

DISCUSIÓN.

Nuestro trabajo consiste en analizar proteínas de *Homo sapiens* que participan en neuroreceptores de acetilcolina. Según Viscardi et al (2021), aparecieron en la evolución temprana de los animales, entre cordados y cnidarios. Según sus resultados, esa relación está marcada por la aparición de varias familias de receptores, entre los que destacan los ionotrópicos, los cuales tuvieron un papel crítico en la evolución de la sinapsis.

Un ejemplo es la familia neuroexclusiva de receptores nicotínicos colinérgicos (CHRN), que se conecta a la red mediante su interacción con la tirosinaproteína quinasa JAK2, una proteína no neuroexclusiva.

El conjunto completo de receptores está completo con la aparición de los receptores de la acetilcolina metabotrópica (familia CHRM) más la emergencia masiva de receptores ionotrópicos (familias de genes GABR, CHRN y HTR3). Por lo tanto, este mecanismo de neurotransmisión clave ha sido conservado por al menos 600 millones de años.

CHRM y CHRN son neurotransmisores que tienen en común que están presentes en zonas neuroexclusivas, es por ello por lo que esperamos ciertas homologías entre ellos.

Utilizando la secuencia de las proteínas CHRM1, CHRNA3 y CHRNA7 como consulta (query) en búsquedas de blastp, encontramos proteínas homólogas en multitud de especies, incluyendo principalmente mamíferos, aves, peces e incluso invertebrados.

Sabiendo que las CH son proteínas relacionadas con la neurorrecepción, puede sorprender que existan homólogas en tal diversidad de organismos.

La distribución de los alineamientos a lo largo de la secuencia de CHRM1 (de 400+ aminoácidos) muestra que gran parte de la homología encontrada se limita a una región de poco más de 200 aminoácidos, aproximadamente entre los residuos 20 y 200. Esta región constituye un dominio conservado.

Una búsqueda manual de la secuencia en la base de datos Pfam (Mistry et al, 2021) muestra que se trata de la familia de la rodopsina (PF00001.21), o Serpentine type 7TM GPCR chemoreceptor, una familia muy extensa de proteínas G, de las que los enzimas CHRM1 son solo un ejemplo. Esto explica la extensa distribución taxonómica de los homólogos de una enzima que en principio esparábamos encontrar sólo en organismos fotosintéticos.

Results Summary							
Sequence Number	Query Name	Hits Found	Status	Top Hit			Details
				Identifier	Description		
1	NP_000729.2	3	DONE	7tm_1	7 transmembrane receptor (rhodopsin family)		show

Pfam Matches									Advanced
Family		Accession	Clan	Description	Cross-references	Start	End	Domain E-values	
Id	Accession							Ind.	Cond.
> 7tm_1	PF00001.21	CL0192		7 transmembrane receptor (rhodopsin family)	grid grid	42	418	1.8e-80	3.0e-84
> 7TM_GPCR_Srsx	PF10320.9	CL0192	X	Serpentine type 7TM GPCR chemoreceptor Srsx	grid	36	227	6.4e-06	1.1e-09
> 7TM_GPCR_Srx	PF10328.9	CL0192	X	Serpentine type 7TM GPCR chemoreceptor Srx	grid	34	209	0.00012	2.0e-08

Your search took: 0.07 secs

Por otro lado, CHRNA3 nos muestra alineamientos entre los aa 50 y 250, de igual forma que CHRNA7. Tras realizar una búsqueda manual en Pfam observamos algo muy curioso: CHRNA3 es la región transmembrana y CHRNA7 es el dominio de unión al ligando, ambos de un neurotransmisor “neurotransmitter-gated-ion-channel”. Esto nos da la pista de que podemos estar ante dos subunidades de la misma proteína.

A continuación se muestran las búsquedas.

Busqueda de CHRNA3:

Results Summary										
Sequence Number	Query Name	Hits Found	Status	Top Hit					Details	
				Identifier	Description					
1	NP_000734.2	2	DONE	Neur_chan_memb	Neurotransmitter-gated ion-channel transmembrane region				show	

Pfam Matches													
Family										Advanced			
Id ▾		Accession		Clan	Description			Cross-references		Start	End	Domain E-values	
Ind. ▾										Ind. ▾	Cond. ▾		
>	Neur_chan_memb	PF02932.16	n/a		Neurotransmitter-gated ion-channel transmembrane region					248	495	8.0e-94	8.9e-98
>	Neur_chan_LBD	PF02931.23	n/a		Neurotransmitter-gated ion-channel ligand binding domain					35	241	5.1e-75	5.7e-79

Your search took: 0.10 secs

Búsqueda de CHRNA7:

Results Summary										
Sequence Number	Query Name	Hits Found	Status	Top Hit					Details	
				Identifier	Description					
1	NP_000737.1	2	DONE	Neur_chan_LBD	Neurotransmitter-gated ion-channel ligand binding domain				show	

Pfam Matches													
Family										Advanced			
Id ▾		Accession		Clan	Description			Cross-references		Start	End	Domain E-values	
Ind. ▾										Ind. ▾	Cond. ▾		
>	Neur_chan_LBD	PF02931.23	n/a		Neurotransmitter-gated ion-channel ligand binding domain					26	230	4.2e-73	4.7e-77
>	Neur_chan_memb	PF02932.16	n/a		Neurotransmitter-gated ion-channel transmembrane region					237	487	3.0e-62	3.4e-66

Your search took: 0.08 secs

Al realizar la primera búsqueda blastp con un e muy exigente, vemos que las tres proteínas están presentes en *Homo sapiens* pero extienden su homología entre varios mamíferos.

En el primer blastp de CHRM también se encontraron homologías en algunas ranas, peces, nematodos y crustáceos, aunque predominaban los mamíferos.

En el primer blastp de las dos CHRNA no predominan tanto los mamíferos. Vemos coincidencias con varios peces, ungulados, tiburones e incluso moscas. CHRNA3 y CHRNA7 muestran muchas similitudes desde el primer blastp restrictivo.

Por último, tras un análisis comparativo de las tres proteínas vemos que, aunque ambas proceden de humanos, su evolución ha sido relativamente distinta. CHRNA3 y CHRNA7 presentan homologías en una mayor variedad de grupos que CHRM, aunque todas sean neuropeptidergicas. Por tanto, la hipótesis de que las dos CHRNA podrían ser dos subunidades de una proteína apunta a ser correcta.

Referencias:

- Búsqueda manual pfam en: <http://pfam.xfam.org/>
- Lucas Henriques Viscardi, Danilo Oliveira Imparato, Maria Cátira Bortolini, Rodrigo Juliani Siqueira Dalmolin, Ionotropic Receptors as a Driving Force behind Human Synapse Establishment, Molecular Biology and Evolution, Volume 38, Issue 3, March 2021, Pages 735–744, doi:10.1093/molbev/msaa252.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. J Mol Biol. 1990 Oct 5;215(3):403-10. doi: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2. PMID: 2231712.
- Jaina Mistry, Sara Chuguransky, Lowri Williams, Matloob Qureshi, Gustavo A Salazar, Erik L Sonnhammer, Silvio C E Tosatto, Lisanna Paladin, Shriya Raj, Lorna J Richardson, Robert D Finn, Alex Bateman. Pfam: The protein families database in 2021, Nucleic Acids Research, Volume 49, Issue D1, 8 January 2021, Pages D412–D419, [doi:10.1093/nar/gkaa913](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa913).