

Amyloidogenic Protein of α -Synuclein

Jee Eun Yang, Seung R. Paik

School of Chemical and Biological Engineering, Seoul National University, Seoul, Korea

Amyloidogenesis is the key pathological phenomenon commonly observed in various neurodegenerative disorders. α -Synuclein is the major constituent of Lewy bodies as a common pathological signature of Lewy body diseases (LBDs) including Parkinson's disease (PD), PD with dementia (PDD), and Dementia with Lewy bodies (DLB). As proteins unfold, they would result in producing either ordered or disordered aggregates unless they are folded back to the native state by molecular chaperones or removed via proteolytic degradation. α -Synuclein known as a natively unfolded protein has self-assembled into the ordered protein aggregates of amyloid fibrils which comprise the radiating filaments found in Lewy bodies. Amyloid fibrils are generated via either a template-dependent or template-independent mechanism. The prevalent nucleation-dependent fibrillation accelerates the assembly process in the presence of seeds such as prefibrillar species. As a template-independent process, we have recently proposed the double-concerted fibrillation mechanism in which the oligomeric species of α -synuclein act as a growing unit to form the mature fibrils. Despite insufficient understanding of the toxic causes of α -synuclein, the oligomeric species have been suggested to be responsible for the cellular degeneration by influencing membrane stability while leaving the amyloid fibrils as a detoxification end product. Alternatively, the transition process from the oligomers to the fibrils has been proposed to affect cell viability. It is, therefore, expected to develop prophylactic and therapeutic strategies toward the synucleinopathies by studying cellular function of α -synuclein, molecular mechanism of its assembly into the amyloid fibrils, and their effects on cellular biogenesis. By studying cellular function of α -synuclein, its molecular mechanism of assembly into amyloid fibrils and their effects on cellular biogenesis, progress of prophylactic and therapeutic strategies toward synucleinopathy can be seen.

Key Words: Amyloidosis; Neurodegenerative Disorders; Parkinson Disease; alpha-Synuclein

Correspondence to: Seung R. Paik
우151-744, 서울시 관악구 관악로 1,
서울대학교 제2공학관 302동 911호
School of Chemical and Biological
Engineering, Seoul National University,
302-911, 1 Gwanak-ro, Gwanak-gu,
Seoul 151-744, Korea
Tel: +82-2-880-7414
Fax: +82-2-888-7295
E-mail: srpaik@snu.ac.kr

Received 10 March 2013

Revised 29 April 2013

Accepted 3 May 2013

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

파킨슨병(Parkinson's disease, PD), 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD), 전염성 해면양뇌증(transmissible spongiform encephalopathy, TSE) 등을 포함하는 대부분의 퇴행성 신경질환들

에서는 세포 안팎에 비정상적 단백질 축적에 의한 아밀로이드성 단백질섬유의 침착이 확인된다. 아직까지 이와 같은 병리현상과 세포 퇴화의 상관관계에 대해서는 명확히 밝혀진 바 없으나 산화적 스트레스, 세포 내 단백질 가수분해 억제에 따른 비정상적 단백질의 축적, 세포 내 소기관인 미토콘드리아나 리소좀 등의 파괴 등이 세

포사멸의 원인 후보로 알려진다. 노화관련 질환으로 지속형이며 동시에 비가역적인 퇴행성 신경질환들의 치료책으로는 퇴화된 신경세포로부터 분비되어야 할 신경전달물질을 외부로부터 제공하거나 세포이식 및 외과적 수술 등이 수행되고 있으나 여전히 많은 위험요소가 상존하고 있는 상황이다. 따라서, 퇴행성 신경질환의 원인으로 의심되고 있는 아밀로이드 형성 기전과 관련된 세포퇴화의 분자기전을 이해함으로써 보다 효과적인 퇴행성 질환의 예방 및 치료책 개발이 가능하게 될 것으로 기대한다.

본 론

1 아밀로이드와 퇴행성신경질환

1) 단백질 응집현상

단백질 응집현상은 단백질 잘못된 접기(protein misfolding)와 단백질의 비정상적 축적현상에 의해 나타나며 정형과 비정형 응집물로 구분할 수 있다. 퇴행성 신경질환 등에서 관찰되는 아밀로이드는 정형 응집물의 예이며 대장균 내에서 단백질을 과발현하였을 경우 확인되는 내포체(inclusion body)는 비정형 응집물의 예로 이해할 수 있다[1-3].

단백질 응집은 일반적으로 단백질의 접기(folding)와 풀어짐(unfolding) 과정에 확인되는 부분적으로 접기 중간체(partially folded intermediate)로부터 유도된다(Fig. 1). 정상적 생리조건에서는 구조적 불안정성을 나타내는 단백질의 중간체들은 분자 샤페론이나 프로테아좀(26S proteasome system)에 의해 원래 상태의 접기 구조로 되돌아가거나 아미노산으로 분해되어 세포로부터 제거되어야 한다. 만일 그렇지 않을 경우, 이들 접기 중간체들은 세포 내에 축적되어 자가조립화과정을 거쳐 단백질 응집물로 발전하게 되며 세포 독성의 원인 물질로 작용하는 것으로 알려진다.

접기 중간체 내에는 분자 내 상호작용을 나타내는 핵심영역을 기준으로 소수의 단백질 2차 구조와 완전히 풀어헤쳐진 영역을 함께 갖고 있다. 단백질의 자연구조와 유사한 상태를 유지하고 있는

중간체의 경우 이들 잔존하는 영역간 상호작용, 즉, 기하학적 상보성, 폴리펩티드의 골격상 특징, 다양한 비공유성 상호작용 등에 의해 원래 상태의 구조로 되돌아갈 수 있다. 그러나 구조적 변형이 다소 지나치게 되어 단백질의 소수성 영역이 노출되게 될 경우, 이들 소수성-소수성 상호작용이 분자간 조립화의 주된 인력으로 작용하여 단백질 응집으로 이어지게 된다. 실질적으로 소수성 영역이 단백질 전체영역에 퍼져 있게 되는 완전히 풀어헤쳐진 단백질 보다 소수성 영역이 부분적으로 클러스터를 형성하는 접기 중간체의 경우 단백질 응집 유도에 더 효과적인 것으로 알려진다. 따라서, 이와 같은 단백질의 접기 중간체를 유도하고 안정화 시킬 수 있는 인자들, 예를 들어 단백질(중간체) 농도, 아미노산 서열, pH 및 이온세기 와 같은 용액 조건, 단백질 리간드를 비롯한 단백질 상호작용성 물질 등은 단백질 응집에 많은 영향을 미칠 수 있다.

2) 아밀로이드

아밀로이드란 물에 잘 녹는 단백질이 여러 생물 및 화학적 조건에서 단백질간 선택적이며 특이적 상호작용에 의해 비수용성의 섬유상 구조물로 전환된 결과물로 정의한다[1]. 아밀로이드는 위에서 제시한 다양한 퇴행성 신경질환에서 공통으로 관찰되는 단백질 응집물[4,5]로서 신경세포 퇴화의 주된 원인물질로 알려지고 있다. 일반적으로 아밀로이드는 격자 모양의 beta-sheet 구조를 나타냄으로써[6] 단백질 골격간 수소결합과 섬유체 구성단백질들이 서로 직각으로 위치하며, 따라서 거미줄과 비교될 정도의 높은 강도를 나타낸다[7]. 이렇게 형성된 섬유상 구조물은 폭 10-20 nm가량의 단백질 나노섬유를 형성하며 미래 나노-바이오테크놀로지 분야의 주요 소재로 사용될 것으로 기대된다(Fig. 2).

이런 아밀로이드에 의한 세포퇴화 유도기전은 아직까지 명확히 밝혀지지 않고 있음에도 불구하고, 아밀로이드와 관련된 소수의

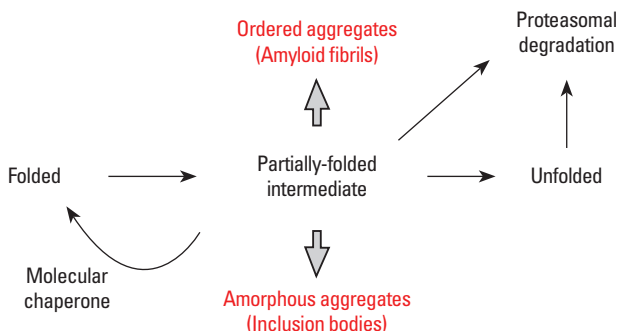


Fig. 1. Intracellular folding of proteins and formation of protein aggregations (Ref. 3 with permission from Biochemistry and Molecular Biology News).

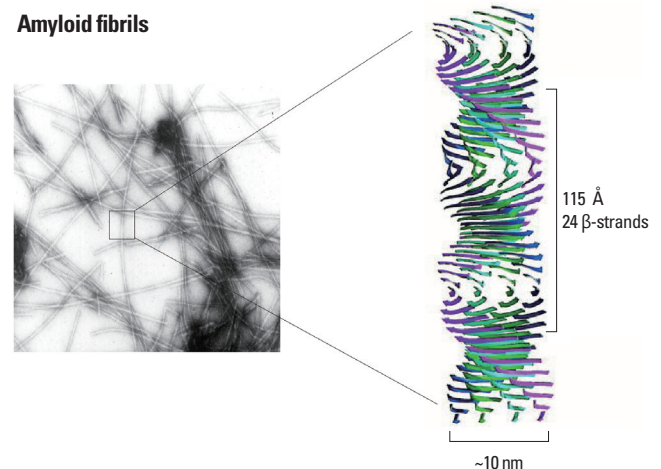


Fig. 2. Amyloid structure of PD-related α -synuclein (Ref. 3 with permission from Biochemistry and Molecular Biology News).

세포독성 모델들이 제안되고 있다. 1) 아밀로이드에 의한 세포의 조직으로의 물리적 침입과 그에 기인하는 정상조직의 형태 및 기능의 파괴[8,9]; 2) 아밀로이드 생성과정의 중간산물인 올리고머-중간체(oligomeric intermediate)에 의한 세포막 또는 세포 내 미토콘드리아 내막 등의 지질막 구조의 불안정화(최종 산물인 아밀로이드는 독성 중간체를 제거한 단순한 해독산물이라는 모델)[10,11]; 3) 산화-환원성 전이금속(철, 구리) 등의 아밀로이드 흡착과 그에 따른 활성산소의 생성에 의한 세포사멸 유발[12,13]; 4) 단백질 응집물에 의한 세포의 일반적 생리활성인자의 선택적 제거 따른 세포퇴화 등이 제안된다. 따라서, 아밀로이드 형성원리를 분자수준에서 이해하고 이를 제어하는 방법을 개발하는 것은 세포퇴화의 분자원인을 제어한다는 의미에서 상기 퇴행성 신경질환을 근본적으로 대처하는 예방 및 치료책 개발의 좋은 밑거름이 될 것으로 여겨진다.

아밀로이드가 퇴행성 신경질환에서 공통으로 관찰되는 구조체 이기는 하지만 그 형태를 세밀히 분석해 보면 섬유상 구조의 형태학적 다형성(fibrillar polymorphism)이 확인된다. 심지어 한 종류의 단백질도 아밀로이드가 형성되는 조건에 따라 다양한 형태의 아밀로이드로 전환됨을 확인할 수 있다[14]. 이를 설명하기 위해서 아밀로이드 형성 기전을 형틀-의존성(template-dependent) 기전과 형틀-비의존성(template-independent) 기전으로 구분하여 이해할 필요가 있다. 형틀-의존성 아밀로이드 형성 기전은 이미 생성된 형틀에 아밀로이드성 단백질이 구조적 변형을 나타내면서 순차적으

로 결합함으로써 단백질 섬유가 성장하는 과정이다. 이때 작동할 수 있는 형틀로는 변형된 구조의 단백질 단량체, 올리고머-중간체, 미성숙 단백질섬유 및 아밀로이드 단편 등이 형틀로서의 기능을 수행할 수 있다(Fig. 3). 반면 형틀에 결합하게 될 단백질은 단일단백질임에도 불구하고 구조적 엔트로피가 높은 상태에 있음으로써 다양한 구조가 화학적 평형상태에 놓여 있게 된다. 이런 구조 중 특정 구조가 특정 형틀에 의해 아밀로이드로 제거되게 되면 단백질의 구조간 평형은 제거된 구조 쪽으로 이동하게 됨으로써 초기 형틀의 구조에 의존적인 특정 형태의 아밀로이드가 최종산물로 생성되게 된다. 즉, 아밀로이드 형성은 일종의 단백질의 무질서-질서 전이 현상(disorder-to-order transition)의 산물이라고 할 수 있다. 반면, 형틀-비의존성 기전은 구조적 평형상태에 있는 아밀로이드성 단일 단백질이 특정 리간드와 결합함으로써 자기조직성 활성이 높은 구조로 전환되고 그에 따라 아밀로이드가 형성되는 기전으로 리간드의 종류에 따른 다양화된 아밀로이드가 유도되는 특성을 나타낸다(Fig. 4).

아밀로이드 형성과정을 단백질 응집동력학으로 분석하게 되면 크게 세단계-지연기(lag phase), 대수-성장기(exponential growth phase), 정지기(stationary phase)로 구분할 수 있다[15]. 이 과정을 설명하는 가장 인지도가 높은 모델은 핵-의존성 응집기전(nucleation-dependent fibrillation)이다(Fig. 5). 초기 응집핵의 형성은 상기 형틀-비의존성 과정을 통해 이루어짐으로써 특정 구조의 단백

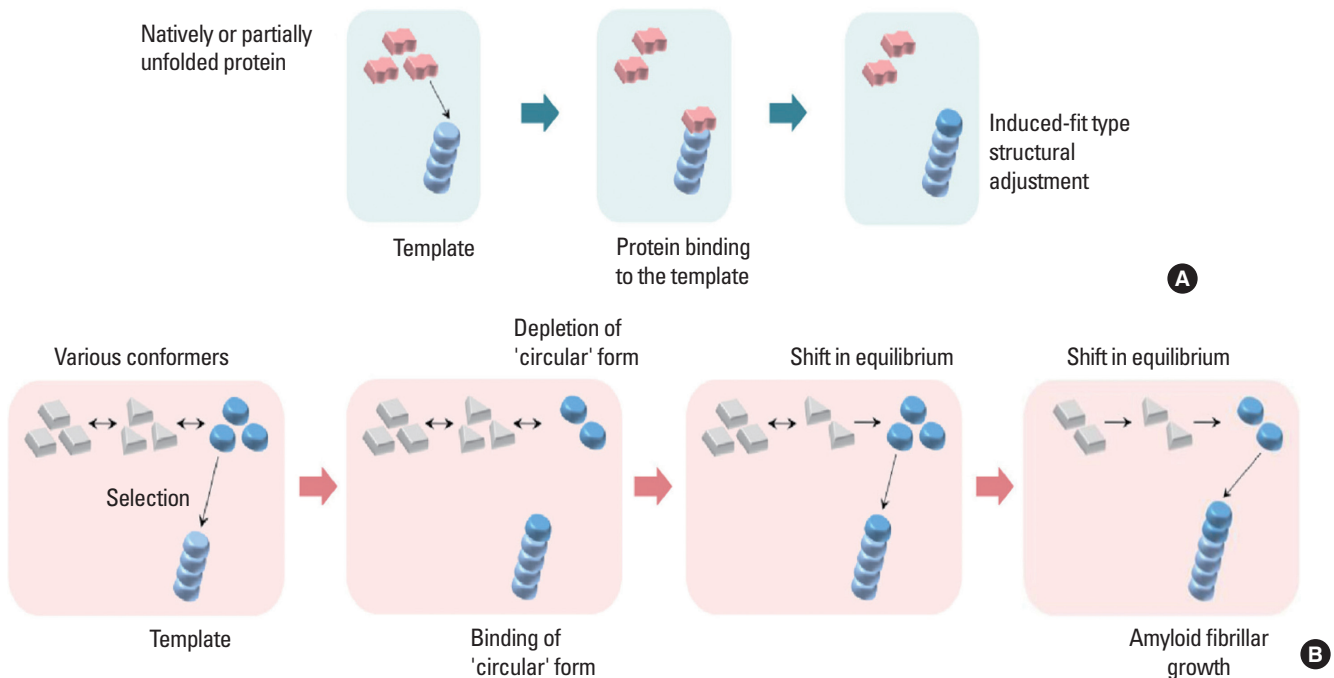


Fig. 3. Template-dependent fibrillation. (A) Fibrillar growth with active monomers. The monomers convert to the amyloidogenic conformer upon binding to the template. (B) Amyloid fibril growth with passive monomers. The amyloidogenic conformers are selected by the template from the pre-existing conformational equilibrium and amyloid fibrils are elongated. (Ref. 14 with permission from BMB Reports).

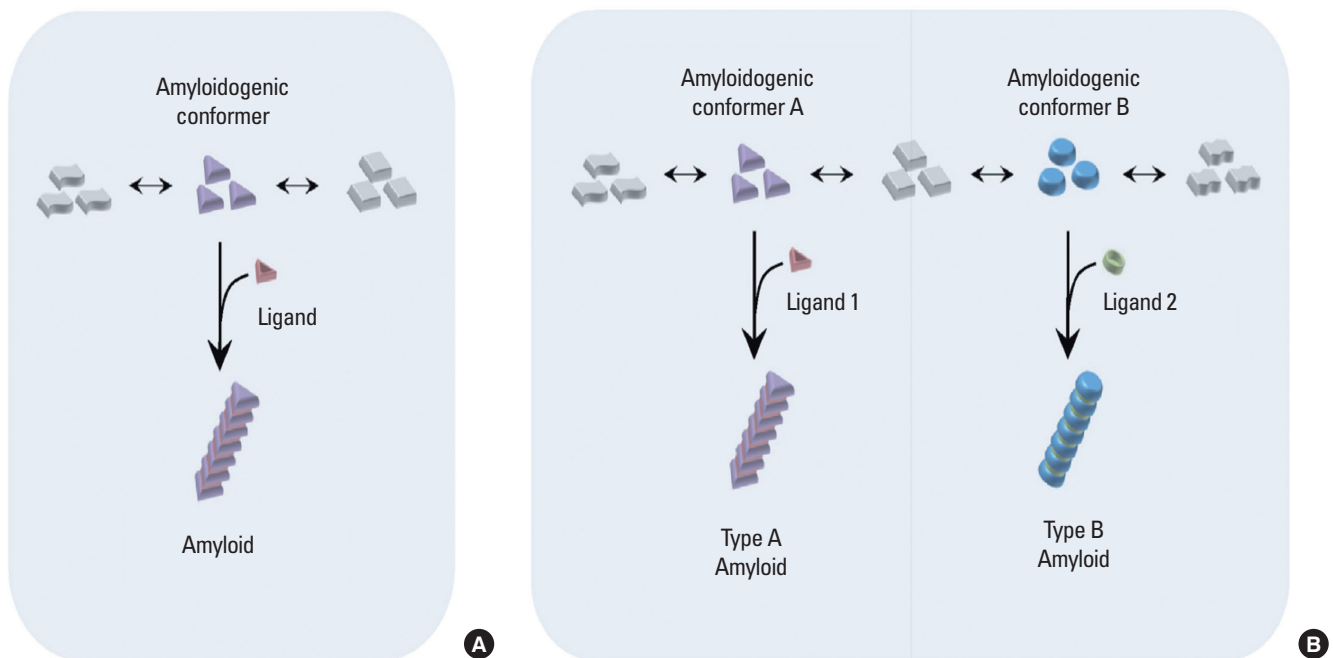


Fig. 4. Template-independent fibrillations. (A) Ligand-induced fibrillation, (B) Fibrillar polymorphisms induced by multiple ligand interactions (Ref. 14 with permission from BMB Reports).

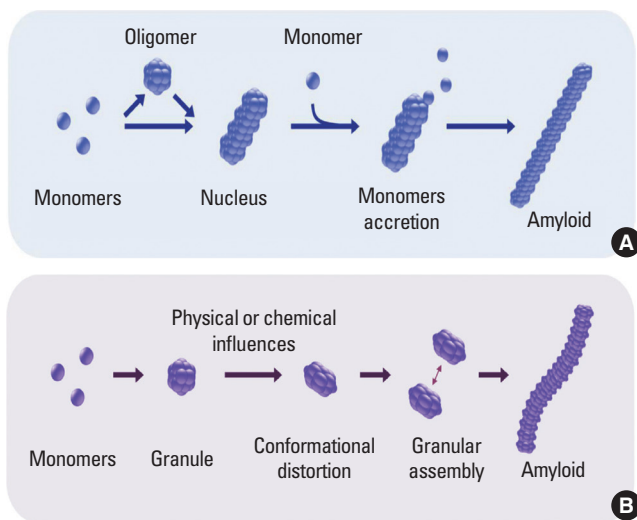


Fig. 5. Models of amyloidogenesis. (A) Nucleation-dependent fibrillation, (B) Double-concerted fibrillation (Ref. 14 with permission from BMB Reports).

질들이 선택적 상호결합에 의해 유도될 것으로 예상된다. 이 과정은 열역학적으로 다소 불리한 프로세스로 지연기(lag phase)에서 확인되는 바와 같이 시간적 지연효과가 관찰된다. 그러나 일단 응집핵이 형성되게 되면 형틀-의존성 기전에 의해 가속화된 아밀로이드의 생성이 유도되며 응집동력학상에서는 대수-성장기(exponential phase)로 관찰되게 된다[16-18]. 일정기간 동안의 아밀로이

드 성장이 지속된 후, 응집동력학은 정지기(stationary phase)에 접어들게 되는데 응집에 필요한 단백질 농도가 충분히 확보되지 않았거나 아밀로이드와 용액상 단백질간 평형 등의 원인에 기인할 것으로 추정된다.

최근들어 본 연구진은 상기 삼단-응집동력학을 이중협동성 응집기전(double-concerted fibrillation)으로 새롭게 설명하였다(Fig. 5). 즉, 응집과정의 초기단계에 단백질 단량체로부터 형성된 올리고머가 응집단위로 작용하여 두 번째 단계인 단위조립화 과정을 통해 아밀로이드로 성장하는 현상으로 핵-비의존성 기전의 한 예를 실험적으로 증명하였다. 이를 통하여 아밀로이드의 생성과정의 다양한 분자기전이 아밀로이드의 다형성의 원인으로 판단되며, 나아가 아밀로이드에 의한 세포 지질막 구조물의 불안정화 측면에서 세포독성의 차별성을 초래하는 원인이 될 가능성을 제안하고 있다.

2. 파킨슨병 관련 단백질 α -Synuclein

1) 파킨슨병 (Parkinson's disease, PD)

파킨슨병(PD)은 퇴행성 신경질환 중 노인성치매에 이어 두 번째로 흔한 노화관련 질환으로 65세 이상 노인의 2% 가량이 이 병으로 고통 받고 있으며, 미국에서만 약 백만 명의 환자가 있다. 이 병은 손떨림, 강직증세, 느린 운동성, 자세의 불안정성 등과 같은 운동기능의 장애가 나타나며, 정서불안 및 공포감 등의 정서적 장애가 동반된다. 병의 전개과정이 점진적이며, 병리학적으로 뇌의 흑질 내 도파민성 신경세포의 심각한 퇴화(약 70-80%)가 관찰된다. 이들 세

포 내에서는 루이소체(Lewy body)라고 하는 단백질의 비정상적 침착이 확인된다[1].

PD 발병의 유전적 요인으로는 파킨슨병 가계에서 관찰되는 돌연변이성 유전자로서 α -synuclein, parkin, 그리고 ubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCHL1) 등 세 가지가 대표적이다. 우성형질 PD는 α -synuclein 유전자의 변이발생이 원인이며, 열성형질 PD는 parkin 유전자의 변이가 원인인 것으로 알려진다[19]. 사실상 이와 같은 유전적 요인에 의한 PD의 발병은 전체의 극히 일부에 해당하며, PD의 발병요인 중 대부분은 아직까지 정확히 밝혀지지 않은 환경적 요소가 주요 요인으로 알려진다. 현재까지 보고된 바에 따르면 PD에서 확인되는 뇌흑질 내 도파민성 신경세포의 퇴화는 세포 내 단백질 응집현상과 밀접한 관계가 있음이 확인되고 있다. 예를 들어 산발성 PD의 경우, 루이소체의 주성분으로 α -synuclein 축적이 보고되었으며, 도파민성 신경세포의 퇴화에 중요한 역할을 할 것으로 추정된다.

2) α -Synuclein

PD를 비롯한 루이소체질환(Lewy body diseases, LBDs)은 시냅스전 단백질인 α -synuclein의 비정상적인 축적으로 인한 루이소체형성이 대표적 병리현상으로 알려지며 synucleinopathies라고도 불린다[4,5]. 따라서, α -synuclein의 응집과정과 병리학적 기능 등의 이해는 상기 질환의 진단, 예방 및 치료책을 확보하는데 중요한 것으로 판단된다.

α -synuclein은 140개 아미노산으로 이루어져 있으며 pKa값이 4.7에 해당하는 산성단백질[20]로서 자연 상태에서 비정형 구조로 존재하는 것으로 알려진다[21]. α -synuclein은 1차 구조상 N-말단의 amphipathic α -helical 영역, C-말단의 산성영역, 그리고 가운데의 소수성 non-amyloid component (NAC) 영역으로 나뉜다(Fig. 6). 염기성 아미노산인 리신(lysine)이 풍부한 N-말단은 세포막과 liposome 등과 상호작용을 하여 단백질의 자가중합체를 유도하고 calmodulin과 synphilin-1 등과도 상호작용하는 것으로 알려져 있다. C-말단은 α -synuclein의 핵에서의 위치를 조절하고 구리, 철, 칼슘 등의 금속과 결합하며 단백질 중합체를 유도하는 것으로 알려져 있다[20-22]. 아미노산 서열 65-90번에 해당하는 NAC 영역은 α -synuclein의 응집에 필수적인 부분으로 이 영역이 일부 제거되는 경우 α -synuclein 올리고머 형성이나 섬유화 현상이 현저히 감소함

1	61	95	140
Amphipathic α -helices		NAC	Acidic region
<ul style="list-style-type: none"> · Liposome · Calmodulin · Synphilin-1 		<ul style="list-style-type: none"> · Aβ25-35 · Eosin · CBB-G/R 	<ul style="list-style-type: none"> · Metals (copper, zinc, calcium) · Polycations

Fig. 6. Primary structure of α -Synuclein and its interactive ligands. NAC, non-amyloid component.

을 확인할 수 있다[23,24].

현재까지 α -synuclein은 신경세포 사이의 신경전달물질 방출과 시냅스 형성의 가소성을 조절하는 생리적 기능을 하는 것으로 보고되고 있다. 실제로 α -synuclein은 시냅스 전 말단에서 주로 관찰되고 있으며[25,26], *Snca*-knockout mice와 human α -synuclein transgenic mice에서 α -synuclein의 신경세포 내 발현 정도에 따라 시냅스 전달에 결함이 관찰된다[27-31]. 또한, 최근 보고에 따르면 α -synuclein은 시냅스 전 soluble NSF attachment protein receptor (SNARE) 복합체의 조립을 조절함으로써 사페론 단백질로서의 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다[32].

루이소체질환에서 발견되는 세포 내 α -synuclein의 비정상적 축적물과 재분배는 병리현상과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있으며 실제로 α -synuclein의 유전자 도입동물 실험에서 확인되고 있다[33]. 중추신경계 내 α -synuclein의 양은 단백질 가수분해효소[34], 분자 사페론[35], 자가소화작용[36] 등으로 제어되고 이에 관여하는 분자들의 양적 변화와 SNCA 유전자의 증식 및 돌연변이체 발생[37]으로 α -synuclein의 축적이 촉진되는 것으로 보고된다.

α -synuclein은 올리고머, 미성숙섬유체, 섬유체 등 여러 형태로 존재하고 질환의 발병원인이 되고 있으며 특히 섬유상 구조물이 신경세포 내 루이소체에서 주로 발견된다[38]. 이러한 아밀로이드성 단백질 섬유체는 열역학적으로 안정한 구조이며 독성을 갖는 올리고머가 아밀로이드 구조로 변환되는 과정은 독성을 감소시키려는 노력의 산물로 생각된다. 반면 올리고머들은 세포막 투과성에 영향을 주어 비정상적인 칼슘유입과 함께 세포사멸을 나타낸다[39]. 이들 올리고머는 생체 내 병태생리학적 조건에 따라 구형, 쇄상, 고리 모양 등 다양한 형태로 존재하며 최종 섬유체 형성 이전 단계에서 관찰되고 있다[40]. 또한 α -synuclein은 지질 및 작은 분자들과의 상호작용, 산화적 스트레스, 단백질합성 후 변형[41,42] 등과 같은 생리 및 병리학적 요인에 의해 독성 올리고머 형성이 촉진된다. 이와 함께 단백질의 농도증가와 배양시간, 그리고 금속의 첨가[41,43] 리간드 상호작용[44] 등에 의해 다양한 크기의 응집체들이 유도된다. 이외에도 α -synuclein이 세포 독성을 나타내는 가능성으로는 올리고머 형성에 따른 세포 내 기능성 단백질의 양적 공간적, 그리고 구조적 변화로 인해 α -synuclein의 생리학적 기능이 손실되거나 비정상적 세포막 및 단백질 상호작용을 통해 세포의 정상기능을 방해함으로써 응집현상과는 무관하게 독성을 나타낼 것이라는 것이다[45,46]. 그러나 현재까지 서로 다른 단백체를 구별할 수 있는 실험 방법적 한계가 있어 α -synuclein 단백질이 질병에 미치는 영향에 대한 연구는 여전히 도전대상이 되고 있다.

결론

아밀로이드 형성은 다양한 퇴행성 신경질환에서 공통적으로 관

찰되는 병리학적 현상이다. PD를 비롯한 PD성 치매 및 루이소체 성 치매를 포함하는 루이소체 질환에서 관찰되는 루이소체는 α -synuclein을 주성분으로 한다. 접하지 않은 α -synuclein 단백질은 분자 샤페론에 의해 원형으로 접하지 않거나 단백질 가수분해에 의해 제거되지 않으면 정형의 혹은 비정형의 응집체를 형성하게 된다. 자연상태에서 접하지 않는 형태인 α -synuclein은 자가조립을 통해 정형 단백질 응집물인 아밀로이드 섬유체를 형성하며 이는 루이소체에서 발견되는 방사형 섬유상을 포함한다. 아밀로이드 섬유는 형틀-의존성 혹은 형틀-비의존성 기전을 통해 형성된다. 일반적으로 이해되고 있는 핵-의존성 섬유형성은 미성숙섬유체와 같은 seed가 존재할 때 조립과정이 촉진된다. 우리는 형틀-의존성 과정에 따라 α -synuclein의 올리고머가 응집단위로 작용하여 완전한 섬유체로 성장한다는 이중협동성 응집기전을 제안해왔다. α -synuclein의 독성원인에 대해서는 정확히 알려진바 없지만 올리고머가 세포막 안정성에 영향을 줌으로써 세포파괴에 중요한 역할을 할 것으로 추정하고 있으며, 혹은 올리고머가 응집되는 과정에서 세포의 생존에 영향을 줄 것으로 보인다. 따라서, α -synuclein의 세포 기능, 아밀로이드 형성 분자기전 그리고 세포 내 합성에 미치는 영향에 대해 연구함으로써 synucleinopathies에 대한 예방 및 치료책을 개발할 것으로 예상된다.

REFERENCES

1. Sipe JD. Amyloidosis. *Annu Rev Biochem* 1992;61:947-75.
2. Virchow R. Zur cellulose-frage. *Virchows Archiv* 1855;8:140-4.
3. Lee JH, Paik SR. Strategy to control the protein aggregation: neurodegenerative disorders and amyloid. *KSBMB News* 2006;27:23-9.
4. Braak H, Braak E. Pathoanatomy of Parkinson's disease. *J Neurol* 2000;247 Suppl 2:II3-10.
5. Shults CW. Lewy bodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:1661-8.
6. Sunde M, Blake CC. From the globular to the fibrous state: protein structure and structural conversion in amyloid formation. *Q Rev Biophys* 1998;31:1-39.
7. Knowles TP, Fitzpatrick AW, Meehan S, Mott HR, Vendruscolo M, Dobson CM, et al. Role of intermolecular forces in defining material properties of protein nanofibrils. *Science* 2007;318:1900-3.
8. Tan SY, Pepys MB. Amyloidosis. *Histopathology* 1994;25:403-14.
9. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med* 2003;349:583-96.
10. Lashuel HA, Hartley D, Petre BM, Walz T, Lansbury PT Jr. Neurodegenerative disease: amyloid pores from pathogenic mutations. *Nature* 2002;418:291.
11. Caughey B, Lansbury PT. Protofibrils, pores, fibrils, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders. *Annu Rev Neurosci* 2003;26:267-98.
12. Cuajungco MP, Goldstein LE, Nunomura A, Smith MA, Lim JT, Atwood CS, et al. Evidence that the beta-amyloid plaques of Alzheimer's disease represent the redox-silencing and entombment of abeta by zinc. *J Biol Chem* 2000;275:19439-42.
13. Opazo C, Huang X, Cherny RA, Moir RD, Roher AE, White AR, et al. Metalloenzyme-like activity of Alzheimer's disease beta-amyloid. Cu-dependent catalytic conversion of dopamine, cholesterol, and biological reducing agents to neurotoxic H₂O₂. *J Biol Chem* 2002;277:40302-8.
14. Bhak G, Choe YJ, Paik SR. Mechanism of amyloidogenesis: nucleation-dependent fibrillation versus double-concerted fibrillation. *BMB Rep* 2009;42:541-51.
15. Naiki H, Gejyo F. Kinetic analysis of amyloid fibril formation. *Methods Enzymol* 1999;309:305-18.
16. Jarrett JT, Lansbury PT, Jr. Seeding "one-dimensional crystallization" of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? *Cell* 1993;73:1055-8.
17. Harper JD, Lansbury PT, Jr. Models of amyloid seeding in Alzheimer's disease and scrapie: mechanistic truths and physiological consequences of the time-dependent solubility of amyloid proteins. *Annu Rev Biochem* 1997;66:385-407.
18. Wood SJ, Wypych J, Steavenson S, Louis JC, Citron M, Biere AL. alpha-synuclein fibrillogenesis is nucleation-dependent. Implications for the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Biol Chem* 1999;274:19509-12.
19. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997;276:2045-7.
20. Ulmer TS, Bax A, Cole NB, Nussbaum RL. Structure and dynamics of micelle-bound human alpha-synuclein. *J Biol Chem* 2005;280:9595-603.
21. Eliezer D, Kutluay E, Bussell R, Jr., Browne G. Conformational properties of alpha-synuclein in its free and lipid-associated states. *J Mol Biol* 2001;307:1061-73.
22. Recchia A, Debetto P, Negro A, Guidolin D, Skaper SD, Giusti P. Alpha-synuclein and Parkinson's disease. *FASEB J* 2004;18:617-26.
23. Giasson BI, Murray IV, Trojanowski JQ, Lee VM. A hydrophobic stretch of 12 amino acid residues in the middle of alpha-synuclein is essential for filament assembly. *J Biol Chem* 2001;276:2380-6.
24. Iwai A, Masliah E, Yoshimoto M, Ge N, Flanagan L, de Silva HA, et al. The precursor protein of non-A beta component of Alzheimer's disease amyloid is a presynaptic protein of the central nervous system. *Neuron* 1995;14:467-75.
25. Withers GS, George JM, Banker GA, Clayton DF. Delayed localization of synelfin (synuclein, NACP) to presynaptic terminals in cultured rat hippocampal neurons. *Brain Res Dev Brain Res* 1997;99:87-94.
26. Jakes R, Spillantini MG, Goedert M. Identification of two distinct synucleins from human brain. *FEBS Lett* 1994;345:27-32.
27. Cabin DE, Shimazu K, Murphy D, Cole NB, Gottschalk W, McIlwain KL, et al. Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking alpha-synuclein. *J Neurosci* 2002;22:8797-807.
28. Abeliovich A, Schmitz Y, Farinas I, Choi-Lundberg D, Ho WH, Castillo PE, et al. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron* 2000;25:239-52.
29. Scott DA, Tabarean I, Tang Y, Cartier A, Masliah E, Roy S. A pathologic cascade leading to synaptic dysfunction in alpha-synuclein-induced neurodegeneration. *J Neurosci* 2010;30:8083-95.
30. Nemani VM, Lu W, Berge V, Nakamura K, Onoa B, Lee MK, et al. Increased expression of alpha-synuclein reduces neurotransmitter release by inhibiting synaptic vesicle recluster after endocytosis. *Neuron* 2010;65:66-79.
31. Lundblad M, Decressac M, Mattsson B, Bjorklund A. Impaired neurotransmission caused by overexpression of alpha-synuclein in nigral dopamine neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:3213-9.
32. Burre J, Sharma M, Tsetsenis T, Buchman V, Etherton MR, Sudhof TC. Alpha-synuclein promotes SNARE-complex assembly in vivo and in vi-

- tro. *Science* 2010;329:1663-7.
33. Vekrellis K, Xilouri M, Emmanouilidou E, Rideout HJ, Stefanis L. Pathological roles of alpha-synuclein in neurological disorders. *Lancet Neurol* 2011;10:1015-25.
 34. Iwata A, Maruyama M, Akagi T, Hashikawa T, Kanazawa I, Tsuji S, et al. Alpha-synuclein degradation by serine protease neurosin: implication for pathogenesis of synucleinopathies. *Hum Mol Genet* 2003;12:2625-35.
 35. Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R, Lansbury PT, Sulzer D. Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science* 2004;305:1292-5.
 36. Kragh CL, Ubhi K, Wyss-Coray T, Masliah E. Autophagy in dementias. *Brain Pathol* 2012;22:99-109.
 37. Conway KA, Harper JD, Lansbury PT. Accelerated in vitro fibril formation by a mutant alpha-synuclein linked to early-onset Parkinson disease. *Nat Med* 1998;4:1318-20.
 38. Kosaka K. Diffuse Lewy body disease in Japan. *J Neurol* 1990;237:197-204.
 39. Colla E, Jensen PH, Pletnikova O, Troncoso JC, Glabe C, Lee MK. Accumulation of toxic alpha-synuclein oligomer within endoplasmic reticulum occurs in alpha-synucleinopathy in vivo. *J Neurosci* 2012;32:3301-5.
 40. Horvath I, Weise CF, Andersson EK, Chorell E, Sellstedt M, Bengtsson C, et al. Mechanisms of protein oligomerization: inhibitor of functional amyloids templates alpha-synuclein fibrillation. *J Am Chem Soc* 2012;134:3439-44.
 41. Iwatsubo T. Pathological biochemistry of alpha-synucleinopathy. *Neuropathology* 2007;27:474-8.
 42. Souza JM, Giasson BI, Chen Q, Lee VM, Ischiropoulos H. Dityrosine cross-linking promotes formation of stable alpha-synuclein polymers. Implication of nitration and oxidative stress in the pathogenesis of neurodegenerative synucleinopathies. *J Biol Chem* 2000;275:18344-9.
 43. Uversky VN, Li J, Fink AL. Metal-triggered structural transformations, aggregation, and fibrillation of human alpha-synuclein. A possible molecular link between Parkinson's disease and heavy metal exposure. *J Biol Chem* 2001;276:44284-96.
 44. Conway KA, Rochet JC, Bieganski RM, Lansbury PT, Jr. Kinetic stabilization of the alpha-synuclein protofibril by a dopamine-alpha-synuclein adduct. *Science* 2001;294:1346-9.
 45. Danzer KM, Haasen D, Karow AR, Moussaud S, Habeck M, Giese A, et al. Different species of alpha-synuclein oligomers induce calcium influx and seeding. *J Neurosci* 2007;27:9220-32.
 46. Lashuel HA, Overk CR, Oueslati A, Masliah E. The many faces of alpha-synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target. *Nat Rev Neurosci* 2013;14:38-48.