5. 酵母プリオンの分子生物学

中屋 敷 徹, 中村 義一

出芽酵母 (*S. cerevisiae*) には酵母プリオンと呼ばれるタンパク質が存在する。酵母プリオンは哺乳類の PrP のように、異常型のタンパク質が正常型のタンパク質を異常型に変換してしまうという性質を持っている。現在のところこのようなタンパク質に Ure 2 p と Sup35p という二種類が知られている。特に Sup35p は N 末端にオリゴペプチドリピート構造をもっていてこの点も PrP と共通している。本稿では Sup35p のプリオンの特性 ([PSI⁺]) について、一次構造の特徴、分子シャペロンの影響、(酵母種間での) 伝搬性の障壁など最近の研究成果を紹介する。

はじめに

「酵母プリオン」という言葉に聞き覚えがある方は少ないかもしれない。酵母に哺乳類のプリオン (PrP) に相当するタンパク質が存在するというのでもなければ、酵母に伝搬する病原性のタンパク質があるわけでもない。「酵母プリオン」という名前が命名された所以は、異常型のタンパク質が正常型のタンパク質の立体構造を異常型に変換するというプリオン様な性質を持っていることに起因する。

このような遺伝因子は遺伝子の変異を伴わないためメンデル遺伝の法則に従わない。異常形質の原因がタンパク質自身の立体構造にあるので細胞質因子の遺伝形質を持つことになる。図1にメンデル遺伝とプリオン型遺伝の情報の流れを示した。メンデル遺伝が DNA を起点とした一次構造の情報の流れであるのに対して、プリオン型の遺伝はタンパク質をベースにした立体構造情報の遺伝であると考えられる。このような奇妙な振る舞いをする「感染 (あるいは伝搬) 性タンパク質」について紹介する。

1. 酵母プリオンについて

酵母プリオンという概念は1994年に R. B. Wickner によ

東京大学医科学研究所 (〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1 東京大学医科学研究所基礎医科学部門遺伝子動態分野)

Molecular Biology of Yeast Prions

Toru Nakayashiki and Yoshikazu Nakamura

Department of Basic Medical Sciences, Institute of Medical Science, University of Tokyo, 4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan

ってはじめに提唱された²²⁾。*S. cerevisiae* の非メンデル遺伝因子である [URE3] が Ure 2 p というタンパク質の異常型によって引き起こされること示し、タンパク質をベースとした遺伝機構と哺乳類のプリオン (PrP) が伝搬していく機構の類似点を指摘した。Wickner は論文に、同じように非メンデル遺伝因子である [PSI⁺] も同じ機構が働いている可能性も指摘した。現在まで酵母プリオンと認められ、よく研究されている遺伝因子は [URE3] と [PSI⁺] の二つである。酵母プリオンと哺乳類プリオンのこれまでにわかっている共通点として、プロテアーゼ抵抗性¹⁴⁾、*in vivo* での凝集体の形成¹⁸⁾、*in vitro* でのアミロイド様のファイバーの形成⁹⁾などが挙げられる (表1)。

図1 メンデル遺伝とプリオン型遺伝の情報の流れ
メンデル遺伝ではタンパク質の一次構造情報が DNA→RNA→Protein と直線的に受け継がれていくが、プリオン型遺伝ではタンパク質の立体構造がすでに細胞内にあるタンパク質の立体構造によって規定されるため、タンパク質をベースにした立体構造情報の遺伝という形を取る。*は変異型を示す。

表1 PrP と $[PSI^+]$ の比較

	PrP	$[PSI^+]$
タンパク質の機能	unknown	translation termination
タンパク質の局在	membrane bound	cytoplasmic
オリゴペプチドリピート	YES	YES
Q/N に富んだ配列	NO	YES
不安定な N 末端構造	YES	YES
プロテアーゼ抵抗性	YES	YES
<i>In vivo</i> での凝集体形成	YES	YES
<i>In vitro</i> でのファイバー形成	YES	YES
非メンデル性遺伝	YES	YES
感染性・伝搬性	YES	YES
伝搬性の障壁	YES	YES

図2 *S. cerevisiae* Sup35p と Human PrP の一次構造

S. cerevisiae Sup35p は N, M, C の3つのドメインから構成される。Nドメインにプリオン性の性質を与えている配列があり、Cドメインは酵素活性をもった機能ドメインである。Mドメインの働きは今のところよくわかっていない。*S. cerevisiae* Sup35p と Human PrP の共通の特徴である5回のオリゴペプチドリピート配列を抜き出して示した。

〔*URE3*〕は *Ure2p* というタンパク質の異常型によって引き起こされるが、このタンパク質は本来窒素代謝に関わるタンパク質である。酵母ではグルタミンやアンモニアなどの窒素源が培地中に豊富にあるとき、*Dal5p* による窒素源の透過機構は抑制されている。*ureidosuccinate* はピリミジンの生合成における中間物質であるが、*Dal5p* によって細胞内に透過されるため、野生型ではアンモニア存在下で細胞内に取り込むことが出来ない。アンモニア存在下でも *ureidosuccinate* を細胞内に取り込めるようになった変異体が *ure* 変異体であり、*Ure2p* は *Dal5p* を転写レベルで抑制している転写因子である。〔*URE3*〕では *Dal5p* の転写抑制がなくなっているため、恒常的に *Dal5p* による透過機構が働いている。

一方、〔*PSI*⁺〕は翻訳終結に関わるペプチド鎖解離因子 *Sup35p* (eRF3) の異常型タンパク質によって引き起こされる。*Sup35p* は eRF1 と結合してタンパク質合成にお

ける終止コドンを経験して合成されたペプチド鎖を解離する反応を触媒する。〔*PSI*⁺〕では大部分の *Sup35p* の機能が損なわれているため、終止コドンの認識が正常におこなわれなくなっている。このため、センスコドンが終止コドンに変わってしまった変異を抑制してしまう（ナンセンスサプレッサー活性）。

変異体自体は、〔*PSI*⁺〕が1965年⁹⁾、〔*URE3*〕が1971年¹²⁾と古くからメンデル遺伝に従わない遺伝形質として同定されていた。1994年の Wickner 「酵母プリオン」という概念の提唱とともに研究は飛躍的に進み、現在に至るまでトップジャーナルをにぎあわせるトピックとなっている。本稿では主に〔*PSI*⁺〕について紹介する。

2. 〔*PSI*⁺〕の一次構造

PrP と *Sup35p* の一次配列における相同性はほとんど確認できない。しかし、タンパク質の一次構造上共通した構

表2 酵母種 Sup35p のプリオンドメインに見られるオリゴペプチドリピート

酵母種	リピート配列	リピートの始まる位置						
<i>S. cerevisiae</i>	YNPQGGYQQ	55	63	73	82	(92)		
<i>C. maltosa</i>	GGYQQNYNNR	63	75	85	95	(105)		
<i>D. hansenii</i>	GYQNYNQ	71	79	86	96	(104)	119	
	ATEKETTPA	173	183	192	201	210	220	244
<i>K. lactis</i>	QGYNAQQ	34	44	61	75	82	117	
<i>Y. lipolytica</i>	FVPGQS	40	46	52				
	QGGYQGGYQGGY	70	82	98	116	134		
	GGALKIGGDKP	180	193	207	221	234		
	KESTP	260	265	274				
<i>Z. rouxii</i>	GGYGGY	36	42	48	54	72		

リピートの検索はコンピューター解析によって行われた。() はコンピューターによって認識されなかったが相同性のある配列を示す。

造をもっている。オリゴペプチドリピートの存在である(図2参照)。リピートユニットの配列は異なるが(Sup35pではYNPQGGYQQ, PrPではPHGGGWGQ), 両者ともに5回の繰り返し配列をタンパク質のN末端にもっている。家族性のクロイツフェルト・ヤコブ病には、この繰り返し配列が5~8回過剰挿入されたものが見つかっている。この現象は $[PSI^+]$ でも確認されており、リピート配列過剰挿入が $[PSI^+]$ への変換の頻度を高めることが報告されている¹³⁾。

Sup35pでは酵素としての機能を有している機能ドメイン(Cドメイン)とプリオン化を引き起こすドメイン(NMドメイン)とに完全に分かれている(図2)。*S. cerevisiae*近縁の酵母種のSup35pでシークエンスの保存性を見てみると、Cドメインでは高い保存性を見せているもののNMドメインの保存性は低い。一次配列の保存性は低いもののこれらのNMドメインには共通した特徴が2つ存在している。一つは先にも挙げたオリゴペプチドリピートの存在である。種によってリピートの配列も長さも異なるが、リピートが連続して繰り返されるという不思議な配列がどの種にも存在している(表2)。このような配列がなぜ存在し、どういう役割をしているのか、この問題は未だにわかっていない。この問題はPrPとの接点を探る上でも重要な問題といえる。もう一つはこの配列の前半部分(Nドメイン)のアミノ酸組成がグルタミン/アスパラギンに富んでいるということである。この配列はQ/N-rich配列と呼ばれ、もう一つの酵母プリオンである $[URE3]$ にも共通している($[URE3]$ はアスパラギンに富んだ配列を持つ)。さらに他のタンパク質であっても、いくつかのQ/Nに富んだ配列は、プリオンドメインとして機能することも示されている^{19,20)}。このシークエンスの特徴は、同じアミロイド様のファイバーを形成するハンチントン病の原因タンパク質(ハンチンチン)と類似しているという指摘がいくつかの論文でもなされている。ハンチントン病はCAG expansion diseaseの一つであり、CAGのコドンが増幅した結果、タンパク質にはポリグルタミン配列ができる。この

ポリグルタミンが凝集体を形成して引き起こされる病気である。このように見てくると、酵母プリオンにはPrPと共通したシークエンスの特徴とハンチントン病の原因タンパク質に共通したシークエンスの特徴を合わせ持っていることができる。

3. 分子シャペロンの関与

「タンパク質の立体構造は一次構造によって決定される」というアンフィンゼンのドグマに疑問を投げかける存在が二つある。一つはプリオン性のタンパク質であり、もう一つが分子シャペロンの存在である。最近の研究により、多くのタンパク質の正常な立体構造形成に分子シャペロンの介在が必要であることがわかってきている。そして酵母プリオンにおいてもこの分子シャペロンが立体構造の変換に大きく関与している。

*S. cerevisiae*において $[psi^-]$ (正常型)の細胞から $[PSI^+]$ への変換、 $[PSI^+]$ の細胞から $[psi^-]$ への変換のいずれにも分子シャペロンが関与していることがわかってきている。

$[PSI^+]$ の表現型に最も関わりの深いとされる分子シャペロンはHsp104である²⁾。Hsp104は変性したタンパク質を解きほぐす機能があるといわれている¹⁷⁾。事実、Hsp104の過剰発現は $[PSI^+]$ の細胞から $[psi^-]$ へ変換をもたらし。しかし、不思議なことにHSP104の遺伝子破壊でも同様の現象が見られる²⁾。つまり $[PSI^+]$ 状態の維持には通常のレベルのHsp104が不可欠であるといえる。このことはHsp104がSup35p立体構造の異常型から正常型への変換、かつ正常型から異常型への変換の両方に関与している可能性を示唆している。次に注目されている分子シャペロンがHsp70であり、酵母でのHsp70であるSsa(細胞質型)とSsb(リボソーム結合型)の両方の関与が示唆されている。Ssaの過剰発現はHsp104の過剰発現による $[PSI^+]$ から $[psi^-]$ への変換を抑制する効果が観察された¹⁶⁾。またSsa1-2Iという変異株では $[PSI^+]$ の安定性が低下しており、サプレッサー活性も低下していることが示された¹⁰⁾。このようにSsaはSup35pの異常型から正常型への

変換, または $[PSI^+]$ の維持に関与していることがうかがえる. 一方, Ssb は $[psi^-]$ の維持に関与している分子シャペロンらしい. Ssb の過剰発現は $[psi^-]$ から $[PSI^+]$ への変換の頻度が低下し, また $[PSI^+]$ から $[psi^-]$ への変換が起こりやすくなる. 逆に Ssb の欠損株では $[psi^-]$ から $[PSI^+]$ への変換の頻度が上昇し, また $[PSI^+]$ から $[psi^-]$ への変換が起こりにくくなる³⁾. このように Ssb は Sup35p の正常な立体構造を維持する役割をしている.

最後に酵母プリオンの特性として, ストレス応答による $[PSI^+]$ から $[psi^-]$ への変換という現象が知られている. 培地中に低濃度の塩酸グアニジンやエタノールを加えたり, 熱ショックや浸透圧ストレスを与えると $[PSI^+]$ から $[psi^-]$ へ変換する. これらのストレス応答にも分子シャペロンの誘導や不活性化が関与していると考えられている⁸⁾.

4. 種間感染性の障壁と共凝集体の形成

動物プリオン (PrP) には, 種間感染性の障壁 (species barrier) が存在する. 通常のプリオン型 PrP では, 同種のものには伝搬するが異種の PrP には感染しにくく, 仮に感染しても, 潜伏期が長く発病率が低い. 狂牛病が, 現在大きな問題になっているのは, この種の PrP (Bovine Spongiform Encephalopathy) が低頻度ではあるが, 種間を越えて感染性を有しているからであり, このことが人間への感染の不安を巻き起こしている. 実は酵母プリオンにも種間伝搬性の障壁が存在する^{4,11,19)}. 酵母プリオンにおいて, 「何が伝搬性だ」と思う人もいるだろうが, プリオン性のタンパク質は, 正確に同種のタンパク質のみを見分けてアミロイド様の凝集体を形成していく性質がある. そしてこの場合, 一次配列のことなる異種のタンパク質は, 基本的に同じ凝集体には入らない.

このような種間伝搬性の障壁がどのような分子機構で働いているのか詳しいことはわかっていないが, 2001年の Nature に興味深い報告がある. Chien と Weissman は *S. cerevisiae* と *C. albicans* の Sup35p にキメラ体を作製し, *in vitro* でこのキメラ体は *S. cerevisiae* Sup35p のファイバーをシード (seed) にしても *C. albicans* Sup35p のファイバーをシードにしてもアミロイド様のファイバーを形成することを示した⁵⁾. 驚いたことに *S. cerevisiae* Sup35p のファイバーをシードにしてつくったキメラ体のファイバーは, *S. cerevisiae* Sup35p のシードとしては働くが *C. albicans* Sup35p には効率よくシードとして働かない. 逆に *C. albicans* Sup35p のファイバーをシードにしてつくったキメラ体のファイバーは, *C. albicans* Sup35p のシードとしては働くが *S. cerevisiae* Sup35p には効率よくシードとして働かない. このことは種によってアミロイド繊維の立体構造が異なっている可能性を示唆している.

しかし, PrP でも種間感染性の障壁が完全なものではな

いように酵母プリオンでも異種のタンパク質であっても共凝集体の形成が起こることがある. 我々ではこの現象が顕著に観察される酵母種 (*Kluyveromyces lactis*) の Sup35p の報告をした¹⁵⁾. *K. lactis* Sup35p の $[PSI^+]$ 細胞では, *S. cerevisiae*, *C. maltosa* など5種類の異種 Sup35p をすべて不活性化した. これは異種の Sup35p が *K. lactis* の Sup35p と共凝集体を形成することに起因しており, この状態を準プリオン状態 (Quasi- $[PSI^+]$) と命名した. *K. lactis* の Sup35p では他の種の Sup35p と比べてオリゴペプチドリピート構造が不完全でグルタミンの含量が高い. さらに最近の我々の解析より, グルタミン含量が高いと共凝集体を形成する傾向が, またオリゴペプチドリピートにはそれ自身と相互作用する傾向があることがわかってきた. しかしこのような共凝集体の形成は必ずしも安定な $[PSI^+]$ の因子を異種に伝搬するというわけではない. 共凝集体のシード (seed) となっている *K. lactis* の Sup35p を細胞から取り除くと, 大部分の細胞では凝集体をつくっていた異種 Sup35p も可溶化状態に戻ってしまう. このような共凝集体の形成と $[PSI^+]$ 因子の伝搬とはどのような違いがあるのかは今後の課題といえる.

5. 酵母プリオンにおけるプリオンドメインの役割とは?

酵母プリオンでは哺乳類の PrP と違いタンパク質自身の機能がわかっている. そのためプリオン化を引き起こすドメインが機能ドメインとは別に存在していることもわかっている. しかし, プリオンドメインがなくとも機能するタンパク質にどうしてわざわざプリオンドメインが付加され, しかも酵母種 (Hemiascomycetes) において保存されているのか? もっと端的に言うなら, プリオンドメインの生物学的な意味は何なのか? これは最も本質的にして難しい問いといえる. 現在, この問いに答えようとするいくつかの試みがあるが大きく分けて二つに分類されると言えそう.

一つはこのドメインが, 他のタンパク質との相互作用する場所を提供しているというものである. Baileul らは two-hybrid system を使って *S. cerevisiae* Sup35p のプリオンドメインと相互作用するタンパク質を洗い出したところ, 翻訳因子 Elongation Factor 2 など4つのポジティブクロンが得られた. Baileul らはこのうち細胞骨格のアクセサリタンパク質である Sla 1 に注目して, この相互作用が特異的であることを確認している¹⁾. しかし, このような相互作用が生物学的に意味のあるものかどうかは定かではない. プリオンドメインは種間でも保存性は低く, 特定のタンパク質と相互作用するドメインが保存されているかという疑問もある.

もう一つは $[PSI^+]$ という状態が生物にとって有利に働こうとする考え方である. Eaglestone らは $[PSI^+]$ の状態の方が, 温度やエタノールに対する耐性が強いこと

を指摘し、一種のストレス応答ではないかという論文を発表した⁷⁾。さらに驚くべき見解を示したのがLindquistのグループでNature誌において議論をかもした。Lindquistらは、 $[PSI^+]$ という遺伝因子は環境と細胞の遺伝形質によって様々な形質を示すことを明らかにした。例えば5 V-H19という株では、 $[PSI^+]$ の状態では酢酸カリウムを炭素源とする培地で生育させると細胞の形態までもが変化することを示した。このことは、 $[PSI^+]$ 因子が翻訳の終止コドンの認識を弱めることで $[psi^-]$ の状態では表にでてこなかった表現型が顕在化したことを意味する。つまり $[PSI^+]$ という状態が存在することで、遺伝的な多様性が獲得されると結論づけた²¹⁾。

しかし、 $[PSI^+]$ という遺伝因子が本当に生物学的に意味のある機構なのかという疑問は残る。第一に $[PSI^+]$ と $[psi^-]$ の変換がきちんと制御されていないことが挙げられる。特に $[psi^-]$ から $[PSI^+]$ への変換は、現在の知識では、人為的な操作をしない限りその頻度をコントロールする事はできていない。第二に、細胞内に巨大凝集体を形成するという現象が生物学的に見て極めて非効率的であることが挙げられる。同じ表現型はSup35pの発現制御(転写制御、翻訳制御、リン酸化など)によっても可能である。第三に $[PSI^+]$ との類似点が指摘されているプリオン病やハンチントン病はすべて病気としての現象であることが挙げられる。ここに生物学的に意味のある機構の存在を指摘することは難しい。そのため、プリオン化という現象は正常な機能の間違った使われ方であるということも考え得る。「プリオンドメインの生物学的な意義」という問題に結論がでるのはもう少し先の話になりそうだ。

おわりに

これまでの研究から、酵母プリオンが哺乳類プリオンのモデル研究系となる条件をそなえていることが明らかにされてきた。プリオン研究は、疾患の予防・治療・診断としての臨床医学あるいは獣医学的な視点とともに、基礎研究の視点からも、核酸に依存しない「タンパク質のコンフォメーションに依存した(protein-only)遺伝学」という新しい学問領域を生み出すものであり、酵母プリオン研究はいずれに対してもユニークな貢献をするものと期待される。特に、プリオン感染の仕組みは最も本質的な問題でありながら、その分子機構は明らかではない。この問題の解決を考えると、哺乳類を用いた解析よりも、遺伝学や分子生物学を縦横に駆使でき、かつ短時間で解析可能な酵母での研究が本質的な解答をもたらすであろうことが容易に想像できる。ブルシナー博士の「プリオン仮説」はノーベル賞受賞となり、すでに確立されたようにみられるものの、未だにこれに疑問を投げかける意見も存在する。それは、正常型PrPを感染性(病原性)異常型プリオンに試験管内で変換するという「プリオン仮説」の最終証明が行

われていないためである。この点でも、本稿で述べた種間障壁と酵母プリオン伝搬メカニズムに関する研究が役立つ素地は十分にある。これまでは、哺乳類プリオンで見られた特徴が酵母プリオンにも見られるという形で酵母プリオンの研究が進んできた。しかしこれからは酵母プリオン研究からえられる知見が哺乳類プリオンに活かされるという方向に変わる時期にさしかかっているように思う。さらに、タンパク質のプリオン特性の本来の機能や進化の意味といった学術的な地平が酵母プリオン研究を通して見えてくるものと期待している。

文 献

- 1) Bailleul, P. A., Newnam, G. P., Steenbergen, J. N., and Chernoff, Y. O. (1999). Genetic study of interactions between the cytoskeletal assembly protein sla1 and prion-forming domain of the release factor Sup35 (eRF3) in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* **153**, 81-94.
- 2) Chernoff, Y. O., Lindquist, S. L., Ono, B., Inge-Vechtomov, S. G., and Liebman S. W. (1995). Role of the chaperone protein Hsp104 in propagation of the yeast prion-like factor $[PSI^+]$. *Science* **268**, 880-884.
- 3) Chernoff, Y. O., Newnam, G. P., Kumar, J., Allen, K., and Zink, A. D. (1999). Evidence for a protein mutator in yeast: role of the Hsp70-related chaperone ssb in formation, stability, and toxicity of the $[PSI]$ prion. *Mol. Cell Biol.* **19**, 8103-8112.
- 4) Chernoff, Y. O., Galkin, A. P., Lewitin, E., Chernova, T. A., Newnam, G. P., and Belenkiy S. M. (2000). Evolutionary conservation of prion-forming abilities of the yeast Sup35 protein. *Mol. Microbiol.* **35**, 865-876.
- 5) Chien, P., and Weissman, J. S. (2001). Conformational diversity in a yeast prion dictates its seeding specificity. *Nature* **410**, 223-227.
- 6) Cox, B. S. (1965). Ψ , a cytoplasmic suppressor of super-suppressor in yeast. *Heredity* **20**, 505-521.
- 7) Eaglestone, S. S., Cox, B. S., and Tuite, M. F. (1999). Translation termination efficiency can be regulated in *Saccharomyces cerevisiae* by environmental stress through a prion-mediated mechanism. *EMBO J.* **18**, 1974-1981.
- 8) Ferreira, P. C., Ness, F., Edwards, S. R., Cox, B. S., and Tuite, M. F. (2001). The elimination of the yeast $[PSI^+]$ prion by guanidine hydrochloride is the result of Hsp104 inactivation. *Mol. Microbiol.* **40**, 1357-1369.
- 9) Glover, J. R., Kowal, A. S., Schirmer, E. C., Patino, M. M., Liu, J. J., and Lindquist, S. (1997). Self-seeded fibers formed by Sup35, the protein determinant of $[PSI^+]$, a heritable prion-like factor of *S. cerevisiae*. *Cell* **89**, 811-819.
- 10) Jung, G., Jones, G., Wegrzyn, R. D., and Masison, D. C. (2000). A role for cytosolic hsp70 in yeast $[PSI^+]$ prion propagation and $[PSI^+]$ as a cellular stress. *Genetics* **156**, 559-570.
- 11) Kushnirov, V. V., Kochneva-Pervukhova, N. V., Chechenova, M. B., Frolova, N. S., and Ter-Avanesyan, M. D. (2000). Prion properties of the Sup35 pro-

- tein of yeast *Pichia methanolica*. *EMBO J.* **19**, 324-331.
- 12) Lacroute, F. (1971). Non-Mendelian mutation allowing ureidosuccinic acid uptake in yeast. *J. Bacteriol.* **106**, 519-522.
 - 13) Liu, J. J., and Lindquist, S. (1999). Oligopeptide-repeat expansions modulate 'protein-only' inheritance in yeast. *Nature* **400**, 573-576.
 - 14) Masison, D. C., and Wickner, R. B. (1995). Prion-inducing domain of yeast Ure 2 p and protease resistance of Ure 2 p in prion-containing cells. *Science* **270**, 93-95.
 - 15) Nakayashiki, T., Ebihara, K., Bannai, H., and Nakamura, Y. (2001). Yeast [*PSI⁺*] "prions" that are cross-transmissible and susceptible beyond a species barrier through a quasi-prion state. *Mol. Cell.* **7**, 1121-1130.
 - 16) Newnam, G. P., Wegrzyn, R. D., Lindquist, S. L., and Chernoff, Y. O. (1999). Antagonistic interactions between yeast chaperones Hsp104 and Hsp70 in prion curing. *Mol. Cell Biol.* **19**, 1325-1333.
 - 17) Parsell, D. A., Kowal, A. S., Singer, M. A., and Lindquist, S. (1994). Protein disaggregation mediated by heat-shock protein Hsp104. *Nature* **372**, 475-478.
 - 18) Patino, M. M., Liu, J. J., Glover, J. R., and Lindquist, S. (1996). Support for the prion hypothesis for inheritance of a phenotypic trait in yeast. *Science* **273**, 622-626.
 - 19) Santoso, A., Chien, P., Osherovich, L. Z., and Weissman, J. S. (2000). Molecular basis of a yeast prion species barrier. *Cell* **100**, 277-288.
 - 20) Sondheimer, N., and Lindquist, S. (2000). Rnq 1 : an epigenetic modifier of protein function in yeast. *Mol. Cell* **5**, 163-172.
 - 21) True, H. L., and Lindquist, S. L. (2000). A yeast prion provides a mechanism for genetic variation and phenotypic diversity. *Nature* **407**, 477-483.
 - 22) Wickner, R. B. (1994). [*URE3*] as an altered URE 2 protein : evidence for a prion analog in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* **264**, 566-569.