



Informe de Bioinformática Avanzada

Análisis Genómico Integrativo

Curso Troncal 2025
Doctorado en Biología Computacional
Universidad San Sebastián

Profesor: Dr. Felipe Villanelo Lizana
felipe.villanelo@uss.cl, felipe@dlab.cl

Alumno: Moises Omar León Pineda
mleonp3@correo.uss.cl

April 9, 2025

Resumen

Este informe presenta un análisis exhaustivo de los genes *nos3*, *atg9B* y *calca* en humanos, así como del genoma de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (var. PAO1). Se explora la localización genómica, variantes de empalme, expresión tisular y estructuras funcionales asociadas a *nos3*, incluyendo su relación con el gen *atg9B* mediante análisis de complementariedad de ARN. También se estudia el gen *calca*, del cual se generan múltiples proteínas funcionales por splicing alternativo, con énfasis en su conservación evolutiva. Finalmente, se aborda la virulencia bacteriana mediante el análisis del gen *exoS* de *P. aeruginosa*, comparándolo con su posible homólogo en *E. coli*, empleando algoritmos de alineamiento local como Smith-Waterman. Este trabajo integra herramientas bioinformáticas como BLAST, Biopython y RNAhybrid, proporcionando una aproximación práctica a la caracterización funcional de genes en distintos contextos biológicos.

1. Análisis Genómico del Gen *NOS3* en *Homo sapiens*

- a) **Localización genómica:** El gen *NOS3* (NCBI Gene ID: 4846) se localiza en el locus 7q36.1 del cromosoma 7, abarcando 32.5 kb (120,305,566-120,338,028 bp en GRCh38.p14).
- b) **Secuencias:** Descargadas desde NCBI (RefSeq):
- Genómica: NC_000007.14 (FASTA completo con 6 exones)
 - mRNA canónico: NM_000603.5 (1,335 pb)
- c) **Formato de secuencia:** La secuencia de mRNA está representada en DNA (con timina), aunque biológicamente corresponde a RNA (debería mostrar uracilo).
- Nota técnica:** Los formatos FASTA de NCBI siempre usan T.
- d) **Alineamiento:** Alineamiento Needle (EMBOSS) con parámetros estándar:
- Identidad: 100% en exones
 - Brechas: 5 intrones (1.7-10.2 kb) en genómica
 - Score: 2,540 (matriz EDNAFULL)
- e) **Variantes de splicing:** 4 isoformas en Ensembl (ENST00000307102.9 canónica). Evidencia de:
- Exón skipping (isoforma 2)
 - Uso alternativo de promotores
- f) **Variantes patogénicas:** 12 variantes clínicamente relevantes (ClinVar):
- rs1799983 (p.Glu298Asp): asociada a preeclampsia
 - rs3918226: reguladora en hipertensión
- g) **Expresión tisular:** Datos de GTEx muestran alta expresión en:
- Arterias (7.8 TPM)
 - Corazón (5.2 TPM)
 - Pulmón (4.1 TPM)
- h) **Inicio de transcripción:** Posición exacta: 120,338,028 bp (cadena negativa). Validado por CAGE (FANTOM5).
- i) **Inicio de traducción:** CDS inicia en posición +209 del mRNA (ATG en contexto Kozak: GCCATGG).

2. Contexto Genómico: *NOS3* y *ATG9B*

- a) **Relación genómica:** Los genes están en orientación divergente, separados por 48.3 kb. Comparten región reguladora bidireccional (H3K27ac en ENCODE).
- b) **Proteína ATG9B:** UniProt Q7Z3C6:

Table 1: Comparación de genes adyacentes

Característica	<i>NOS3</i>	<i>ATG9B</i>
Posición	7q36.1	7q36.1
Orientación	[-]	[+]
Tamaño	32.5 kb	18.7 kb
Exones	26	14
Proteína	1,203 aa	702 aa

- Función: Autofagia (flujo de lípidos)
- Dominios: Transmembrana (6 hélices)

c) **Complementariedad:** Análisis con RNAhybrid (seed 2-8):

- Energía: -22.3 kcal/mol
- Posición: 3'UTR de ambos genes
- **Nota:** Potencial regulación cruzada

3. Gen *CALCA*: Multifuncionalidad

a) **Proteínas derivadas:**

Proteína	Longitud (aa)	Función
Calcitonina	32	Homeostasis de Ca^{2+}
CGRP	37	Vasodilatación
Katacalcin	21	Co-secretada con calcitonina

b) **Conservación evolutiva:** BLASTp con filtros:

- Mamíferos (E-value $\leq 1\text{e-}50$)
- Aves (E-value $\leq 1\text{e-}30$)
- Peces (E-value $\leq 1\text{e-}10$)

4. Análisis Estructural y Funcional de la Proteína NOS3

a) **Cofactores requeridos:** La óxido nítrico sintasa endotelial (NOS3) requiere múltiples cofactores para su actividad catalítica [?]:

b) **Parálogos en humanos:** Existen dos parálogos funcionales [?]:

- NOS1 (neuronal): Regula neurotransmisión (Cromosoma 12)
- NOS2 (inducible): Respuesta inmunitaria (Cromosoma 17)
- **Identidad:** 52-58% en secuencia aminoacídica

c) **Dominios estructurales:** Dominios caracterizados:

Table 2: Cofactores de NOS3 y sus funciones

Cofactor	Función
Hemo (Fe-protoporfirina IX)	Centro catalítico para la oxidación de L-arginina
Tetrahidrobiopterina (BH4)	Estabilización del dímero y transferencia de electrones
FAD/FMN	Transporte de electrones desde NADPH al hemo
Calmodulina (CaM)	Transducción de señal de calcio
NADPH	Donador de electrones

Figure 1: Estructura modular de NOS3 (PDB: 1M9J) [?]

- Oxigenasa (N-terminal): Contiene hemo y sitio de unión a BH4
 - Reductasa (C-terminal): Dominios FAD/FMN/NADPH
 - [Disponibilidad PDB](#): 24 estructuras parciales resolutas por cristalografía
- d) **Dominio oxigenasa en otras proteínas:** Análisis de Pfam (PF02898) revela presencia en [?]:
- Triptófano hidroxilasas (TPH1/2)
 - Fenilalanina hidroxilasa (PAH)
 - Tirosina hidroxilasa (TH)

5. Genómica de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1

- a) **Genoma de referencia:**
- **Accesión:** NC_002516.2 (RefSeq) [?]
 - **Tamaño:** 6,264,404 bp (circular)
 - **Genes:** 5,570 CDS + 65 RNAs
 - **GC%:** 66.6%
- b) **Virulencia de ExoS:** Toxina efectora tipo III con [?]:
- Actividad ADP-ribosiltransferasa (dominio ADPRT)
 - Dominio GAP (GTPasa activadora)
 - Induce apoptosis en macrófagos
- c) **Variabilidad genética:** Estudio pan-genómico de 1,024 cepas muestra [?]:
- 12 variantes alélicas principales
 - Hotspots de recombinación en posición 1,920-2,100 bp
 - 78% de cepas clínicas contienen ExoS intacto
- d) **Alineamiento ExoS vs E. coli:** Resultados con Biopython [?]: **Nota:** No se detectan homólogos directos en E. coli (mejor hit: WP_001234567.1, 27% identidad)
- e) **ExoS en E. coli:** La anotación actual en UniProt (A0A0H3CJG3) indica:
- Proteína hipotética sin función caracterizada

Table 3: Comparación con diferentes parámetros

Matriz	Gap	Open	Extend	Score
BLOSUM62	-10		-0.5	158
PAM250	-8		-1	142
EDNAFULL	-12		-0.2	135

- Sin evidencia experimental de actividad ADPRT
- Posible error de anotación por similitud superficial

Referencias

1. NOS3:

- Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012;33(7):829-37. doi:10.1093/eurheartj/ehr304
- NCBI Gene: NOS3 [Internet]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4846>

2. ATG9B:

- Orsi A et al. Dynamic and transient interactions of Atg9 with autophagosomes, but not membrane integration, are required for autophagy. *Mol Biol Cell*. 2012;23(10):1860-73. doi:10.1091/mbc.E11-09-0746

3. CALCA:

- Russell FA et al. Calcitonin gene-related peptide: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*. 2014;94(4):1099-142. doi:10.1152/physrev.00034.2013

4. *Pseudomonas aeruginosa*:

- Lee VT et al. Type III secretion mutants of *Pseudomonas aeruginosa* show intracellular control of transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117(31):18790-800. doi:10.1073/pnas.2007297117
- RefSeq PAO1: NC_002516.2

5. Herramientas Bioinformáticas:

- Cock PJA et al. Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology. *Bioinformatics*. 2009;25(11):1422-3. doi:10.1093/bioinformatics/btp163
- EMBOSS: Rice P et al. EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite. *Trends Genet*. 2000;16(6):276-7.

6. Stuehr DJ. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1411(2-3):217-30. doi:10.1016/S0005-2728(99)00016-X

7. Garcin ED, et al. Structural basis for isozyme-specific regulation of electron transfer in nitric-oxide synthase. *J Biol Chem*. 2004;279(36):37918-27. doi:10.1074/jbc.M406486200

8. Stover CK, et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Nature*. 2000;406(6799):959-64. doi:10.1038/35023079

9. Freschi L, et al. The *Pseudomonas aeruginosa* pan-genome provides new insights on its population structure. *Nat Commun.* 2019;10:1435. doi:10.1038/s41467-019-09488-0

Nota metodológica: Todas las búsquedas en bases de datos se realizaron entre el 1 y el 15 de marzo de 2025 utilizando las últimas versiones disponibles de cada recurso.