



FAGLIG-PEDAGOGISK DAG VED UNIVERSITETET I BERGEN

**Skrantesjuka og prion.
Vil nedskyting av rein fjerna skrantesjuka?**

ved

Dag E. Helland
Professor

**Molekylærbiologisk gruppe
Institutt for biovitenskap
UiB**

2. februar 2018





Samandrag

Skrantesjuka som no er påvist hos rein på Nordfjella har ført til at ulike statlege råd og utval har vedtatt at all rein som er der skal skytast ned. Vil dette føra til at skrantesjuka vert utrydda?

I førelesinga vil prionteorien bli gjennomgått og det vil bli drøfta kva prion er og kva eigenskapar prion som gir sjukdom hos vertebratar har.

Prionteorien vart klarlagt på 1980-talet og er ein stor medisinsk oppdaging sidan sjukdommane visse at sjukdomsframkallande prion er arvelege eller kan gi sjukdomsutvikling ved smitte. Dette er ulikt sjukdommar som skuldast virus, bakteriar eller andre mikroorganismar.

Metodar for korleis prion og prionsjukdom kan påvisast vil også bli gjennomgått. Prionprotein (PrP) ein finn i alle friske celler kallast PrP^C. Prionprotein som gir sjukdom kallast ofte PrP^{Sc}.





Publikasjon om skrantesjuka i Norge

Benestad *et al. Vet Res* (2016) 47:88

First case of chronic wasting disease in Europe in a Norwegian free-ranging reindeer

Sylvie L. Benestad^{1*}, Gordon Mitchell², Marion Simmons³, Bjørnar Ytrehus⁴ and Turid Vikøren¹

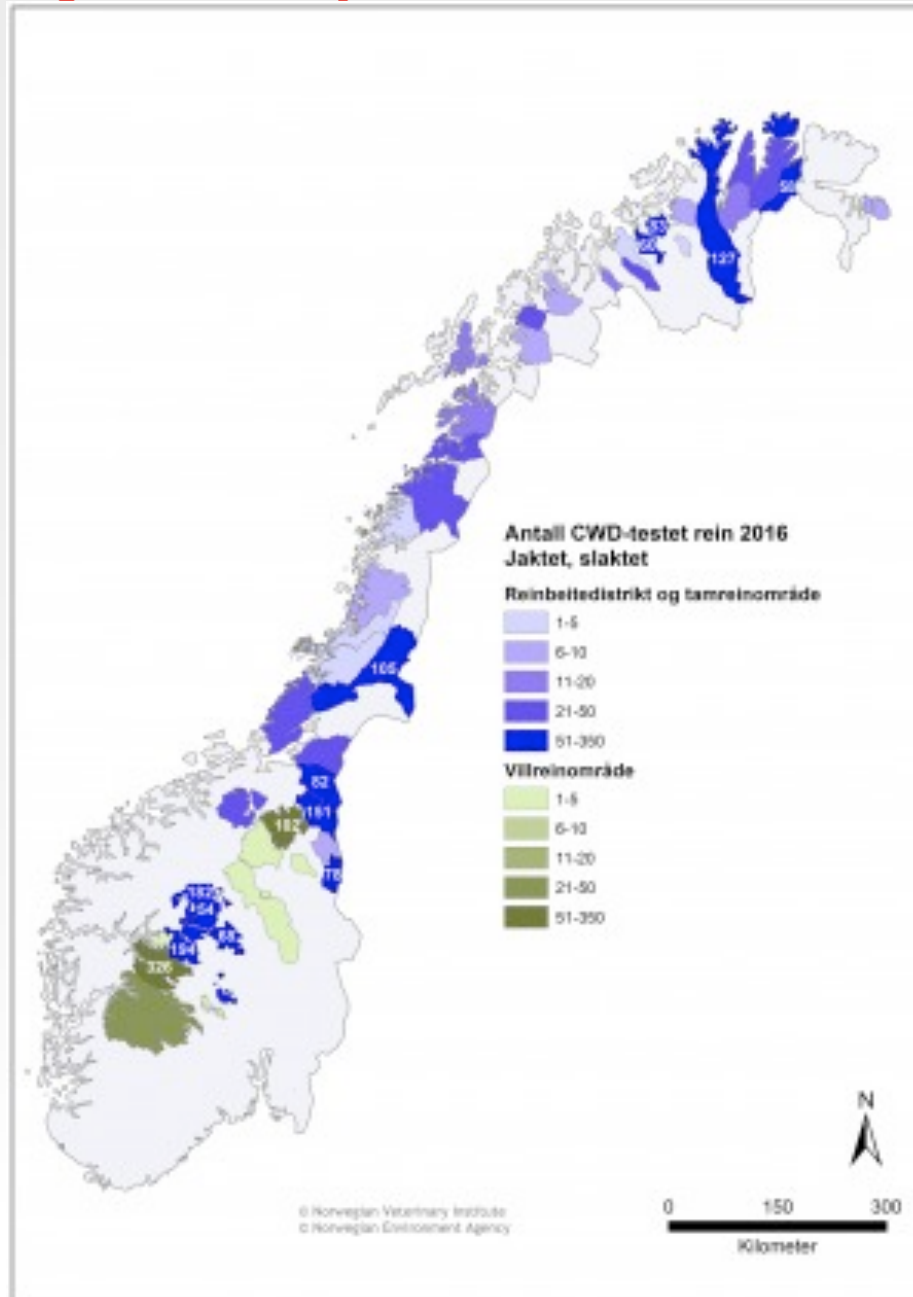
Abstract

Chronic wasting disease (CWD) is a fatal contagious prion disease in cervids that is enzootic in some areas in North America. The disease has been found in deer, elk and moose in the USA and Canada, and in South Korea following the importation of infected animals. Here we report the first case of CWD in Europe, in a Norwegian free-ranging reindeer in Southern Norway. The origin of the disease is unknown.

Until now a low number of cervids, and among them a few reindeer, have been tested for CWD in Norway. Therefore, the prevalence of CWD is unknown.



Testing for skrantesyke i 2016



Talet på rein slakta eller felt under jakt og som er testa for skrantesjuka i 2016. Berre område der minst éin rein Er registrert undersøkt, er markert på kartet. I område med meir enn 50 undersøkte dyr er talet undersøkte dyr gitt. (Grafikk: Attila Tarpai, Veterinærinstituttet)



Rapport om svensk elg med elgskrantesyndrom (MWS)



SHORT COMMUNICATION

Prion 6:3, 256-260; 2012

Polymorphisms and variants in the prion protein sequence of European moose (*Alces alces*), reindeer (*Rangifer tarandus*), roe deer (*Capreolus capreolus*) and fallow deer (*Dama dama*) in Scandinavia

Lotta Wik,¹ Sofia Mikko,² Mikael Klingeborn,^{1,†} Margareta Stéen,³ Magnus Simonsson⁴ and Tommy Linné^{1,*}

¹Division of Immunology; Department of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health; Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science; Swedish University of Agricultural Sciences; Uppsala, Sweden; ²Animal Genetics Laboratory; Department of Animal Breeding and Genetics; Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science; Swedish University of Agricultural Sciences; Uppsala, Sweden; ³Swedish Centre for Animal Welfare; Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science; Swedish University of Agricultural Sciences; Uppsala, Sweden; ⁴National Food Administration; Uppsala, Sweden

The prion protein (PrP) sequence of European moose, reindeer, roe deer and fallow deer in Scandinavia has high homology to the PrP sequence of North American cervids. Variants in the European moose PrP sequence were found at amino acid position 109 as K or Q. The 109Q variant is unique in the PrP sequence of vertebrates. During the 1980s a wasting syndrome in Swedish moose, moose wasting syndrome (MWS), was described. SNP analysis demonstrated a difference in the observed genotype proportions of the heterozygous Q/K and homozygous Q/Q variants in the MWS animals compared with the healthy animals. In MWS moose the allele frequencies for 109K and 109Q were 0.73 and 0.27, respectively, and for healthy animals 0.69 and 0.31. Both alleles were seen as heterozygotes and homozygotes. In reindeer, PrP sequence variation was demonstrated at codon 176 as D or N and codon 225 as S or Y. The PrP sequences in roe deer and fallow deer were identical with published GenBank sequences.





Viktige problemstillinger ved skrantesjuke i Norge

- Kvar kom skrantesjuka frå?
- Kor smittsam er den?
- Kva er smitemekanismane?
- Kan menneske bli smitta?
- Vil nedslakting av alle reinsdyra på Nordefjell fjerna sjukdomen?
- Er det behandlings- og vaksiner tilgjengelige mot prionsjukdommar?
- Kva hjortedyr er det i Norge? Reinsdyr, elg, hjort, rådyr, dådyr
- Kva diagnostiske metodar fins?
 - Omtala kliniske symptom på sjuke dyr

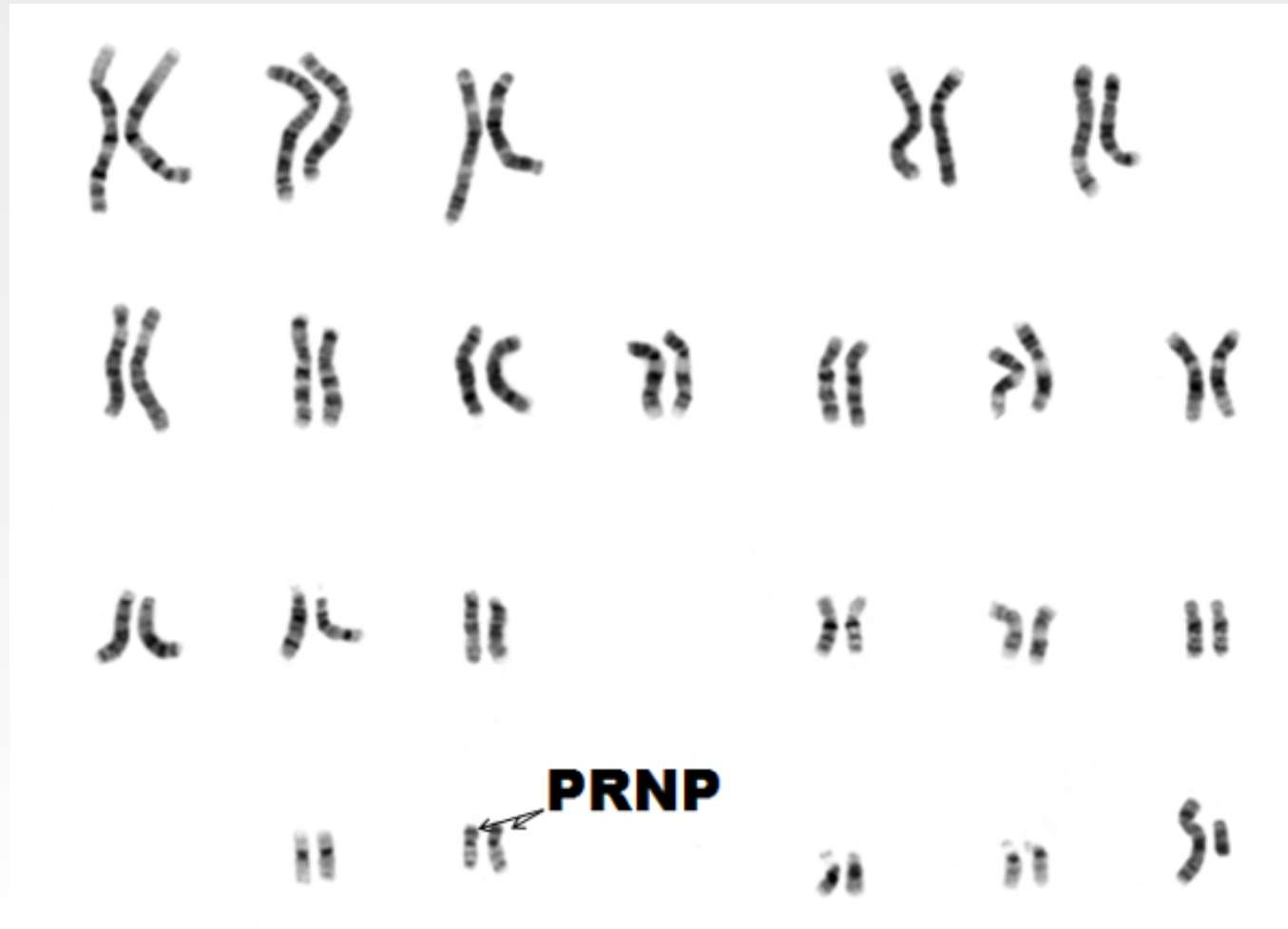
Analyse av daude dyr

- Immunhistokjemi av hjernesnitt
- Smitte til forsøksdyr

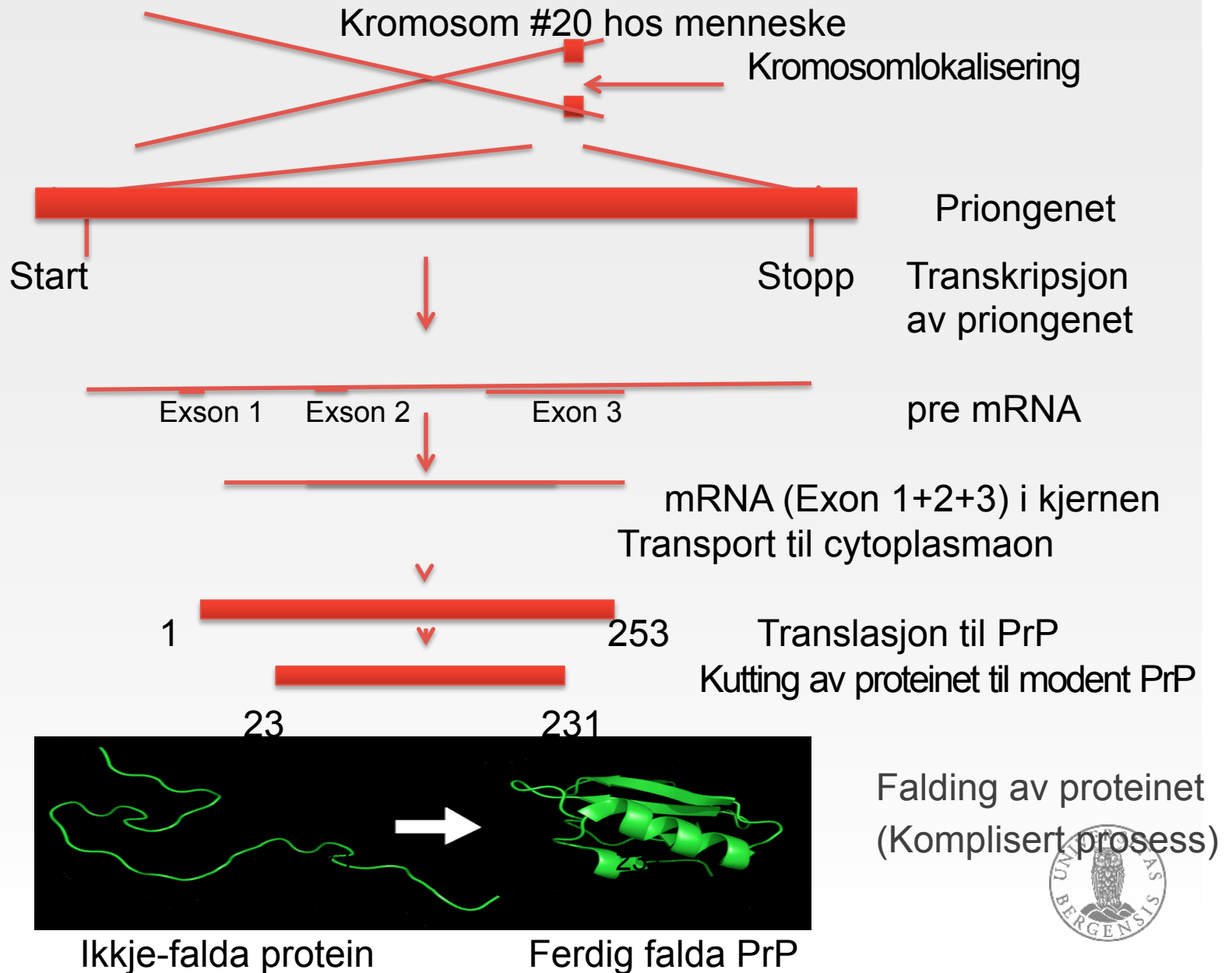




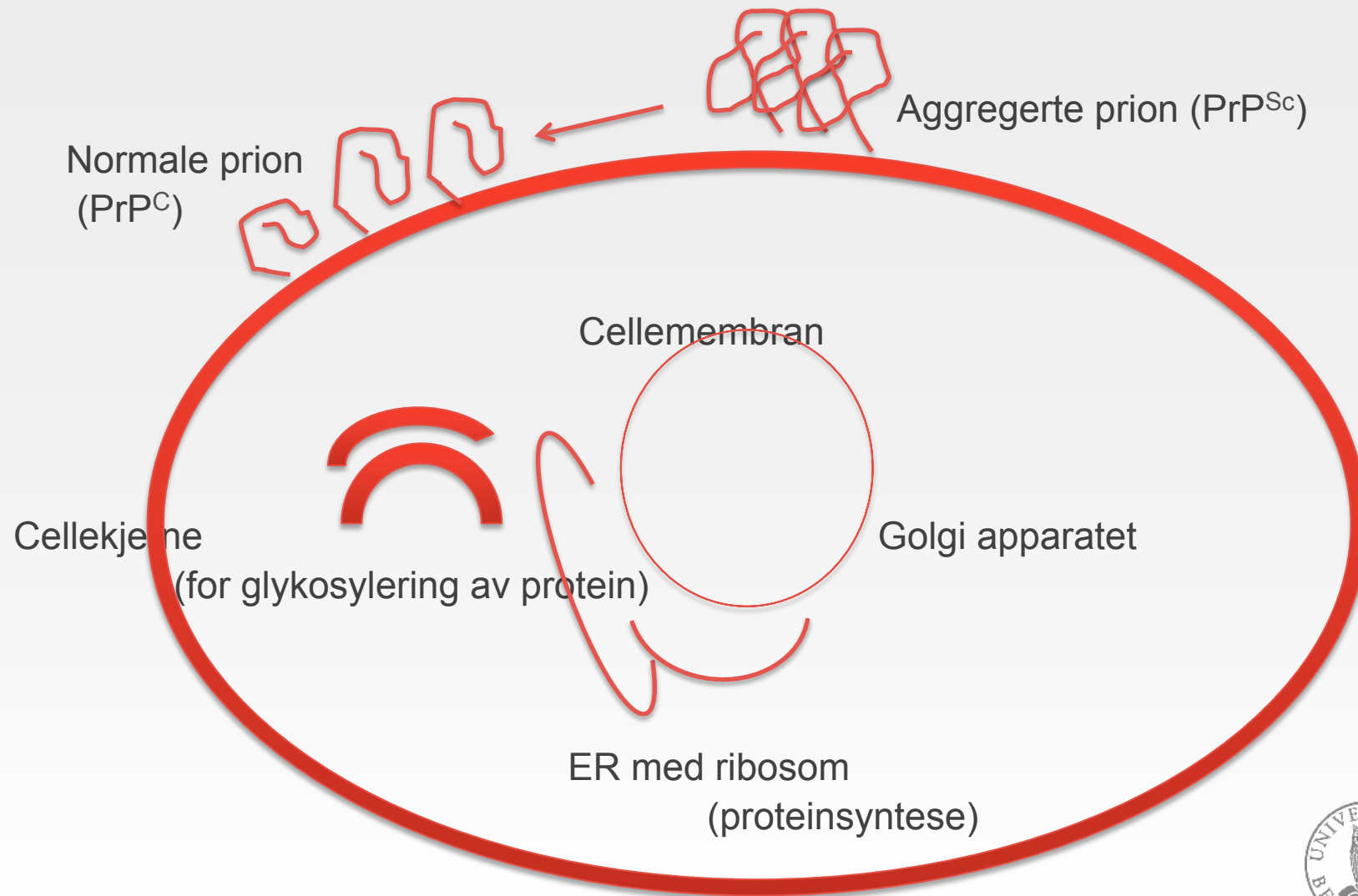
The human chromosomes



Uttrykking av prion: frå gen til protein



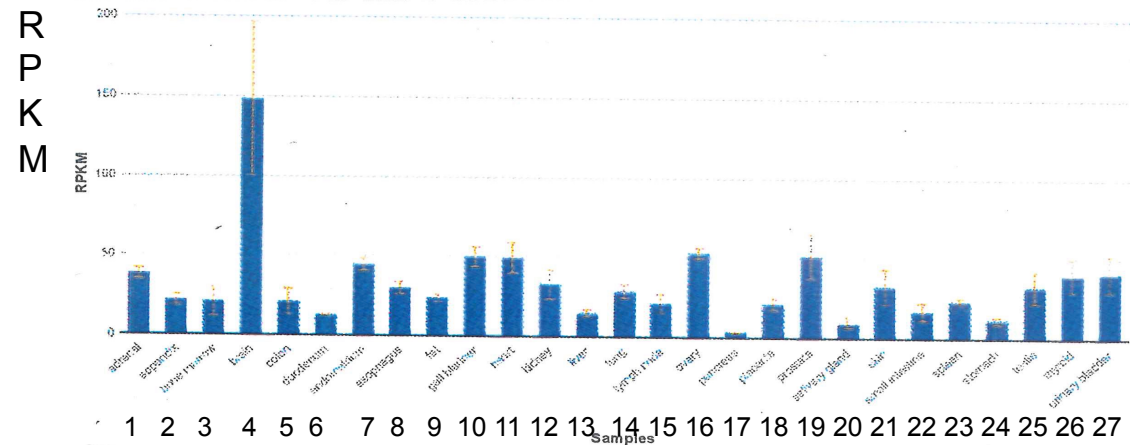
Celle med prion



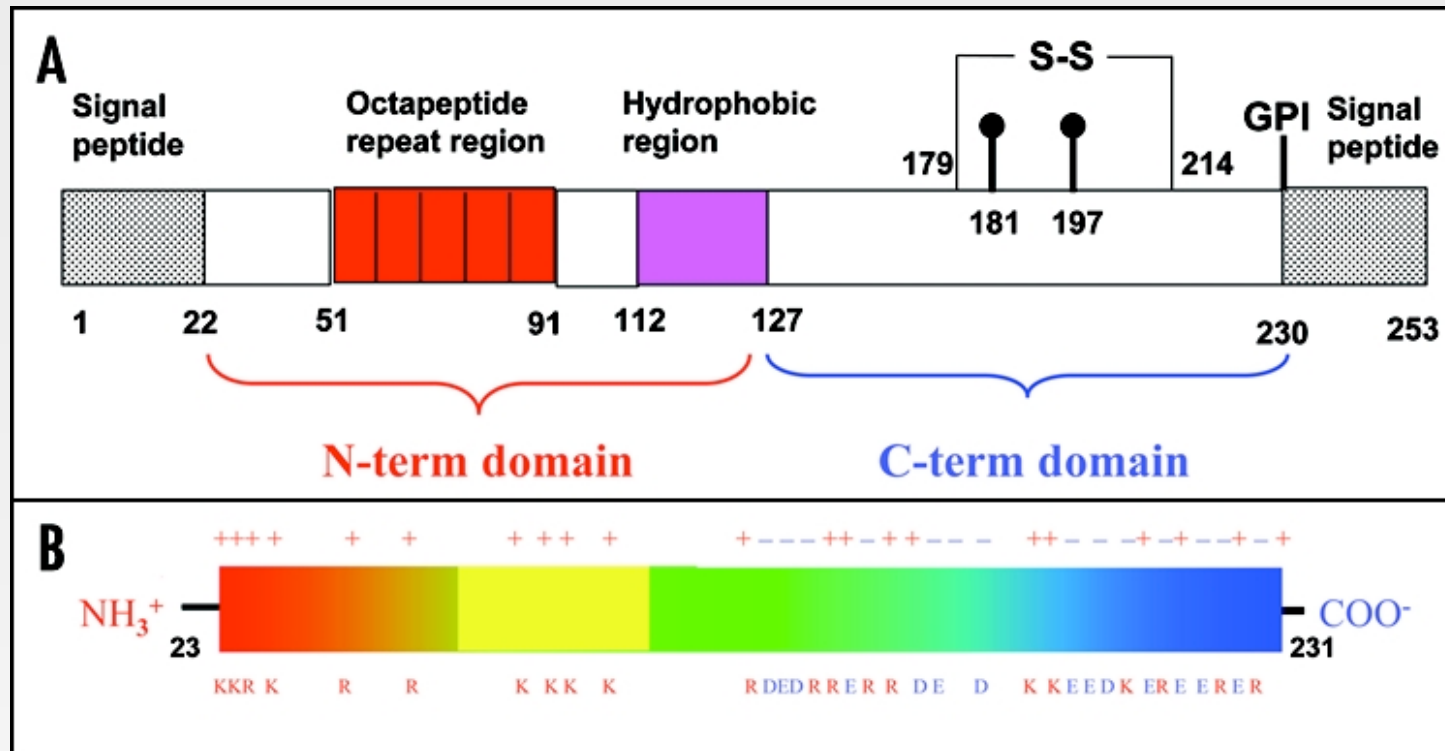
Vevsfordeling av PrP^C-uttrykking



- 1 Adrenal
- 2 Appendix
- 3 Bone marrow
- 4 Brain
- 5 Colon
- 6 Duodenum
- 7 Endometrium
- 8 Esophagus
- 9 Fat
- 10 Gall bladder
- 11 Heart
- 12 Kidney
- 13 Liver
- 14 Lung
- 15 Lymph node
- 16 Ovary
- 17 Pancreas
- 18 Placenta
- 19 Prostate
- 20 Salivary gland
- 21 Skin
- 22 Small intestine
- 23 Spleen
- 24 Stomach
- 25 Testis
- 26 Thyroid
- 27 Urinary bladder



Cellular and normal human prion protein



Overview of the PrP sequence. (A) Block diagram of the PrP architecture. The residue numbering refers to huPrP. The positions of the glycosylation sites are indicated at Asn181 and Asn197. Cys179 is covalently bound to Cys214. The number of octarepeats depends on the species considered. (B) Charge distribution along the sequence of huPrP. Only the charged residues are indicated. The N-terminus contains only positively charged residues (11 charges), whereas the C-terminus contains both types, with a slight excess of negative residues.



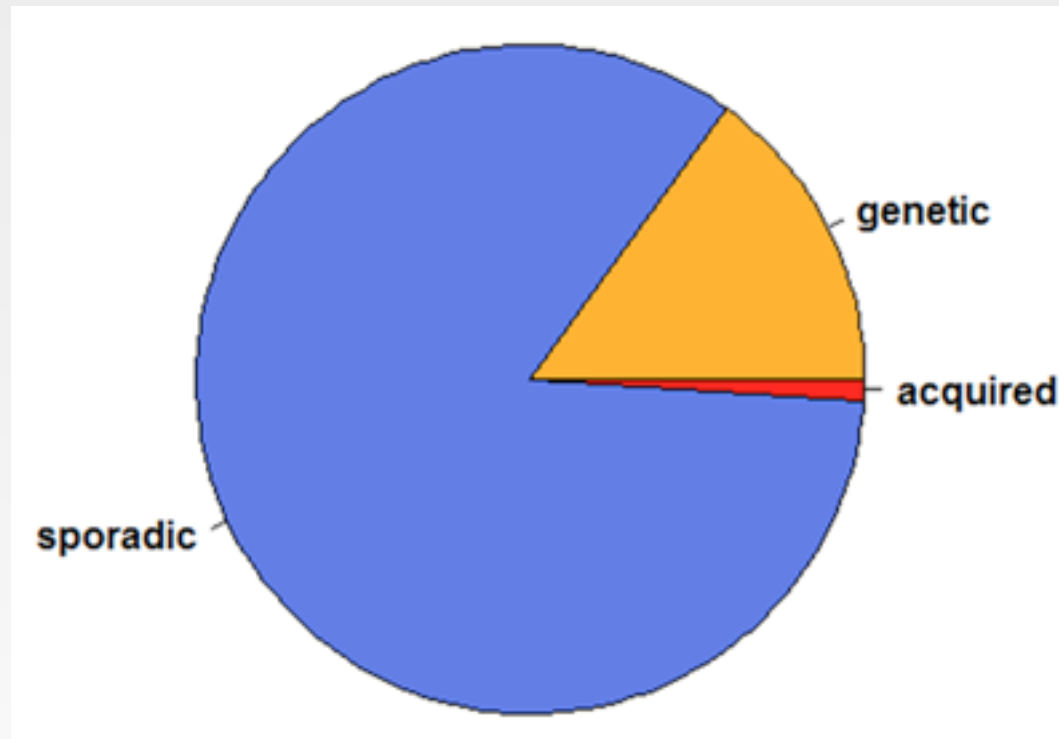
Døme på prionsjukdommar



Dyreart	Sjukdom	Klassifisering	Omtale av sjukdom	Først omtalt
Menneske	Creutzfeldt-Jakob sjukdom (CJD)	Sporadisk CJD (sCJD)	Spontan strukturendring av PrP eller somatisk mutasjon; gir 85% av alle CJD	1920-talet
		Familiær CJD (fCJD)	Lokalisert kimcellemutasjon som gir strukturendring i PrP; gir mest 15% av alle CJD.	1974
		Iatrogen CJD (iCJD)	Transplantasjon av hornhinne eller hjernehinne, innsetting av EEG elektroder, andre nervekirurgisk inngrep eller bruk av humane veksthormon som gir overføring av PrP frå sjuke personar.	1996
		Variant av CJD (vCJD)	Forbruk av kjøtt frå kveg som har kugalskap (BSE).	1996
	Gertman-Sträusler-Scheinker sjukdom (GSS)	Familiær GSS	Spesifikk kimcellemutasjon i PrP genet i nokre familiar. Gir strukturendring i PrP. Variasjon i mutasjonane kan føra til ulike sjukdomsutfall. Dette er den humane prion-sjukdommen som utviklas seinast.	1912
	Fatal insomnia	Fatal familiær insomnia (FFI)	Kimcellemutasjon funne i tilknytning til ein spesifikk polymorfisme i same gen.	1930
		Fatal sporadisk insomnia (FSI)	Spontan strukturendring av PPNP eller somatisk mutasjon i genet.	1991
	Kuru (skjelving)	Overføring frå daude personar	Overføring av sjukdomsframkallande PrP i samband til levande menneske med rituell kannibalisme hos Sør-For-folket på Papua Ny-Guinea.	1956
Sau og geit	Skrapesjuka		Mutasjon i PrP-genet som gir strukturendring i PrP. Ved smitte til friske dyr fører det til sjukdom.	1732
Kveg	Kugalskap	Bovin spongiform encephalopati (BSA)	Truleg overført frå daud sau med skrapesjuka nytta produksjon av fôr. Smitte til menneske som fekk vCJD?	1985
Hjortedyr	Skrantesjuka	Kronisk wasting sjukdom (CWD)	Funne hos fleire ulike hjortedyr og først omtalt som TSE tidleg på 1970-talet i USA	1970



Fordeling av årsak til ulike former av Creutzfeldt-Jakob sjukdom



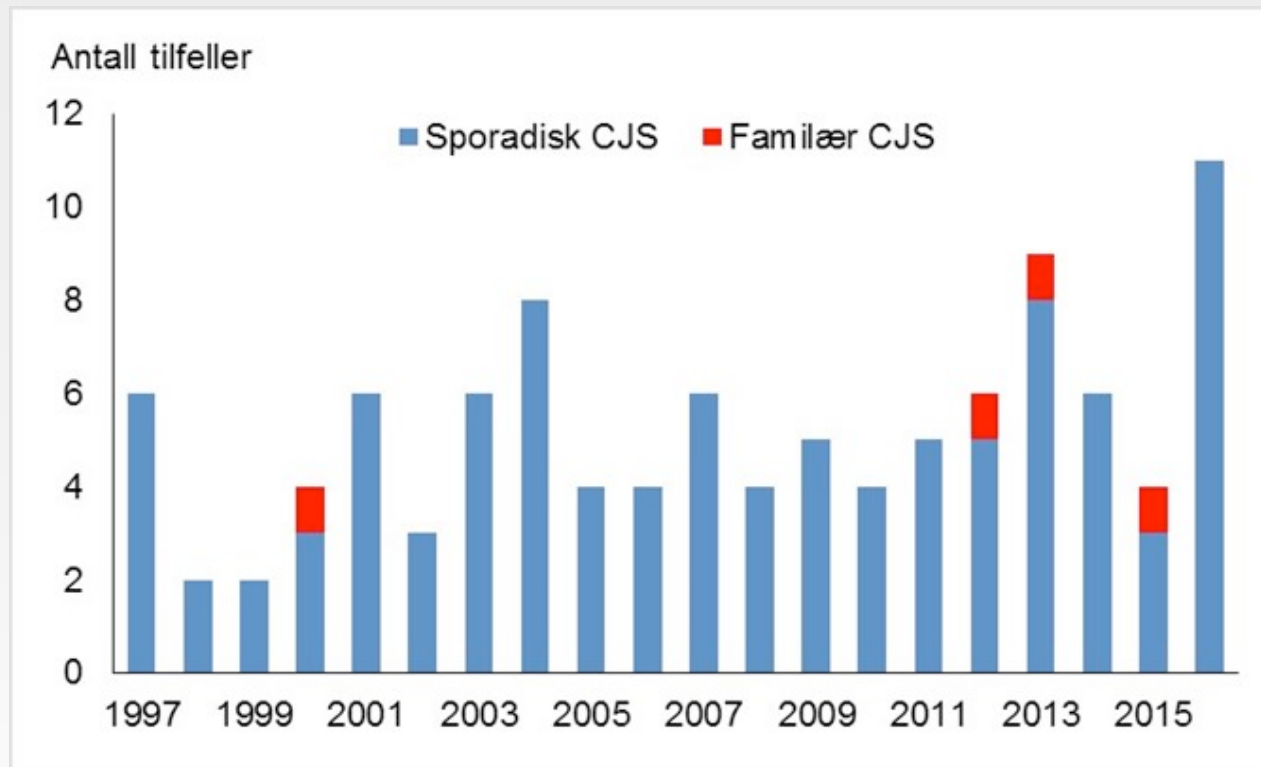
- Frekvens av CJD på verdsbasis er ca. 1: 1,5 mill.



Førekomst i Norge



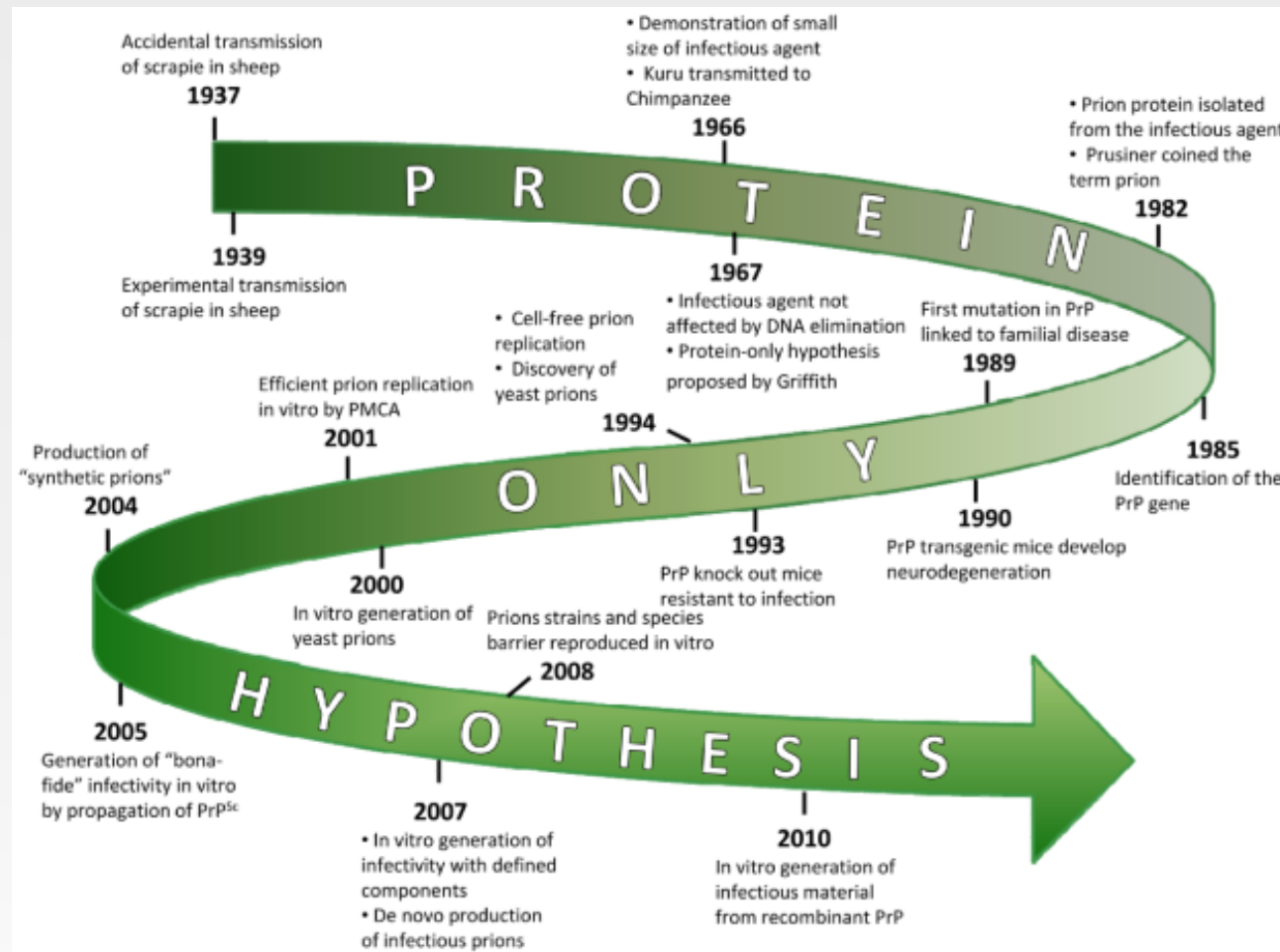
Meldingssystem for smittsame sjukdommar (**MSIS**) ved Folkehelseinstituttet



*Tilfelle av antatt Creutzfeldt-Jakobs sjukdom meldt
MSIS 1997-2016 etter dødsår og type sjukdom.
Dei fleste i aldersgruppa 60 – 90 år*



Utvikling av prionhypotesen



- Figure 1. A timeline representation of the major milestones in the prion hypothesis
- Starting with the initial indication that prion diseases can be transmissible, owing to the accidental transmission of scrapie in sheep and ending with the demonstration that infectious material can be generated *in vitro* using pure recombinant prion protein, the prion field has always been full of unorthodox discoveries.



Saueflokkar med skrapesjuke påvist i Norge 1980 - 2016



Ikkje klassifisert
Klassisk
Nor98

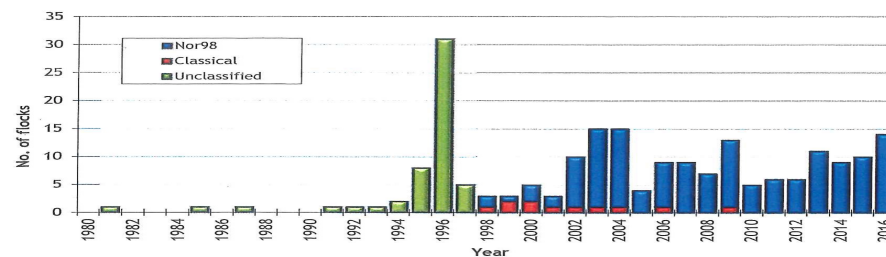


Figure 1. Annual number of sheep flocks and goat herds diagnosed with classical scrapie and Nor98 scrapie during the time period 1980-2016. Before 1998 the cases were not classified according to type of scrapie, but the majority of the scrapie cases are supposed to have been the classical type.



Analyse for skrantesjuka hos norske hjortedyr i 2017



Artskategori	Antall negative	Antall positive
Villrein	2913	9
Nordfjella 1	1172	9
Nordfjella 2	54	0
Hardangervidda	936	0
Andre områder	740	0
Ukjent	11	0
Tamrein	10934	0
Rein i dyrepark o.l.	3	0
Vill hjort	3631	1
Gjemnes	141	1
Andre områder	3451	0
Ukjent	39	0
Oppdrettshjort	450	0
Elg	5455	1
Selbu-sonen	1702	0
Lierne	100	1
Andre områder	3581	0
Ukjent	72	0
Elg i dyrepark o.l.	3	0
Rådyr	1954	0
Dåhjort (dådyr)	21	0
Ukjent art	281	0
Totalt i 2017	25645	11
Totalt til i dag (1/2/18)	37159	18



Diagnostiske metoder for prionsjukdom



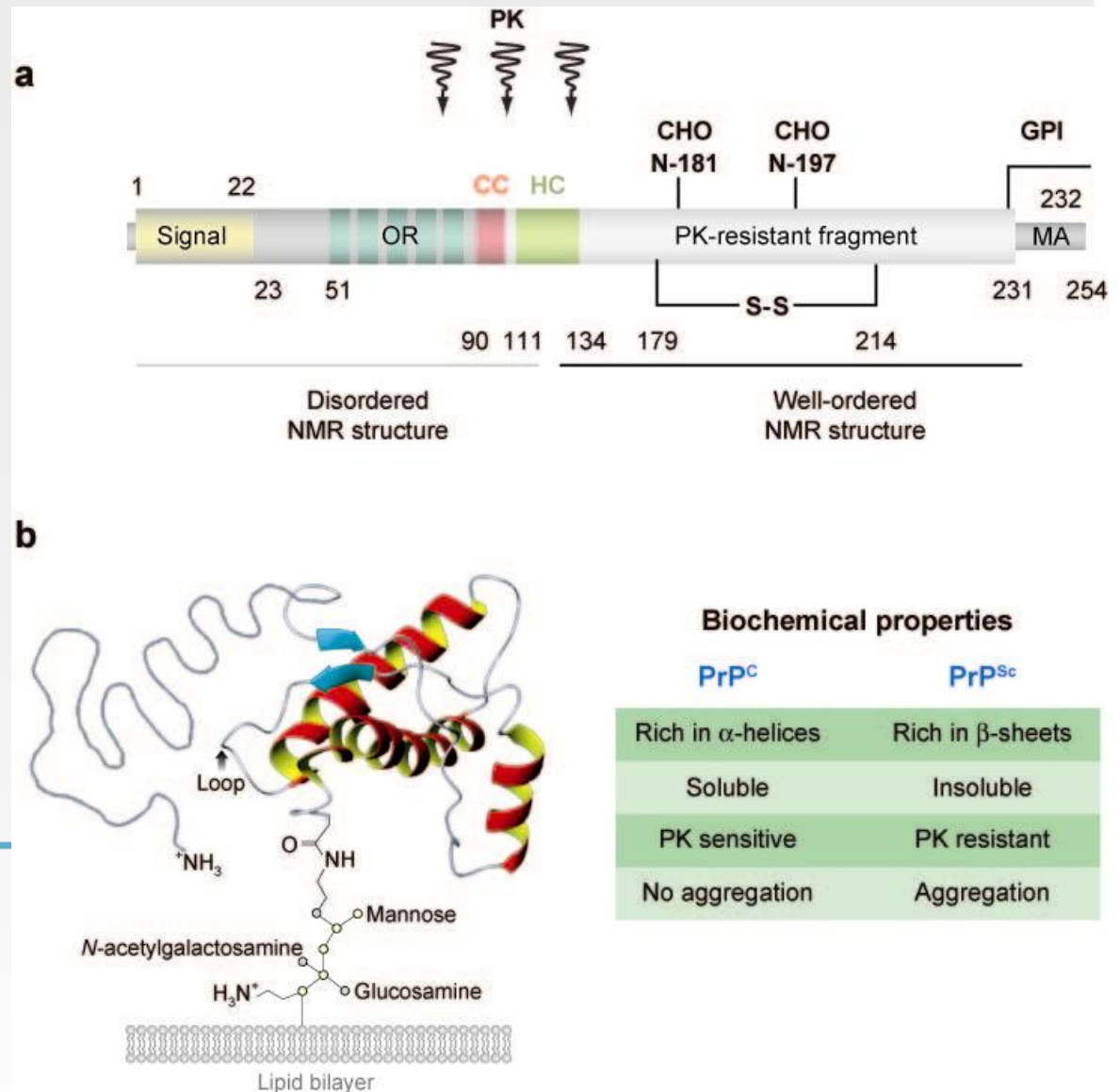
- Klargjera kliniske symptom på levande dyr eller menneske
- Post-mortem histopatologisk analyse av hjernevev for å finna spongiform endringar og amyloide flekkar. Nevropatologisk analyse er "gullstandaren" for TSE diagnose.
- Immunhistokjemisk analyse av PrP^{Sc} i sentralnervesystemet og lymfevev er den mest spesifikke metoden.
- Prion-biotest er tidskrevande sidan det tar lang tid for at smitta dyr utviklar sjukdomen, men er den mest sensitive metoden. Genetisk endra mus som er PrP-negativ (knockout) mutantar og transgene mus som uttrykker høge nivå av heterogene PrP^C (*t.d. humant eller bovint*) har vist eit stort potensiale for detektering av humane og bovine PrP^{Sc}. Transgene mus som uttrykker høge nivå av bovint PrP^C er kring 10 gonger meir sensitive enn kveg.
- Den mest nytta diagnostiske testen no brukar den relative protease-resistensen til PrP^{Sc} i prøvar frå hjerne for å skilja mellom PrP^C og PrP^{Sc}, i kombinasjon med antistoff mot PrP og proteinase K-resistent del av PrP^{Sc} (PrP 27–30).
- ***Platelia test (ELISA, BioRad)***
Handsaming av prøvar involverer inkubering med protease etterfølgd med utfelling og sentrifugering for konsentrering av prøven for å auka sensitiviteten med ELISA analyse. Då kan mange prøvar testas parallelt. Denne analysemetoden er internasjonalt godkjent.
- Ingen sensitive og godkjent analysar for å testa levande dyr eller menneske



Prionstruktur

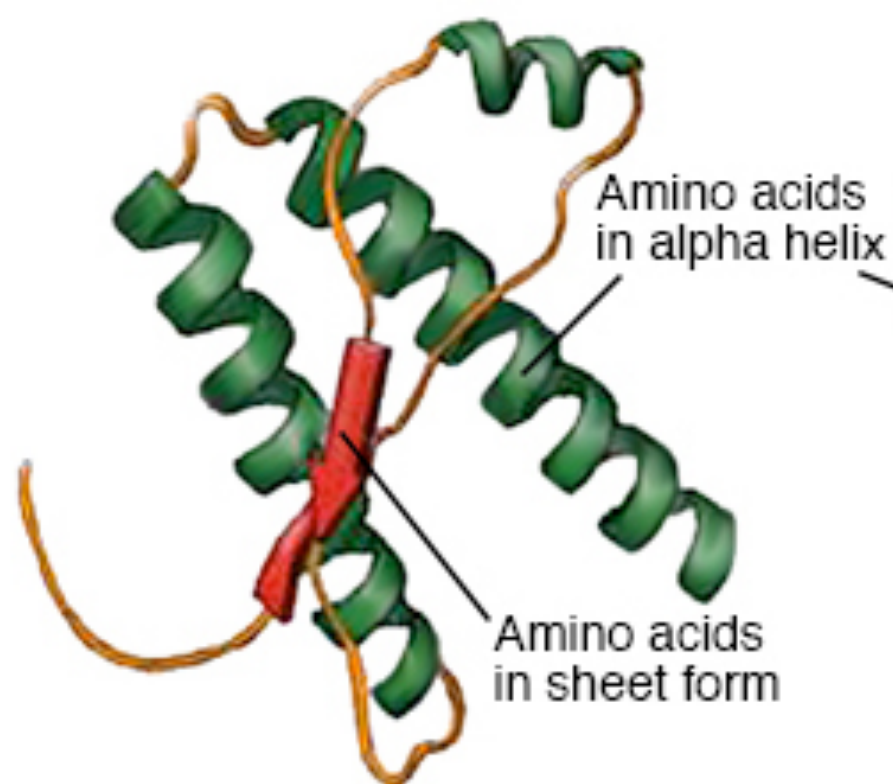
Figure 2

Structural features and biochemical properties of the cellular prion protein. (a) Scheme of the primary structure of the cellular prion protein and its posttranslational modifications. A secretory signal peptide resides at the extreme N terminus. The numbers describe the positions of the respective amino acids. The proteinase K (PK)-resistant core of PrP^{Sc} is depicted in gray; the approximate cutting site of PK within PrP^{Sc} is indicated by arrows. CC (pink), charged cluster; HC (green), hydrophobic core; S-S, single disulfide bridge; MA, membrane anchor region; GPI, glycosyl phosphatidyl inositol; CHO, facultative glycosylation sites; NMR nuclear magnetic resonance. (b) Tertiary structure of the cellular prion protein, as deduced from NMR spectroscopy, inserted into a lipid bilayer, including the unstructured N-terminal tail (gray) and the GPI anchor. The α -helices are indicated in red; the antiparallel β -sheets are shown in turquoise. Sugar residues are shown as colored small circles. See figure for biochemical properties of PrP^C and PrP^{Sc}. Figure adapted with permission from References 24 and 25.

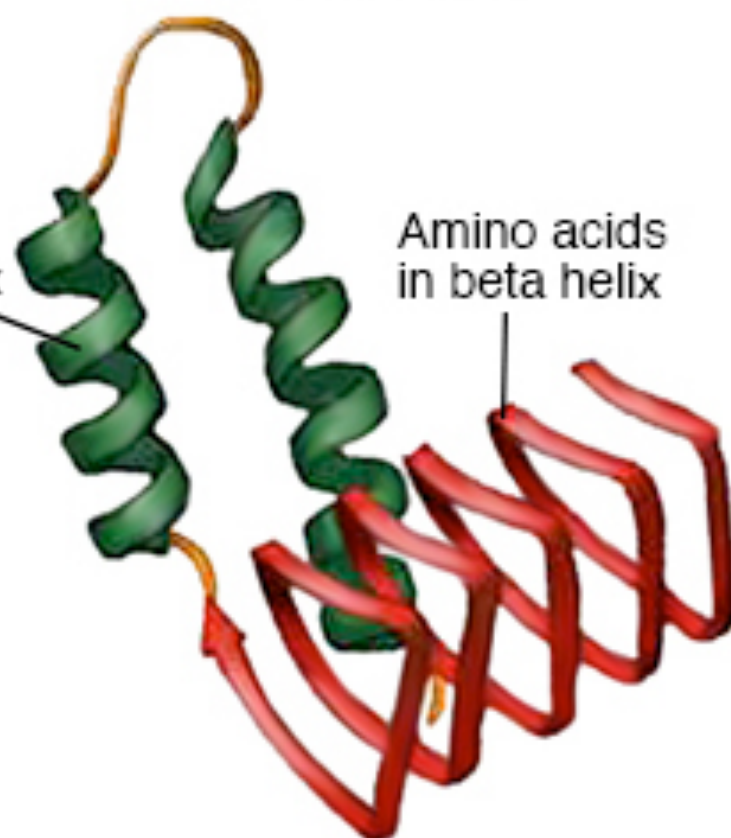


Aguzzi A, et al. 2008.
Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 3:11–40

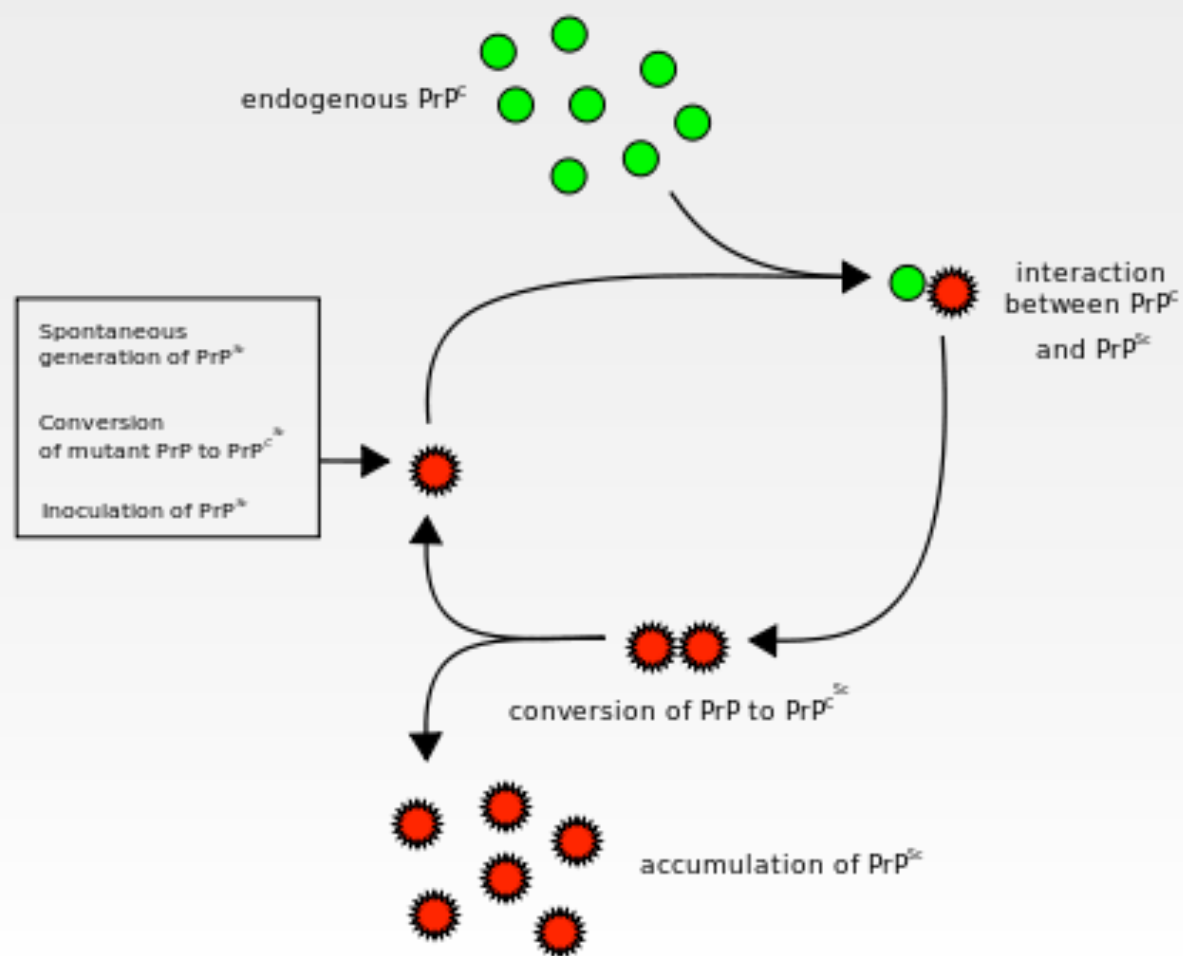
Normal prion



Diseased prion



Model for produksjon av PrP^{Sc} frå PrP^C

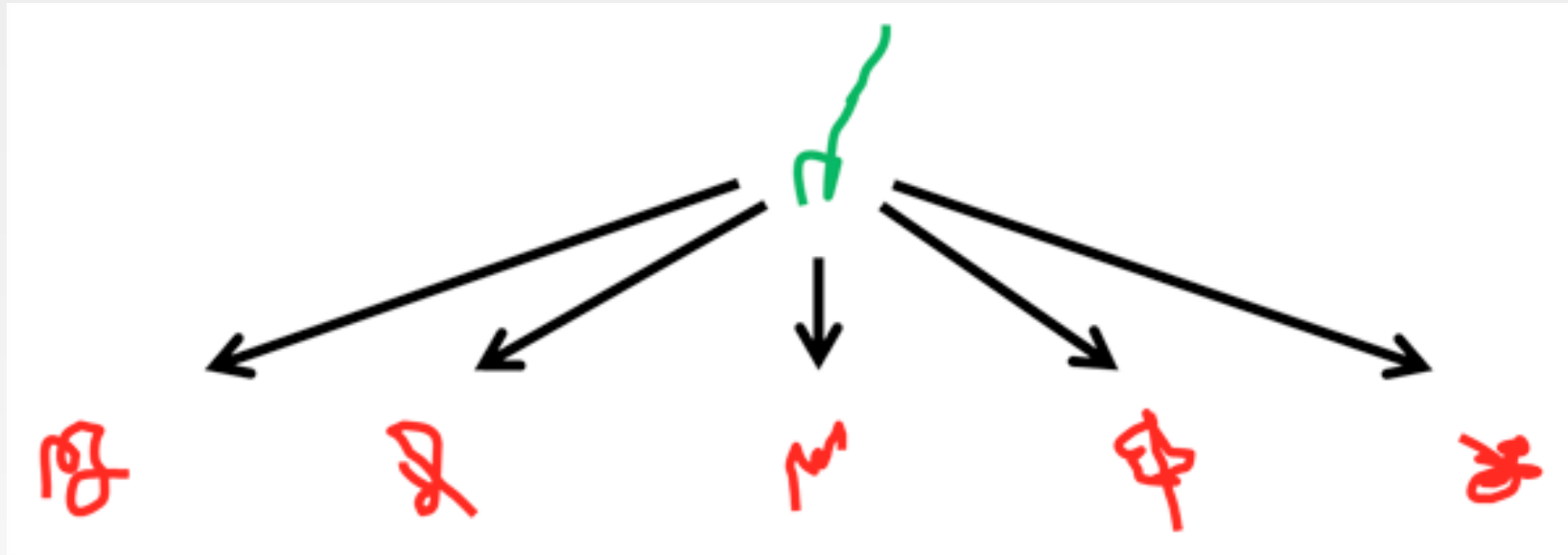




Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 3:11–40

Models of PrPC to PrPSc conversion. (a) The antibodies POM3 and POM2 are indicated in black and red, respectively. In the case of murine PrPC and the Rocky Mountain Laboratory prion strain (RML), POM2 binds an epitope on the N terminus of PrPC that is also present on PrPSc. In contrast, upon conversion from PrPC to PrPSc, the POM3 epitope is buried, and therefore accessible only on the PrPC molecule. (b) The noncatalytic nucleated polymerization model proposes that the conformational change of PrPC into PrPSc is thermodynamically controlled: The conversion of PrPC and PrPSc is a reversible process, but at equilibrium strongly favors the conformation of PrPC. Converted PrPSc is maintained only when it adds onto a fibril-like seed or aggregate of PrPSc. Once a seed is present, further monomer addition is accelerated.

Alternative foldingar av PrP



A dizzying number of different forms of human prion disease. Kuru and vCJD, two strains that people have acquired by infection, are probably the most famous but also the most rare. There are also at least 6 strains of sporadic prion disease and over 40 genetic mutations that cause prion disease



Proteinfolding



Den genetiske koden: Universal- Degenerativ- Linear

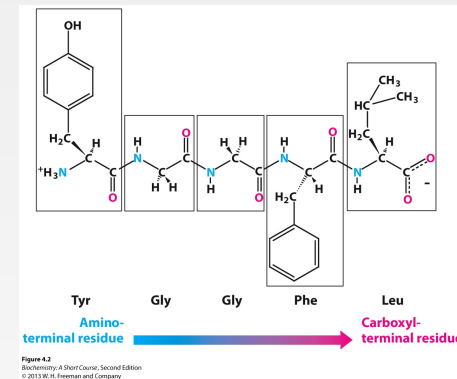
A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
Ala	Arg	Asn	Asp	Cys	Gln	Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
5' GCA	CGA	AAC	GAC	UGC	CAA	GAA	GGA	CAC	AUA	CUA	AAA	AUG	UUC	CCA	UCA	ACA	UGG	UAC	GUA
C	C	U	U	U	G	G	C	U	C	C	G	U	U	C	C	C	U	U	C
G	G						G		U	G				G	G	G			G
U	U						U			U				U	U	U			U
	AGA									UUA					AGC				
	G									G					U				

N-terminus

C-terminus

- Peptidbindingar mellom aminosyrene i eit protein

- Falding av peptidkjede



α-heliks

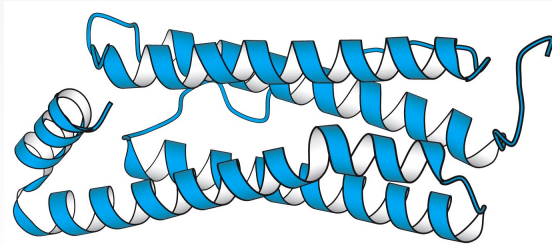


Figure 4.14
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

β flak

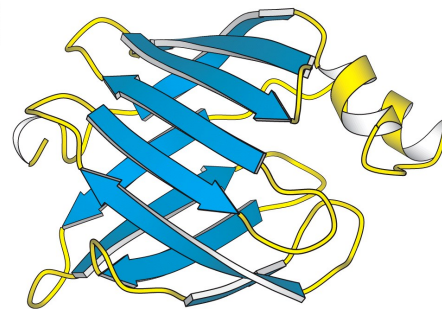
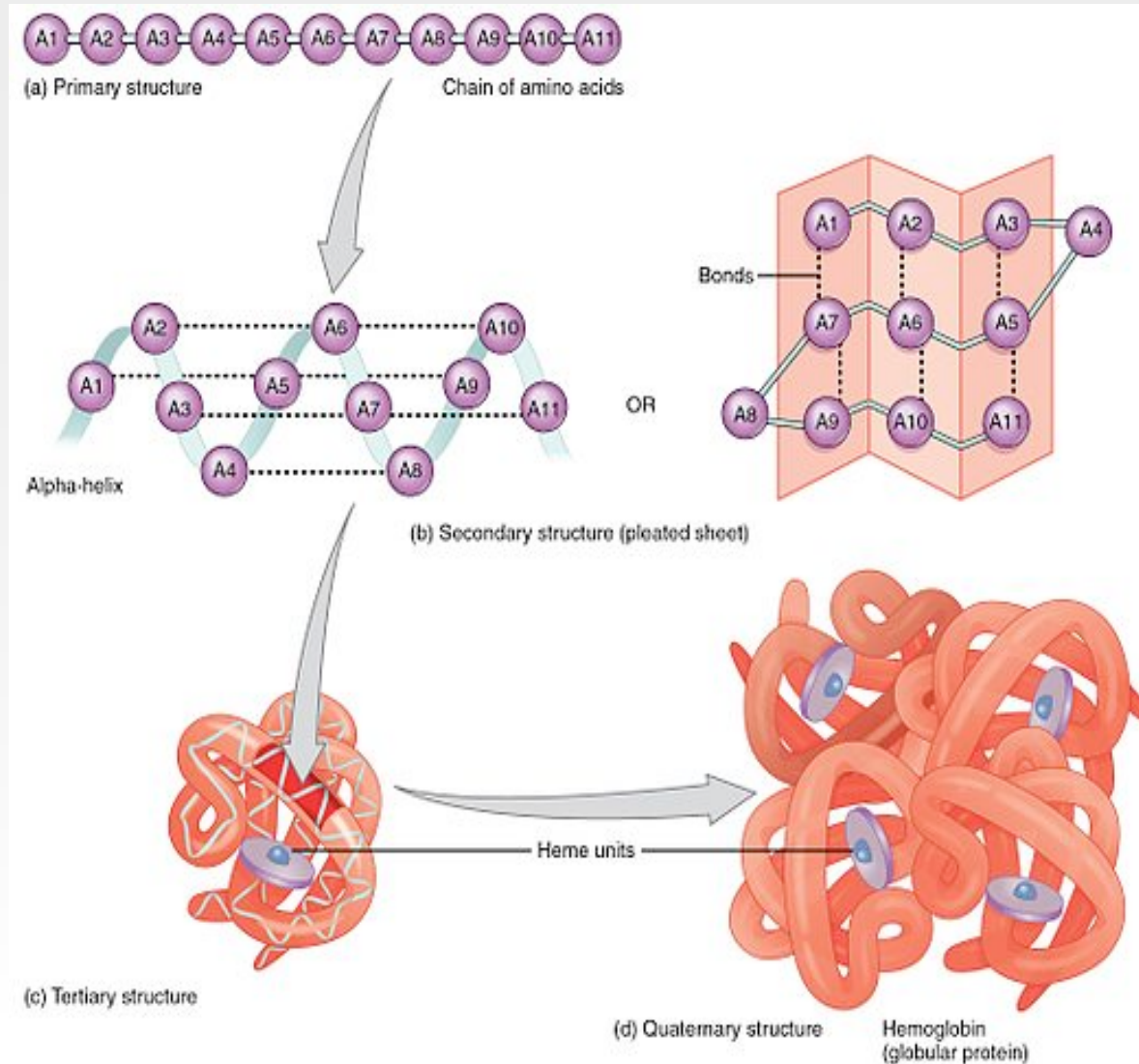


Figure 4.15
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

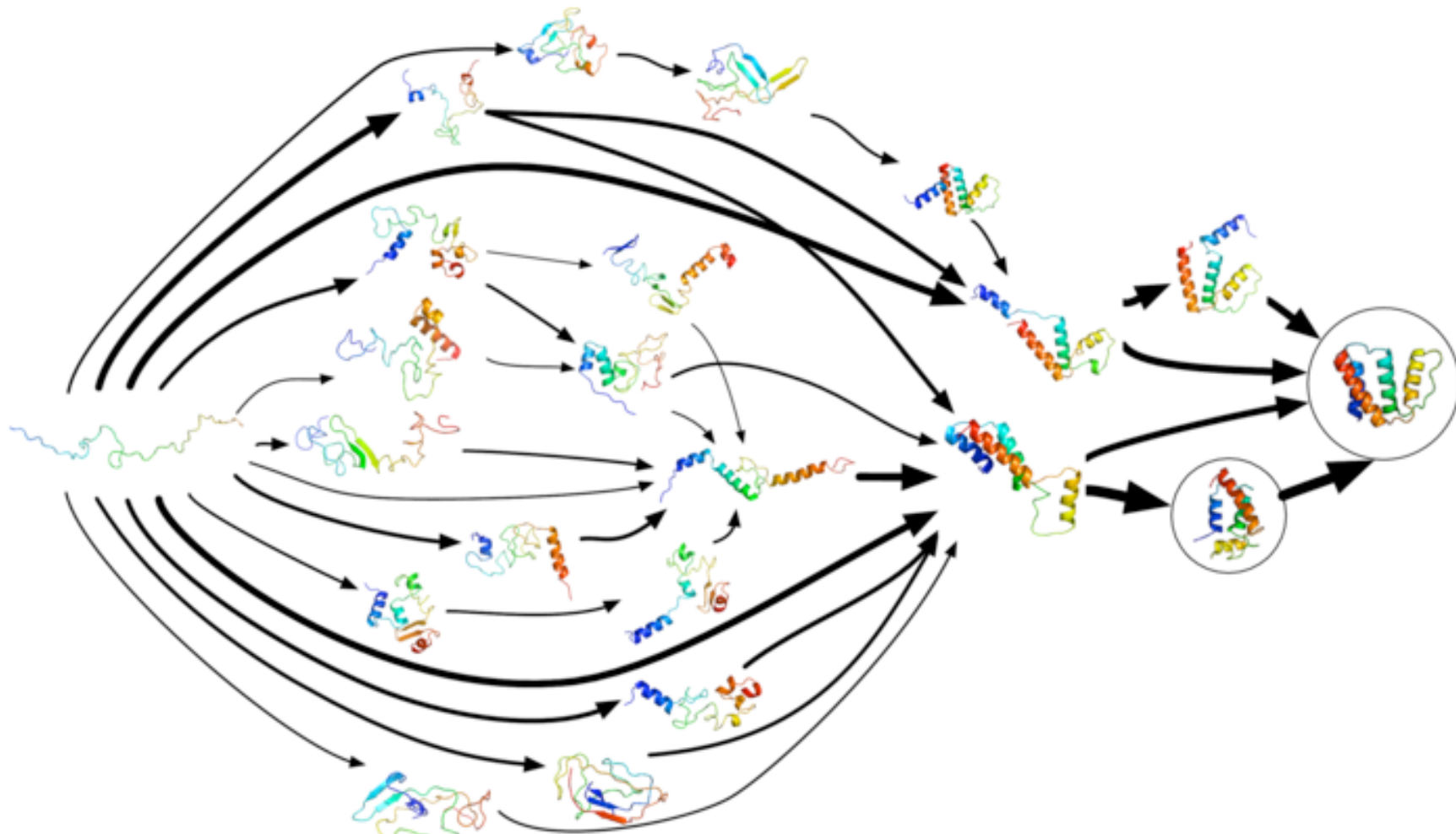




All forms of protein structure summarized



Komplekse steg i proteinfolding



Folding@home uses [Markov state models](#), like the one diagrammed here, to model the possible shapes and folding pathways a protein can take as it condenses from its initial randomly coiled state (left) into its native 3D structure (right).



Amyloide protein for nokre sjukdomar



Disease

Alzheimer's disease

Diabetes mellitus type 2

Parkinson's disease

Huntington's disease

Atherosclerosis

Aortic medial amyloid

Protein

Beta amyloid from amyloid precursor protein

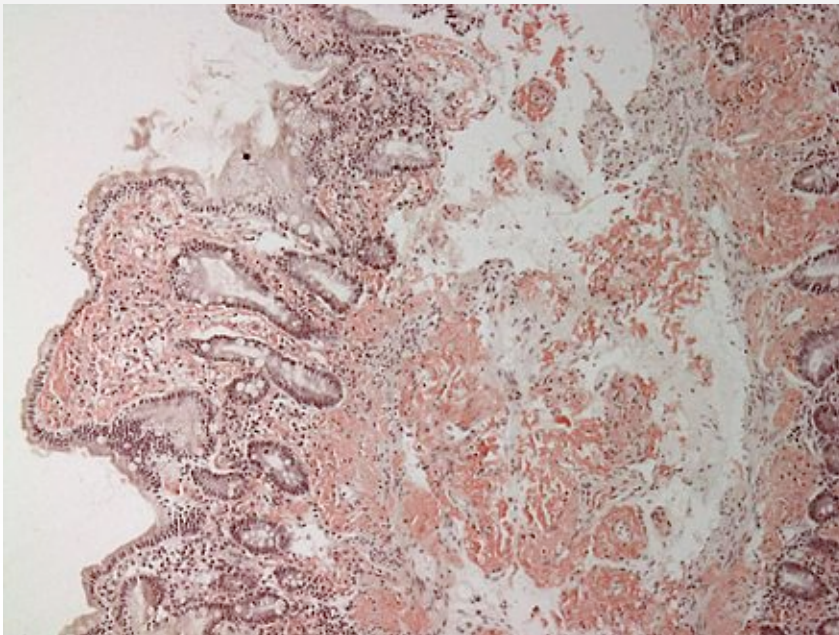
IAPP (Amylin)

Alpha-synuclein

Huntingtin

Apolipoprotein A1

Medin



Micrograph showing amyloid deposition in small bowel.
Congo red stain.





<https://www.vetinst.no/>

Takk for meg!
Dag
helland@uib.no

