

АМИЛОИДНЫЕ И АМИЛОИДОПОДОБНЫЕ АГРЕГАТЫ: МНОГООБРАЗИЕ И КРИЗИС ТЕРМИНА*

Обзор

© 2020 А.Б. Матив¹, Н.П. Трубицина¹, А.Г. Матвеев¹, Ю.А. Барбитов^{1,2},
Г.А. Журавлева^{1,3}, С.А. Бондарев^{1,3**}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, биологический факультет,
кафедра генетики и биотехнологии, 199034 Санкт-Петербург, Россия;
электронная почта: stanislavspbg@gmail.com, s.bondarev@spbu.ru

² Институт биоинформатики, 197342 Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, биологический факультет,
научная лаборатория биологии амилоидов, 199034 Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 16.07.2020

После доработки 05.08.2020

Принята к публикации 05.08.2020

Активное накопление данных о новых амилоидах, которое сейчас происходит, размывает границы термина «амилоид». В настоящий момент он чаще всего используется для обозначения агрегатов с кросс-β структурой. При этом для ряда амилоидов показаны и другие необычные свойства, среди которых высокая устойчивость к действию детергентов и протеаз, взаимодействие со специфическими красителями, а также способность индуцировать переход некоторых белков из растворимой формы в агрегированную. Эти же черты обнаруживают и у агрегатов, лишенных кросс-β структуры, которые принято называть амилоидоподобными и объединять в одну группу, хотя их разнообразие очень велико. Мы собрали и систематизировали информацию о свойствах более двухсот известных амилоидов и амилоидоподобных белков, уделяя особое внимание наиболее противоречивым примерам. В частности, ряд белков в составе немембранных органелл формирует агрегаты с кросс-β структурой, морфологически неотличимые от других амилоидов, но полностью растворяющиеся в присутствии детергентов. Такие парадоксы демонстрируют необходимость уточнения существующего определения термина «амилоид». С другой стороны, демонстрация разнообразия структур амилоидоподобных агрегатов показывает актуальность создания их классификации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: амилоиды, амилоидоподобные агрегаты, кросс-β структура, прионы.

DOI: 10.31857/S0320972520090043

КРАТКИЙ ОБЗОР РАЗВИТИЯ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ АМИЛОИДОВ

Термин «амилоид» был введен в научную литературу немецким ботаником Маттиасом Шлейденом. Одной из его идей было применение теста на крахмал в растениях для изучения химического и анатомического состава расти-

тельной клетки. Этот тест был первоначально описан в 1814 г. Жан-Жак Колином и Анри-Франсуа Готье де Клаубри и основан на реакции окрашивания в синий цвет крахмала в присутствии йода и серной кислоты. Анализируя препараты растений с помощью этой методики, Шлейден впервые использовал термин «амилоид» (от латинского слова «amylum», крахмал) в значении «крахмалоподобный» для обозначения «нормальной амилоидной составляющей в растениях» [1].

Немецкий патологоанатом Рудольф Вирхов впервые применил термин «амилоид» в медицинской литературе. В 1854 г. он использовал слово «амилоид» для описания патологических отложений в нервной системе, которые показали цветную реакцию с йодом и серной кислотой. Из-за этого Вирхов был убежден, что эти структуры были идентичны крахмалу [1]. Позже Вирхов применил тест с использованием йода и сер-

Принятые сокращения: АМП – антимикробные пептиды; БАС – боковой амиотрофический склероз; Аβ – амилоид β; β2M – β2-микроглобулин; CRES – cystatin-related epididymal spermatogenic (amyloid); Ig-LC – легкая цепь иммуноглобулина; LC – low-complexity (domain); PrP – прионный белок; RAC – reversible amyloid core; RHIM – Rip homotypic interaction motif; TTR – транстиретин.

* Статья на английском языке опубликована в режиме Open Access (открытого доступа) на сайте издательства Springer (<https://link.springer.com/journal/10541>), том 85, вып. 9, 2020.

** Адресат для корреспонденции.

ной кислоты к другим тканям с отложениями амилоидов [2]. Дальнейшие исследования амилоидов продолжались уже с применением гистологических красителей, таких как конго красный (1922 г.) и тиюфлавин (1959 г.), которые использовали вместо йода [3].

Структурные исследования амилоидов начались в 1930-х гг. с использованием дифракции рентгеновских лучей. В 1935 г. Уильям Томас Астбери и Сильвия Дикинсон описали характерную рентгенограмму, позже названную «кросс-β». В 1959 г. Алан Коэн и Эван Калкинс с помощью электронного микроскопа наблюдали в тканях кролика и человека амилоидные отложения с фибриллярной структурой ~7,5–14 нм в ширину и ~100–1600 нм в длину [3]. Позднее удалось продемонстрировать, что β-тяжи в составе агрегатов ориентированы перпендикулярно оси фибрилл и образуют межмолекулярные β-слои. Просвет между β-тяжами в одном β-слое составляет 4,7–4,8 Å, а в составе протофибриллы присутствуют минимум два β-слоя, расстояние между которыми порядка 10 Å. В экспериментах по дифракции электронов или рентгеновских лучей такая регулярная структура формирует характерную картину с двумя меридиональными и двумя экваториальными отражениями [4].

Позднее были описаны другие необычные свойства амилоидных агрегатов. Например, некоторые из них слабее подвержены действию протеаз, чем тот же белок в нативной форме [5], а также очень стабильны и не растворяются в присутствии детергентов. Для изучения амилоидов дрожжей были предложены методики на основе разнообразных модификаций электрофореза. Сегодня они успешно применяются для демонстрации устойчивости к детергентам или протеазам у амилоидов различного происхождения [6].

Большинство амилоидов способно индуцировать агрегацию растворимых молекул белка, из которого они состоят. Динамику этого процесса чаще всего анализируют *in vitro* с использованием очищенных белков и амилоид-специфических красителей [7]. Эта особенность является необходимой (но недостаточной) для существования инфекционных амилоидов, или прионов, первым обнаруженным примером которых стал PrP [8]. Обнаружение прионов дрожжей, присутствие которых в клетке можно отслеживать по росту на селективных средах [9], позволило разработать универсальные системы для поиска белков с аналогичными свойствами *in vivo* [10, 11] и идентификации новых амилоидов [12]. Последнюю задачу также позволяет решать методика C-DAG (curli-dependent amyloid

generator), с ее помощью образование амилоидных агрегатов исследуемым белком оценивают по появлению фибрилл на поверхности клеток бактерий [13].

Существует ряд примеров агрегатов, для которых показаны некоторые из описанных выше свойств: фибриллярная морфология, взаимодействие с тиюфлавином T или его аналогами, способность индуцировать агрегацию, устойчивость к детергентам и протеазам. Такие агрегаты мы будем далее называть амилоидоподобными, а белки, для которых хотя бы *in vitro* показано окрашивание конго красным или наличие кросс-β структуры, – амилоидами [4, 14–17].

МНОГООБРАЗИЕ АМИЛОИДОВ

С целью осветить многообразие белков, которые могут формировать амилоидные или амилоидоподобные агрегаты, мы собрали информацию о свойствах более двухсот таких белков. Мы старались включить максимальное число примеров, среди которых есть спорные, чтобы продемонстрировать разнообразие феномена и степень его изученности. Полная информация о рассмотренных белках представлена в таблице S в Приложении. В ней собрана информация о фрагментах, изоформах и заменах в анализируемых белках, но в рамках анализа данных мы вынуждены рассматривать только обобщенные сведения для отдельных белков, причем без учета уровня продукции в клетках и других различий в модельных системах. Скорее всего, представленный список может быть дополнен, но мы считаем эту выборку достаточно репрезентативной для того, чтобы оценить полноту описания амилоидных свойств разных белков с методологической точки зрения. К амилоидным свойствам мы причислили способность белка или его фрагмента формировать агрегаты *in vitro* или *in vivo*, наличие у этих агрегатов фибриллярной структуры, способность индуцировать агрегацию себе подобных белков, повышенную устойчивость агрегатов к детергентам и протеазам, их взаимодействие с амилоид-специфическими красителями тиюфлавином и конго красным, а также наличие кросс-β структуры. Эти свойства в той или иной мере были описаны для многих амилоидов [17–19]. Поскольку существует мнение, что при правильно подобранных условиях можно получить амилоидную форму абсолютно любого белка [20], в ходе анализа этих данных мы не рассматривали белки, агрегаты которых были исследованы исключительно *in vitro*, то есть ни одно из перечисленных амилоидных свойств не было продемонстрировано в живых

организмах. Также мы не рассматривали белки, которые были выявлены в результате различных скринингов, но не были проверены адресно.

Существует масса примеров агрегатов, напоминающих по свойствам амилоиды. Тем не менее их исследования крайне гетерогенны с точки зрения методологических подходов. Для иллюстрации этого мы собрали информацию о восьми свойствах, характерных для белковых агрегатов, рассмотренных в этом разделе (рис. 1):

- наличие кросс-β структуры (характерная картина дифракции электронов или рентгеновских лучей с двумя отражениями, либо определение структуры агрегатов с помощью методов криоэлектронной микроскопии или ядерного магнитного резонанса);

- окрашивание конго красным (в том числе двойное лучепреломление в поляризованном свете);

- окрашивание тирофлавином Т или аналогами;

- фибриллярная морфология агрегатов;

- способность индуцировать агрегацию такого же белка;

- устойчивость к действию протеаз;

- устойчивость к обработке детергентами;

- образование агрегатов (продемонстрированное любым способом, кроме методов, использованных для демонстрации предыдущих свойств).

Для большинства белков, которые попали в наш анализ, были успешно показаны от двух до пяти перечисленных свойств (рис. 1, а). Примечательно, что среди проверок наиболее популярной является окрашивание тирофлавином Т, либо его аналогами (65% от всех белков). При этом конго красный, который в ряде работ называют «золотым стандартом» для демонстрации амилоидных свойств, используют гораздо реже (45% белков). Окрашивание конго красным считается более строгим доказательством амилоидных свойств и в том числе используется для демонстрации кросс-β структуры. Однако эта методика может давать ложноположительные результаты. В частности, некоторые мономерные белки, имеющие структуру глобулы или β-соленоида (один из вариантов структуры амилоидных агрегатов [4]), а также частично свернутые белки связывают конго красный *in vitro* [3, 21]. Кроме этого, при окрашивании препаратов тканей краситель может взаимодействовать с волокнами коллагена, внеклеточными фибриллами, а также белками цитоскелета и даже демонстрировать двойное лучепреломление [21, 22]. Взаимодействие агрегатов с тирофлавином Т в принципе нельзя считать универсальным доказательством наличия кросс-β структуры, по-

скольку, например агрегаты PSM3α с кросс-α структурой связывают этот краситель [23].

Наличие кросс-β структуры с помощью биофизических подходов показано менее чем для трети из проанализированных белков (27%). Впрочем, объединение двух множеств (окрашивание конго красным и наличие кросс-β структуры) включает 53% от проанализированных белков (120 из 226 примеров). Их в рамках наиболее распространенного сейчас определения мы можем назвать амилоидами. В этом подмножестве наиболее популярным набором проверок стало сочетание окрашивания амилоид-специфическими красителями и демонстрация фибрилл (рис. 1, б). Любопытно, что на втором месте оказываются примеры, для которых показано только окрашивание конго красным. Вопрос о том, является ли такая проверка достаточной сама по себе, остается открытым. Также важно отметить, что большинство экспериментов выполнено на различных модельных системах, и доказательства того, что нативный белок формирует амилоидные агрегаты в живых организмах в естественных условиях и при базовом уровне продукции, обычно отсутствуют. Такая проблема существует даже в случае хорошо исследованных белков, например амилоидных прионов дрожжей.

Для удобства описания все многообразие агрегатов мы разделили на три группы: (1) патологические, (2) функциональные и (3) амилоиды с неопределенной биологической ролью, в каждой из которых мы выделили несколько подгрупп. Несмотря на то что аналогичная классификация используется часто, такое деление очень условное, и ряд рассмотренных нами примеров это демонстрирует.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ АМИЛОИДЫ

В клинической практике термином «амилоид» зачастую обозначают гомогенное внеклеточное отложение, которое специфически окрашивается конго красным и демонстрирует желто-зеленое свечение при двойном лучепреломлении в поляризованном свете, а также имеет характерную тонко-фибриллярную ультраструктуру [15]. Вместе с этим многие авторы не делают различий между внеклеточными и внутриклеточными агрегатами, демонстрирующими амилоидные свойства. При этом даже тельца включения, которые окрашиваются конго красным, часто тоже называют амилоидами. Примерами таких включений являются внутриядерные агрегаты при болезни Хантингтона и тельца Леви при болезни Паркинсона [24].

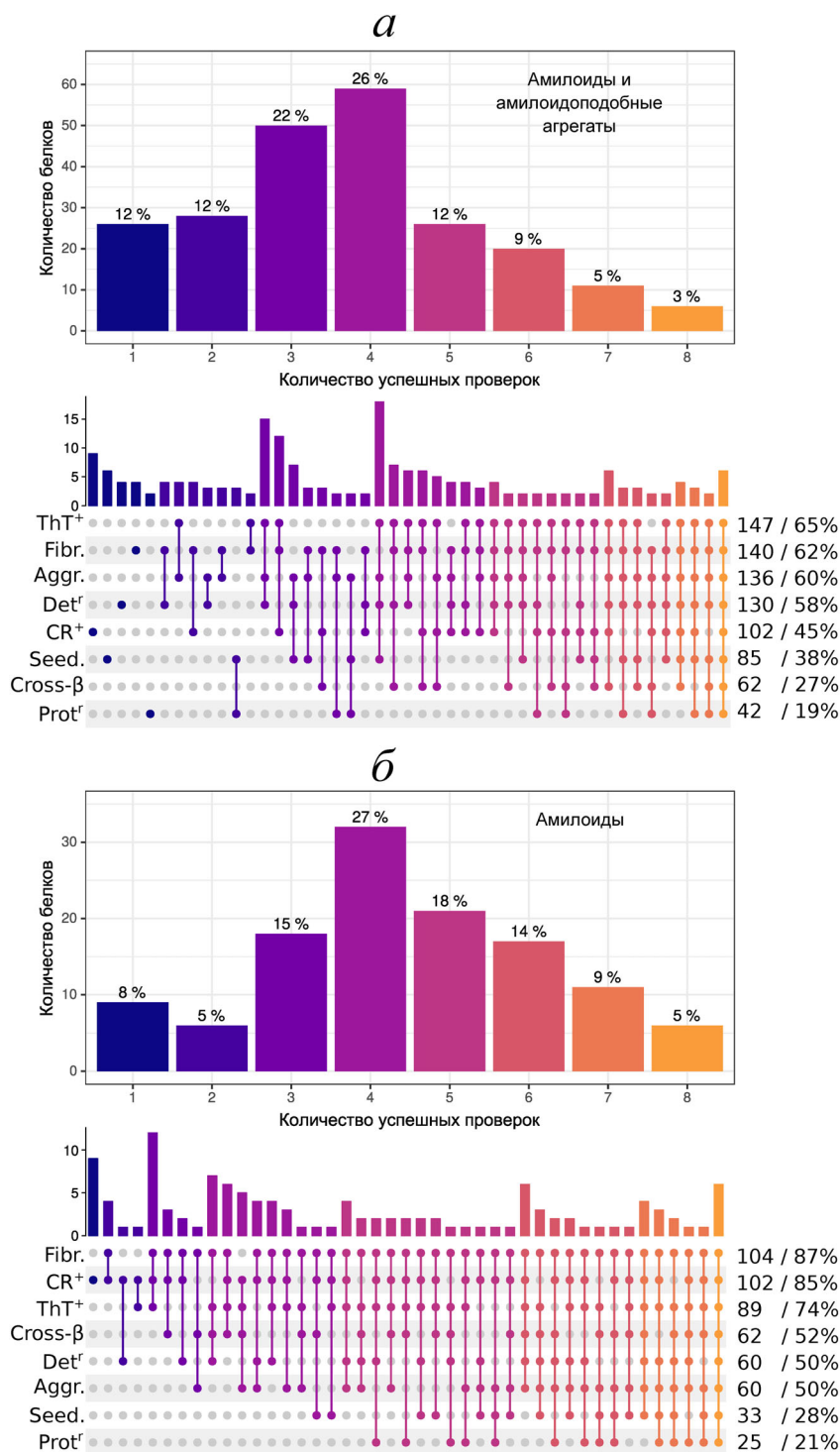


Рис. 1. Методические подходы и их сочетания в исследованиях амилоидов и амилоидоподобных агрегатов (*a*) либо только амилоидов (*б*). Учитывались только проверки, в результате которых указанные свойства были успешно продемонстрированы. Cross-β — демонстрация кросс-β структуры агрегатов (на основании данных дифракции электронов или рентгеновских лучей с двумя отражениями либо структуры агрегатов, расшифрованной методами криоэлектронной микроскопии или ядерного магнитного резонанса), CR⁺ — окрашивание конго красным и двулучепреломление в поляризованном свете, ThT⁺ — окрашивание тиафлавином Т или его аналогами, Fibr. — фибриллярная морфология агрегатов, Seed. — способность индуцировать агрегацию, Prot⁺ — устойчивость к действию протеаз, Det⁺ — устойчивость к обработке детергентами, Aggr. — свидетельство способности белка к агрегации (продемонстрированное любым способом, кроме методов, использованных для демонстрации предыдущих свойств). Эти же сокращения использованы на рис. 2–4. Ссылки на литературу представлены в таблице S в Приложении к статье. (С цветными вариантами рис. 1–4 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>.)

В настоящее время известно около 50 различных белков и пептидов, способных формировать амилоиды и амилоидоподобные агрегаты и связанных с заболеваниями человека, среди которых болезни Альцгеймера, Хантингтона и Паркинсона, диабет второго типа и ряд амилоидозов, возникающих в результате системного или локального отложения амилоидных фибрилл во внеклеточных пространствах тканей и органов [15, 25]. Многие из этих заболеваний являются смертельными и неизлечимыми, а риск их развития увеличивается с возрастом [26].

Амилоидогенные белки собираются в агрегаты, которые накапливаются в виде внеклеточных бляшек и внутриклеточных включений [4]. Наличие большого количества амилоидного материала может разрушать структуру ткани и механически влиять на функции пораженных органов [27]. Тем не менее есть предположение, что при амилоидных заболеваниях токсичны олигомеры и нефибриллярные амилоидные отложения [28]. В качестве примеров можно привести тетрамеры транстиретина (TTR) [29], амилоид β (A β) [30], легкие цепи иммуноглобулина (Ig-LC) [31] и PrP [32], которые токсичны как в клеточных культурах, так и в живых организмах. В результате конформационных изменений префибриллярные агрегаты несут на своей поверхности группы, которые обычно находятся внутри свернутых белков или рассредоточены в нативно неструктурированных белках. Это рассматривают как потенциальный фактор токсичности амилоидов [28], и исследования *in vitro* подтверждают эту гипотезу [33]. Внутриклеточные амилоидные включения могут влиять на клеточную физиологию, например, препятствуя транспорту белков и РНК и нарушая функции протеасом [4].

Как правило, существуют различия в патогенезе между локализованными и системными амилоидозами: амилоидогенный белок в первом случае синтезируется близко к месту отложения, в то время как во втором — белок синтезируется в одном или нескольких органах, а затем транспортируется в растворимой форме плазмой крови к месту, где образуются амилоидные фибриллы [28]. Отдельно можно выделить обширную группу нейродегенеративных заболеваний, которые связаны с образованием амилоидных и амилоидоподобных агрегатов. На рис. 2 представлен список белков, рассмотренных в этом подразделе, а также информация о свойствах их агрегатов.

СИСТЕМНЫЕ АМИЛОИДОЗЫ

Амилоидоз легкой цепи иммуноглобулина (AL-амилоидоз от Amyloid Light chain) является

наиболее распространенной формой системного амилоидоза, на долю которого приходится около 70% всех случаев [34]. Это заболевание обычно встречается у людей с моноклональной гаммапатией — расстройством, которое характеризуется пролиферацией клонов плазматических клеток. Повышенная продукция Ig-LC приводит к образованию амилоидов и повреждению органов [35]. Меньше известно о более редком амилоидозе легкой и тяжелой (Ig-HC) цепей и амилоидозе тяжелой цепи (AHL- и АН-амилоидозы соответственно) [36], которые по клиническим симптомам сходны с AL-амилоидозом. Стоит отметить, что для упомянутых выше заболеваний существуют и локализованные формы.

Транстиретинный амилоидоз является наиболее распространенным наследственным амилоидозом, который вызван мутациями, дестабилизирующими тетрамер транстиретина, отвечающий за транспорт гормона тироксина и витамина А [37]. К транстиретинному амилоидозу также относят старческий системный амилоидоз — приобретенное расстройство, вызванное отложениями TTR дикого типа, проявляющееся в основном у мужчин старше 60 лет [37]. Еще одним распространенным системным амилоидозом является реактивный, или AA-амилоидоз — заболевание, связанное с устойчивыми высокими концентрациями сыровоточного амилоида А (SAA) в плазме или специфических тканях при воспалительных процессах, приводящих к внеклеточным отложениям белка [38]. У пациентов с почечной недостаточностью или находящихся на диализе наличие амилоидных депозитов обусловлено повышением уровня циркулирующего в крови β 2-микроглобулина (β 2M) [39]. Диализный амилоидоз вызван отложениями полноразмерного β 2M преимущественно дикого типа. Существует и наследственная форма заболевания, возникающая при мутациях в гене, кодирующем β 2M, в результате чего синтезируется белок с повышенной склонностью к агрегации [39].

Обширную группу системных амилоидозов составляют расстройства, связанные с отложениями апополипротеинов. Например, амилоидоз, ассоциированный с апополипротеином А-I (ApoA-I), может быть представлен как в наследственной форме с отложениями белка дикого типа в атеросклеротических бляшках, так и в виде наследственной формы с отложениями мутантных форм белка [40]. Системные наследственные амилоидозы в редких случаях могут быть обусловлены мутантными формами гелъзолина, α -цепи фибриногена (FGA), цистатина С (CST3) и лизоцима [15, 25, 28]. При преэклампсии отмечают агрегацию и наличие токсичных

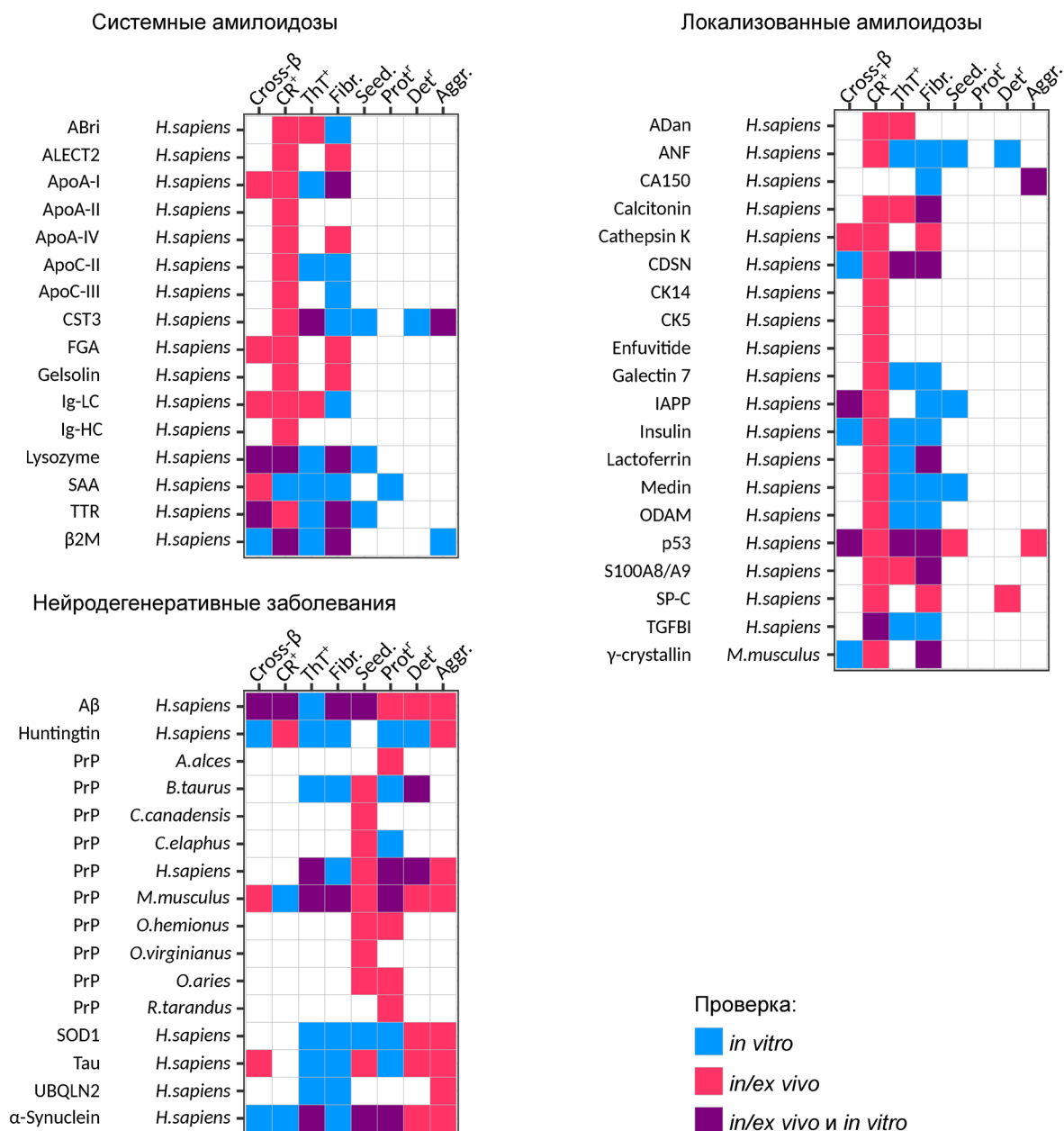


Рис. 2. Свойства патологических амилоидов и амилоидоподобных агрегатов. Обозначения аналогичны рис. 1. Ссылки на литературу представлены в таблице S в Приложении

отложений неправильно свернутых A β , Ig-LC, TTR, α -1-антитрипсина, альбумина и церулоплазмينا в плаценте и физиологических жидкостях, однако неизвестно, какой белок играет ключевую роль в развитии этого заболевания [41]. Семейная британская деменция является аутосомно-доминантным заболеванием, характеризующимся отложениями амилоида ABri [42], основным компонентом которого является пептид, кодируемый геном *BRI2* (также известный как *ITM2B*). Мутация в гене *BRI2* приводит к замене стоп-кодона на аргинин и вследствие

этого к удлинению белка [43]. Амилоидный пептид ABri включает 34 C-концевые аминокислоты мутантного предшественника белка и индуцирует апоптотическую гибель клеток, в то время как белок дикого типа не токсичен для клеток [44]. Интересно отметить, что другая мутация в этом гене (дупликация 10-ти нуклеотидов непосредственно перед стоп-кодоном) приводит к образованию амилоидного пептида ADan [45]. Накопление и отложение пептида ADan связано уже не с системным, а с локализованным амилоидозом — семейной датской деменцией [46].

ЛОКАЛЬНЫЕ АМИЛОИДОЗЫ

В этом разделе мы рассмотрим примеры локализованных амилоидозов, которые не затрагивают центральную нервную систему (ЦНС). Среди них наиболее распространенным примером является амилоидоз аорты, связанный с агрегацией медины, продукта расщепления гликопротеина лактадгерина [47]. Локализованные амилоидные и амилоидоподобные агрегаты обнаруживают также в опухолевых тканях. Медуллярная карцинома щитовидной железы обусловлена трансформацией парафолликулярных С-клеток и увеличением уровня кальцитонина, гормона щитовидной железы, что приводит к образованию амилоидных отложений этого белка [48]. В опухолях также идентифицируют нефункциональные амилоидоподобные олигомеры p53 [49], сферические депозиты пролактина [50] и отложения одонтогенного амелобласт-ассоциированного белка (ODAM) [15]. Еще одним гормоном, агрегация которого приводит к патологии, является островковый амилоидный полипептид (IAPP) или амилин, который был так назван в честь его склонности к образованию нерастворимых амилоидных фибрилл, что является особенностью островков Лангерганса у большинства людей с диабетом второго типа [51]. Примером возрастного заболевания является изолированный амилоидоз предсердия, обусловленный наличием амилоидных фибрилл, основным компонентом которых служит предсердный натрийуретический фактор (ANF) [52]. При старческом локализованном амилоидозе может происходить агрегация семеногелина 1 (SEMG1) в эпителиальных клетках семенных пузырьков [53]. У мужчин среднего и старшего возраста в предстательной железе обнаруживают амилоидные тельца, компонентами которых являются гетеродимеры белков S100A8 и S100A9 (S100A8/A9) [54]. К заболеваниям кожи приводят амилоидные отложения корнеодесмосина (CDSN) [55], галектина-7 [56] и кератинов (CK5, CK14) [57]. Мутации в гене *TGFBI*, кодирующем кератоэпителин (TGFB1), белок внеклеточного матрикса, связывают с различными формами дистрофии роговицы [58]. Другим белком, агрегация которого приводит к такой же патологии, является лактоферрин — железосвязывающий гликопротеин [59]. Инсулин может образовывать амилоидные фибриллы в месте инъекций лекарств у пациентов с диабетом, вызывая инъекционный амилоидоз. При этой патологии фибриллы инсулина образуют твердую подкожную массу в месте инъекции [60]. К похожему эффекту могут приводить инъекции энфувиртида — синтетического пептида, кото-

рый блокирует слияние ВИЧ-1 с клеткой-хозяином [61].

НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Амилоидозы, затрагивающие ЦНС, мы вынесли в отдельную группу, поскольку они изучены наиболее подробно. Пептид A β , фрагмент белка-предшественника β -амилоида (APP), был впервые выделен в качестве основного компонента амилоидных отложений у пациентов с болезнью Альцгеймера. Хотя функция самого APP до конца не изучена, его процессинг детально исследован, за него отвечают β - и γ -секретазы. Расщепление γ -секретазой является неточным, что приводит к образованию пептидов длиной 36–43 аминокислот, включая амилоидогенные A β 40, A β 42 и A β 43 [51, 62]. Самую многочисленную фракцию (~80–90%) представляет вариант A β 40, а вторую по численности — вариант A β 42 (около 5–10% всех вариантов). A β 42 является наиболее гидрофобным и более склонен к агрегации [63]. При этом пептиды A β проявляют различную токсичность. Так, вариант A β 43 оказывается самым цитотоксичным, в то время как A β 40 проявляет меньший токсический эффект [51]. Примечательно, что A β 40 и A β 42 способны образовывать полиморфные фибриллы, от структуры которых может зависеть скорость прогрессирования болезни Альцгеймера [64]. С этим заболеванием также связаны амилоиды, которые формирует Тау — нейрон-специфический белок [65]. В головном мозге пациентов с болезнью Альцгеймера Тау отделяется от микротрубочек, с которыми ассоциирован в норме, теряет способность их стабилизировать и образует нейрофибрилярные клубки [66]. Белок α -синуклеин формирует внутриклеточные амилоидные агрегаты, обнаруживаемые в тельцах Леви при болезни Паркинсона и деменции с тельцами Леви, в глиальных цитоплазматических включениях у пациентов с множественной системной атрофией и в аксональных сфероидеях при нейроаксональных дистрофиях [51, 67]. Включения α -синуклеина также выявляют у пациентов с болезнью Альцгеймера [68].

Способность амилоида индуцировать собственную сборку, передаваться от клетки к клетке или даже от организма к организму, вызывая распространение болезни, является характерной чертой прионных заболеваний. У человека они связаны с накоплением в ткани прионной изоформы (PrP^{Sc}) клеточного прионного белка PrP^C. К этим заболеваниям относят болезнь Крейтцфельдта—Якоба, куру, фатальную

семейную бессонницу и синдром Герстмана—Штраусслера—Шейнкера (наследственный вариант болезни Крейтцфельда—Якоба) [4]. Наследственные прионные заболевания вызваны мутациями в гене прионного белка (*PRNP*). В частности, известно более 60 мутаций, которые связаны с разнообразными клиническими синдромами [69]. У животных к прионным инфекциям относят скрепи овец, губчатую энцефалопатию крупного рогатого скота, а также хроническую изнуряющую болезнь оленей и лосей [4].

Боковой амиотрофический склероз (БАС) является прогрессирующим нейродегенеративным заболеванием. Известно более 180 мутаций в гене, кодирующем цитоплазматическую супероксиддисмутазу (*SOD1*) [70], которые обуславливают около 20% наследственных случаев БАС [51]. Токсичность мутантных форм *SOD1* при БАС объясняют неправильным сворачиванием и склонностью к агрегации. Стоит отметить, что при некоторых случаях БАС также регистрируют присутствие цитоплазматических агрегатов белков TDP-43 и FUS [51].

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АМИЛОИДЫ

В этом разделе мы собрали информацию об агрегатах, которые демонстрируют амилоидные свойства и формирование которых тесно связано с выполнением той или иной функции. К сожалению, не для всех рассмотренных примеров нам удалось найти строгие доказательства функциональности агрегатов, которые недавно были предложены [16]. Тем не менее мы оставили в этом разделе белки, для которых в литературе доминирует гипотеза о биологической значимости их агрегации. Информация о свойствах функциональных амилоидов и амилоидоподобных агрегатов собрана на рис. 3.

АМИЛОИДЫ В СОСТАВЕ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ И ПРОЦЕССАХ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ

Ряд белков, которые входят в состав клеточной стенки либо ассоциированы с ней, формируют амилоидные и амилоидоподобные агрегаты. Эти белки способствуют поддержанию структуры и целостности клеточной стенки или иных структур оболочки клетки, а также участвуют в адгезии клеток друг к другу или к субстрату.

Большое количество амилоидов и амилоидоподобных агрегатов образуют белки, которые входят в состав клеточной стенки дрожжей

Saccharomyces cerevisiae. Одним из первых таких белков стала глюкантрансфераза Bgl2. Для этого белка было показано формирование амилоидных фибрилл *in vitro* [16]. В дальнейшем было обнаружено, что фибриллы также формируют и белки клеточной адгезии, Flo1 и Muc1. Некоторые амилоидные свойства этих белков также были продемонстрированы в системе *in vivo*. Протеомный скрининг на основе масс-спектрометрии (PSIA-LC-MALDI), направленный на поиск потенциально амилоидогенных белков, позволил обнаружить и другие белки, формирующие детергент-устойчивые агрегаты в клеточной стенке: Gas1, Gas3, Gas5, Toh1 и Ygp1. Однако детально были исследованы лишь три из них: Gas1, Toh1 и Ygp1. Функции белков Toh1 и Ygp1 не установлены, в то время как *GAS1* кодирует бета-1,3-глюканозилтрансферазу. Белок Toh1 связан с мембраной клетки благодаря GPI-якорю, и, предположительно, способствует стабилизации структуры клеточной стенки за счет образования фибрилл [16]. Наконец, амилоидоподобные агрегаты белков клеточной стенки могут участвовать в адгезии клеток друг к другу.

Другой пример функциональных амилоидов, локализованных в клеточной стенке, связан с образованием воздушных гиф клетками бактерий *Streptomyces coelicolor*. Восемь белков, которые были первыми идентифицированы в составе этих структур (ChpA-H), получили общее название чаплины (chaplins) [71]. Для белков ChpD-H доказан ряд амилоидных свойств *in vivo*, однако эти результаты были получены на смесях белков из детергент-устойчивых фракций. В формировании воздушных гиф *S. coelicolor* также участвуют белки RdlA и RdlB, которые образуют дополнительный белковый слой поверх чаплинов [71]. Несмотря на высокое сходство последовательностей двух этих белков (>90%), только RdlB может образовывать фибриллы *in vitro* [71].

Амилоидные агрегаты в воздушных гифах также придают их поверхности гидрофобные свойства. Аналогичную функцию выполняют некоторые белки грибов, которые получили общее название гидрофобины (hydrophobins). Среди них белки EAS (у *Neurospora crassa*) и SC3 (у *Schizophyllum commune*) являются наиболее известными примерами амилоидов [16, 19]. Аналогичные белки (RodA, MPG1, NC2, DewA, Rep1) из разных видов грибов обладают следующими свойствами: показано их участие в формировании фибриллярных структур на поверхности клеток, высокая устойчивость к детергентам, а также взаимодействие с тиюфлавином Т [72–75]. Среди эукариот подобные примеры найдены

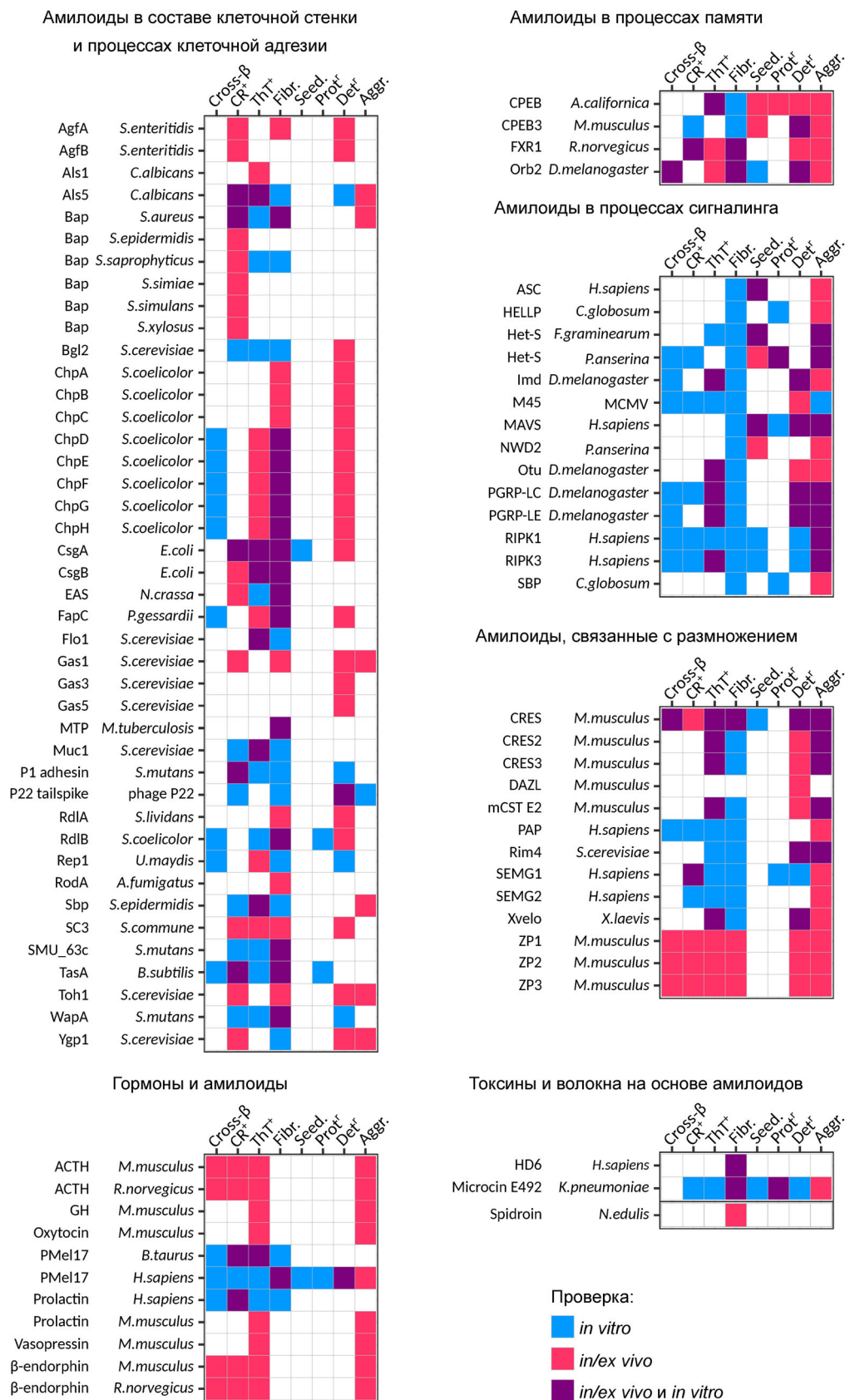


Рис. 3. Свойства функциональных амилоидов и амилоидоподобных агрегатов. Обозначения аналогичны рис. 1. Ссылки на литературу представлены в таблице S в Приложении

также у *Candida albicans* (Als1, Als5, Eap1) [76, 77].

На сегодняшний день известен целый ряд белков бактерий, агрегация которых связана с формированием биопленок и адгезией к субстрату. Наиболее известный пример — это белок CsgA *Escherichia coli*, а также его многочисленные ортологи [78], которые необходимы для образования фибрилл, названных керли (curli), на поверхности клеток и формирования внеклеточного матрикса в бактериальных биопленках [19, 79]. Аналогичная функция была предложена и для других белков. В частности, белки TasA у *Bacillus subtilis*, Wap у *Staphylococcus aureus* и FapC у *Pseudomonas fluorescens* формируют на поверхности бактерий фибриллы, для которых показаны амилоидные свойства [19, 79, 80]. Белок MTP также образует фибриллярные агрегаты на поверхности *Mycobacterium tuberculosis* [81]. Ингибирование фибриллизации белков P1, WapA и SMU_63с бактерии *Streptococcus mutans* препятствует формированию биопленок [82]. Белки AgfA и AgfB формируют детергент-устойчивые агрегаты в клетках *Salmonella enteritidis* [83, 84]. Наконец, есть предположение, что белок Sbp *Staphylococcus epidermidis* также является амилоидом, поскольку он образует фибриллы, которые окрашиваются амилоид-специфическими красителями [85].

В целом, организация клеточной стенки или взаимодействий клеток друг с другом или с внешней средой является ожидаемой нишей функциональных амилоидов. Стабильность и ригидность амилоидных фибрилл позволяет придавать дополнительную прочность клеточным покровам и межклеточным контактам.

АМИЛОИДЫ В СОСТАВЕ ВОЛОКОН

В 1968 году при использовании дифракции рентгеновских лучей для исследования шелка златоглазок рода *Chrysopa* было показано, что расстояние между β -тяжами вдоль оси фибриллы составляет $\sim 4,7 \text{ \AA}$ [4], что является свойством, характерным для кросс- β структуры. Однако стоит отметить, что фиброин, выделяемый тутовым шелкопрядом *Bombyx mori*, *in vitro* формирует амилоидоподобные фибриллы с необычной структурой, в которой β -тяжи параллельны оси фибриллы [86]. Другим примером белковых волокон являются паучьи шелка или спидроины — природные полимеры, характеризующиеся исключительной прочностью и эластичностью. Для них был отмечен переход от конформации на основе α -спиралей и неупорядоченных участков к структуре, обогащенной

β -листами, что сходно с образованием амилоидных фибрилл. Фибриллы спидроина были обнаружены с помощью электронной микроскопии у *Nephila edulis* [16]. Миниспидроин eADF-4(C16), основанный на повторяющихся регионах ADF-4 *Araneus diadematus*, образует фибриллы с кросс- β структурой [16] и способен запускать образование амилоидоподобных фибрилл *in vitro* [87]. Необходимо добавить, что REF (Hevb1) [88], один из белков латекса из гевеи бразильской (каучуковое дерево, *Hevea brasiliensis*), в физиологических условиях *in vitro* образует агрегаты, обладающие амилоидными свойствами [89].

АМИЛОИДЫ В ПРОЦЕССАХ СИГНАЛИНГА

Изменения в конформации белков лежат в основе передачи внутриклеточных сигналов. Образование амилоидов — это также изменение конформации, поэтому неудивительно, что были найдены белки, агрегация которых является неотъемлемой частью сигнальных каскадов. Хорошо изученным примером является пара белков человека RIPK1 и RIPK3, совместная агрегация которых (коагрегация) необходима для запуска некроптоза [90, 91]. Для этих белков показаны практически все амилоидные свойства *in vitro*, а также есть доказательства их агрегации *in vivo*. Участки, которые необходимы как для агрегации, так и для осуществления сигнального каскада, содержат последовательности RHIM (от Rip homotypic interaction motif) [90].

Схожие мотивы были найдены в различных белках большого числа организмов [92], в том числе в хорошо изученном амилоиде HET-s *Podospora anserina*. Агрегаты этого белка обладают инфекционными свойствами, благодаря чему приводят к появлению приона [Het-s]. Этот цитоплазматический фактор необходим для запуска реакции несовместимости гетерокарионов. При слиянии гиф разных организмов, один из которых несёт этот прион, а второй — нет, может происходить запрограммированная гибель клеток. Этот процесс запускается при взаимодействии амилоидных агрегатов HET-s с мономерным белком HET-S (продукты разных аллелей одного гена), которые оказались в одном гетерокарионе после слияния клеток [93]. Последующая агрегация HET-S приводит к изменению его конформации, он получает возможность встраиваться в мембрану клетки, нарушая её целостность [94].

Последующий поиск RHIM среди других белков *P. anserina* выявил нового участника это-

го сигнального каскада, NWD2, который может запускать агрегацию HET-s. Впоследствии это приводит к гибели клеток [95]. Белки HELLР, SBP и PNT1 гриба *Chaetomium globosum*, также несут RHIM и, возможно, являются функциональными аналогами системы HET-s, HET-S, NWD2 [96].

Скрытые RHIM (сRHIM, от cryptic RHIM) были обнаружены в белках *Drosophila melanogaster* PGRP-LC, PGRP-LE и Imd, которые участвуют в запуске антимикробного ответа. Была предложена модель, согласно которой агрегация этих белков является ключевым событием в передаче сигнала [97]. Поскольку RHIM найдены среди разных белков, связанных с процессами сигналинга [98], можно ожидать описания новых функциональных амилоидов.

Распознавание клеткой вирусной РНК инициирует каскад передачи сигнала, который приводит к запуску противовирусного ответа. Одним из недавно обнаруженных участников такого сигналинга стал белок MAVS. Показано, что свою функцию он выполняет в агрегированной форме. Молекула MAVS содержит C-терминальный трансмембранный домен, благодаря которому он связан с митохондриальной мембраной, N-терминальный каспазо-рекрутирующий прионогенный домен CARD, экспонированный внутрь цитозоля, а также промежуточный участок, который рекрутирует сигнальные молекулы нижележащего пути передачи сигнала. Домен CARD взаимодействует с таким же участком рецепторных белков RIG-1 и MDA5, которые распознают чужеродную РНК, запуская каскад противовирусного ответа. При этом MAVS образует комплексы, которые инициируют агрегацию других молекул MAVS [99].

Агрегаты MAVS демонстрируют ряд свойств, характерных для амилоидов, но обладают особой структурой, поэтому они не взаимодействуют с красителями конго красным и тиофлавином Т. Белок MAVS, переходя в агрегированную форму, не претерпевает конформационных переходов α -спиралей в β -листы. На основании данных криоэлектронной микроскопии были предложены две модели агрегатов этого белка. В обоих случаях филаменты MAVS состоят из отдельных субъединиц белка, уложенных друг на друга и образующих центральную пору [99].

ТОКСИНЫ И АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ

Антимикробные пептиды (АМП) — это защитные пептиды, являющиеся частью врожден-

ного иммунитета, которые обнаружены во многих организмах. Большинство АМП представляют собой катионные и амфифильные α -спиральные белковые молекулы. Основным механизмом их работы — это связывание с негативно заряженной бактериальной мембраной и нарушение ее целостности [100]. Для некоторых АМП показаны амилоидные свойства, которые, предположительно, важны для их функционирования. В большинстве случаев эти свойства проанализированы только *in vitro*, поэтому многие из этих пептидов не представлены на рис. 3 (см. таблицу S в Приложении).

Склонность к агрегации была показана для цекропинов, однако пока собрано недостаточно данных в пользу образования ими амилоидов [101]. Считается, что цекропин P1 образует локальную структуру наподобие ковра на мембране патогена, приводя к деформации мембраны, а затем к разрушению, когда концентрация АМП превысит критическую [102].

LL-37 — первый открытый антимикробный катионный пептид человека [103]. При бактериальной инвазии он высвобождается протеазами из своего предшественника hCAP-18. LL-37 образует волокнистые агрегаты *in vitro*, которые окрашиваются конго красным и характеризуются яблочно-зеленым свечением при двойном лучепреломлении в кросс-поляризованном свете [103]. Фибриллы, сформированные коротким олигопептидом из последовательности LL-37, не окрашиваются тиофлавином Т и имеют нехарактерное для амилоида строение: они состоят из плотно упакованных амфипатических α -спиралей [104]. Показано, что агрегация белка LL-37 может быть напрямую связана с его цитотоксичностью [103].

Дермасептины Drs S9 и aDrs PD-3-7 были изолированы из кожи лягушек. Они образуют фибриллы, обогащенные β -слоями, для которых показан ряд амилоидных свойств [105–107], однако, как и для многих АМП, для них нет подтверждения *in vivo*. Магайнины были обнаружены в коже лягушки *Xenopus laevis* и обладают противомикробным [108, 109] и противоопухолевым действием [110, 111], а также демонстрируют амилоидные свойства. Для них впервые был предложен антимикробный механизм с образованием тороидальных пор. Магайнины связываются с мембраной и, достигнув пороговой концентрации, приводят к ее деформации и дестабилизации. После этого пептиды встраиваются в мембрану, образуя тороидальную пору [112]. АМП человека, протегрин-1 (PG-1), формирует *in vitro* фибриллы, которые связывают тиофлавин Т. Протегрины находятся в нерастворимом состоянии в гранулах нейтрофилов и

макрофагов. Если в клетку попадает патоген, гранулы сливаются с вакуолью, высвобождая пептиды, которые образуют каналы в мембране патогена, приводя к его гибели [113]. К известным протегринам с амилоидными свойствами относят также PG-4, выделенный из лейкоцитов свиней. Было показано, что *in vitro* он образует фибриллярные агрегаты, которые окрашиваются конго красным и тиюфлавином Т. Как мономеры, так и агрегаты проявляют антимикробную активность против *B. subtilis* [114]. Микроцин E492 является известным порообразующим бактериальным токсином, продуцируемым *Klebsiella pneumoniae* RYC492. Показано, что он способен формировать амилоидоподобные фибриллы, богатые β -слоями *in vivo* и *in vitro* [115]. Другим примером бактериального токсина служит белок PSM α 3 *S. aureus*, образующий фибриллы с кросс- α структурой, которые могут связывать тиюфлавин Т. При этом есть свидетельства токсичности фибрилл по отношению к клеткам человека [23].

Клетки Панета тонкого кишечника человека продуцируют α -дефензин 6 (HD6), который обеспечивает защиту от инвазии патогенными микроорганизмами кишечника [116]. Связываясь с поверхностными белками бактерий, HD6 подвергается упорядоченной самосборке с образованием фибрилл и наносеток, которые окружают и запутывают патогены. Это создает препятствие для физического контакта бактерий с эпителиальными клетками, необходимое для прикрепления или инвазии [116].

У растений были также обнаружены амилоидоподобные АМП. Сп-AMP2, полученный из жидкого эндосперма кокосового ореха *Cocos nucifera*, образует видимые агрегаты в водном буфере, которые связывают конго красный, тиюфлавин Т, а также имеют фибриллярную морфологию. Однако в настоящее время нет прямых доказательств того, что Сп-AMP2 обладает антибактериальным эффектом исключительно в агрегированной форме [117].

Важно отметить, что белки, связанные с человеческими амилоидозами, могут вести себя как токсины. Например, А β проявляет антимикробные свойства, которые нацелены на патогенные бактерии и грибы *in vitro* и в модельных системах: у *Caenorhabditis elegans* и мыши [118, 119]. Антимикробные свойства продемонстрированы для ряда других амилоидогенных белков. Например, в дополнение к ферментативным свойствам лизоцим проявляет себя как АМП. Его антимикробная активность связана с пермеабиллизацией клеточной мембраны патогена, предположительно через образование пор [120].

АМИЛОИДЫ В ПРОЦЕССАХ ПАМЯТИ

Присутствие амилоидов в ЦНС десятилетиями ассоциировалось исключительно с патологиями. Но всё изменилось, когда были обнаружены функциональные амилоиды белка СРЕВ у моллюска *Aplysia californica* и его гомологов: Orb2 у *D. melanogaster* и СРЕВ3 у мыши. Белки СРЕВ являются РНК-связывающими, причём они лучше связывают РНК, находясь в олигомеризованном состоянии [121]. В мозге исследованных животных олигомеризация белков СРЕВ происходит в ответ на нейрональную стимуляцию [122, 123]. В том случае, если эти белки не способны формировать агрегаты, это негативно сказывается на поддержании долгосрочной памяти, по крайней мере у *A. californica* и *D. melanogaster* [121, 122]. Всё это позволяет заключить, что белки СРЕВ действительно функциональны именно в агрегированном состоянии. Исследователи также называют эти белки функциональными прионами [123], что, вероятно, не имеет достаточных оснований, так как инфекционность *in vivo* СРЕВ и СРЕВ3 была продемонстрирована только в дрожжевой системе [123, 124]. До недавнего времени не было прямых доказательств того, что эта группа белков формирует амилоидные агрегаты непосредственно в живых организмах без искусственной сверхпродукции. Лишь недавно амилоидная природа была строго доказана для фибрилл Orb2, выделенных из голов дрозофил. При этом впервые удалось воссоздать в высоком разрешении структуру амилоидных фибрилл *ex vivo* с помощью криоэлектронной микроскопии [125]. Фибриллы Orb2 демонстрируют сходную с известной структурой А β 40 трёхлучевую симметрию [125]. Таким образом, очевидно, что амилоидная структура сама по себе может и не являться причиной развития патологий ЦНС, и для понимания реальных причин развития нейродегенеративных амилоидозов необходимо глубокое изучение факторов, влияющих на амилоидогенез того или иного белка.

СРЕВ/Orb2 не является единственным примером амилоидов, связанных с процессами памяти. Недавно было показано, что белок FXR1, участвующий в развитии долгосрочной памяти и эмоций, присутствует в мозге крыс в составе амилоидных агрегатов. Более того, его почти невозможно было детектировать в мономерной форме. При этом обнаруженные агрегаты демонстрировали амилоидные свойства [126]. FXR1 — это РНК-связывающий белок, для которого показано, что в амилоидной форме он способен связывать мРНК, защищая её от действия РНКаз [126]. Вероятно, таким образом он влия-

ет на трансляцию определённых мРНК и, как следствие, на дифференциальную экспрессию в нейронах. Тот факт, что в мозге крысы FXR1 обнаруживается исключительно в составе детергент-устойчивых агрегатов, в совокупности с данными о том, что FXR1 важен для регуляции памяти и эмоций, позволяет причислить FXR1 к функциональным амилоидам. Амилоидогенный фрагмент FXR1 является высококонсервативным у млекопитающих [126], что позволяет экстраполировать полученные результаты на ортологи этого белка у других организмов.

Вполне вероятно, что участие амилоидов в процессах памяти не ограничивается животными и их нервной системой. Альтернативная амилоидная конформация может нести определённую информацию, которая может так или иначе быть «дешифрована» на клеточном уровне, поэтому использование подобных агрегатов для долгосрочного хранения информации может быть универсальным механизмом, который мог многократно и независимо реализовываться в эволюции. Одним из примеров похожего механизма клеточной памяти является существование так называемых «мнемонов». Это агрегаты белка *Whi3* у дрожжей, которые возникают в ответ на неудачное слияние клеток противоположных типов спаривания и остаются в клетках дрожжей на всю жизнь, как память о прошедшем событии [127]. В отличие от прионов, мнемоны не передаются в дочерние клетки при делениях. Тем не менее вполне возможно, что известные прионы низших эукариот (см. далее) также могут являться единицами наследования такой «памяти», которые однако уже переносят информацию, не ограничиваясь жизнью одной клетки, на протяжении многих клеточных поколений. Учитывая, что для некоторых прионов на сегодняшний день известно, что они способны возникать в ответ на определенные стрессовые воздействия, не исключено, что прионы для одноклеточных организмов — это такая «память предков» о пережитых ими невзгодах.

АМИЛОИДЫ, СВЯЗАННЫЕ С РАЗМНОЖЕНИЕМ

Функциональные амилоидные фибриллы были обнаружены в структурах, связанных с половым размножением, например в акросоме сперматозоидов. Считается, что эти фибриллы способствуют контролируемому высвобождению белков во время акросомной реакции, ключевого события в оплодотворении ооцитов, при котором содержимое акросомы изливается

наружу. Амилоиды, образованные белками подгруппы CRES (Cystatin-related epididymal spermatogenic) — CRES, CRES2, CRES3 и цистатин E2 (mCST E2), присутствуют в эпидидимисе мыши, в то время как у человека в этом же органе обнаруживают агрегаты цистатина C (CST3). Роль амилоидов, образуемых белками CRES, не совсем понятна, но существуют предположения об их функциональной значимости. Известно, что они обладают антимикробной активностью, необходимы для акросомной реакции, нормального функционирования лизосом в эпидидимисе, а также играют роль в созревании сперматозоидов. Семенная жидкость также содержит амилоиды и амилоидоподобные фибриллы, образованные фрагментами пептида фермента фосфатазы простатической кислоты (PAP) и белков семеногелина (SEMG1 и SEMG2) соответственно. Эти фибриллы, первоначально идентифицированные как усилители вирусной инфекции, связываются с поврежденными сперматозоидами и иммобилизуют их, обеспечивая их уничтожение иммунными клетками. Амилоиды, образованные белком SEMG1, также обнаружены при некоторых патологиях.

Ооциты большинства позвоночных содержат тела Бальбиани (Balbiani bodies). Матрикс этого компартмента у *X. laevis* состоит из фибриллярной сети, образованной белком *Xvelo*. Эти фибриллы окрашиваются тиюфлавином T и устойчивы к обработке детергентами [128]. Амилоидные свойства также показаны для белков, участвующих в формировании оболочки ооцита у насекомых, рыб и млекопитающих. Данные экспериментов по рассеянию рентгеновских лучей свидетельствуют, что амилоидные структуры присутствуют в составе хориона бабочки *Antheraea polyphemus* [129]. Стоит заметить, что значительная часть амилоидных свойств была продемонстрирована для отдельных пептидов данных белков, соответствующих участку тандемных повторов (сА-пептидов) [130, 131]. Интересно, что сборка амилоидных фибрилл из таких пептидов происходит через промежуточную жидкокристаллическую фазу [132]. У костистых рыб в составе хориона присутствуют белки группы ZPB, отдельные пептиды которых также склонны к формированию амилоидных агрегатов [133]. Амилоидные свойства показаны и для белков в составе блестящей оболочки (zona pellucida) ооцита млекопитающих. Так, белки в составе этой оболочки у мышей *in vivo* демонстрируют характерную морфологию агрегатов, а также типичный для кросс- β структуры паттерн дифракции рентгеновских лучей и связывание с амилоид-специфическими красителями [134].

Эти же свойства были показаны для агрегатов пептидных аналогов фрагментов белков ZP1–ZP4 человека в системе *in vitro* [135]. Считается, что образование амилоидных фибрилл в оболочках ооцитов и эмбрионов у различных животных способствует защите от внешних воздействий, таких как повышенная температура, механическое давление и другие.

Некоторые амилоидоподобные белки действуют как регуляторы клеточного цикла и влияют на половое размножение дрожжей. Белок Rim4 *S. cerevisiae* образует детергент-устойчивые агрегаты во время фазы G1 мейоза. Это приводит к репрессии трансляции циклина Clb3 и последующему запуску деления. Разборка агрегатов Rim4 запускается путем фосфорилирования этого белка [136].

ГОРМОНЫ И АМИЛОИДЫ

С гормонами связано обнаружение первых функциональных амилоидов млекопитающих — фибрилл меланосом, сформированных белком PMel17. Оказалось, что PMel17 участвует в синтезе меланина именно в амилоидной форме [137]. PMel17 подвержен протеолитическому расщеплению в меланоцитах, на первом этапе которого образуется фрагмент M α [138]. Амилоидные свойства надёжно показаны для целого M α , причем его конверсия в амилоидную форму происходит по меньшей мере на четыре порядка быстрее, чем у A β или α -синуклеина [137, 139]. Это можно было бы объяснить тем, что, в отличие от патологических амилоидов, PMel17 подвергался эволюционному отбору в сторону повышения эффективности амилоидизации. Однако в клетках M α подвержен дальнейшему протеолизу и не является основным компонентом агрегатов меланосом.

Существовали противоречивые данные о том, какие именно домены PMel17 непосредственно формируют амилоидные фибриллы в клетке [138–140]. Предположительно, разные продукты протеолиза PMel17 амилоидизуются на разных этапах формирования меланосом. Присутствующие в клетке фибриллы, таким образом, представляют собой сложные коагрегаты из разных фрагментов PMel17 [141]. Мономерный предшественник меланина, индол-5,6-хинон (DHQ), напоминает по структуре тирофлавин Т, и предполагается, что фибриллы PMel17 могут являться затравкой для полимеризации DHQ. О том, что амилоид может служить в качестве такого «катализатора», говорит тот факт, что не только M α , но и фибриллы α -синуклеина или A β увеличивают скорость синтеза мела-

нина в системе *in vitro* [137]. Формирование комплексных агрегатов из амилоидных фибрилл PMel17, по-видимому, обеспечивает максимальную эффективность синтеза меланина.

Кроме участия амилоидов в синтезе гормонов, было показано, что сами пептидные гормоны могут формировать амилоиды, которые, предположительно, нужны для их хранения в секреторных гранулах. Из 42-х исследованных *in vitro* пептидных гормонов 10 демонстрировали спонтанное формирование амилоидных фибрилл, а 31 гормон формировал фибриллы в присутствии гликозаминогликана гепарина [142]. Пролактин формировал их в присутствии хондроитин сульфата А — гликозаминогликана, найденного ранее в гранулах, содержащих пролактин.

Окситоцин демонстрировал глобулярную структуру, которая связывалась с тирофлавином Т. Адренокортикотропный гормон (АСТН) не был способен формировать амилоиды сам по себе и делал это только в присутствии агрегатов β -эндорфина (оба являются продуктами одного прогормона и локализуются вместе в секреторных гранулах клеток гипофиза). Эти данные были получены с использованием АСТН и β -эндорфина человека, но *in vivo* были подтверждены амилоидные свойства этих белков, выделенных из секреторных гранул мыши и крысы [142].

Важное свойство, которое было обнаружено у амилоидов некоторых гормонов — способность отделять мономеры в условиях, соответствующих высвобождению пептидов из секреторных гранул. Кроме того, амилоиды только семи гормонов демонстрировали токсичность для клеток [142]. Оба этих наблюдения говорят о том, что действительно амилоиды некоторых гормонов могут выполнять запасающую функцию в клетке. Влияние амилоидов глюкагона на токсичность оказалось в два раза сильнее A β 40 [142], что подтверждает данные о том, что амилоиды глюкагона могут быть патологическими [143]. Интересно, что ещё один гормон, пролактин, обнаружен в составе амилоидов у пациентов с аденомой [144], однако в свете данных о том, что амилоиды пролактина могут быть функциональными, неясно имеет ли место негативное влияние амилоидов пролактина при патологии. В предыдущем разделе мы также рассмотрели белок семеногелин, агрегаты которого обнаруживают как при амилоидозах, так и в нормальных сперматозоидах. Таким образом, не исключено что и амилоиды некоторых других белков, обнаруженные при различных патологиях, в действительности могут также являться и функциональными амилоидами.

АМИЛОИДЫ С НЕОДНОЗНАЧНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛЬЮ

В этом разделе мы собрали примеры белковых агрегатов, чья биологическая роль является поводом дебатов в литературе. В частности, до сих пор нет единого мнения по поводу назначения прионов дрожжей, так как есть аргументы как за, так и против их возможной функциональности [145, 146]. Белки в составе немембранных органелл также могут формировать амилоидные агрегаты, однако не всегда ясно, является ли эта особенность необходимой для функционирования этих белков. Многие белки-резиденты немембранных органелл также связаны с патогенезом таких заболеваний, как БАС и некоторые виды деменции. Наконец, агрегация показана для различных ферментов и поринов, о функциональной значимости которой есть лишь предположения. Информация о свойствах агрегатов этих белков собрана на рис. 4.

АМИЛОИДНЫЕ И АМИЛОИДОПОДОБНЫЕ ПРИОНЫ

Большое количество амилоидов, которые обладают инфекционными свойствами и называются прионами, найдено у дрожжей *S. cerevisiae*. Фенотипическое проявление большинства из них связано с формированием амилоидных агрегатов того или иного белка. В большинстве случаев это приводит к утрате или ослаблению функции соответствующего белка. В качестве примеров можно привести белки Sup35, Ure2, Swi1, Cys8, Mot3 [93]. Из-за этого штаммы, поддерживающие определённый прион, имеют фенотип, сходный с мутантным по гену, кодирующему соответствующий белок. Но этот фенотип демонстрирует цитоплазматическое наследование, так как амилоидные агрегаты локализуются в цитоплазме [93]. Первыми описанными прионами дрожжей стали факторы [URE3], [PSI⁺] и [PIN⁺] ([RNQ⁺]), которые сопряжены с появлением амилоидных агрегатов Ure2, Sup35 и Rnq1 соответственно [93]. Благодаря продолжительной истории исследований эти белки стали примерами амилоидов, для которых продемонстрированы практически все свойства. Позднее было найдено еще более десятка дрожжевых прионов (таблица).

Наличие свойств, специфичных для прионов *S. cerevisiae*, и удобных генетических тестов, позволяющих их выявить, дало возможность проводить скрининги в дрожжах, направленные на поиск белков, проявляющих прионные и амилоидные свойства. В ходе одного скрининга

[11] такие свойства были показаны для десятков белков дрожжей, точнее, их потенциальных прионных доменов, выявленных *in silico*. В большинстве случаев остаётся неясным, способны ли выявленные белки формировать настоящие прионы в дрожжах. Это связано прежде всего с тем, что установленные свойства фрагмента белка не всегда можно экстраполировать на полноразмерный белок.

Отдельного упоминания заслуживает фактор [ISP⁺], который, согласно генетическим данным, является прионной формой белка Sfp1 [161]. Однако его фенотип (Isp⁺) возникает вследствие изменения числа копий хромосомы II, которое происходит при сверхпродукции Sfp1 [162]. При этом Sfp1 может образовывать детергент-устойчивые агрегаты, которые, по видимому, никак не связаны с Isp⁺ [163].

История Isp⁺ наглядно демонстрирует, что выводы об амилоидной природе определённого приона, основанные на генетическом анализе, но не подкреплённые существенными биохимическими или структурными данными нельзя считать достаточно обоснованными. Известные на сегодняшний день наследственные факторы, демонстрирующие прионоподобное поведение, но не связанные с амилоидами, такие как [GAR⁺] [164] и [SMAUG⁺] [165] и другие [166], также подтверждают это. Кроме того, белки, для которых свойственно образование жидких капель (см. далее), часто способны формировать и амилоиды, как, например Sup35 [167]. Наличие таких примеров позволяет сделать вывод о том, что сочетание генетических данных *in vivo* с доказательством амилоидогенности белка *in vitro* также является недостаточным для того, чтобы утверждать, что определённый белок способен принимать амилоидную конформацию в живых организмах. Для справедливости такого утверждения необходимы дополнительные доказательства амилоидных свойств *in vivo*, которые на сегодняшний день отсутствуют у большинства «классических» амилоидных прионов дрожжей.

НЕМЕМБРАННЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ И БЕЛКОВЫЕ АГРЕГАТЫ

Немембранные органеллы — это динамические структуры в ядре или цитоплазме клетки, образованные большим скоплением взаимодействующих биологических молекул, выполняющих специфический набор функций. Описано множество типов таких компартментов с разнообразными клеточными функциями [168]. К ядерным немембранным органеллам относят ядрышко, тельца Кахаля, ядерные спеклы или

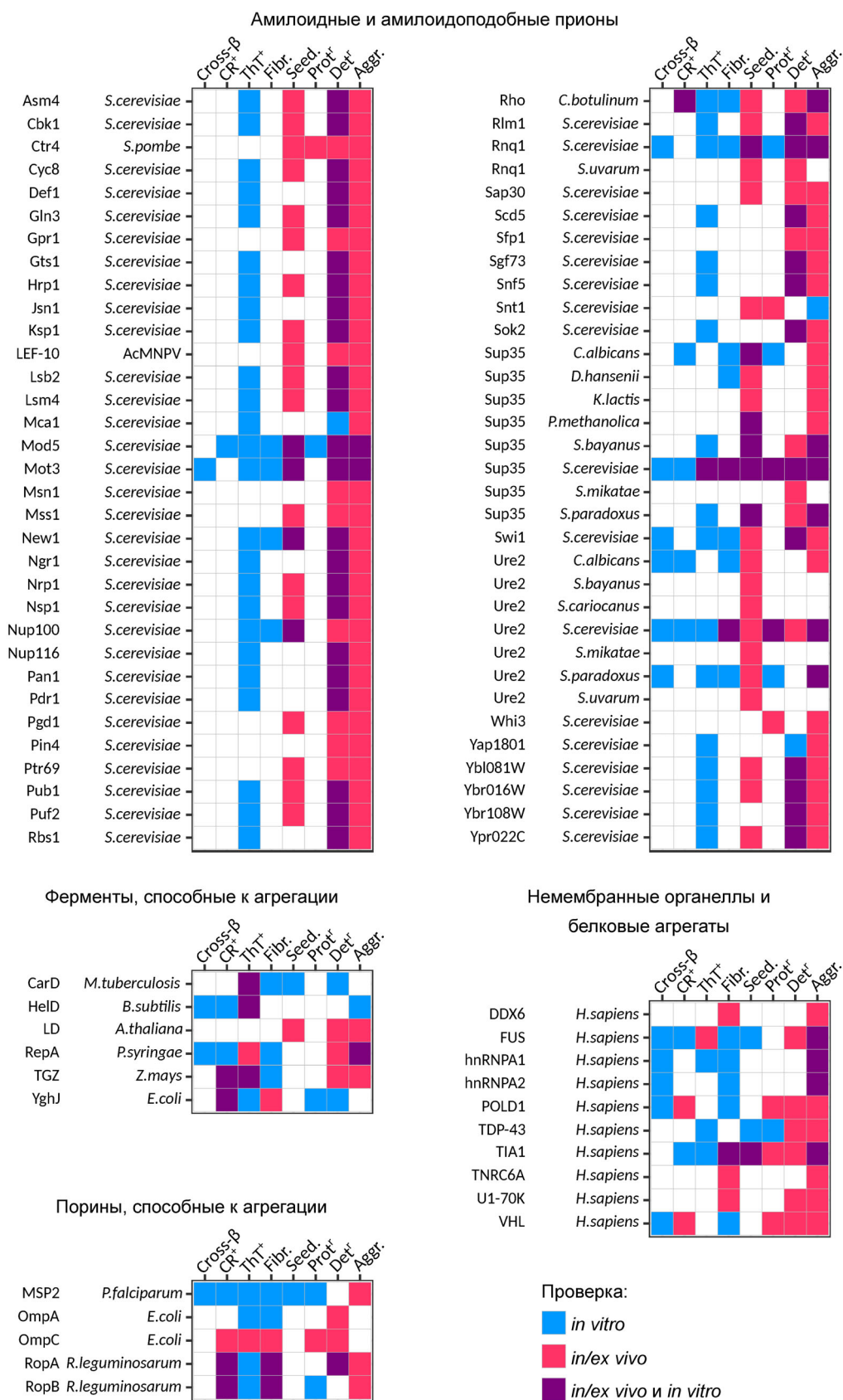


Рис. 4. Свойства амилоидов и амилоидоподобных агрегатов с неоднозначной биологической ролью. Обозначения аналогичны рис. 1. Ссылки на литературу представлены в таблице S в Приложении

Дрожжевые прионы, связанные с появлением амилоидных или амилоидоподобных агрегатов

Прион	Структурный белок и его функция	Фенотип приона	Ссылки
[<i>URE3</i>]	Ure2, негативный регулятор генов катаболизма бедных источников азота	ассимиляция клетками бедных источников азота в присутствии богатых	[9]
[<i>PSI</i> ⁺]	Sup35, фактор терминации трансляции eRF3	снижение эффективности терминации трансляции (нонсенс-супрессия)	[9, 147, 148]
[<i>PIN</i> ⁺] ([<i>RNQ</i> ⁺])	Rnq1, функция белка неизвестна	инициация формирования других прионов	[149, 150]
[<i>SWI</i> ⁺]	Swi1, компонент хроматин-ремоделирующего комплекса SWI/SNF	неспособность использовать неферментируемые источники углерода, ухудшение флокуляции и псевдогифального роста; при наличии приона [<i>PIN</i> ⁺], усиление нонсенс-супрессии (фактор [<i>NSI</i> ⁺])	[151–153]
[<i>MOD</i> ⁺]	Mod5, фермент изопентинилтрансфераза, который модифицирует tPHK	устойчивость к ингибиторам эргостерола (например, флуконазол)	[154]
[<i>OCT</i> ⁺]	Cys8, репрессор транскрипции (совместно с Tup1)	неспособность ассимилировать лактат, нарушение скрепления и споруляция	[155]
[<i>MOT3</i> ⁺]	Mot3, транскрипционный фактор, регулирует гены анаэробного метаболизма и гены, участвующие в биосинтезе клеточной стенки и эргостерола	факультативная многоклеточность, формирование биопленок	[11, 156]
[<i>NUP100</i> ⁺]	Nup100, компонент комплекса ядерной поры	незначительное ускорение импорта в ядро	[157]
[<i>LSB2</i>]	Lsb2 (Pin3), негативный регулятор фактора сборки актиновых филаментов	депонирование других белков в составе агрегатов, повышение частоты возникновения [<i>PSI</i> ⁺]	[158, 159]
[<i>GLN3</i> ⁺]	Gln3 (только при сверхпродукции), регулятор генов катаболизма бедных источников азота	снижение токсичности сверхэкспрессии <i>GLN3</i> , устойчивость к рапамицину	[160]

тельца гистонового локуса. Эти органеллы играют важную роль в процессах транскрипции, созревания различных видов РНК, а также биогенезе рибосом [169]. В свою очередь, цитоплазматические немембранные органеллы зачастую связаны с процессингом, хранением и деградацией белков и мРНК. К ним относят такие структуры, как Р-тельца и стресс-гранулы [168], а также недавно обнаруженные А-тельца [170].

Многие немембранные органеллы обладают жидкостными свойствами и формируются за счет процесса фазового перехода жидкость-жидкость (liquid-liquid phase separation), происходящего при взаимодействии белковых молекул и приводящего к формированию структур типа жидкая капля (liquid droplet). Большое количество белков немембранных органелл взаимодействуют с РНК и несут в своей структуре мотивы распознавания РНК. Важную роль в формировании немембранных органелл играют внутренне неупорядоченные (intrinsically disordered) участки, которые предопределяют спо-

собность этих белков вступать в поливалентные межмолекулярные взаимодействия, приводящие к фазовым переходам [171–176]. Такие фрагменты зачастую обладают специфическим аминокислотным составом с низким разнообразием, и поэтому их называют LC-доменами (от low complexity). Участки, ответственные за фазовое разделение, также часто имеют аминокислотный состав, характерный для прионных доменов, вследствие чего обозначаются как прионоподобные [168].

Считается, что в норме немембранные органеллы на начальных стадиях своего формирования не содержат агрегатов с классической амилоидной структурой. При созревании же таких органелл в их составе могут появляться сначала лабильные амилоидоподобные агрегаты, а затем и стабильные амилоидные фибриллы [177–179]. В то же время формирование амилоидных фибрилл некоторых компонентов немембранных органелл связано с развитием таких смертельных нейродегенеративных заболеваний челове-

ка, как БАС и лобно-височная деменция. Остается неясным, является ли формирование амилоидных фибрилл необходимым или побочным свойством рассматриваемых белков. Кроме того, структура агрегатов, формируемых многими белками-резидентами немембранных органелл, имеет ряд важных отличий от типичной структуры амилоидных фибрилл (в частности, агрегаты ряда таких белков чувствительны к воздействию высокой температуры и детергентов [180, 181]).

РНК-связывающий белок FUS, участвующий в формировании Р-телец, способен к агрегации и активно взаимодействует с агрегатами других белков [182], а его мутантные формы связаны с БАС. За формирование агрегатов FUS отвечает его LC-домен. Данный фрагмент целиком, как и отдельные его участки, названные RAC (от Reversible Amyloid Core), способен *in vitro* формировать неразветвленные амилоидные фибриллы, связывающие амилоид-специфические красители и обладающие характерной структурой [183, 184]. В то же время структура этих фибрилл имеет ряд характерных отличий от традиционной кросс- β модели: так, агрегаты FUS-LC характеризуются единообразием структуры и отсутствием регулярных взаимодействий между не входящими в состав амилоидного кора участками [183]. RAC1-фрагмент FUS при этом формирует структуру на основе упорядоченных петель; фибриллы, сформированные RAC2, имеют обводненную поверхность взаимодействия β -листов [184]. Предполагается, что эти свойства способствуют обратимому формированию амилоидных агрегатов (показано, что агрегаты FUS-LC не устойчивы к воздействию SDS, но устойчивы к иным детергентам [180, 185]).

Белки hnRNPA1 и hnRNPA2B1 являются ядерными рибонуклеопротеинами, играющими большую роль в процессинге гетероядерной РНК и регуляции экспрессии генов [186]. Их амилоидные свойства были обнаружены при исследовании влияния мутаций в кодирующих эти белки генах на семейные формы БАС. Как белки дикого типа, так и их мутантные формы способны формировать фибриллы *in vitro*, причем БАС-ассоциированные мутации в прионоподобных доменах hnRNPA1 и hnRNPA2B1 ускоряют агрегацию этих белков [187]. Отдельные участки hnRNPA1 (LC домен и RAC1/2) обратимо формируют амилоидные фибриллы при температурных воздействиях *in vitro*. За их образование так же, как и в случае FUS, отвечают RAC-элементы, которые способны формировать амилоидные фибриллы самостоятельно. Однако их структура несколько отличается от типичной кросс- β структуры. В середине ами-

лоидного кора имеется остаток аспарагиновой кислоты, который отвечает за дестабилизацию структуры. Его мутации в RAC-элементах препятствуют переходу белка из фибриллярного состояния в растворимое [181].

Агрегаты белка TDP-43 были обнаружены в составе включений в мозге пациентов с БАС и лобно-височной лобарной дегенерацией (ЛВЛД). Несмотря на то что существует предположение об их прионоподобных свойствах, белок TDP-43 не способен формировать протяженные амилоидные фибриллы, образуя лишь небольшие олигомеры. Они способны индуцировать агрегацию не только нормального TDP-43, но и других амилоидогенных белков, таких как A β [188]. В норме TDP-43 является РНК-связывающим белком-регулятором сплайсинга мРНК; при стрессовых воздействиях TDP-43 входит в состав стресс-гранул. Интересно, что возможна также олигомеризация TDP-43 за счет взаимодействия мономеров через их N-концевые участки, что препятствует взаимодействию LC-доменов и патологической агрегации. Более того, такая олигомеризация важна для выполнения биологической функции TDP-43 [188]. Таким образом, агрегация TDP-43 может происходить двумя способами, но неясно является ли каждый из них функционально важным и то как они связаны с патологическими процессами при БАС и ЛВЛД.

Еще одним важным примером обратимой агрегации являются А-тельца, формируемые в клетках при стрессовых воздействиях [170]. А-тельца, в отличие от рассмотренных ранее немембранных органелл, являются своеобразным хранилищем амилоидных агрегатов, которые образуются в ходе ответа клетки на стрессовые воздействия (такие как закисление цитоплазмы и тепловой шок). Эти белковые скопления окрашиваются конго красным *in vivo*, устойчивы к обработке протеазами и содержат фибриллярные агрегаты, которые взаимодействуют с амилоид-специфическими антителами. При помощи методов протеомного анализа было продемонстрировано, что в состав А-телец входит большое количество различных белков, в частности белки VHL и POLD1. В составе этих белков идентифицированы особые участки, названные амилоид-конвертирующими мотивами, которые способствуют привлечению белков в А-тельца за счет взаимодействия с рибосомной межгенной некодирующей РНК. В системе *in vitro* данные участки формируют типичные амилоидные фибриллы с характерной структурой. В то же время способность образовывать полноценные амилоидные фибриллы для полноразмерных VHL и POLD1 не показана, и структур-

ные особенности их белковых агрегатов в А-тельцах остаются неизученными [170].

Недавно было показано, что белок Тау, рассмотренный нами ранее, способен претерпевать фазовое разделение и входить в состав немембранных органелл в нейронах. Неясно является ли нахождение Тау в составе немембранных органелл функционально важным, но показано, что фазовое разделение может способствовать формированию агрегатов Тау *in vivo* и *in vitro* [189].

ПОРИНЫ И ФЕРМЕНТЫ, СПОСОБНЫЕ К АГРЕГАЦИИ

Различные белки-порины могут формировать амилоидные и амилоидоподобные агрегаты. Среди известных примеров большинство — это белки прокариот (RopA, RopB, OmpA, OmpC) [190–193] и один белок эукариот (MSP2) [19]. Насколько процесс агрегации поринов является патологическим или функциональным сказать сложно. Тем не менее есть вероятность, что он может быть очень распространенным. На основании биоинформатического анализа было высказано предположение, что фрагменты поринов, которые образуют внутреннюю часть поры, способны формировать амилоидные структуры [194].

Кроме поринов известен ряд ферментов, способных к агрегации. Три белка, которые попали в наш анализ, так или иначе физически взаимодействуют с нуклеиновыми кислотами, это белки CarD, HelD и RepA [195–200]. Кроме этого, способность к агрегации была показана для протеазы YghJ [201] и трансклутаминазы TGZ [202].

КРИЗИС ТЕРМИНА «АМИЛОИД»

Наиболее универсальным определением термина «амилоид» считается следующее: амилоиды — это фибриллярные белковые агрегаты, имеющие кросс-β структуру [4, 14, 17, 51] с уточнением, что наличие яблочно-зеленого свечения при двулучепреломлении после окрашивания конго красным является доказательством кросс-β структуры [15, 16]. При этом более строгое определение включает также требование демонстрации этих свойств *in vivo* для нативных белков при естественном уровне продукции. В обзоре мы не руководствовались этим уточнением. При сборе и анализе данных о свойствах различных белков мы не обнаружили принципиальных противоречий с указанным определением термина, хотя авторы не всегда его придерживаются, что было отмечено и ранее [17].

Тем не менее стоит обратить внимание на примеры белковых агрегатов с кросс-β структурой, которые термоллабильны и не устойчивы к детергентам. Эта структура показана *in vitro* для пептидов FUS, его LC домена, а также LC фрагмента hnRNPA2. Авторы называют такие агрегаты амилоидоподобными, но не амилоидными [180]. Аналогичные результаты были получены и для полноразмерного белка hnRNPA1 [181]. Таким образом, нам кажется актуальным вопрос: «стоит ли называть эти агрегаты амилоидами, поскольку они обладают кросс-β структурой?».

В случае положительного ответа, возможно, придется признать, что амилоидные агрегаты не обязательно должны быть стабильными. Такой подход, предположительно, приведет к увеличению количества амилоидов. В случае с FUS было показано, что за формирование агрегатов отвечает короткий фрагмент LC-домена, названный LARKS. Аналогичные мотивы белков NUP98 и hnRNPA1 также формируют термоллабильные фибриллы с кросс-β структурой. Биоинформатический поиск выявил массу сходных последовательностей среди белков, входящих в состав различных комплексов, образующихся по принципу разделения фаз [203]. Однако это только предположение, наличие сходных последовательностей не может гарантировать таких же свойств у полноразмерных белков. Кроме этого, сохранение исходного определения, основанного только на структуре агрегатов (без уточнения сведений об их стабильности), подчеркивает ограничение существующих методов поиска новых кандидатов в амилоиды, которые основаны только на их устойчивости к детергентам [204, 205] (эти подходы не могут выявлять нестабильные агрегаты с кросс-β структурой). Вне зависимости от выбранного пути, к сожалению, остается проблема с описанием массы амилоидоподобных агрегатов, которые очень разнообразны с точки зрения структуры. Если критерий структуры является ключевым для выделения амилоидов в отдельную группу, то амилоидоподобные агрегаты также необходимо классифицировать аналогичным образом. В нашем обзоре мы рассмотрели примеры агрегатов MAVS, PSMα3, SOD1 и LL-37, которые обладают частью амилоидных свойств, но обладают самыми разными вариантами структуры, например β-штопор или кросс-α [4]. Сейчас они попадают в единую группу амилоидоподобных агрегатов, хотя если критерий структуры является основополагающим, такие агрегаты должны быть классифицированы отдельно друг от друга.

Стоит также отметить, что некоторые критерии, которые используют для доказательства амилоидных свойств, являются искусственными и в явном виде не отражают свойства, которые релевантны для биологических систем. Например, окрашивание специфическими красителями не имеет очевидного биологического смысла, поскольку эти вещества в норме отсутствуют в клетке или в организме. Также нам не известны клеточные белки или системы, которые бы умели специфически распознавать кросс- β -структуру, но не другие варианты укладки агрегатов со свойствами амилоидов. Существуют амилоид-специфические антитела, которые, возможно, способны дифференцировать разные варианты укладок [206], но этот пример сложно рассматривать как универсальный. В то же время стабильные фибриллярные агрегаты часто упоминают как один из примеров образования различных белковых комплексов на основе разделения фаз [207]. В этой связи ключевыми отличиями этих агрегатов от других являются их морфология (фибриллы) и стабильность (слабый обмен молекул между агрегатом и окружающим раствором). С биологической точки зрения эти критерии являются ре-

levantными, поскольку отражают биофизическое состояние определенных молекул в клетке, возможность их свободного перемещения и, следовательно, участия в тех или иных процессах.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 19-14-50590.

Благодарности. Авторы благодарят профессора, д.б.н. А.П. Галкина (СПбГУ и ИОГен РАН) за критическое прочтение рукописи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

Дополнительные материалы. Приложение к статье на английском языке опубликовано на сайте журнала «Biochemistry» (Moscow) (<http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya/>) и на сайте издательства Springer (<https://link.springer.com/journal/10541>), том 85, вып. 9, 2020.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kyle, R. A. (2001) Amyloidosis: a convoluted story, *Br. J. Haematol.*, **114**, 529-538.
- Tanskanen, M. (2013) "Amyloid" – historical aspects, in *Amyloidosis* (Feng, D., ed.), IntechOpen, pp. 3-24.
- Yakupova, E. I., Bobyleva, L. G., Vikhlyantsev, I. M., and Bobylev, A. G. (2019) Congo red and amyloids: history and relationship, *Biosci. Rep.*, **39**, BSR20181415.
- Iadanza, M. G., Jackson, M. P., Hewitt, E. W., Ranson, N. A., and Radford, S. E. (2018) A new era for understanding amyloid structures and disease, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **19**, 755-773.
- Kushnirov, V. V., Dergalev, A. A., and Alexandrov, A. I. (2020) Proteinase K resistant cores of prions and amyloids, *Prion*, **14**, 11-19.
- Kushnirov, V. V., Alexandrov, I. M., Mitkevich, O. V., Shkundina, I. S., and Ter-Avanesyan, M. D. (2006) Purification and analysis of prion and amyloid aggregates, *Methods*, **39**, 50-55.
- Dear, A. J., Michaels, T. C. T., Meisl, G., Klenerman, D., Wu, S., Perrett, S., Linse, S., Dobson, C. M., and Knowles, T. P. J. (2020) Kinetic diversity of amyloid oligomers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 12087-12094.
- Prusiner, S. B. (1987) Prions and neurodegenerative diseases, *N. Engl. J. Med.*, **317**, 1571-1581.
- Wickner, R. (1994) [URE3] as an altered URE2 protein: evidence for a prion analog in *Saccharomyces cerevisiae*, *Science*, **264**, 566-569.
- Osherovich, L. Z., and Weissman, J. S. (2001) Multiple Gln/Asn-rich prion domains confer susceptibility to induction of the yeast [*PSI*⁺] prion, *Cell*, **106**, 183-194.
- Alberti, S., Halfmann, R., King, O., Kapila, A., and Lindquist, S. (2009) A systematic survey identifies prions and illuminates sequence features of prionogenic proteins, *Cell*, **137**, 146-158.
- Chandramowlishwaran, P., Sun, M., Casey, K. L., Romanyuk, A. V., Grizel, A. V., Sopova, J. V., Rubel, A. A., Nussbaum-Krammer, C., Vorberg, I. M., and Chernoff, Y. O. (2018) Mammalian amyloidogenic proteins promote prion nucleation in yeast, *J. Biol. Chem.*, **293**, 3436-3450.
- Sivanathan, V., and Hochschild, A. (2013) A bacterial export system for generating extracellular amyloid aggregates, *Nat. Protoc.*, **8**, 1381-1390.
- Nizhnikov, A. A., Antonets, K. S., and Inge-Vechtomov, S. G. (2015) Amyloids: from pathogenesis to function, *Biochemistry (Moscow)*, **80**, 1127-1144.
- Benson, M. D., Buxbaum, J. N., Eisenberg, D. S., Merlini, G., Saraiva, M. J. M., Sekijima, Y., Sipe, J. D., and Westermarck, P. (2018) Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee, *Amyloid*, **25**, 215-219.
- Sergeeva, A. V., and Galkin, A. P. (2020) Functional amyloids of eukaryotes: criteria, classification, and biological significance, *Curr. Genet.*, doi: 10.1007/s00294-020-01079-7.
- Galkin, A. P., Velizhanina, M. E., Sopova, Y. V., Shenfeld, A. A., and Zadorsky, S. P. (2018) Prions and non-infectious amyloids of mammals – similarities and differences, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 1184-1195.
- Baxa, U. (2008) Structural basis of infectious and non-infectious amyloids, *Curr. Alzheimer Res.*, **5**, 308-318.
- Shewmaker, F., McGlinchey, R. P., and Wickner, R. B. (2011) Structural insights into functional and pathological amyloid, *J. Biol. Chem.*, **286**, 16533-16540.

20. Chiti, F., and Dobson, C. M. (2009) Amyloid formation by globular proteins under native conditions, *Nat. Chem. Biol.*, **5**, 15-22.
21. Khurana, R., Uversky, V. N., Nielsen, L., and Fink, A. L. (2001) Is Congo red an amyloid-specific dye? *J. Biol. Chem.*, **276**, 22715-22721.
22. Westermark, G. T., Johnson, K. H., and Westermark, P. (1999) Staining methods for identification of amyloid in tissue, *Methods Enzymol.*, **309**, 3-25.
23. Tayeb-Fligelman, E., Tabachnikov, O., Moshe, A., Goldshmidt-Tran, O., Sawaya, M. R., Coquelle, N., Colletier, J.-P., and Landau, M. (2017) The cytotoxic *Staphylococcus aureus* PSM α 3 reveals a cross- α amyloid-like fibril, *Science*, **355**, 831-833.
24. Brundin, P., Melki, R., and Kopito, R. (2010) Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 301-307.
25. Chiti, F., and Dobson, C. M. (2017) Protein misfolding, amyloid formation, and human disease: a summary of progress over the last decade, *Annu. Rev. Biochem.*, **86**, 27-68.
26. Knowles, T. P. J., Vendruscolo, M., and Dobson, C. M. (2014) The amyloid state and its association with protein misfolding diseases, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **15**, 384-396.
27. Pepys, M. B. (2006) Amyloidosis, *Annu. Rev. Med.*, **57**, 223-241.
28. Chiti, F., and Dobson, C. M. (2006) Protein misfolding, functional amyloid, and human disease, *Annu. Rev. Biochem.*, **75**, 333-366.
29. Andersson, K., Olofsson, A., Nielsen, E. H., Svehaug, S.-E., and Lundgren, E. (2002) Only amyloidogenic intermediates of transthyretin induce apoptosis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **294**, 309-314.
30. Hartley, D. M., Walsh, D. M., Ye, C. P., Diehl, T., Vasquez, S., Vassilev, P. M., Teplow, D. B., and Selkoe, D. J. (1999) Protofibrillar intermediates of amyloid β -protein induce acute electrophysiological changes and progressive neurotoxicity in cortical neurons, *J. Neurosci.*, **19**, 8876-8884.
31. Shi, J., Guan, J., Jiang, B., Brenner, D. A., del Monte, F., Ward, J. E., Connors, L. H., Sawyer, D. B., Semigran, M. J., Macgillivray, T. E., Seldin, D. C., Falk, R., and Liao, R. (2010) Amyloidogenic light chains induce cardiomyocyte contractile dysfunction and apoptosis via a non-canonical p38 MAPK pathway, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **107**, 4188-4193.
32. Simoneau, S., Rezaei, H., Salès, N., Kaiser-Schulz, G., Lefebvre-Roque, M., Vidal, C., Fournier, J.-G., Comte, J., Wopfner, F., Grosclaude, J., Schätzl, H., and Lasmézas, C. I. (2007) *In vitro* and *in vivo* neurotoxicity of prion protein oligomers, *PLoS Pathog.*, **3**, e125.
33. Campioni, S., Mannini, B., Zampagni, M., Pensalfini, A., Parrini, C., Evangelisti, E., Relini, A., Stefani, M., Dobson, C. M., Cecchi, C., and Chiti, F. (2010) A causative link between the structure of aberrant protein oligomers and their toxicity, *Nat. Chem. Biol.*, **6**, 140-147.
34. Milani, P., Merlini, G., and Palladini, G. (2018) Light chain amyloidosis, *Infect. Dis.*, **10**, e2018022.
35. Merlini, G., Dispenzieri, A., Sanchorawala, V., Schönland, S. O., Palladini, G., Hawkins, P. N., and Gertz, M. A. (2018) Systemic immunoglobulin light chain amyloidosis, *Nat. Rev. Dis. Prim.*, **4**, 38.
36. Nasr, S. H., Said, S. M., Valeri, A. M., Sethi, S., Fidler, M. E., Cornell, L. D., Gertz, M. A., Dispenzieri, A., Buadi, F. K., Vrana, J. A., Theis, J. D., Dogan, A., and Leung, N. (2013) The diagnosis and characteristics of renal heavy-chain and heavy/light-chain amyloidosis and their comparison with renal light-chain amyloidosis, *Kidney Int.*, **83**, 463-470.
37. Ando, Y., Coelho, T., Berk, J. L., Cruz, M. W., Ericzon, B.-G., Ikeda, S., Lewis, W. D., Obici, L., Planté-Bordeneuve, V., Rapezzi, C., Said, G., and Salvi, F. (2013) Guideline of transthyretin-related hereditary amyloidosis for clinicians, *Orphanet J. Rare Dis.*, **8**, 31.
38. Lu, J., Yu, Y., Zhu, I., Cheng, Y., and Sun, P. D. (2014) Structural mechanism of serum amyloid A-mediated inflammatory amyloidosis, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **111**, 5189-5194.
39. Morris, A. D., Smith, R. N., and Stone, J. R. (2019) The pathology and changing epidemiology of dialysis-related cardiac beta-2 microglobulin amyloidosis, *Cardiovasc. Pathol.*, **42**, 30-35.
40. Eriksson, M., Schönland, S., Yumlu, S., Hegenbart, U., von Hutten, H., Gieva, Z., Lohse, P., Büttner, J., Schmidt, H., and Röcken, C. (2009) Hereditary apolipoprotein AI-associated amyloidosis in surgical pathology specimens, *J. Mol. Diagnostics*, **11**, 257-262.
41. Gerasimova, E. M., Fedotov, S. A., Kachkin, D. V., Vashukova, E. S., Glotov, A. S., Chernoff, Y. O., and Rubel, A. A. (2019) Protein misfolding during pregnancy: new approaches to preeclampsia diagnostics, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 6183.
42. Srinivasan, R., Jones, E. M., Liu, K., Ghiso, J., Marchant, R. E., and Zagorski, M. G. (2003) pH-dependent amyloid and protofibril formation by the ABri peptide of familial British dementia, *J. Mol. Biol.*, **333**, 1003-1023.
43. Ghiso, J. A., Holton, J., Miravalle, L., Calero, M., Lashley, T., Vidal, R., Houlden, H., Wood, N., Neubert, T. A., Rostagno, A., Plant, G., Révész, T., and Frangione, B. (2001) Systemic amyloid deposits in familial British dementia, *J. Biol. Chem.*, **276**, 43909-43914.
44. Srinivasan, R., Marchant, R. E., and Zagorski, M. G. (2004) ABri peptide associated with familial British dementia forms annular and ring-like protofibrillar structures, *Amyloid*, **11**, 10-13.
45. Coomaraswamy, J., Kilger, E., Wölfling, H., Schäfer, C., Kaeser, S. A., Wegenast-Braun, B. M., Hefendehl, J. K., Wolburg, H., Mazzella, M., Ghiso, J., Goedert, M., Akiyama, H., Garcia-Sierra, F., Wolfer, D. P., Mathews, P. M., and Jucker, M. (2010) Modeling familial Danish dementia in mice supports the concept of the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 7969-7974.
46. Vidal, R., Revesz, T., Rostagno, A., Kim, E., Holton, J. L., Bek, T., Bojsen-Møller, M., Braendgaard, H., Plant, G., Ghiso, J., and Frangione, B. (2000) A decamer duplication in the 3' region of the *BRI* gene originates an amyloid peptide that is associated with dementia in a Danish kindred, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 4920-4925.
47. Davies, H. A., Wilkinson, M. C., Gibson, R. P., and Middleton, D. A. (2014) Expression and purification of the aortic amyloid polypeptide medin, *Protein Expr. Purif.*, **98**, 32-37.
48. Khurana, R., Agarwal, A., Bajpai, V. K., Verma, N., Sharma, A. K., Gupta, R. P., and Madhusudan, K. P. (2004) Unraveling the amyloid associated with human medullary thyroid carcinoma, *Endocrinology*, **145**, 5465-5470.
49. Pedrote, M. M., Motta, M. F., Ferretti, G. D. S., Norberto, D. R., Spohr, T. C. L. S., Lima, F. R. S., Gratton, E., Silva, J. L., and de Oliveira, G. A. P. (2020) Oncogenic gain of function in glioblastoma is linked to mutant p53 amyloid oligomers, *iScience*, **23**, 100820.
50. Levine, S. N., Ishaq, S., Nanda, A., Wilson, J. D., and Gonzalez-Toledo, E. (2013) Occurrence of extensive spherical amyloid deposits in a prolactin-secreting pituitary macroadenoma: a radiologic-pathologic correlation, *Ann. Diagn. Pathol.*, **17**, 361-366.

51. Chuang, E., Hori, A. M., Hesketh, C. D., and Shorter, J. (2018) Amyloid assembly and disassembly, *J. Cell Sci.*, **131**, jcs189928.
52. Millucci, L., Ghezzi, L., Bernardini, G., Braconi, D., Tanganelli, P., and Santucci, A. (2012) Prevalence of isolated atrial amyloidosis in young patients affected by congestive heart failure, *Sci. World J.*, **2012**, 1-8.
53. Linke, R. P., Joswig, R., Murphy, C. L., Wang, S., Zhou, H., Gross, U., Rocken, C., Westermark, P., Weiss, D. T., and Solomon, A. (2005) Senile seminal vesicle amyloid is derived from semenogelin I, *J. Lab. Clin. Med.*, **145**, 187-193.
54. Yanamandra, K., Alexeyev, O., Zamotin, V., Srivastava, V., Shchukarev, A., Brorsson, A.-C., Tartaglia, G. G., Vogl, T., Kayed, R., Wingsle, G., Olsson, J., Dobson, C. M., Bergh, A., Elgh, F., and Morozova-Roche, L. A. (2009) Amyloid formation by the pro-inflammatory S100A8/A9 proteins in the ageing prostate, *PLoS One*, **4**, e5562.
55. Caubet, C., Bousset, L., Clemmensen, O., Sourigues, Y., Bygum, A., Chavanas, S., Coudane, F., Hsu, C., Betz, R. C., Melki, R., Simon, M., and Serre, G. (2010) A new amyloidosis caused by fibrillar aggregates of mutated corneodesmosin, *FASEB J.*, **24**, 3416-3426.
56. Miura, Y., Harumiya, S., Ono, K., Fujimoto, E., Akiyama, M., Fujii, N., Kawano, H., Wachi, H., and Tajima, S. (2013) Galectin-7 and actin are components of amyloid deposit of localized cutaneous amyloidosis, *Exp. Dermatol.*, **22**, 36-40.
57. Inoue, K., Takahashi, M., Hamamoto, Y., Muto, M., and Ishihara, T. (2000) An immunohistochemical study of cytokeratins in skin-limited amyloidosis, *Amyloid*, **7**, 259-265.
58. Ozawa, D., Kaji, Y., Yagi, H., Sakurai, K., Kawakami, T., Naiki, H., and Goto, Y. (2011) Destruction of amyloid fibrils of keratopithelin peptides by laser irradiation coupled with amyloid-specific thioflavin T, *J. Biol. Chem.*, **286**, 10856-10863.
59. Ando, Y., Nakamura, M., Kai, H., Katsuragi, S., Terazaki, H., Nozawa, T., Okuda, T., Misumi, S., Matsunaga, N., Hata, K., Tajiri, T., Shoji, S., Yamashita, T., Haraoka, K., Obayashi, K., Matsumoto, K., Ando, M., and Uchino, M. (2002) A novel localized amyloidosis associated with lactoferrin in the cornea, *Lab. Invest.*, **82**, 757-766.
60. Gupta, Y., Singla, G., and Singla, R. (2015) Insulin-derived amyloidosis, *Indian J. Endocrinol. Metab.*, **19**, 174.
61. D'Souza, A., Theis, J. D., Vrana, J. A., and Dogan, A. (2014) Pharmaceutical amyloidosis associated with subcutaneous insulin and enfuvirtide administration, *Amyloid*, **21**, 71-75.
62. Chen, G., Xu, T., Yan, Y., Zhou, Y., Jiang, Y., Melcher, K., and Xu, H. E. (2017) Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development, *Acta Pharmacol. Sin.*, **38**, 1205-1235.
63. Murphy, M. P., and LeVine, H. (2010) Alzheimer's disease and the amyloid- β peptide, *J. Alzheimer's Dis.*, **19**, 311-323.
64. Qiang, W., Yau, W.-M., Lu, J.-X., Collinge, J., and Tycko, R. (2017) Structural variation in amyloid- β fibrils from Alzheimer's disease clinical subtypes, *Nature*, **541**, 217-221.
65. Giasson, B. I., Lee, V. M.-Y., and Trojanowski, J. Q. (2003) Interactions of amyloidogenic proteins, *Neuromolecular Med.*, **4**, 49-58.
66. Lim, S., Haque, M. M., Kim, D., Kim, D. J., and Kim, Y. K. (2014) Cell-based models to investigate Tau aggregation, *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, **12**, 7-13.
67. Kim, W. S., Kågedal, K., and Halliday, G. M. (2014) Alpha-synuclein biology in Lewy body diseases, *Alzheimer's Res. Ther.*, **6**, 73.
68. Goedert, M., Jakes, R., and Spillantini, M. G. (2017) The synucleinopathies: twenty years on, *J. Parkinson's Dis.*, **7**, S51-S69.
69. Mead, S., and Reilly, M. M. (2015) A new prion disease: relationship with central and peripheral amyloidoses, *Nat. Rev. Neurol.*, **11**, 90-97.
70. Pansarasa, O., Bordoni, M., Diamanti, L., Sproviero, D., Gagliardi, S., and Cereda, C. (2018) SOD1 in amyotrophic lateral sclerosis: "ambivalent" behavior connected to the disease, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, 1345.
71. Dragoš, A., Kovács, Á. T., and Claessen, D. (2017) The role of functional amyloids in multicellular growth and development of gram-positive bacteria, *Biomolecules*, **7**, 60.
72. Valsecchi, I., Dupres, V., Stephen-Victor, E., Guijarro, J. I., Gibbons, J., Beau, R., Bayry, J., Coppee, J.-Y., Lafont, F., Latgé, J.-P., and Beauvais, A. (2017) Role of hydrophobins in *Aspergillus fumigatus*, *J. Fungi*, **4**, 2.
73. Pham, C. L. L., Rey, A., Lo, V., Soulès, M., Ren, Q., Meisl, G., Knowles, T. P. J., Kwan, A. H., and Sunde, M. (2016) Self-assembly of MPG1, a hydrophobin protein from the rice blast fungus that forms functional amyloid coatings, occurs by a surface-driven mechanism, *Sci. Rep.*, **6**, 25288.
74. Lo, V. C., Ren, Q., Pham, C. L. L., Morris, V. K., Kwan, A. H., and Sunde, M. (2014) Fungal hydrophobin proteins produce self-assembling protein films with diverse structure and chemical stability, *Nanomater.*, **4**, 827-843.
75. Morris, V. K., Ren, Q., Macindoe, I., Kwan, A. H., Byrne, N., and Sunde, M. (2011) Recruitment of class I hydrophobins to the air/water interface initiates a multi-step process of functional amyloid formation, *J. Biol. Chem.*, **286**, 15955-15963.
76. Rauceo, J. M., Gaur, N. K., Lee, K.-G., Edwards, J. E., Klotz, S. A., and Lipke, P. N. (2004) Global cell surface conformational shift mediated by a *Candida albicans* adhesin, *Infect. Immun.*, **72**, 4948-4955.
77. Otoo, H. N., Lee, K. G., Qiu, W., and Lipke, P. N. (2008) *Candida albicans* Als adhesins have conserved amyloid-forming sequences, *Eukaryot. Cell*, **7**, 776-782.
78. Dueholm, M. S., Albertsen, M., Otzen, D., and Nielsen, P. H. (2012) Curli functional amyloid systems are phylogenetically widespread and display large diversity in operon and protein structure, *PLoS One*, **7**, e51274.
79. Blanco, L. P., Evans, M. L., Smith, D. R., Badtke, M. P., and Chapman, M. R. (2012) Diversity, biogenesis and function of microbial amyloids, *Trends Microbiol.*, **20**, 66-73.
80. Taglialegna, A., Navarro, S., Ventura, S., Garnett, J. A., Matthews, S., Penades, J. R., Lasa, I., and Valle, J. (2016) Staphylococcal Bap proteins build amyloid scaffold biofilm matrices in response to environmental signals, *PLoS Pathog.*, **12**, e1005711.
81. Alteri, C. J., Xicohtencatl-Cortes, J., Hess, S., Caballero-Olín, G., Girón, J. A., and Friedman, R. L. (2007) *Mycobacterium tuberculosis* produces pili during human infection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 5145-5150.
82. Besingi, R. N., Wenderska, I. B., Senadheera, D. B., Cvitkovitch, D. G., Long, J. R., Wen, Z. T., and Brady, L. J. (2017) Functional amyloids in *Streptococcus mutans*, their use as targets of biofilm inhibition and initial characterization of SMU_63c, *Microbiology*, **163**, 488-501.
83. Collinson, S. K., Emödy, L., Müller, K. H., Trust, T. J., and Kay, W. W. (1991) Purification and characterization of thin, aggregative fimbriae from *Salmonella enteritidis*, *J. Bacteriol.*, **173**, 4773-4781.
84. Doran, J. L., Collinson, S. K., Burian, J., Sarlós, G., Todd, E. C., Munro, C. K., Kay, C. M., Banser, P. A., Peterkin, P. I., and Kay, W. W. (1993) DNA-based diagnosis

- tic tests for *Salmonella* species targeting *agfA*, the structural gene for thin, aggregative fimbriae, *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 2263-2273.
85. Wang, Y., Jiang, J., Gao, Y., Sun, Y., Dai, J., Wu, Y., Qu, D., Ma, G., and Fang, X. (2018) *Staphylococcus epidermidis* small basic protein (Sbp) forms amyloid fibrils, consistent with its function as a scaffolding protein in biofilms, *J. Biol. Chem.*, **293**, 14296-14311.
 86. Ling, S., Li, C., Adamcik, J., Shao, Z., Chen, X., and Mezzenga, R. (2014) Modulating materials by orthogonally oriented β -strands: composites of amyloid and silk fibroin fibrils, *Adv. Mater.*, **26**, 4569-4574.
 87. Humenik, M., Smith, A. M., Arndt, S., and Scheibel, T. (2015) Ion and seed dependent fibril assembly of a spidroin core domain, *J. Struct. Biol.*, **191**, 130-138.
 88. Berthelot, K., Lecomte, S., Estevez, Y., Couлары-Salin, B., and Peruch, F. (214) Homologous *Hevea brasiliensis* REF (Hevb1) and SRPP (Hevb3) present different auto-assembling, *Biochim. Biophys. Acta*, **1844**, 473-485.
 89. Berthelot, K., Lecomte, S., Estevez, Y., Couлары-Salin, B., Bentaleb, A., Cullin, C., Deffieux, A., and Peruch, F. (2012) Rubber elongation factor (REF), a major allergen component in *Hevea brasiliensis* latex has amyloid properties, *PLoS One*, **7**, e48065.
 90. Li, J., McQuade, T., Siemer, A. B., Napetschnig, J., Moriwaki, K., Hsiao, Y.-S., Damko, E., Moquin, D., Walz, T., McDermott, A., Chan, F. K.-M., and Wu, H. (2012) The RIP1/RIP3 necrosome forms a functional amyloid signaling complex required for programmed necrosis, *Cell*, **150**, 339-350.
 91. Wu, X.-N., Yang, Z.-H., Wang, X.-K., Zhang, Y., Wan, H., Song, Y., Chen, X., Shao, J., and Han, J. (2014) Distinct roles of RIP1-RIP3 hetero- and RIP3-RIP3 homo-interaction in mediating necroptosis, *Cell Death Differ.*, **21**, 1709-1720.
 92. Kajava, A. V., Klopffleisch, K., Chen, S., and Hofmann, K. (2014) Evolutionary link between metazoan RHIM motif and prion-forming domain of fungal heterokaryon incompatibility factor HET-s/HET-s, *Sci. Rep.*, **4**, 7436.
 93. Liebman, S. W., and Chernoff, Y. O. (2012) Prions in yeast, *Genetics*, **191**, 1041-1072.
 94. Seuring, C., Greenwald, J., Wasmer, C., Wepf, R., Saupe, S. J., Meier, B. H., and Riek, R. (2012) The mechanism of toxicity in HET-S/HET-s prion incompatibility, *PLoS Biol.*, **10**, e1001451.
 95. Loquet, A., and Saupe, S. J. (2017) Diversity of amyloid motifs in NLR signaling in fungi, *Biomolecules*, **7**, 38.
 96. Daskalov, A., Habenstein, B., Sabaté, R., Berbon, M., Martinez, D., Chaignepain, S., Couлары-Salin, B., Hofmann, K., Loquet, A., and Saupe, S. J. (2016) Identification of a novel cell death-inducing domain reveals that fungal amyloid-controlled programmed cell death is related to necroptosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 2720-2725.
 97. Kleino, A., Ramia, N. F., Bozkurt, G., Shen, Y., Nailwal, H., Huang, J., Napetschnig, J., Gangloff, M., Chan, F. K.-M., Wu, H., Li, J., and Silverman, N. (2017) Peptidoglycan-sensing receptors trigger the formation of functional amyloids of the adaptor protein Imd to initiate *Drosophila* NF- κ B signaling, *Immunity*, **47**, 635-647.e6.
 98. Gonçalves, A. P., Heller, J., Daskalov, A., Videira, A., and Glass, N. L. (2017) Regulated forms of cell death in fungi, *Front. Microbiol.*, **8**, 1837.
 99. Hafner-Bratkovič, I. (2017) Prions, prionoid complexes and amyloids: the bad, the good and something in between, *Swiss Med. Wkly.*, **147**, w14424.
 100. Mojsoska, B., and Jenssen, H. (2015) Peptides and peptidomimetics for antimicrobial drug design, *Pharmaceuticals (Basel)*, **8**, 366-415.
 101. Lyu, Y., Fitriyanti, M., and Narsimhan, G. (2019) Nucleation and growth of pores in 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DMPC)/cholesterol bilayer by antimicrobial peptides melittin, its mutants and cecropin P1, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **173**, 121-127.
 102. Gazit, E., Miller, I. R., Biggin, P. C., Sansom, M. S., and Shai, Y. (1996) Structure and orientation of the mammalian antibacterial peptide cecropin P1 within phospholipid membranes, *J. Mol. Biol.*, **258**, 860-870.
 103. Sood, R., Domanov, Y., Pietiäinen, M., Kontinen, V. P., and Kinnunen, P. K. J. (2008) Binding of LL-37 to model biomembranes: insight into target vs host cell recognition, *Biochim. Biophys. Acta*, **1778**, 983-996.
 104. Engelberg, Y., and Landau, M. (2020) The Human LL-37(17-29) Antimicrobial peptide reveals a functional supramolecular nanostructure, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.02.04.933432.
 105. Auvynet, C., El Amri, C., Lacombe, C., Bruston, F., Bourdais, J., Nicolas, P., and Rosenstein, Y. (2008) Structural requirements for antimicrobial versus chemoattractant activities for dermaseptin S9, *FEBS J.*, **275**, 4134-4151.
 106. Caillon, L., Killian, J. A., Lequin, O., and Khemtémourian, L. (2013) Biophysical investigation of the membrane-disrupting mechanism of the antimicrobial and amyloid-like peptide dermaseptin S9, *PLoS One*, **8**, e75528.
 107. Gössler-Schöfberger, R., Hesser, G., Muik, M., Wechselberger, C., and Jilek, A. (2009) An orphan dermaseptin from frog skin reversibly assembles to amyloid-like aggregates in a pH-dependent fashion, *FEBS J.*, **276**, 5849-5859.
 108. Zasloff, M. (1987) Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 5449-5453.
 109. Zasloff, M., Martin, B., and Chen, H. C. (1988) Antimicrobial activity of synthetic magainin peptides and several analogues, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 910-913.
 110. Cruciani, R. A., Barker, J. L., Zasloff, M., Chen, H. C., and Colamonici, O. (1991) Antibiotic magainins exert cytolytic activity against transformed cell lines through channel formation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 3792-3796.
 111. Baker, M. A., Maloy, W. L., Zasloff, M., and Jacob, L. S. (1993) Anticancer efficacy of Magainin2 and analogue peptides, *Cancer Res.*, **53**, 3052-3057.
 112. Ludtke, S., He, K., and Huang, H. (1995) Membrane thinning caused by magainin 2, *Biochemistry*, **34**, 16764-16769.
 113. Jang, H., Arce, F. T., Mustata, M., Ramachandran, S., Capone, R., Nussinov, R., and Lal, R. (2011) Antimicrobial protegrin-1 forms amyloid-like fibrils with rapid kinetics suggesting a functional link, *Biophys. J.*, **100**, 1775-1783.
 114. Gour, S., Kumar, V., Singh, A., Gadhav, K., Goyal, P., Pandey, J., Giri, R., and Yadav, J. K. (2019) Mammalian antimicrobial peptide protegrin-4 self assembles and forms amyloid-like aggregates: Assessment of its functional relevance, *J. Pept. Sci.*, **25**, e3151.
 115. Bieler, S., Estrada, L., Lagos, R., Baeza, M., Castilla, J., and Soto, C. (2005) Amyloid formation modulates the biological activity of a bacterial protein, *J. Biol. Chem.*, **280**, 26880-26885.
 116. Chu, H., Pazgier, M., Jung, G., Nuccio, S.-P., Castillo, P. A., de Jong, M. F., Winter, M. G., Winter, S. E., Wehkamp, J., Shen, B., Salzman, N. H., Underwood, M. A., Tsolis, R. M., Young, G. M., Lu, W., Lehrer, R. I., Bäuml, A. J., and Bevins, C. L. (2012) Human α -defensin 6 promotes

- mucosal innate immunity through self-assembled peptide nanonets, *Science*, **337**, 477-481.
117. Gour, S., Kaushik, V., Kumar, V., Bhat, P., Yadav, S. C., and Yadav, J. K. (2016) Antimicrobial peptide (Cn-AMP2) from liquid endosperm of *Cocos nucifera* forms amyloid-like fibrillar structure, *J. Pept. Sci.*, **22**, 201-207.
 118. Wang, G. (2008) Structures of human host defense cathelicidin LL-37 and its smallest antimicrobial peptide KR-12 in lipid micelles, *J. Biol. Chem.*, **283**, 32637-32643.
 119. Fahrner, R. L., Dieckmann, T., Harwig, S. S., Lehrer, R. I., Eisenberg, D., and Feigon, J. (1996) Solution structure of protegrin-1, a broad-spectrum antimicrobial peptide from porcine leukocytes, *Chem. Biol.*, **3**, 543-550.
 120. De Felice, F. G., Vieira, M. N. N., Meirelles, M. N. L., Morozova-Roche, L. A., Dobson, C. M., and Ferreira, S. T. (2004) Formation of amyloid aggregates from human lysozyme and its disease-associated variants using hydrostatic pressure, *FASEB J.*, **18**, 1099-1101.
 121. Majumdar, A., Cesario, W. C., White-Grindley, E., Jiang, H., Ren, F., Khan, M. R., Li, L., Choi, E. M.-L., Kannan, K., Guo, F., Unruh, J., Slaughter, B., and Si, K. (2012) Critical role of amyloid-like oligomers of *Drosophila* Orb2 in the persistence of memory, *Cell*, **148**, 515-529.
 122. Si, K., Choi, Y.-B., White-Grindley, E., Majumdar, A., and Kandel, E. R. (2010) *Aplysia* CPEB can form prion-like multimers in sensory neurons that contribute to long-term facilitation, *Cell*, **140**, 421-435.
 123. Stephan, J. S., Fioriti, L., Lamba, N., Colnaghi, L., Karl, K., Derkatch, I. L., and Kandel, E. R. (2015) The CPEB3 protein is a functional prion that interacts with the actin cytoskeleton, *Cell Rep.*, **11**, 1772-1785.
 124. Heinrich, S. U., and Lindquist, S. (2011) Protein-only mechanism induces self-perpetuating changes in the activity of neuronal *Aplysia* cytoplasmic polyadenylation element binding protein (CPEB), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 2999-3004.
 125. Hervas, R., Rau, M. J., Park, Y., Zhang, W., Murzin, A. G., Fitzpatrick, J. A. J., Scheres, S. H. W., and Si, K. (2020) Cryo-EM structure of a neuronal functional amyloid implicated in memory persistence in *Drosophila*, *Science*, **367**, 1230-1234.
 126. Sopova, J. V., Koshel, E. I., Belashova, T. A., Zadorsky, S. P., Sergeeva, A. V., Siniukova, V. A., Shenfeld, A. A., Velizhanina, M. E., Volkov, K. V., Nizhnikov, A. A., Kachkin, D. V., Gaginskaya, E. R., and Galkin, A. P. (2019) RNA-binding protein FXR1 is presented in rat brain in amyloid form, *Sci. Rep.*, **9**, 18983.
 127. Caudron, F., and Barral, Y. (2013) A super-assembly of Whi3 encodes memory of deceptive encounters by single cells during yeast courtship, *Cell*, **155**, 1244-1257.
 128. Boke, E., Ruer, M., Wühr, M., Coughlin, M., Lemaitre, R., Gygi, S. P., Alberti, S., Drechsel, D., Hyman, A. A., and Mitchison, T. J. (2016) Amyloid-like self-assembly of a cellular compartment, *Cell*, **166**, 637-650.
 129. Iconomidou, V. A., Vriend, G., and Hamodrakas, S. J. (2000) Amyloids protect the silkworm oocyte and embryo, *FEBS Lett.*, **479**, 141-145.
 130. Iconomidou, V. A., Chrysikos, G. D., Gionis, V., Vriend, G., Hoenger, A., and Hamodrakas, S. J. (2001) Amyloid-like fibrils from an 18-residue peptide analogue of a part of the central domain of the B-family of silkworm chorion proteins, *FEBS Lett.*, **499**, 268-273.
 131. Iconomidou, V. A., Chrysikos, G. D., Gionis, V., Galanis, A. S., Cordopatis, P., Hoenger, A., and Hamodrakas, S. J. (2006) Amyloid fibril formation propensity is inherent into the hexapeptide tandemly repeating sequence of the central domain of silkworm chorion proteins of the A-family, *J. Struct. Biol.*, **156**, 48-488.
 132. Hamodrakas, S. J., Hoenger, A., and Iconomidou, V. A. (2004) Amyloid fibrillogenesis of silkworm chorion protein peptide-analogues via a liquid-crystalline intermediate phase, *J. Struct. Biol.*, **145**, 226-235.
 133. Louros, N. N., Petronikolou, N., Karamanos, T., Cordopatis, P., Iconomidou, V. A., and Hamodrakas, S. J. (2014) Structural studies of "aggregation-prone" peptide-analogues of teleostean egg chorion ZPB proteins, *Biopolymers*, **102**, 427-436.
 134. Egge, N., Muthusubramanian, A., and Cornwall, G. A. (2015) Amyloid properties of the mouse egg zona pellucida, *PLoS One*, **10**, e0129907.
 135. Louros, N. N., Chrysina, E. D., Baltatzis, G. E., Patsouris, E. S., Hamodrakas, S. J., and Iconomidou, V. A. (2016) A common "aggregation-prone" interface possibly participates in the self-assembly of human zona pellucida proteins, *FEBS Lett.*, **590**, 619-630.
 136. Carpenter, K., Bell, R. B., Yunus, J., Amon, A., and Berchowitz, L. E. (2018) Phosphorylation-mediated clearance of amyloid-like assemblies in meiosis, *Dev. Cell*, **45**, 392-405.e6.
 137. Fowler, D. M., Koulov, A. V., Alory-Jost, C., Marks, M. S., Balch, W. E., and Kelly, J. W. (2006) Functional amyloid formation within mammalian tissue, *PLoS Biol.*, **4**, e6.
 138. Hoashi, T., Muller, J., Vieira, W. D., Rouzaud, F., Kikuchi, K., Tamaki, K., and Hearing, V. J. (2006) The repeat domain of the melanosomal matrix protein PMEL17/GP100 is required for the formation of organellar fibers, *J. Biol. Chem.*, **281**, 21198-21208.
 139. Wätt, B., van Niel, G., Fowler, D. M., Hurbain, I., Luk, K. C., Stayrook, S. E., Lemmon, M. A., Raposo, G., Shorter, J., Kelly, J. W., and Marks, M. S. (2009) N-terminal domains elicit formation of functional Pmel17 amyloid fibrils, *J. Biol. Chem.*, **284**, 35543-35555.
 140. McGlinchey, R. P., Shewmaker, F., McPhie, P., Monterosso, B., Thurber, K., and Wickner, R. B. (2009) The repeat domain of the melanosomal fibril protein Pmel17 forms the amyloid core promoting melanin synthesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 13731-13736.
 141. Leonhardt, R. M., Vigneron, N., Hee, J. S., Graham, M., and Cresswell, P. (2013) Critical residues in the PMEL/Pmel17 N-terminus direct the hierarchical assembly of melanosomal fibrils, *Mol. Biol. Cell*, **24**, 964-981.
 142. Maji, S. K., Perrin, M. H., Sawaya, M. R., Jessberger, S., Vadodaria, K., Rissman, R. A., Singru, P. S., Nilsson, K. P. R., Simon, R., Schubert, D., Eisenberg, D., Rivier, J., Sawchenko, P., Vale, W., and Riek, R. (2009) Functional amyloids as natural storage of peptide hormones in pituitary secretory granules, *Science*, **325**, 328-332.
 143. Onoue, S., Ohshima, K., Debari, K., Koh, K., Shioda, S., Iwasa, S., Kashimoto, K., and Yajima, T. (2004) Mishandling of the therapeutic peptide glucagon generates cytotoxic amyloidogenic fibrils, *Pharm. Res.*, **21**, 1274-1283.
 144. Gul, S., Bahadir, B., Dusak, A., Kalayci, M., Edebalı, N., and Acikgoz, B. (2009) Spherical amyloid deposition in a prolactin-producing pituitary adenoma, *Neuropathology*, **29**, 81-84.
 145. Wickner, R. B., Edskes, H. K., Kryndushkin, D., McGlinchey, R., Bateman, D., and Kelly, A. (2011) Prion diseases of yeast: amyloid structure and biology, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **22**, 469-475.
 146. Newby, G. A., and Lindquist, S. (2013) Blessings in disguise: biological benefits of prion-like mechanisms, *Trends Cell Biol.*, **23**, 251-259.
 147. Cox, B. S. (1965) ψ , a cytoplasmic suppressor of super-suppressor in yeast, *Heredity*, **20**, 505-521, doi: 10.1038/hdy.1965.65.

148. King, C.-Y., and Diaz-Avalos, R. (2004) Protein-only transmission of three yeast prion strains, *Nature*, **428**, 319-323.
149. Sondheimer, N., and Lindquist, S. (2000) Rnq1: an epigenetic modifier of protein function in yeast, *Mol. Cell*, **5**, 163-172.
150. Derkatch, I. L., Bradley, M. E., Hong, J. Y., and Liebman, S. W. (2001) Prions affect the appearance of other prions: the story of [PIN⁺], *Cell*, **106**, 171-182.
151. Du, Z., Park, K.-W., Yu, H., Fan, Q., and Li, L. (2008) Newly identified prion linked to the chromatin-remodeling factor Swi1 in *Saccharomyces cerevisiae*, *Nat. Genet.*, **40**, 460-465.
152. Saifitdinova, A. F., Nizhnikov, A. A., Lada, A. G., Rubel, A. A., Magomedova, Z. M., Ignatova, V. V., Inge-Vechtomov, S. G., and Galkin, A. P. (2010) [NSI⁺]: a novel non-Mendelian nonsense suppressor determinant in *Saccharomyces cerevisiae*, *Curr. Genet.*, **56**, 467-478.
153. Nizhnikov, A. A., Ryzhova, T. A., Volkov, K. V., Zadorsky, S. P., Sopova, J. V., Inge-Vechtomov, S. G., and Galkin, A. P. (2016) Interaction of prions causes heritable traits in *Saccharomyces cerevisiae*, *PLoS Genet.*, **12**, e1006504.
154. Suzuki, G., Shimazu, N., and Tanaka, M. (2012) A yeast prion, Mod5, promotes acquired drug resistance and cell survival under environmental stress, *Science*, **336**, 355-359.
155. Patel, B. K., Gavin-Smyth, J., and Liebman, S. W. (2009) The yeast global transcriptional co-repressor protein Cyc8 can propagate as a prion, *Nat. Cell Biol.*, **11**, 344-349.
156. Holmes, D. L., Lancaster, A. K., Lindquist, S., and Halfmann, R. (2013) Heritable remodeling of yeast multicellularity by an environmentally responsive prion, *Cell*, **153**, 153-165.
157. Halfmann, R., Wright, J. R., Alberti, S., Lindquist, S., and Rexach, M. (2012) Prion formation by a yeast GLFG nucleoporin, *Prion*, **6**, 391-399.
158. Chernova, T. A., Kiktev, D. A., Romanyuk, A. V., Shanks, J. R., Laur, O., Ali, M., Ghosh, A., Kim, D., Yang, Z., Mang, M., Chernoff, Y. O., and Wilkinson, K. D. (2017) Yeast short-lived actin-associated protein forms a metastable prion in response to thermal stress, *Cell Rep.*, **18**, 751-761.
159. Chernova, T. A., Romanyuk, A. V., Karpova, T. S., Shanks, J. R., Ali, M., Moffatt, N., Howie, R. L., O'Dell, A., McNally, J. G., Liebman, S. W., Chernoff, Y. O., and Wilkinson, K. D. (2011) Prion induction by the short-lived, stress-induced protein Lsb2 is regulated by ubiquitination and association with the actin cytoskeleton, *Mol. Cell*, **43**, 242-252.
160. Antonets, K. S., Belousov, M. V., Belousova, M. E., and Nizhnikov, A. A. (2019) The Gln3 transcriptional regulator of *Saccharomyces cerevisiae* manifests prion-like properties upon overproduction, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 441-451.
161. Rogoz, T., Goginashvili, A., Rodionova, S., Ivanov, M., Viktorovskaya, O., Rubel, A., Volkov, K., and Mironova, L. (2010) Non-Mendelian determinant [ISP⁺] in yeast is a nuclear-residing prion form of the global transcriptional regulator Sfp1, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 10573-10577.
162. Drozdova, P., Mironova, L., and Zhouravleva, G. (2016) Haploid yeast cells undergo a reversible phenotypic switch associated with chromosome II copy number, *BMC Genet.*, **17**, 152.
163. Matveenko, A. G., Drozdova, P. B., Belousov, M. V., Moskalenko, S. E., Bondarev, S. A., Barbitoff, Y. A., Nizhnikov, A. A., and Zhouravleva, G. A. (2016) SFP1-mediated prion-dependent lethality is caused by increased Sup35 aggregation and alleviated by Sis1, *Genes to Cells*, **21**, 1290-1308.
164. Brown, J. C. S., and Lindquist, S. (2009) A heritable switch in carbon source utilization driven by an unusual yeast prion, *Genes Dev.*, **23**, 2320-2332.
165. Chakravarty, A. K., Smejkal, T., Itakura, A. K., Garcia, D. M., and Jarosz, D. F. (2020) A non-amyloid prion particle that activates a heritable gene expression program, *Mol. Cell*, **77**, 251-265.e9.
166. Chakrabortee, S., Byers, J. S., Jones, S., Garcia, D. M., Bhullar, B., Chang, A., She, R., Lee, L., Fremin, B., Lindquist, S., and Jarosz, D. F. (2016) Intrinsically disordered proteins drive emergence and inheritance of biological traits, *Cell*, **167**, 369-381.e12.
167. Franzmann, T. M., Jahnel, M., Pozniakovsky, A., Mahamid, J., Holehouse, A. S., Nüske, E., Richter, D., Baumeister, W., Grill, S. W., Pappu, R. V., Hyman, A. A., and Alberti, S. (2018) Phase separation of a yeast prion protein promotes cellular fitness, *Science*, **359**, eaao5654.
168. Gomes, E., and Shorter, J. (2019) The molecular language of membraneless organelles, *J. Biol. Chem.*, **294**, 7115-7127.
169. Mitrea, D. M., and Kriwacki, R. W. (2016) Phase separation in biology; functional organization of a higher order, *Cell Commun. Signal.*, **14**, 1.
170. Audas, T. E., Audas, D. E., Jacob, M. D., Ho, J. J. D., Khacho, M., Wang, M., Perera, J. K., Gardiner, C., Bennett, C. A., Head, T., Kryvenko, O. N., Jorda, M., Daunert, S., Malhotra, A., Trinkle-Mulcahy, L., Gonzalgo, M. L., and Lee, S. (2016) Adaptation to stressors by systemic protein amyloidogenesis, *Dev. Cell*, **39**, 155-168.
171. Uversky, V. N., Kuznetsova, I. M., Turoverov, K. K., and Zaslavsky, B. (2015) Intrinsically disordered proteins as crucial constituents of cellular aqueous two phase systems and coacervates, *FEBS Lett.*, **589**, 15-22.
172. Uversky, V. N. (2017) Protein intrinsic disorder-based liquid-liquid phase transitions in biological systems: complex coacervates and membrane-less organelles, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **239**, 97-114.
173. Uversky, V. N. (2019) Supramolecular fuzziness of intracellular liquid droplets: liquid-liquid phase transitions, membrane-less organelles, and intrinsic disorder, *Molecules*, **24**, 3265.
174. Turoverov, K. K., Kuznetsova, I. M., Fonin, A. V., Darling, A. L., Zaslavsky, B. Y., and Uversky, V. N. (2019) Stochasticity of biological soft matter: emerging concepts in intrinsically disordered proteins and biological phase separation, *Trends Biochem. Sci.*, **44**, 716-728.
175. Darling, A. L., Liu, Y., Oldfield, C. J., and Uversky, V. N. (2018) Intrinsically disordered proteome of human membrane-less organelles, *Proteomics*, **18**, e1700193.
176. Uversky, V. N. (2017) Intrinsically disordered proteins in overcrowded milieu: Membrane-less organelles, phase separation, and intrinsic disorder, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **44**, 18-30.
177. Babinchak, W. M., and Surewicz, W. K. (2020) Liquid-liquid phase separation and its mechanistic role in pathological protein aggregation, *J. Mol. Biol.*, **432**, 1910-1925.
178. Darling, A. L., Zaslavsky, B. Y., and Uversky, V. N. (2019) Intrinsic disorder-based emergence in cellular biology: physiological and pathological liquid-liquid phase transitions in cells, *Polymers (Basel)*, **11**, 990.
179. De Oliveira, G. A. P., Cordeiro, Y., Silva, J. L., and Vieira, T. C. R. G. (2019) Liquid-liquid phase transitions and amyloid aggregation in proteins related to cancer and neurodegenerative diseases, *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.*, **118**, 289-331.
180. Kato, M., Han, T. W., Xie, S., Shi, K., Du, X., Wu, L. C., Mirzaei, H., Goldsmith, E. J., Longgood, J., Pei, J.,

- Grishin, N. V., Frantz, D. E., Schneider, J. W., Chen, S., Li, L., Sawaya, M. R., Eisenberg, D., Tycko, R., and McKnight, S. L. (2012) Cell-free formation of RNA granules: low complexity sequence domains form dynamic fibers within hydrogels, *Cell*, **149**, 753-767.
181. Gui, X., Luo, F., Li, Y., Zhou, H., Qin, Z., Liu, Z., Gu, J., Xie, M., Zhao, K., Dai, B., Shin, W. S., He, J., He, L., Jiang, L., Zhao, M., Sun, B., Li, X., Liu, C., and Li, D. (2019) Structural basis for reversible amyloids of hnRNP A1 elucidates their role in stress granule assembly, *Nat. Commun.*, **10**, 2006.
 182. Chen, C., Ding, X., Akram, N., Xue, S., and Luo, S.-Z. (2019) Fused in sarcoma: properties, self-assembly and correlation with neurodegenerative diseases, *Molecules*, **24**, 1622.
 183. Murray, D. T., Kato, M., Lin, Y., Thurber, K. R., Hung, I., McKnight, S. L., and Tycko, R. (2017) Structure of FUS protein fibrils and its relevance to self-assembly and phase separation of low-complexity domains, *Cell*, **171**, 615-627.e16.
 184. Luo, F., Gui, X., Zhou, H., Gu, J., Li, Y., Liu, X., Zhao, M., Li, D., Li, X., and Liu, C. (2018) Atomic structures of FUS LC domain segments reveal bases for reversible amyloid fibril formation, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **25**, 341-346.
 185. Fushimi, K., Long, C., Jayaram, N., Chen, X., Li, L., and Wu, J. Y. (2011) Expression of human FUS/TLS in yeast leads to protein aggregation and cytotoxicity, recapitulating key features of FUS proteinopathy, *Protein Cell*, **2**, 141-149.
 186. Chaudhury, A., Chander, P., and Howe, P. H. (2010) Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNPs) in cellular processes: focus on hnRNP E1's multifunctional regulatory roles, *RNA*, **16**, 1449-1462.
 187. Kim, H. J., Kim, N. C., Wang, Y.-D., Scarborough, E. A., Moore, J., et al. (2013) Mutations in prion-like domains in hnRNP A2B1 and hnRNP A1 cause multisystem proteinopathy and ALS, *Nature*, **495**, 467-473.
 188. Prasad, A., Bharathi, V., Sivalingam, V., Girdhar, A., and Patel, B. K. (2019) Molecular mechanisms of TDP-43 misfolding and pathology in amyotrophic lateral sclerosis, *Front. Mol. Neurosci.*, **12**, 25.
 189. Wegmann, S., Eftekhari, B., Tepper, K., Zoltowska, K. M., Bennett, R. E., Dujardin, S., Laskowski, P. R., MacKenzie, D., Kamath, T., Commins, C., Vanderburg, C., Roe, A. D., Fan, Z., Molliex, A. M., Hernandez-Vega, A., Muller, D., Hyman, A. A., Mandelkow, E., Taylor, J. P., and Hyman, B. T. (2018) Tau protein liquid-liquid phase separation can initiate tau aggregation, *EMBO J.*, **37**, e98049.
 190. Kosolapova, A. O., Belousov, M. V., Sulatskaya, A. I., Belousova, M. E., Sulatsky, M. I., Antonets, K. S., Volkov, K. V., Lykholay, A. N., Shtark, O. Y., Vasileva, E. N., Zhukov, V. A., Ivanova, A. N., Zykin, P. A., Kuznetsova, I. M., Turoverov, K. K., Tikhonovich, I. A., and Nizhnikov, A. A. (2019) Two novel amyloid proteins, RopA and RopB, from the root nodule bacterium *Rhizobium leguminosarum*, *Biomolecules*, **9**, 694.
 191. Danoff, E. J., and Fleming, K. G. (2015) Aqueous, unfolded OmpA forms amyloid-like fibrils upon self-association, *PLoS One*, **10**, e0132301.
 192. Antonets, K. S., Volkov, K. V., Maltseva, A. L., Arshakian, L. M., Galkin, A. P., and Nizhnikov, A. A. (2016) Proteomic analysis of *Escherichia coli* protein fractions resistant to solubilization by ionic detergents, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 34-46.
 193. Sahaya Rajan, J. J., Chinnappan Santiago, T., Singaravel, R., and Ignacimuthu, S. (2016) Outer membrane protein C (OmpC) of *Escherichia coli* induces neurodegeneration in mice by acting as an amyloid, *Biotechnol. Lett.*, **38**, 689-700.
 194. Villain, E., Nikekhin, A. A., and Kajava, A. V. (2019) Porins and amyloids are coded by similar sequence motifs, *Proteomics*, **19**, e1800075.
 195. Kaur, G., Kaundal, S., Kapoor, S., Grimes, J. M., Huiskonen, J. T., and Thakur, K. G. (2018) *Mycobacterium tuberculosis* CarD, an essential global transcriptional regulator forms amyloid-like fibrils, *Sci. Rep.*, **8**, 10124.
 196. Higurashi, T., Yagi, H., Mizobata, T., and Kawata, Y. (2005) Amyloid-like fibril formation of co-chaperonin GroES: nucleation and extension prefer different degrees of molecular compactness, *J. Mol. Biol.*, **351**, 1057-1069.
 197. Giraldo, R. (2007) Defined DNA sequences promote the assembly of a bacterial protein into distinct amyloid nanostructures, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 17388-17393.
 198. Gasset-Rosa, F., Coquel, A.-S., Moreno-Del Álamo, M., Chen, P., Song, X., Serrano, A. M., Fernández-Tresguerres, M. E., Moreno-Díaz de la Espina, S., Lindner, A. B., and Giraldo, R. (2014) Direct assessment in bacteria of prionoid propagation and phenotype selection by Hsp70 chaperone, *Mol. Microbiol.*, **91**, 1070-1087.
 199. Fernández-Tresguerres, Moreno-Díaz de la Espina, S., Gasset-Rosa, F., and Giraldo, R. (2010) A DNA-promoted amyloid proteinopathy in *Escherichia coli*, *Mol. Microbiol.*, **77**, 1456-1469.
 200. Torreira, E., Moreno-Del Álamo, M., Fuentes-Perez, M. E., Fernández, C., Martín-Benito, J., Moreno-Herrero, F., Giraldo, R., and Llorca, O. (2015) Amyloidogenesis of bacterial prionoid RepA-WH1 recapitulates dimer to monomer transitions of RepA in DNA replication initiation, *Structure*, **23**, 183-189.
 201. Belousov, M. V., Bondarev, S. A., Kosolapova, A. O., Antonets, K. S., Sulatskaya, A. I., Sulatsky, M. I., Zhouravleva, G. A., Kuznetsova, I. M., Turoverov, K. K., and Nizhnikov, A. A. (2018) M60-like metalloprotease domain of the *Escherichia coli* YghJ protein forms amyloid fibrils, *PLoS One*, **13**, e0191317.
 202. Villar-Piqué, A., Sabaté, R., Lopera, O., Gibert, J., Torne, J. M., Santos, M., and Ventura, S. (2010) Amyloid-like protein inclusions in tobacco transgenic plants, *PLoS One*, **5**, e13625.
 203. Hughes, M. P., Sawaya, M. R., Boyer, D. R., Goldschmidt, L., Rodriguez, J. A., Cascio, D., Chong, L., Gonen, T., and Eisenberg, D. S. (2018) Atomic structures of low-complexity protein segments reveal kinked β sheets that assemble networks, *Science*, **359**, 698-701.
 204. Nizhnikov, A. A., Alexandrov, A. I., Ryzhova, T. A., Mitkevich, O. V., Dergalev, A. A., Ter-Avanesyan, M. D., and Galkin, A. P. (2014) Proteomic screening for amyloid proteins, *PLoS One*, **9**, e116003.
 205. Kryndushkin, D., Pripuzova, N., Burnett, B. G., and Shewmaker, F. (2013) Non-targeted identification of prions and amyloid-forming proteins from yeast and mammalian cells, *J. Biol. Chem.*, **288**, 27100-27111.
 206. Kaye, R., Head, E., Sarsoza, F., Saing, T., Cotman, C. W., Necula, M., Margol, L., Wu, J., Breydo, L., Thompson, J. L., Rasool, S., Gurlo, T., Butler, P., and Glabe, C. G. (2007) Fibril specific, conformation dependent antibodies recognize a generic epitope common to amyloid fibrils and fibrillar oligomers that is absent in prefibrillar oligomers, *Mol. Neurodegener.*, **2**, 18.
 207. Alberti, S. (2017) The wisdom of crowds: regulating cell function through condensed states of living matter, *J. Cell Sci.*, **130**, 2789-2796.

**AMYLOID AND AMYLOID-LIKE AGGREGATES:
DIVERSITY AND TERM CRISIS*****Review**

**A. B. Mativ¹, N. P. Trubitsina¹, A. G. Matveenko¹,
Y. A. Barbitoff^{1,2}, G. A. Zhouravleva^{1,3}, and S. A. Bondarev^{1,3**}**

¹ *St. Petersburg State University, Faculty of Biology, Department of Genetics and Biotechnology,
199034 St. Petersburg, Russia; E mail: stanislavspbg@gmail.com, s.bondarev@spbu.ru*

² *Bioinformatics Institute, 197342 St. Petersburg, Russia*

³ *St. Petersburg State University, Faculty of Biology, Laboratory of Amyloid Biology, 199034 St. Petersburg, Russia*

Received July 16, 2020

Revised August 5, 2020

Accepted August 5, 2020

Active accumulation of the data on new amyloids continuing nowadays dissolves boundaries of the term “amyloid”. Currently, it is most often used to designate aggregates with cross- β structure. At the same time, amyloids also exhibit a number of other unusual properties, such as: detergent and protease resistance, interaction with specific dyes, and ability to induce transition of some proteins from a soluble form to an aggregated one. The same features have been also demonstrated for the aggregates lacking cross- β structure, which are commonly called “amyloid-like” and combined into one group, although they are very diverse. We have collected and systematized information on the properties of more than two hundred known amyloids and amyloid-like proteins with emphasis on conflicting examples. In particular, a number of proteins in membraneless organelles form aggregates with cross- β structure that are morphologically indistinguishable from the other amyloids, but they can be dissolved in the presence of detergents, which is not typical for amyloids. Such paradoxes signify the need to clarify the existing definition of the term amyloid. On the other hand, the demonstrated structural diversity of the amyloid-like aggregates shows the necessity of their classification.

Keywords: amyloids, amyloid-like aggregates, cross- β structure, prions