

[PLoS Pathog.](#) 2012 Marzo; 8(3): e1002582.

Publicado en línea 2012 Mar 29. doi: [10.1371/journal.ppat.1002582](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002582)

PMCID: [PMC3315487](#)

PMID: [22479179](#)

Mutación y selección de priones

[Carlos Weissmann](#)*

Heather True-Krob, Editora

[Información del autor](#) [Información de derechos de autor y licencia](#) [Descargo de responsabilidad](#)

Este artículo ha sido [citado por](#) otros artículos en PMC.

[Vete a:](#)

Enfermedades priónicas

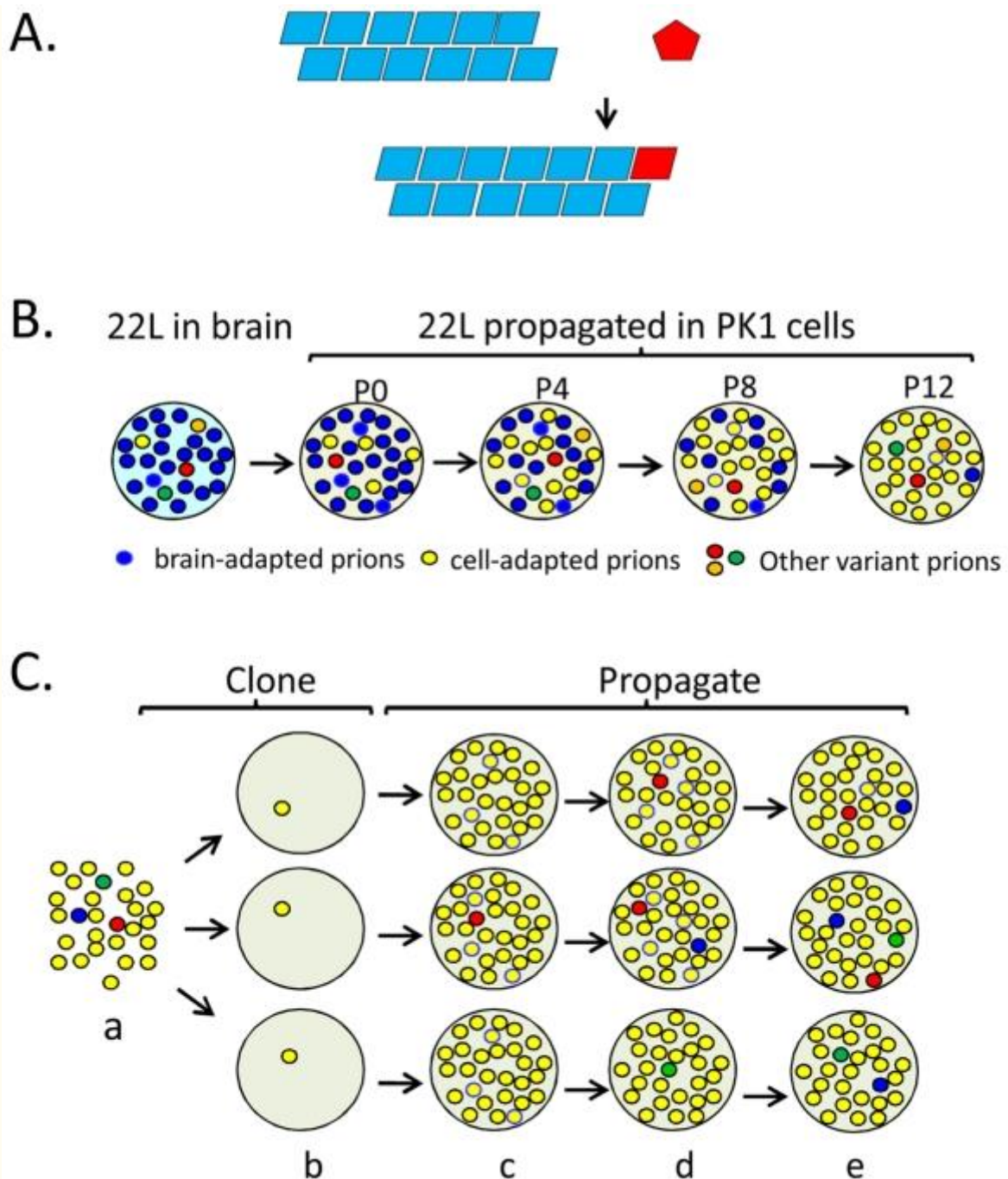
Las enfermedades priónicas, o encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), ocurren naturalmente en varias especies, incluidos los humanos, el ganado, las ovejas y los ciervos, y pueden transmitirse experimentalmente a muchas otras. Por lo general, los tiempos de incubación son relativamente largos, extendiéndose a 40 años o más en humanos; sin embargo, después de la aparición de los síntomas clínicos, la muerte se produce principalmente en menos de un año, como consecuencia de la neurodegeneración acompañada de la acumulación de conformadores anormales de la proteína huésped PrP. La transmisión natural generalmente ocurre peroralmente, como lo ejemplifica la epidemia de kuru entre el pueblo Fore de Papúa Nueva Guinea, atribuida a prácticas caníbales; la epizootia de la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) en el Reino Unido a finales del siglo pasado, causada por la alimentación de harina de carne y huesos contaminadas al ganado; o la epizootia actual de la enfermedad de desgaste crónico que afecta a los cérvidos en 19 estados de los Estados Unidos. La transmisión de priones de la EEB a humanos jóvenes dio lugar a un brote limitado de una nueva enfermedad, la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD), casi exclusivamente en el Reino Unido. Los casos esporádicos de enfermedad priónica ocurren con muy baja frecuencia en poblaciones humanas (sCJD) y en rebaños de

ganado (EEB atípica), y se atribuyen a la generación espontánea de priones en los individuos afectados. Finalmente, las formas familiares de enfermedad priónica humana están relacionadas con una variedad de mutaciones diferentes y dominantes en el gen *PRNP*, y aunque las familias afectadas son raras, la penetrancia es muy alta.

[Vete a:](#)

Replicación de priones

Los priones consisten principalmente, si no únicamente, en PrP^{sc} (proteína priónica de tembladera), conformadores agregados de la glicoproteína del huésped PrP ligada al GPI^c (proteína priónica celular). Prp^{sc} se propaga mediante la conversión de PrP^c a una réplica de sí mismo ([Figura 1A](#)). Prp^c puede existir como una mezcla de equilibrio de conformadores, algunos de los cuales pueden acumularse a PrP^{sc} "semillas" a un ritmo crítico [\[1\]](#), [\[2\]](#). Este modelo de siembra está respaldado por la reacción de amplificación cíclica de plegamiento incorrecto de proteínas (PMCA), en la que el cerebro homogeneiza, como fuente de PrP.^c, se pincha con una semilla de homogeneizado cerebral infectado y se somete a múltiples ciclos de sonicación e incubación, lo que finalmente produce un gran exceso de priones infecciosos [\[3\]](#). Los priones infecciosos surgieron espontáneamente en reacciones libres de células mediadas por PMCA a partir de componentes definidos [\[4\]](#), en particular de PrP recombinante, un fosfolípido, y poli(A) o poli(dT) [\[5\]](#), poniendo fin definitivamente a la propuesta perenne de que el agente infeccioso es una entidad similar al virus [\[6\]](#). Se ha propuesto la conversión de semillas similar a un prión en un estado agregado para varias proteínas de mamíferos como Abeta, α -sinucleína o amiloide sérico, que subyacen a las enfermedades de plegamiento incorrecto de proteínas, y para varias proteínas fúngicas, en particular levaduras.



[Figura 1](#)

Propagación, mutación y selección de priones en células cultivadas.

(A) El modelo de siembra de la propagación de priones predica que PrP^C los monómeros se suman al termini de PrP^{Sc} fibrillas y, al hacerlo, adoptan la conformación de las subunidades constituyentes de PrP^{Sc}. (B) Se cree que las poblaciones de priones constituyen cuasiespecies, que consisten en una especie principal y numerosas variantes a niveles bajos. Los priones 22L adaptados al cerebro son resistentes al tratamiento con swainsonina cuando se ensayan en células PK1 y son capaces de infectar las células R33 (R33 competente). Cuando se propagan en células PK1, los priones sensibles a la swainsonina, R33 incompetentes gradualmente (pasajes P0 a P12) se convierten en la especie principal de la población porque se multiplican más rápido. (C) Los priones 22L adaptados a células PK1 (a) fueron clonados (b) en células PK1. Las poblaciones se

vuelven heterogéneas a medida que surgen mutaciones durante la propagación (c-e). Los círculos rojos representan priones resistentes a la swainsonina; cuando se les desafia con el medicamento, algunas poblaciones (fila superior y media) adquieren la capacidad de volverse resistentes, mientras que otras (fila inferior) no lo hacen. Representación esquemática de datos de referencia [\[16\]](#).

[Vete a:](#)

Cepas Priónicas

Las poblaciones de priones pueden presentarse como cepas distintas: estas difieren en sus propiedades fenotípicas, pero están asociadas con PrP^{Sc} teniendo la misma secuencia de aminoácidos. Las cepas priónicas murinas, originalmente caracterizadas por el tiempo de incubación y la neuropatología que provocan, pueden propagarse indefinidamente en ratones homocigotos para el gen PrP. Muchas cepas "clásicas" actualmente propagadas en ratones y hámsters, como 79A, 22L y ME7, se originaron a partir de ovejas o cabras infectadas con tembladera [\[7\]](#) y se clonaron por dilución final en ratones.

Se cree que las propiedades específicas de la cepa del prión están encriptadas en la conformación del cognado PrP^{Sc} [\[8\]](#), y de hecho, las cepas distintas a menudo se asocian con PrP^{Sc} especies que difieren en propiedades fisicoquímicas. Los experimentos con cepas de priones de levadura han demostrado que las conformaciones específicas pueden propagarse in vitro por proteínas puras y no glicosiladas [\[9\]](#). No obstante, en vista de la gran multiplicidad de cepas priónicas de mamíferos y su tropismo para líneas celulares particulares, es concebible que las modificaciones posteriores a la traducción de PrP, como la glicosilación o la asociación con algunos componentes celulares, puedan favorecer ciertas conformaciones de PrP y, por lo tanto, tener en cuenta la propagación preferencial específica de células de cepas particulares.

[Vete a:](#)

La barrera de las especies

En general, existe una barrera considerable para la transmisión de priones entre especies animales, ya que incluso la inoculación masiva de transespecies intracerebrales causa enfermedades solo a baja frecuencia (baja "tasa de ataque") y / o solo después de tiempos de incubación muy largos, si es que lo hace. Esta barrera fue abolida en algunos casos al reemplazar el gen PrP del receptor por su contraparte del donante, pero claramente factores distintos del desajuste de las secuencias de PrP contribuyen a la incompatibilidad. Es importante destacar que cuando los priones se transmiten en serie desde los receptores iniciales de transespecies a otros animales de la misma especie, las tasas de ataque aumentan y los tiempos de incubación disminuyen, lo que refleja la "adaptación" al nuevo huésped [10]. La "adaptación" implica como primer paso la acreción de PrP^c desde el host del destinatario hasta el PrP^{sc} semilla, que puede ser un proceso muy ineficiente si la secuencia de aminoácidos del huésped PrP arrastra un espectro de conformaciones que son poco compatibles con la de la semilla. La propagación eficiente solo puede habilitarse cuando la conformación de la semilla cambia, tal vez inicialmente en el "extremo de crecimiento" [11], lo que resulta en una "mutación" a nivel conformacional. Posteriormente, los priones pueden evolucionar para replicarse más rápidamente en el nuevo huésped, lo que explica la sorprendente reducción de su período de incubación a medida que se transfieren secuencialmente dentro de la nueva especie.

En algunos casos, la transferencia de una cepa priónica de una especie a otra, seguida de varios pasajes en la especie huésped original, condujo a la aparición de cepas mutantes. Por ejemplo, cuando los priones murinos 139A clonados pasaron a través del hámster y posteriormente se pasaron repetidamente en ratones, se recuperó una nueva cepa, 139A-H2M; sin embargo, el ME7 sometido al mismo procedimiento se mantuvo aparentemente sin cambios [12].

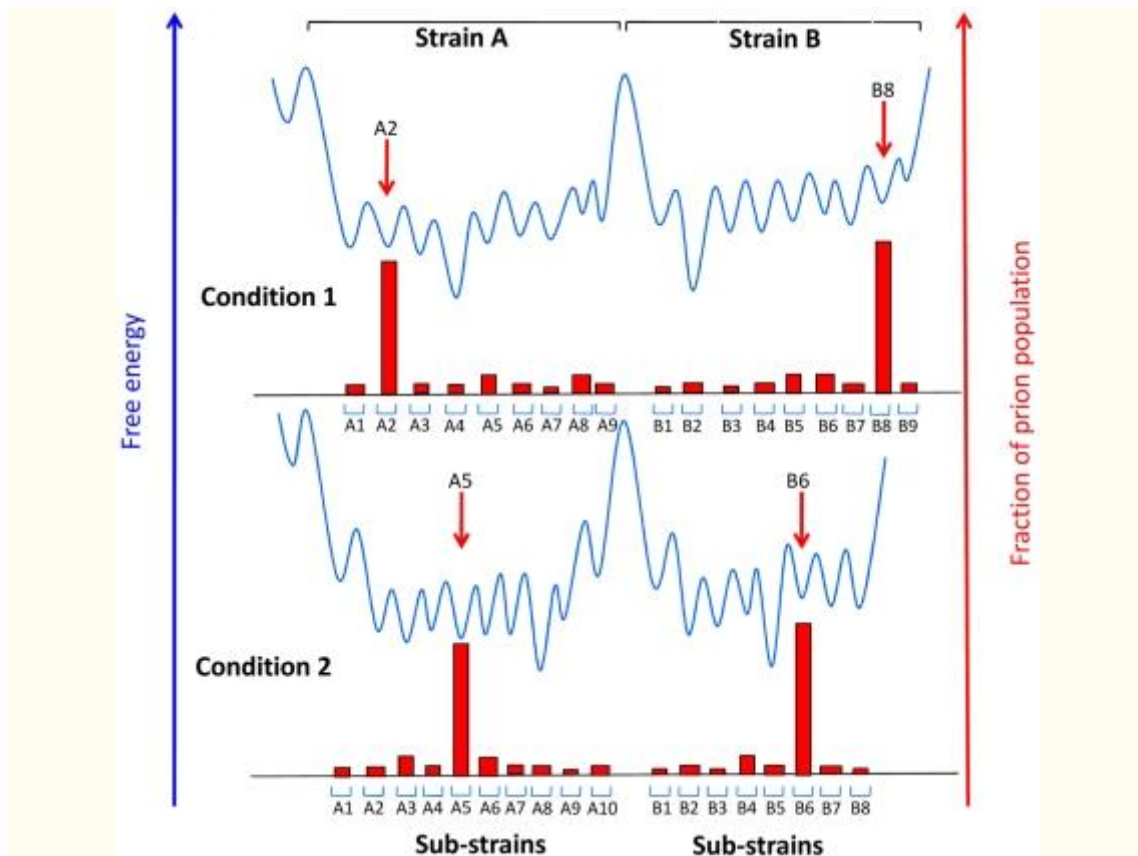
[Vete a:](#)

Evolución de los priones

El hallazgo de que muchas cepas de priones murinos se replicaron de manera eficiente en líneas celulares murinas seleccionadas creó nuevas e importantes oportunidades experimentales. En particular, el lento, costoso e impreciso bioensayo basado en ratones para priones murinos podría ser reemplazado por un procedimiento humano, rápido y preciso basado en células, el ensayo estándar de células de tembladera (SSCA) [13]. La susceptibilidad diferencial de las líneas celulares a varias cepas priónicas proporcionó la base del ensayo de panel celular (CPA), que diferencia rápidamente entre varias cepas priónicas sobre la base de su tropismo celular y su susceptibilidad a varios fármacos, como la swainsonina o la kifunensina [14], [15].

El CPA reveló que la propagación en serie de priones 22L derivados del cerebro en células PK1 condujo a un cambio progresivo en sus propiedades; aunque inicialmente pudieron propagarse en células R33 ("R33 competente") o en células PK1 en presencia de swainsonina ("resistentes a la swainsonina"), los priones gradualmente se volvieron completamente incompetentes R33 y sensibles a la swainsonina (Figura 1B). Cuando estos priones "adaptados a las células" fueron devueltos al cerebro del ratón, gradualmente readquirieron sus propiedades anteriores y se volvieron indistinguibles de la cepa original de 22L [16]. En una línea similar, cuando los priones sensibles a la swainsonina se propagaron en células PK1 en presencia del fármaco, surgió una población de priones resistentes a la swainsonina después de unos pocos pasajes, documentando la adaptación al nuevo entorno. Después de la retirada de la droga, la propagación adicional de varias divisiones nuevamente produjo priones sensibles a la droga [16]. Estos hallazgos sugirieron que las poblaciones priónicas constituyen las llamadas cuasiespecies [17], es decir, están compuestas por una variedad de variantes conformacionales, cada una presente a un nivel bajo; cuando el entorno cambia, la variante que se replica de manera más eficiente se convierte en el componente predominante de la población, que luego constituye una subtensión distinta [1], [16], [18]. De hecho, se encontró que las poblaciones de 22L adaptadas a células PK1 contenían aproximadamente un 0,5% de variantes resistentes a la swainsonina antes de ser

expuestas al medicamento [16]. Debido a que los priones 22L utilizados en estos experimentos habían sido clonados por dilución de punto final años antes, la heterogeneidad debe haber surgido por un proceso similar a una mutación en el ínterin. Las mutaciones en el caso de los priones representan cambios conformacionales y no modificaciones a nivel de la secuencia proteica, porque el PrP está codificado por el genoma del huésped y la mutación es inherente a la partícula proteínica. Para verificar si la heterogeneidad de las poblaciones de priones se produjo por mutación, los priones sensibles a la swainsonina se clonaron mediante dilución final en células PK1, y las células infectadas se propagaron en serie durante hasta 100 duplicaciones y se desafiaron con swainsonina para determinar en qué etapa las poblaciones de priones adquirieron la capacidad de volverse resistentes al fármaco. Al principio de la clonación, las poblaciones eran incapaces de hacerlo, pero la mayoría de los clones desarrollaron esta capacidad después de 31-86 duplicaciones (Figura 1C). Sin embargo, al menos una de las nueve poblaciones no lo hizo incluso después de 116 duplicaciones, lo que sugiere que los priones eran heterogéneos en lo que respecta a su capacidad para desarrollar resistencia a la swainsonina [11], [16]. La adquisición de resistencia a los medicamentos por priones murinos también ha sido reportada por Ghaemmaghami et al. [19] y por priones de levadura por Shorter [20]. La mayoría, si no todas, las variantes priónicas, o subtensiones, descritas anteriormente eran reversibles, lo que sugiere que las conformaciones subyacentes eran fácilmente interconvertibles. Por el contrario, las cepas son muy estables, al menos mientras se propaguen en la misma especie. Como se muestra en Figura 2, esto sugiere una barrera de baja energía de activación entre subtensiones, fácilmente superable en condiciones fisiológicas, mientras que las barreras de energía de activación alta impiden la conversión entre cepas.



[Figura 2](#)

Paisaje de energía libre conjetural para cepas priónicas y subtensiones.

Las subtensiones se representan como colectivos distinguibles de priones que pueden interconvertirse fácilmente porque están separados por barreras de energía de activación que pueden superarse en un entorno particular en condiciones fisiológicas, mientras que las cepas están separadas por barreras de alta energía. La medida en que los pozos individuales están poblados (bloques rojos) está determinada por la tasa de acumulación de la subtensión particular. Cuando el entorno cambia, por ejemplo, cuando los priones se transfieren entre tejidos distintos, se pueden favorecer diferentes subtensiones. Adaptado de la referencia [\[18\]](#).

[Vete a:](#)

Reflexiones finales

El hallazgo de que los priones pueden adquirir resistencia a los medicamentos tiene implicaciones significativas para el diseño de fármacos. Medicamentos dirigidos a prP^{Sc} puede tener que administrarse en combinación, como en el caso de los virus, en particular el VIH. Alternativamente, los medicamentos podrían ser dirigidos para unirse y estabilizar la PrP^c o, en vista de la constatación de que la ablación de PrP^c , al menos en animales, no

es perjudicial para la salud [21], [22], para suprimir su síntesis. En la actualidad no hay medicamentos terapéuticamente útiles disponibles, pero profundizar la comprensión de la biología molecular de los priones puede allanar el camino hacia nuevos enfoques.

[Vete a:](#)

Reconocimientos

Agradezco a Corinne Lasmezas sus comentarios constructivos.

[Vete a:](#)

Notas

El autor ha declarado que no existen intereses contrapuestos.

Este estudio fue apoyado por subvenciones de los Institutos Nacionales de Salud (1R01NS059543, 1R01NS067214) y la Fundación de la Familia Alafi. Los financiadores no tuvieron ningún papel en el diseño del estudio, la recopilación y el análisis de datos, la decisión de publicar o la preparación del manuscrito.

[Vete a:](#)

Referencias

1. Collinge J, Clarke AR. Un modelo general de cepas priónicas y su patogenicidad. *Ciencia*. 2007; 318:930–936. [[PubMed](#)] [[Google Académico](#)]
2. Weissmann C. Reflexiones sobre las cepas priónicas de mamíferos. *Folia Neuropathol*. 2009; 47:104–113. [[PubMed](#)] [[Google Académico](#)]
3. Castilla J, Saa P, Hetz C, Soto C. Generación in vitro de priones de tembladera infecciosa. *Celda*. 2005; 121:195–206. [[PubMed](#)] [[Google Académico](#)]
4. Deleault NR, Harris BT, Rees JR, Supattapone S. Formación de priones nativos a partir de componentes mínimos in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104:9741–9746. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Wang F, Zhang Z, Wang X, Li J, Zha L, et al. El ARN de información genética no es necesario para la infectividad priónica recombinante. *J*

Viol. 2012; 86:1874–1876. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

6. Manuelidis L. Agentes de encefalopatía transmisible: virulencia, geografía y relojería. *Virulencia*. 2010; 1:101–104. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

7. Dickinson AG. Tembladera en ovejas y cabras. En: Kimberlin RH, editor. *Enfermedades virales lentas de los animales y el hombre*. Ámsterdam: Elsevier/Holanda Septentrional; 1976. pp. 209-241. [[Google Académico](#)]

8. Prusiner SB. Biología molecular de las enfermedades priónicas. *Ciencia*. 1991; 252:1515–1522. [[PubMed](#)] [[Google Académico](#)]

9. Tanaka M, Collins SR, Toyama BH, Weissman JS. La base física de cómo las conformaciones priónicas determinan los fenotipos de deformación. *Naturaleza*. 2006; 442:585–589. [[PubMed](#)] [[Google Académico](#)]

10. Kimberlin RH, Walker C. Características de un modelo de incubación corta de tembladera en el hámster dorado. *J Gen Virol*. 1977; 34:295–304. [[PubMed](#)] [[Google Académico](#)]

11. Li J, Mahal SP, Demczyk CA, Weissmann C. Mutabilidad de priones. *EMBO Rep*. 2011; 14:191. [[Google Académico](#)]

12. Kimberlin RH, Walker CA, Fraser H. La identidad genómica de diferentes cepas de tembladera de ratón se expresa en hámsters y se conserva en la resolución en ratones. *J Gen Virol*. 1989; 70:2017–2025. [[PubMed](#)] [[Google Académico](#)]

13. Klohn PC, Stoltze L, Flechsig E, Enari M, Weissmann C. Un ensayo cuantitativo de infectividad basado en células altamente sensibles para priones de tembladera de ratón. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100:11666–11671. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

14. Mahal SP, Baker CA, Demczyk CA, Smith EW, Julius C, et al. Prion strain discrimination in cell culture: the cell panel assay. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104:20908–20913. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

15. Browning S, Baker CA, Smith E, Mahal SP, Herva ME, et al. Abrogación de la glicosilación compleja por Swainsonina da como resultado una inhibición específica de la cepa y la célula de la replicación priónica. *J Biol Chem*. 2011; 19:19. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

16. Li J, Browning S, Mahal SP, Oelschlegel AM, Weissmann C. Evolución darwiniana de los priones en cultivo celular. *Ciencia*. 2010; 327:869–872. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

17. Eigen M. La autoorganización de la materia y la evolución de las macromoléculas biológicas. *Naturwissenschaften*. 1971; 58:465–523. [[PubMed](#)] [[Google Académico](#)]
18. Weissmann C, Li J, Mahal SP, Browning S. Prions en movimiento. *EMBO Rep*. 2011; 12:1109–1117. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
19. Ghaemmaghami S, Ahn M, Lessard P, Giles K, Legname G, et al. El tratamiento continuo con quinacrina da como resultado la formación de priones resistentes a los medicamentos. *PLoS Pathog*. 2009; 5:e1000673. doi: [10.1371/journal.ppat.1000673](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000673). [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
20. J. Más corto Emergencia y selección natural de priones resistentes a los medicamentos. *Mol Biosyst*. 2010; 6:1115–1130. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
21. Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner RA, Autenried P, et al. Los ratones desprovistos de PrP son resistentes a la tembladera. *Celda*. 1993; 73:1339–1347. [[PubMed](#)] [[Google Académico](#)]
22. Richt JA, Kasinathan P, Hamir AN, Castilla J, Sathiyaseelan T, et al. Producción de ganado bovino carente de proteína priónica. *Nat Biotechnol*. 2007; 25:132–138. [[Artículo gratuito de PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]