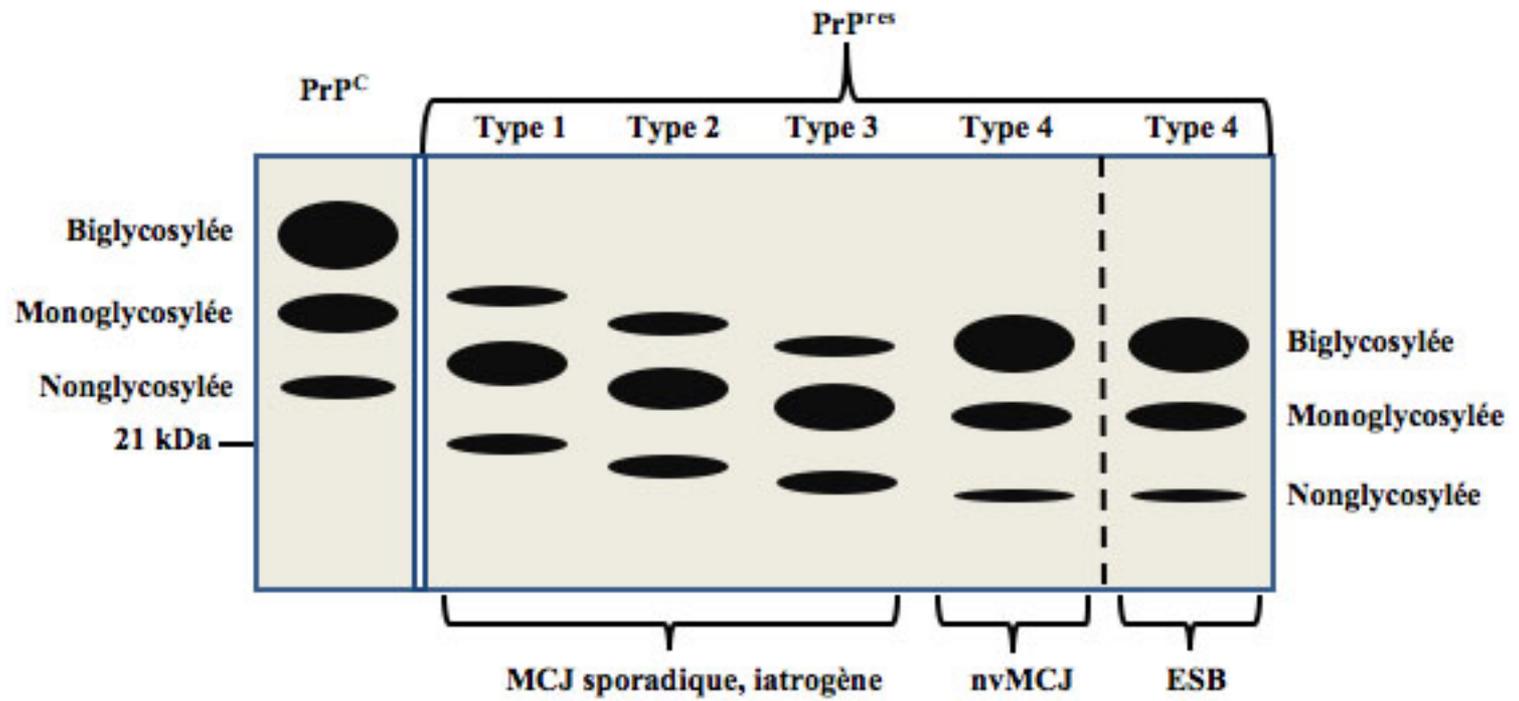


Fig 2

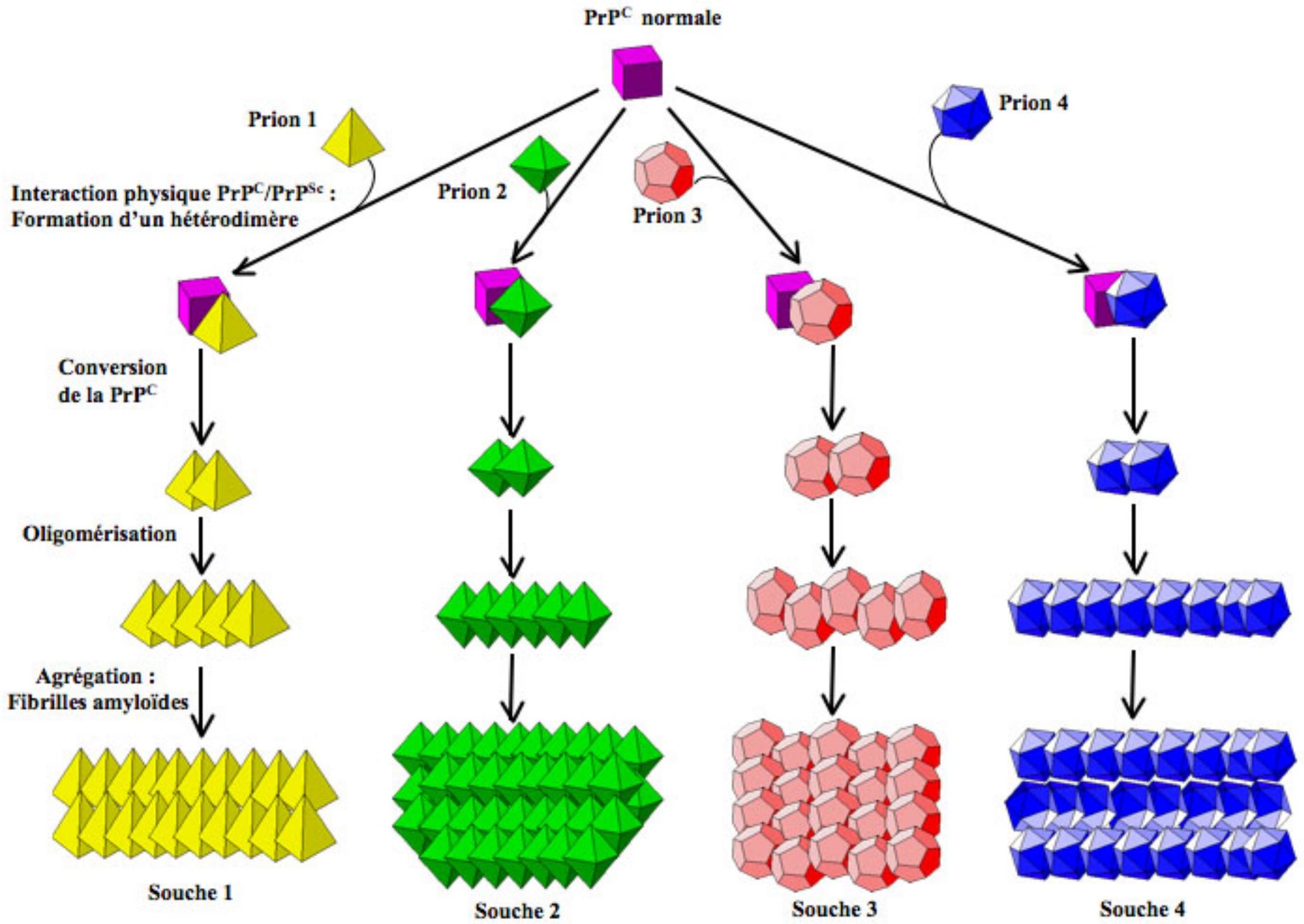
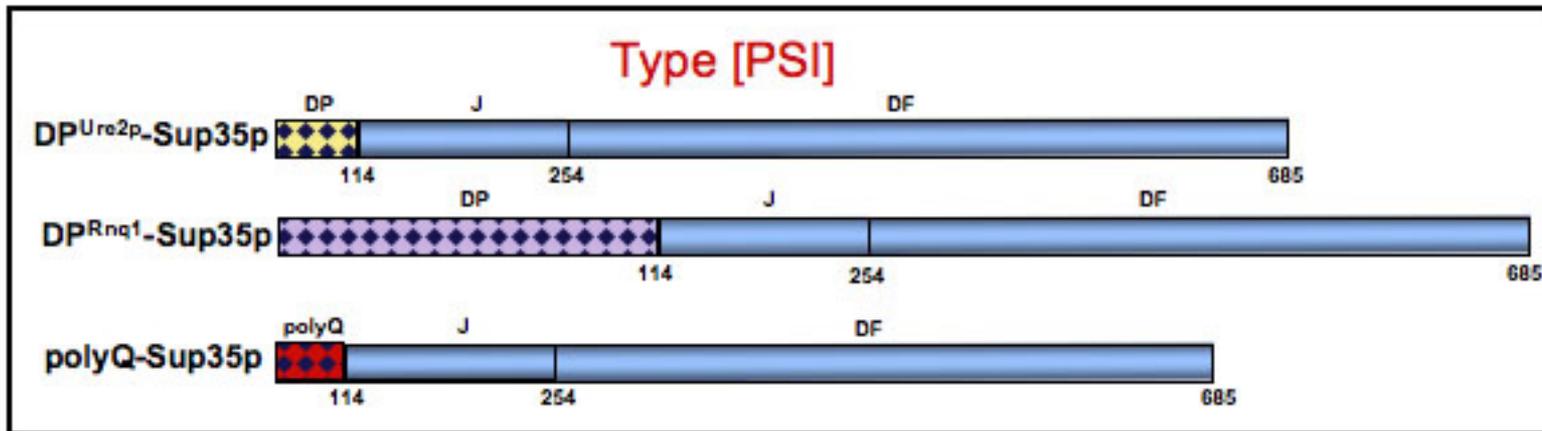
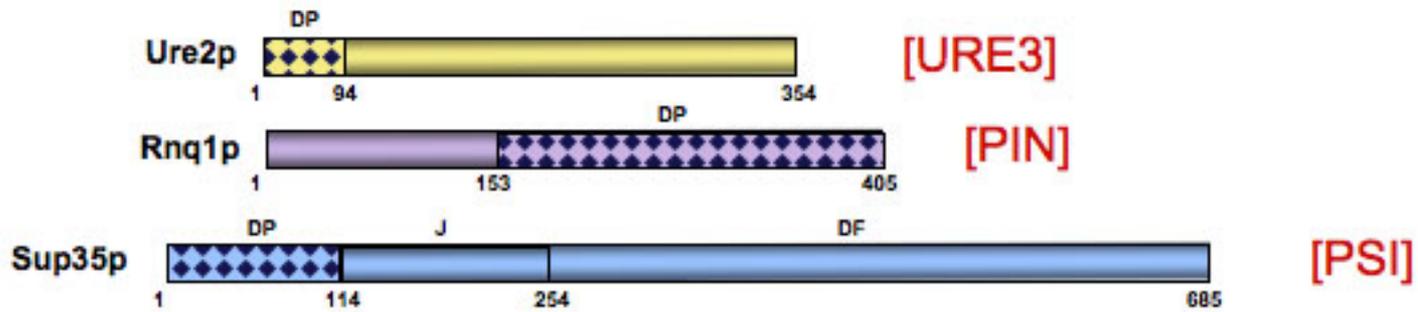


Fig 3



 DP = domaine prion
  DF = domaine fonctionnel
 J = région Jonction

Fig 4